

一氧化氮：植物细胞次生代谢信号转导网络可能的关键节点^{*}

徐茂军^{**}

浙江工商大学 生物工程系 杭州 310035

摘要 细胞内部的信号转导系统是介导真菌诱导子等外界因子诱发植物次生代谢产物合成的桥梁和纽带。一氧化氮是近年来发现的一种新型植物信号分子。近年来的研究表明，一氧化氮(NO)、水杨酸(SA)、茉莉酸(JA)、活性氧(ROS)等植物体内的主要信号分子(途径)不仅参与植物细胞次生代谢的信号调控，而且不同信号途径之间可以通过共催化、互抑制、共协调等作用相互交叉形成复杂的信号调控网络。文中简要介绍了国内外有关研究进展，重点结合本实验室的研究结果提出了以 NO 为关键节点的植物细胞次生代谢产物合成信号调控网络模型，提示了 NO 在植物细胞次生代谢信号调控网络中的潜在分子开关作用。

关键词 一氧化氮 次生代谢产物 生物合成 信号调控 JA SA ROS

次生代谢产物的低产现象是制约细胞培养法生产植物天然产物技术产业化应用的核心问题之一^[1,2]，理解和掌握植物细胞次生代谢调控规律是解决这一问题的基础。与初生代谢相比，植物次生代谢产物的合成具有更加复杂的调控机制，并且更易受外界因素的影响^[3]。我国古代就有“橘生淮南则为橘，生于淮北则为枳，叶徒相似，其实味不同”的说法；临床上，不同产地的同一种药材虽然剂量、用法一样，但疗效却可能相差甚远。究其原因大多是由于植物生长环境条件的不同使植物中的有效活性成分产生了差异，说明植物中天然活性成分的合成代谢水平可以受环境因素等外界因素的影响。

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，而环境因素等作为外界刺激因子本身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。

细胞信号转导是近年来国际上的一个研究热点。到目前为止，国内外研究报道过的可能与植物细胞信号转导有关的生化事件很多，包括离子跨膜运输、蛋白质磷酸化和脱磷酸化、茉莉酸(JA)合成途径激活、水杨酸(SA)合成途径激活、氧化迸发及活性氧(ROS)的合成积累等^[4-6]。其中离子跨膜运输、JA 和 SA 合成积累以及氧化迸发等均被证实与植物次生代谢产物的合成调控有关^[7-9]。最近的研究报道表明，一氧化氮(NO)是介导植物细胞次生代谢产物合成的一种必需信号分子^[10,11]，而且越来越多的证据表明，NO 可以分别作用于 SA, JA, ROS 等信号分子的上游并调控植物细胞中 SA 等信号分子的生物合成，而 SA, JA 等信号途径之间既

2007-03-30 收稿，2007-05-21 收修改稿

^{*} 国家自然科学基金(批准号：30572331)和浙江省自然科学基金(批准号：302785)资助

^{**} E-mail: maojunxu@163.com

©1994-2018 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

具有相互抑制又具有特殊的协调互补作用^[12-14]，暗示细胞中不同信号转导途径可以相互交叉，形成一个可以相互协调、相互制约的植物次生代谢信号转导网络。本文在综合分析近年来有关植物细胞次生代谢产物合成信号转导研究进展的基础上，提出了以 NO 为关键节点(key-point)的植物细胞次生代谢产物合成信号调控网络模型，重点提示了 NO 在植物次生代谢信号转导网络中的潜在分子开关作用。

1 NO 是介导植物细胞次生代谢产物合成必需的信号分子

1.1 NO 的基本特性

NO 是一种同时具有脂溶性和水溶性的气体自由基，在其 Π_2 轨道上含有一个未配对的电子，但是 NO 本身不带电荷。然而，由于 NO 的自由基性质，它极易通过失去或者得到电子转变为能量稳定的形式^[15]。NO 一旦在细胞中产生后，就可以在细胞内部扩散或者从一个细胞扩散到另一个细胞。由于 NO 的自由基特性，因此其半衰期非常短，一般在几秒钟左右。NO 可以迅速和氧气反应生成二氧化氮(NO_2)，并且在水相中转变为硝酸盐或者亚硝酸盐。因此，NO 的作用范围一般只局限于产生 NO 的细胞或其邻近的细胞^[15, 16]。

1.2 NO 参与植物细胞次生代谢产物的合成调控

NO 的化学特性使其非常适宜作为细胞内或细胞间的信号分子。事实上，NO 在人体及动物神经、心血管和免疫系统中具有广泛的信号调控作用^[17]。近年来研究表明，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^[18-20]。实验证明，NO 是介导植物对生物逆境胁迫防卫反应的重要环节之一^[21, 22]。Durner 等^[21]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^[23]。NO 的这些功能可被 NO 淬灭剂 cP-TIO 所抑制^[21, 23]。这些实验结果表明，NO 是触发植物防卫反应所必需的信号分子之一。

Modolo 等是最早报道 NO 可能参与植物次生代谢产物合成调控的学者。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^[24]。进一步实验发现，以 *Diaporthe phaseolorum* f. sp. *meridionalis* (Dpm) 细胞壁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 L-NNAM 抑制^[24]。上述实验结果表明，NOS 可能参与了 Dpm 诱导子对大豆组织中黄酮类次生产物合成的促进作用。我们最近的研究结果表明，在桔青霉细胞壁诱导子处理约 2h 后，红豆杉悬浮细胞中 NO 开始增加并在 6h 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^[10]。以 NO 专一性淬灭剂 cPITO 和桔青霉细胞壁诱导子同时处理红豆杉细胞，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^[10]，表明 NO 合成积累是桔青霉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。Wang 等的研究结果也证实 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^[25, 26]。

虽然目前大量的研究报道表明 NO 合成积累是植物细胞在诱导子等处理下普遍产生的一种生化反应，但是到目前为止对植物合成 NO 的机理还不是很清楚。一氧化氮合酶(NOS)是动物细胞中 NO 合成的主要途径^[27]。在 *Lupinus albus* 的根等部位可以检测出 NOS 活性，用 NOS 抑制剂 L-NMMA (N^G -monomethyl-L-arginine) 可以抑制其活性^[28]。真菌诱导子可以诱发烟草细胞产生 NO，这一作用也可以被 L-NMMA 抑制^[29]。我们的实验结果表明，真菌诱导子可以诱发金丝桃等植物细胞中 NOS 的活性，而且诱导子对植物细胞中 NO 产生的诱导作用可以被 NOS 抑制剂 PBITU 所抑制^[14]，说明在这些植物细胞中可能存在 NOS 或与 NOS 性质相似的酶。但是通过比较真菌诱导子处理下金丝桃细胞 NO 产生和 NOS 活化的动力学曲线，发现 NO 产生量明显高出 NOS 的活力范围^[13]，说明 NOS 虽然可能参与了金丝桃细胞 NO 的合成，但是金丝桃细胞中 NO 的产生并不完全依赖于 NOS，即在真菌诱导

子处理下植物细胞可以通过多种途径合成 NO.

NO 对植物细胞次生代谢产物合成的促进作用可能与其活化植物细胞防御反应的功能有关. 研究表明, 真菌诱导子可以诱发烟草、拟南芥、大豆、水稻等植物细胞中防御基因表达及过敏反应 (HR) 等许多防卫反应^[23, 24], 而诱导子的这些功能可以被 NO 淬灭剂所阻断^[21-23], 说明 NO 是诱导子诱发烟草等植物细胞防卫反应必需的信号分子. 由于包括植保素在内的许多次生代谢物质的合成被普遍认为是植物细胞对外界逆境胁迫的防御反应结果之一^[3], 因此推测 NO 可能通过介导真菌诱导子诱发植物细胞的防卫反应, 激活细胞中次生产物的合成代谢途径.

2 NO 与 JA 信号途径在植物细胞次生代谢调控中的关系

2.1 JA 信号途径参与植物细胞次生代谢调控

茉莉酸是植物体内的一种重要信号分子^[30], 在植物抗逆信号转导过程中具有重要的作用^[31-33]. JA 和茉莉酸甲酯 (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^[34]. 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^[35]. 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^[30]. 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^[36]. 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^[37]. 在水稻等植物细胞中也有类似的研究报道^[38, 39]. 研究结果表明, 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^[14]. 这些实验结果表明, 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.

2.2 NO 对 JA 信号途径的调控作用

黑曲霉细胞壁诱导子可以同时诱发金丝桃细胞

的 NO 进发、JA 合成和金丝桃素积累^[14]. 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^[14]. 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^[14], 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.

2.3 NO 与 JA 的自催化作用

外源 NO 处理可以促进 NahG 转基因粉葛细胞中 JA 含量的增加^[13], 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^[12, 25], 说明 JA 处理也可以促进细胞中 NO 的合成. 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^[12, 40], 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. 与对照组相比, JA 处理的 NahG 转基因粉葛细胞中一氧化氮合酶 (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 的合成^[40].

3 NO, SA 及 JA 信号途径在植物细胞次生代谢调控中的关系

3.1 NO 对 SA 信号途径参与植物细胞次生代谢产物合成的调控作用

外源水杨酸 (SA) 单独处理可以诱发粉葛细胞中葛根素合成积累^[12, 40], 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. 橘青霉细胞壁诱导子可以同时诱发粉葛细胞的 NO 进发和 SA 合成积累^[12, 40]. 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 cPI-TO 抑制^[12, 40]. 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.

3.2 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^[10, 35, 41, 42], 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. 我们的实验结果表明, NO 处理可以诱发野生型粉葛细胞中 SA 含量的显著增加, 但不影响细胞中 JA 的水平, 这与 Durner 等^[21, 43] 在拟南芥中的实验结果一致. 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^[12, 40]; 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^[43], 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 生物合成调控作用失效的原因. 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. 实验结果表明, 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^[12, 40], 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^[44]. 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^[45, 46]. 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^[47-49], 然而目前对 SA 和 JA 之间相互影响的分子机理尚不十分了解. 值得注意的是在研究 NO 与 JA 之间关系时, 所获得的实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 进发促进 JA 生物合成, 而且 NO 可以诱发金丝桃细胞 JA 合成^[12, 40]; 但是 NO 处理对粉葛等植物细胞中 JA 水平无显著影响^[12, 40]. 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.

3.3 SA 和 JA 共同作用于 NO 下游协同介导植物细胞次生产物合成

NO 可以诱发缺乏 SA 积累能力的 NahG 转基因粉葛细胞中 JA 合成, 而 JA 合成抑制剂 IBU 和 NDGA 可以抑制 NO 对转 NahG 基因粉葛细胞中次生代谢产物合成的促进作用^[12], 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)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^[12]. 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^[12, 40], 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^[45, 48]. 虽然 NO 可以同时诱发植物细胞中 SA 和 JA 的合成积累^[21, 43], 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, 在 JA 合成不受抑制的情况下, 通过逐渐增加 NahG 转基因粉葛细胞中 NahG 基因的表达水平, 虽然可以使细胞 SA 含量逐渐降低, 但细胞中 JA 水平却随着 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并不受 NahG 基因表达水平增加和 SA 含量降低的影响^[12, 40], 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^[11], 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, 进一步说明 SA 和 JA 信号途径在介导植物次生代谢产物合成中的互补性.

4 NO 与 ROS 信号途径在植物细胞次生代谢调控中的关系

4.1 ROS 参与植物细胞次生代谢调控

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^[6, 50]. 氧化迸发产生的活性氧中间体(ROI), 如超氧阴离子(O_2^-)和过氧化氢(H_2O_2)等被认为是诱导子信号转导途径中的重要信号物质. 由氧化迸发产生的活性氧中间体可以参与细胞壁蛋白质的氧化交联作用^[51], 调控抗病相关基因的表达^[52, 53], 调控植物细胞的死亡进程^[54], 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^[50, 53, 54].

真菌诱导子不仅可以诱发烟草等植物细胞氧化迸发、活性氧产生, 同时还可以诱发细胞次生代谢产物的合成^[8, 55]. 氧化迸发抑制剂和活性氧淬灭剂可以阻断真菌诱导子对次生代谢产物合成的促进作用, 说明氧化迸发和活性氧积累是参与真菌诱导子对植物细胞次生代谢产物合成促进作用的信号事件(分子)^[8, 55].

在逆境胁迫下, 植物细胞可以通过细胞膜 NAD(P)H 氧化酶或者细胞壁过氧化物酶(POX)生成活性氧中间体^[56, 57]. 在橘青霉细胞壁诱导子等真菌诱导子作用下, 红豆杉等植物细胞中 O_2^- 和 H_2O_2 的生成可以被 NAD(P)H 氧化酶抑制剂 DPI 所抑制^[10], 表明 NAD(P)H 氧化酶是红豆杉细胞在真菌诱导子作用下产生 ROI 的主要途径.

O_2^- 和 H_2O_2 是植物细胞在真菌诱导子等胁迫下产生的两种常见的活性氧中间体^[7, 9]. 由于 O_2^- 对细胞具有较高的毒性, 而且 O_2^- 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 H_2O_2 是诱发植物防御反应的信号分

子^[7, 9]. 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 H_2O_2 淬灭剂 CAT 抑制^[12], 说明 H_2O_2 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^[58] 研究发现, O_2^- 供体 KO_2 单独处理欧芹细胞可以诱发抗毒素类次生代谢产物合成, O_2^- 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 H_2O_2 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^[58]. 上述实验结果表明 O_2^- 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, 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^[53], 而 H_2O_2 则是介导橘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^[13]. 由于在不同实验报道中所采用的实验体系不同, 因此造成上述实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.

4.2 NO 对 ROS 信号途径部分依赖作用

橘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^[13], 说明 NO 和 ROS 是参与橘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^[13, 59], 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^[13], 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^[13, 59], 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.

5 NO 在植物细胞次生代谢产物合成信号转导网络中的分子开关作用

现有的研究报道表明, SA, JA, ROS 以及 NO 等信号分子(途径)都参与了植物细胞的次生代谢调控^[8, 12, 13, 24, 26, 55], 而且 SA, JA, ROS 及 NO 等不同的信号分子(途径)之间可以通过互催化、共抑制、互协调等作用机制相互交叉^[12, 14, 40, 43], 因此推测在植物细胞中存在着一个或者多个比较复杂的植物次生代谢信号转导网络. 虽然 SA, JA 及 ROS 等信号分子(途径)可以通过不同的机制介导植物细胞次生代谢产物合成, 但是实验证据表明几乎每一条信号途径都或多或少地受 NO 的影响和调控^[12, 14, 40, 43], 暗示不同信号途径之间可以以 NO 为纽带形成次生代谢调控网络. 本文根据目前所取得的研究结果拟订了一个以 NO 为 key-point 的植物细胞次生代谢产物合成信号转导网络模型(图 1). 图 1 信号转导模型概括表示了 NO 与 SA, ROS, JA 等信号分子(途径)之间的关系. 由于 NO 可以作用于 SA 等信号途径的上游并对处于其下游信号分子的生物合成进行调控, 从而影响 SA 等下游信号转导途径的开、关和强、弱, 因此该模型强烈暗示 NO 在植物次生代谢信号转导网络中的核心地位, 并提示 NO 在植物细胞次生代谢信号调控网络中具有潜在的分子开关作用. 图 1 的模型同时表明 SA 可以通过抑制 NO 对 JA 合成的促进作用致使在某些细胞中 NO 虽然可以诱发 JA 合成途径关键酶基因的表达和关键酶活性的上升但却不能促进细胞中 JA 含量上升. 此外, 图 1 的模型还表明当细胞中 SA 积累受阻时, NO 对 JA 合成的促进作用可以被解除, 因此 NO 可以通过加强对 JA 合成的促进作用并利用强化的 JA 信号途径替代受阻的 SA 信号途径介导植物次生代谢产物合成, 从而使 JA 和 SA 在介导植物次生代谢产物合成过程中保持特殊的互补协调性.

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, 图 1 的模型概括了目前植物细胞次生代谢信号调控作用的主要研究成果, 并初步构画出植物细胞次生代谢产物合成信号转导网络雏形. 然而, 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.

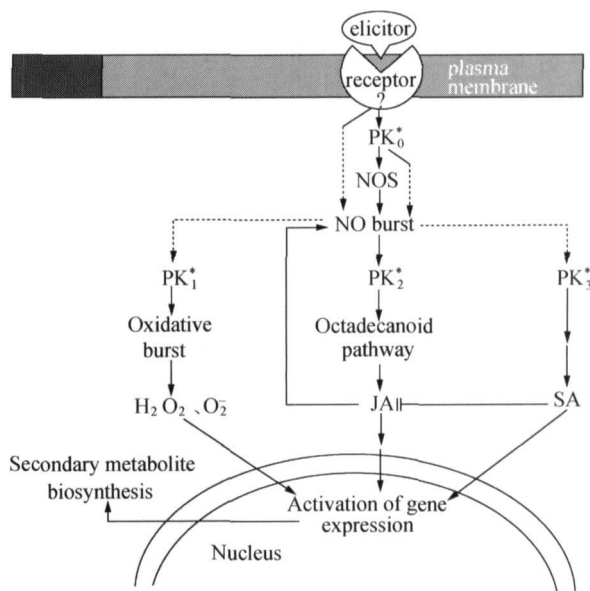


图 1 植物细胞次生代谢产物合成信号调控网络模式图
PK*: 蛋白质激酶. 我们的实验结果表明, 蛋白质激酶(PK)抑制剂 K-252a 可以分别抑制 NO 对红豆杉细胞氧化迸发的促进作用、NO 对粉葛细胞中 SA 合成的促进作用、NO 对 NahG 转基因粉葛和金丝桃中 JA 合成的促进作用以及真菌诱导子对红豆杉等植物细胞中 NOS 活化及 NO 迸发的促进作用^[40, 60], 表明在上述植物细胞的次生代谢信号转导网络中广泛存在着 PK 的作用位点. 但是即使在红豆杉细胞中 NOS 活性被 K-252a 完全抑制的情况下, 真菌诱导子对细胞中 NO 的产生仍然具有一定的促进作用^[40], 说明除了 NOS 外, 真菌诱导子还可以通过不依赖 NOS 的途径诱发植物细胞中 NO 的合成.

(1) 除了参与植物细胞次生代谢调控外, NO 等信号分子还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理尚不清楚. 由于 NO 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 NO 信号分子受体, 这些受体可能起 NO 信号分子转换器的作用. 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理, 这无疑将为植物次生代谢信号调控机理研究带来许多便利。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理具有重要意义。

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, 但是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动中扮演重要的角色, 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。

致谢 感谢浙江大学生命科学学院植物生理与生物化学国家重点实验室的朱睦元教授、郑科博士对本文有关内容的讨论和建设性意见。由于篇幅限制, 对国内外许多学者的优秀研究成果未能全部引用, 在此表示歉意。

参 考 文 献

1 Verpoorte R, Van der Heijden R, et al. Plant cell biotechnology for the production of alkaloids: Present status and prospects. *J Nat Prod*, 1993, 56: 186—207

2 Roberts SC, Shuler ML. Large-scale plant cell culture. *Curr Opin*

Biotechnol, 1997, 8: 154—159

3 余叔文, 欧阳光察. 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 Nürnberger 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 Dietrich A, Mayer JE, Hahlbrock K. Fungal elicitor triggers rapid, transient, and specific protein phosphorylation in parsley cell suspension cultures. *J Biol Chem*, 1990, 265: 6360—6368

6 Baker CJ, Orlandi EW. Active oxygen in plant pathogenesis. *Annu Rev Phytopathol*, 1995, 33: 299—321

7 Neill SJ, Desikan R, Hancock JT. Hydrogen peroxide signaling. *Curr Opin Plant Biol*, 2002, 5: 388—395

8 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 oxysprum*. *Enzyme Microb Technol*, 2001, 29: 372—379

9 Neill SJ, Desikan R, Clarke A, et al. Hydrogen peroxide and nitric oxide as signalling molecules in plants. *J Exp Bot*, 2002, 53: 1237—1242

10 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: 667—672

11 Grun S, Lindemayr C, Sell S, et al. Nitric oxide and gene regulation in plants. *J Exp Bot*, 2006, 57(3): 507—516

12 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

13 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橘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

14 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: 991—998

15 Neill SJ, Desikan R, Hancock JT. Nitric oxide signaling in plants. *New Phytologist*, 2003, 159: 11—22

16 Wendehenne D, Dumer J, Klessig DF. Nitric oxide: A new player in plant signalling and defence responses. *Curr Opin Plant Biol*, 2004, 7(4): 449—455

17 Guan YY, Lin MJ. The role of NO in human immunity system. *New Medicine*, 1999, 30(1): 55—57

18 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: 708—715

19 Beligni MV, Lamattina L. Nitric oxide stimulates seed germination

- tion and deetiolation, and inhibits hypocotyls elongation, three light-inducible responses in plants. *Planta*, 2000, 210: 215—222
- 20 Delledonne M, Zeier J, Marocco A, et al. Signal interaction between nitric oxide and reactive oxygen intermediates in the plant hypersensitive disease resistance response. *Proceedings of the National Academy of Science USA*, 2001, 98: 13454—13459
- 21 Durner J, Wendehenne D, Klessig DF. Defense gene induction in tobacco by nitric oxide, cyclic GMP and cyclic ADP-ribose. *Proceedings of the National Academy of Science USA*, 1998, 95: 10328—10333
- 22 Delledonne M, Xia Y, Dixon RA, et al. Nitric oxide functions as a secondary signal in plant disease resistance. *Nature*, 1998, 394: 585—588
- 23 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
- 24 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: 1288—1297
- 25 Wang JW, Wu JY. Involvement of nitric oxide in elicitor-induced defense responses and secondary metabolism of *Taxus chinensis* cells. *Nitric Oxide-Biol Chem*, 2004, 11(4): 298—306
- 26 Xu MJ, Dong J. Elicitor-induced nitric oxide burst is essential for triggering catharanthine synthesis in *Catharanthus roseus* suspension cells. *Appl Microbiol Biotech*, 2005, 67: 40—44
- 27 Furchgott RF. Special topic: Nitric oxide. *Ann Rev Physiol*, 1995, 57: 659—682
- 28 Cueto M, Hernandez-Perera O, Martin R, et al. Presence of nitric oxide synthase activity in roots and nodules of *Lupinus albus*. *FEBS Lett*, 1996, 398(2—3): 159—164
- 29 Foissner I, Wendehenne D, Langebartels C, et al. *In vivo* imaging of an elicitor-induced nitric oxide burst in tobacco. *Plant J*, 2000, 23(6): 817—824
- 30 Creelman RA, Mullet JE. Biosynthesis and action of jasmonates in plants. *Annu Rev Plant Mol Biol*, 1997, 48: 355—381
- 31 Dong X, SA, JA, ethylene and disease resistance. *Curr Opin Plant Biol*, 1998, 1: 316—323
- 32 Rao MV, Lee H, Creelman RA et al. Jasmonic acid signaling modulates ozone-induced hypersensitive cell death. *Plant Cell*, 2000, 12: 1633—1646
- 33 Qiu D, Xiao J, Ding X, et al. OsWRKY13 mediates rice disease resistance by regulating defense-related genes in salicylate- and jasmonate-dependent signaling. *Mol Plant Microbe Interact*, 2007, 20(5): 492—499
- 34 Kechum REB. The kinetics of Taxol accumulation in cell suspension cultures of *Taxus* following elicitation with methyl jasmonate. *Biotech Bioeng*, 1999, 62(1): 97—105
- 35 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
- 36 Ellard-Ivey M, Douglas CJ. Role of jasmonates in the elicitor- and wound-inducible expression of defense genes in parsley and transgenic tobacco. *Plant Physiol*, 1996, 112: 183—192
- 37 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: 1289—1296
- 38 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: 387—392
- 39 Mueller MJ, Brodschelm W, Spannagl E, et al. Signaling in the elicitation process is mediated through the octadecanoid pathway leading to jasmonic acid. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90: 7490—7494
- 40 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, 博士学位论文, 浙江大学, 2005
- 41 Yukimune Y, Tabata H, Higashi Y, et al. Methyl jasmonate-induced over production of paclitaxel and baccation III in *taxus* cell suspension cultures. *Nature Biotechnology*, 1996, 14: 1129—1132
- 42 Xu MJ, Dong J, Zhu M. Effect of nitric oxide on catharanthine production and growth of *Catharanthus roseus* suspension cells. *Biotechnology and Bioengineering*, 2005, 89(3): 367—371
- 43 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
- 44 Kunkel BN, Brooks DM. Cross talk between signaling pathways in pathogen defense. *Curr Opin Plant Biol*, 2002, 5: 325—331
- 45 Seo S, Sano H, Ohashi Y. Jasmonic acid in wound signal transduction pathways. *Physiol Plant*, 1997, 101: 740—745
- 46 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: 319—331
- 47 Spoel SH. NPR1 modulates cross-talk between salicylate- and jasmonate-dependent defense pathways through a novel function in the cytosol. *Plant Cell*, 2003, 15: 760—770
- 48 Gupta V, Willits MG, 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: 503—511
- 49 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: 500—507
- 50 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: 1341—1344
- 51 Bradley DJ, Kjellbom P, Lamb CJ. Elicitor- and wound-induced oxidative cross-linking of a proline rich plant cell wall protein: A novel, rapid defense response. *Cell*, 1992, 70: 21—30
- 52 Chamnongpol S, Willekens H, Moeder W, et al. Defense activation and enhanced pathogen tolerance induced by H₂O₂ in transgenic tobacco. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 5818—5823
- 53 Chen Z, Malamy J, Henning J, et al. Induction, modification, and transduction of the salicylic acid signal in plant defense responses. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92: 4134—4137
- 54 Levine A, Tenhaken R, Dixon R, et al. H₂O₂ from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response. *Cell*, 1994, 79: 583—593
- 55 Xu MJ, Dong J. O₂⁻ 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: 280—284
- 56 Creelman RA, Tierney ML, Mullet JE. Jasmonic acid/methyl jasmonate accumulation in wounded soybean hypocotyls and modulate wound gene expression. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89: 4938—4941
- 57 Dat J, Vandenabeele S, Vranova E, et al. Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. *Cell Mol Life Sci*, 2000, 57: 779—795
- 58 Jabs T, Tschöpe M, Colling C, et al. Elicitor-stimulated ion fluxes and O₂⁻ from the oxidative burst are essential components in triggering defense gene activation and phytoalexin synthesis in parsley. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94: 4800—4805
- 59 Xu MJ, Dong J. Nitric oxide mediates the fungal elicitor-induced Taxol biosynthesis of *Taxus chinensis* suspension cells through the reactive oxygen species-dependent and -independent signal pathways. *Chinese Science Bulletin*, 2006, 51(16): 1967—1975
- 60 Xu MJ, 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