

# 功能基因组学和代谢组学技术在植物次生代谢物合成及调控研究中的应用

王莉<sup>1,2</sup> 张艳霞<sup>1</sup> 史玲玲<sup>1</sup> 刘玉军<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>北京林业大学生物科学与技术学院 <sup>2</sup>西藏民族学院医学系)

**摘要:**植物次生代谢是植物在长期进化过程中与环境相互作用的结果,由初生代谢派生。萜类、生物碱类、苯丙烷类为植物次生代谢物的主要类型,其代谢途径多以代谢频道形式存在,具有种属、生长发育期等特异性。该文从植物次生代谢物的分类、代谢途径及代谢调控基因工程等方面展开论述,介绍了次生代谢物的生物合成途径,以及利用基因工程等技术对植物次生代谢途径进行遗传改良等方面的研究进展,为全面认识植物代谢网络、合理定位次生代谢及其关键酶、促进野生植物资源可持续利用等提供理论依据。

**关键词:**次生代谢, 次生代谢物, 合成及调控, 限速酶, 功能基因组学, 代谢组学

**中图分类号:**Q946.8 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-1522(2007)05-0153-07

WANG Li<sup>1,2</sup>; ZHANG Yan-xia<sup>1</sup>; SHI Ling-ling<sup>1</sup>; LIU Yu-jun<sup>1</sup>. **Application of functional genomic and metabolomic techniques to the studies on biosynthesis and regulation of plant secondary metabolites.**

*Journal of Beijing Forestry University* (2007) **29**(5) 153-159 [Ch, 45 ref.]

<sup>1</sup> College of Biological Sciences and Biotechnology, Beijing Forestry University, 100083, P. R. China;

<sup>2</sup> Department of Medicine, Tibet Institute for Nationalities, Xianyang City, Shaanxi Province, 712082, P. R. China.

Plant secondary metabolism is resulted from the interactions between plants and environment during the long-term evolution process, and is derived from the so-called primary metabolism. Terpenoids, alkaloids and phenylpropanoids are the three main types of plant secondary metabolites, whose metabolic pathways mostly exist in a way of metabolic channels, and the pathways possess the characteristics of species, genus and the phase of growth and development. The paper presents the discussions on the classification of plant secondary metabolites, the metabolic pathways and the gene engineering of metabolic regulations, in order to provide theoretical bases for comprehensively understanding the plant metabolism network, their reasonable positioning of secondary metabolism and its key enzymes, and for stimulating the sustainable exploration of wild plant resources. The discussions were emphasized on the biosynthetic pathways of the secondary metabolites and some other aspects including genetic improvement strategies on plant secondary metabolic pathways by gene-engineering technology. The paper also pays much more attention to expound the application perspectives of the functional genomic and metabolomic techniques to the studies on biosynthesis and regulation of plant secondary metabolites.

**Key words** secondary metabolism, secondary metabolites, biosynthesis and regulation, rate-limiting enzyme, functional genomics, metabolomics

植物的次生代谢(secondary metabolism)是植物在长期进化过程中、在维持其生命基本需求的初生

代谢(primary metabolism)的基础之上发展出的一套集积极适应与被动防御不良生境于一身,进而生存、

收稿日期:2007-03-20

<http://journal.bjfu.edu.cn>

基金项目:西藏自治区科技厅重大项目(2002-66)。

第一作者:王莉,博士生,讲师。主要研究方向:药用植物学。电话:010-62337855 Email: tibetanwl@163.com 地址:100083 北京林业大学生物科学与技术学院。

责任作者:刘玉军,教授。主要研究方向:植物光生物学、药用植物学。电话:010-62337855 Email: yjliubio@163.com 地址:同上。

生长良好的机制。植物次生代谢物 (secondary metabolite) 在植物生命活动的许多方面均起着重要作用, 而且许多植物次生代谢产物是植物生命活动所必需的<sup>[1]</sup>。例如, 吲哚乙酸、赤霉素、木质素、叶绿素、类胡萝卜素等都是植物在各种生理生化代谢过程中不可缺少的<sup>[2]</sup>。

中草药的药效成分源自众多具有特异次生代谢机制的药用植物。虽然中医药正逐渐在世界范围内得到认可, 但也面临着巨大挑战。挑战主要来自两个方面: 一方面, 以植物次生代谢物为主的药效成分的不明确一直影响中草药乃至中成药走出国门; 另一方面, 周边国家和地区在中草药成分鉴定、中成药成分量化方面已经超我们(如日本的汉方药)。因此搞清植物次生代谢途径, 并对其进行调控, 可实现有用目标代谢物 (targeted metabolite) 的定向生物生产, 进而加快中药现代化进程, 使中医药在人类健康问题发挥重要作用; 且对于解决粮食和生态安全等问题, 亦具有重要意义。

各种植物次生代谢产物的分类、代谢途径以及代谢机理等相关问题倍受研究者关注, 是植物生理学、植物化学等众多学科的主要研究内容之一。植物次生代谢物的产生和分布通常有种属、器官、组织和生长发育期的特异性。

## 1 植物次生代谢物的合成

### 1.1 萜类的生物合成

萜类化合物 (terpenoid) 是所有异戊二烯聚合物及其衍生物的总称<sup>[3]</sup>, 以异戊烷五碳类异戊二烯为基本单位, 又称类异戊二烯, 以侧链重复连接方式递增, 分开链式萜类和环萜类两种。萜类化合物的生物合成过程从属于异戊二烯代谢途径, 总体可分为4步:

1) 前体物质异戊烯二磷酸 (isopentenyl diphosphate, IPP) 的合成: IPP 或二甲丙烯二磷酸 (dimethylallyl diphosphate, DMAPP, IPP 的异构化产物) 为萜类合成的基本前体, 合成途径有两条, 即甲羟戊酸途径 (mevalonic acid pathway, MVA pathway) 和甘油醛磷酸/丙酮酸途径 (3-phosphate glyceraldehydes/pyruvate pathway, or 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate pathway, DXP pathway);

2) 异戊二烯二磷酸同系物的产生: IPP 在异戊烯基转移酶的作用下发生亲电子延伸反应, 使相应的中产物通过 C<sub>5</sub> 单位头对尾、头对头等方式连续加成形成异戊烯二磷酸同系物, 如法呢基二磷酸、牻牛儿基二磷酸、牻牛儿基二磷酸等烯丙二磷酸酯类物质, 是构成各类萜化合物的直接前体。现阶段

研究最为广泛的异戊烯基转移酶为法呢基二磷酸合酶<sup>[4]</sup>。

3) 萜类基本骨架的构建: 各类烯丙基二磷酸酯经特异性萜类合酶作用可产生各种萜类的碳骨架, 如植烯、鲨烯的形成等。

4) 骨架的次级酶修饰: 萜类碳骨架合成后, 需经过附加不同含氧官能团、共振结构和环化作用等次级修饰过程, 才可赋予萜类物质结构多样性、化学性质复杂性以及功能特异性等特征<sup>[5]</sup>。向萜类骨架引入氧原子的羟基化或环氧化反应, 多由细胞色素 P450 多功能氧化酶催化完成。

### 1.2 生物碱的生物合成

生物碱 (alkaloid) 属含氮有机次生代谢物中的最大一族, 主要包括异奎啉类、吲哚类和多炔类等。大约 20% 的有花植物都能产生生物碱, 目前已经分离到 12 000 余种, 其中许多种类是药用植物的有效成分。如喜树 (*Camptotheca acuminata*) 中的喜树碱为一种有效的抗癌药物; 罂粟 (*Papaver somniferum*) 中的可待因具有止痛、镇咳功效; 金鸡纳树 (*Cinchona officinalis*) 中的奎宁为传统的抗疟疾药物, 用来消除对其他抗疟疾药物产生的抗性; 长春花 (*Catharanthus roseus*) 中的长春花碱为抗肿瘤药物, 可用于治疗淋巴瘤等。

大多数生物碱分子都是由 L-氨基酸 (如色氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸和精氨酸等) 单独合成, 或者与类固醇、类裂环烯醚萜 (如次番木鳖苷) 或其他类萜配基结合生成。根据合成前体不同, 生物碱可分为真生物碱、伪生物碱和原生物碱。真生物碱和原生物碱都是氨基酸衍生物, 但后者不含杂氮环; 而伪生物碱则不来源于氨基酸, 是由萜类、嘌呤和甾类化合物转化而来。普通氨基酸经三羧酸循环一两次转变, 即可成为具高度特异性的生物碱合成前体。目前研究发现, 植物生物碱的主要类型为萜类吲哚生物碱、苄基异喹啉生物碱、莨菪碱、烟碱和嘌呤生物碱等, 这些生物碱在植物体内均有其特定的生物合成途径或以代谢频道形式存在。

萜类吲哚生物碱分子含有吲哚环和次番木鳖苷。异胡豆苷合酶是该类物质代谢途径的关键酶之一, 其中产物异胡豆苷, 是该途径重要的分支点, 可进一步转化为长春花碱、奎宁、番木鳖碱等多种同类生物碱; 四氢苯基异喹啉类生物碱合成途径的分支点为 (S)-网状番荔枝碱, 在特异性合酶的作用下可进一步合成黄连素、延胡索碱、吗啡等生物碱。烟碱和莨菪碱等生物碱的合成前体为鸟氨酸或精氨酸, 腐胺-N-甲基转移酶、托品酮还原酶、东莨菪胺羟基化酶等为该类物质生物合成的关键酶<sup>[6]</sup>。

### 1.3 苯丙烷类的生物合成

苯丙烷类(phenylpropanoid)或其衍生物广泛分布于约 250 000 种维管植物中,结构迥异,种类繁多,广泛参与调节生长发育、繁殖和防御等各种植物生理活动。黄酮类化合物泛指由 2 个芳香环(A 和 B)通过中央三碳链相互连接而成的以苯色酮环为基础结构的一系列化合物。目前已发现 4 500 多种异型分子,如花色素苷(色素)、原花色素或缩合鞣质(阻食剂或木材保护剂)、异黄酮类化合物(防御产物和/或信号分子)、查尔酮、橙酮、黄酮、黄酮醇等。简单酚类为含有 1 个羟基的苯环化合物,按其结构可分为 3 类,即①简单苯丙酸类化合物:具苯环-C<sub>3</sub> 基本骨架,如 *t*-桂皮酸、*p*-香豆酸、咖啡酸和阿魏酸等;②苯丙酸内酯类化合物,亦称香豆素 A 类,含苯环-C<sub>3</sub> 基本骨架,但 C<sub>3</sub> 与苯环通过氧化方式环化,如伞形酮、补骨脂内酯和香豆素等;③苯甲酸衍生物类:具有苯环-C<sub>1</sub> 基本骨架,例如水杨酸和香兰素等。许多简单酚类化合物在植物防御食草昆虫和真菌侵袭中起重要作用,某些成分还具有调节植物生长的作用。醌类化合物是一类由苯式多环烃碳氢化物(如萘、蒽等)衍生的芳香二氧化物,是植物呈色因子之一。根据其环系统可分为苯醌、萘醌和蒽醌。部分醌类具有抗菌、抗癌等功效,如胡桃醌和紫草宁。

苯丙烷类化合物生物合成的起始分子为芳香族氨基酸,即苯丙氨酸和酪氨酸。研究表明,在大多数植物苯丙烷类化合物代谢途径中包含两个基本途径,即莽草酸途径和丙二酸途径。莽草酸途径主要参与高等植物的苯丙烷类代谢,丙二酸途径则为真菌或细菌的合成途径。在高等植物体中,通过莽草酸途径可将赤藓糖-4-磷酸(磷酸戊糖途径)与磷酸烯醇式丙酮酸(糖酵解途径)结合,经中产物莽草酸转化为苯丙氨酸和酪氨酸。这两种芳香族氨基酸为苯丙烷类化合物生物合成的起始分子。由苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonia lyase, PAL)催化苯丙氨酸脱氨形成肉桂酸,进而转化为木质素单体的一系列过程,被公认为苯丙烷类化合物代谢的中心途径<sup>[7]</sup>。

## 2 植物次生代谢的调控

### 2.1 萜类的代谢调控

植物萜类化合物,如单萜、倍半萜以及双萜等高级萜类不仅拥有单独的合成途径,且具独特的酶促反应机制。植物萜类化合物的生物合成受关键酶与限速酶的调控,如转移酶、合酶、环化酶等<sup>[8]</sup>。其中,关键酶的表达决定代谢途径的启动及相关特定物质

的合成,而限速酶的表达则与物质的合成量相关。萜类合酶是萜类生物合成的关键酶,是研究萜类代谢途径的重点,目前主要研究方向为萜类合酶分子 DNA 序列分析。该酶具有多重特性,如一种植物中有多种萜类合酶基因<sup>[9-10]</sup>,其表达有时空特异性,在特定细胞和组织中表达,在生长发育的特定阶段表达,以及具防御反应诱导的瞬时表达等。但是,该合酶基因在植物中一般表达量较低,难于分离纯化。目前已从植物中得到约 100 个萜类合酶的 cDNA,已具备从一级结构分析萜类合酶的基础<sup>[11]</sup>。HMGR、各种萜类环化酶、鲨烯合成酶是萜类代谢途径的限速酶。代谢频道内多个相关酶活性的协同提高,往往可显著地提高次生代谢物的产量。如 1998 年 McMullen 等<sup>[12]</sup>通过 QTL 分析发现玉米黄酮甙的生物合成量的提高与各种酶活性的协同表达有关。

近年来,人们已拓宽了对萜类化合物代谢工程的研究策略,利用增加萜类代谢途径中限速步骤酶编码基因的拷贝数,或通过反义 RNA 和 RNA 干扰等技术,以增加灭活代谢途径中具有反馈抑制作用的编码基因,在不影响细胞基本生理状态的前提下,阻断或抑制与目的途径相竞争的代谢流;利用已有的途径构建新的代谢旁路,合成新的萜类化合物等。例如,将萜类代谢途径中的一系列关键酶基因导入大肠杆菌中可构建一条新的代谢途径,实现在无类胡萝卜素合成的大肠杆菌菌株中生成类胡萝卜素<sup>[13]</sup>。研究表明,部分大肠杆菌菌株经 DXP 途径可以合成少量的类胡萝卜素,通过基因工程增加此代谢途径中关键酶基因的拷贝数后其合成量明显提高<sup>[14-15]</sup>。

### 2.2 生物碱的代谢调控

植物生物碱代谢途径是一个动态的复杂过程<sup>[16]</sup>,既受到植物本身遗传背景和生长发育进程的调控,也受到病虫害侵染和取食、生态环境、营养水平、养分形态等各种诱发因子刺激的作用。已知的植物生物碱代谢频道中,其代谢途径往往受到在空间、区域和底物上的高度特异酶的调控。例如,生物碱长春多灵的生物合成过程分别在细胞质、液泡、液泡膜、内质网膜、类囊体膜等 5 个以上细胞区室内完成。苯基异喹啉生物碱的合成途径中黄连素桥酶及(S)-四氢原黄连素氧化酶都定位在由光滑内质网产生的小泡中,是一种微小粒体细胞色素 P450 依赖型氧化酶,具有高度底物特异性<sup>[17]</sup>。吲哚-3-甘油磷酸裂解酶、酪氨酸/多巴脱羧酶、小檗碱桥酶等可能是各类生物碱合成途径的限速酶,决定着生物碱的合成与积累量。托品酮还原酶、小檗碱桥酶、氧甲基转移酶等为催化合成生物碱中特定立体结构基本

骨架的专一性酶,而羟基化酶、脱氢酶和单氧化酶等修饰酶类,虽然对底物要求不高但可影响生物碱代谢的最终产物类型<sup>[18]</sup>。

植物次生代谢往往涉及多个酶基因的协同表达。增强关键酶基因转录因子或调节基因的拷贝数,可强化次生代谢多基因的协同表达,促进次生产物的合成,是植物次生代谢基因工程的新途径。目前,研究者已从长春花中分离得到茉莉酸诱导型的AP2区域转录因子ORCA3,该转录因子在长春花中的组成型表达,使得萜类吲哚生物碱关键酶的表达增强,目标产物合成量提高<sup>[19]</sup>。此外,通过强启动子与酶基因嵌合转化的基因添加方式也可提高控制特定生物碱合成的关键酶和限速酶的活性。例如将长春花中色氨酸脱羧酶和异胡豆苷合酶的嵌合基因连接到组成型启动子上,再转入长春花,转基因长春花培养细胞中萜类吲哚生物碱含量增加<sup>[20]</sup>;强化转基因植物中与生物碱合成有关的酪氨酸/多巴脱羧酶和色氨酸脱羧酶基因的协同表达,可减少吲哚芥子油苷的含量,增加吲哚生物碱的含量<sup>[21]</sup>。

### 2.3 苯丙烷类的代谢调节

苯丙烷中央代谢途径<sup>[22]</sup>及类黄酮<sup>[23]</sup>和异黄酮<sup>[24]</sup>合成支路均以代谢频道存在。例如,拟南芥细胞中的查耳酮合酶、查耳酮异构酶、黄烷酮-3-氢氧化酮酶和二氢黄酮醇还原酶之间相互联系形成多酶复合体<sup>[25]</sup>,黄烷酮-3-氢氧化酮酶、肉桂酸-4-羟基化酶、阿魏酰-5-羟基化酶等细胞色素P450酶多充当细胞膜“锚”的作用,将相关的酶组装固定在内质网膜上,从而构成了此类代谢途径的代谢频道<sup>[26-27]</sup>。研究表明,苯丙烷代谢途径中PAL、查耳酮合酶、芪合酶、异黄酮合酶等为形成特定立体结构的专一性酶,对底物具有较强的专一性。在大多数维管植物中苯丙氨酸是PAL偏爱的底物,但只有单子叶植物的PAL才可以同时利用苯丙氨酸和酪氨酸。黄烷酮-7-O-甲基转移酶、异黄酮-4-O-甲基转移酶、异黄酮(异黄烷酮)二甲烯丙基转移酶等为该途径的结构修饰酶类。PAL、肉桂酸-4-羟基化酶、4-香豆酰-CoA连接酶是苯丙烷类合成途径中的限速酶,位于代谢途径的分支点或者合成途径的下游,负责合成广义酚类物质的一般合成前体。

PAL是一种诱导酶,可受到多种因素的诱导。如低温、机械损伤、病原菌感染、光、毒素处理、昆虫取食等都可诱导PAL基因的表达。王莉等<sup>[28]</sup>利用不同光质条件对长鞭红景天(*Rhodiola fastigiata*)悬浮培养细胞进行较长时间的辐射处理,并检测其PAL活性的变化,通过比较分析得知长时间的红光处理有利于PAL酶活的提高。查耳酮合酶是将苯丙烷类

代谢途径引向黄酮类合成的第一个酶,该酶基因的表达也会受到病原菌的诱导,其活性受到植物激素、营养水平、光照、病原菌及机械损害等的影响。PAL位于初生代谢和次生代谢分界处,因此被定位为是苯丙烷类化合物代谢的中心酶。植物中,编码PAL的基因为单基因或一个多基因家族。分支酸是莽草酸途径的重要枢纽物质,将代谢分为色氨酸合成方向及苯丙氨酸和酪氨酸合成方向。

日益成熟的植物基因工程技术和苯丙烷类代谢产物重要应用价值的不断阐明,促进了苯丙烷类代谢途径基因工程的研究。目前,主要的研究策略体现在关键酶基因工程及调节基因或转录因子基因工程等方面,为提高限速酶活性或引入新的苯丙烷类代谢途径奠定了理论和技术基础。例如,He等<sup>[24]</sup>将IOMT基因与CaMV35S连接后转入苜蓿(*alfalfa*),可使其合成苜蓿素的速度较对照快,产量高,抗病水平显著提高。将花生芪合酶基因转入含反应底物的烟草细胞,可使外源基因表达并启动新途径合成芪类化合物,提高转基因植物的抗病水平。将拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)的IFS基因转入烟草(*Nicotiana tabacum*)和玉米(*Zea mays*)等非豆科(Leguminosae)植物,可将柚皮素转化为染料木黄酮、大豆黄素(仅存在于豆科植物体中)<sup>[29-30]</sup>等异黄酮类植保素<sup>[31]</sup>。此外,可通过反义基因的遗传转化抑制部分关键酶基因的表达,降低饲料和树木中木质素的含量,提高饲料的饲用价值和木材的造纸质量和效益<sup>[32]</sup>;可通过CCoAOMT(caffeoyl coenzyme A-3-O-methyltransferase)反义基因的遗传转化,有效降低转基因烟草中木质素的含量<sup>[33]</sup>。

## 3 功能基因组学及代谢组学技术在植物次生代谢研究中的应用

### 3.1 功能基因组学研究

随着研究的深入,只研究植物次生代谢产物的化学成分或是通过物理、化学的手段对植物的次生代谢进行调控,都不能弄清植物次生代谢途径,更谈不上从根本上对其进行有效调控。功能基因组学(functional genomics)作为一个崭新的研究领域,强调发展和应用整体的(基因组水平或系统水平)实验方法,分析基因组序列信息、阐明基因功能,特点是采用高通量的实验方法、结合大规模的数据统计计算方法进行研究。

拟南芥和水稻(*Oryza sativa*)等模式植物基因组序列的不断阐明,使开展大规模功能基因组学研究成为可能,从而极大地推进了拟南芥等模式植物次生代谢机制的研究进程,并为包括药用植物在内的

众多非模式植物的特异次生代谢机制研究提供了有效的途径. 在植物次生代谢研究方面也有一些关于功能基因组学的报道, 这些研究包括比较数量性状图谱的应用, 基于双向电泳技术的蛋白组学研究, 以及采用诸如差异显示(differential display)、表达序列标签数据库(EST databases)和微阵列(microarrays)等转录物分析工具开展的研究等. 尤其是 Goossens<sup>[34]</sup>等以烟草为实验材料于2003年建立、并于2005年进一步完善<sup>[35]</sup>了一套针对次生代谢开展大规模功能基因组学研究的技术. 该技术采用 cDNA<sup>-</sup> amplified fragment length polymorphism (cDNA<sup>-</sup> AFLP) 技术, 不需要基因组数据, 结合茉莉酮酸甲酯化学诱导过程中次生代谢基因的应答进程, 开展转录物图谱分析, 从烟草 BY-2 悬浮细胞中成功鉴定出近 600 个应答基因. 这一基于 cDNA<sup>-</sup> AFLP 的转录物图谱分析技术使针对基因组数据尚不完备乃至严重匮乏的非模式植物的特异次生代谢开展大规模功能基因组学研究成为可能, 推动了功能基因组学研究在植物次生代谢调控中应用. 可见, 通过功能基因组学的方法可以鉴别出一系列与植物次生代谢相关的基因, 并可进一步研究其功能, 从而可能从基因水平上对植物次生代谢进行调控.

### 3.2 代谢组学研究

一个细胞通常依赖许多代谢调节途径, 而且多条代谢途径时时发生各种变化, 产生各种各样的次生代谢产物. 因此, 近年来, 代谢物组学的研究和应用满足了对于多种代谢途径同时开展研究(即代谢网络研究)的需要. 代谢组学是关于生物体系内源代谢物质种类、数量及其变化规律的科学, 是研究生物整体、系统或器官的内源性代谢物质及其所受内在或外在因素影响的科学, 其目标是阐明植物的整体代谢网络及其调控机制. 以植物为研究对象的代谢组学就是植物代谢组学. 相对于传统的植物化学研究, 植物代谢组学研究不以分离鉴定植物中的某一单一成分为研究目的, 而是从整体出发, 系统、全面的研究植物中的所有次生代谢产物, 并研究其时空变化关系. 因此, 植物代谢组学的发展为植物次生代谢的研究提供了新的思路和技术, 是研究植物次生代谢的又一有效手段.

植物代谢组学充分应用了现代的先进技术和手段, 对特定植物中的所有代谢物进行全面的定性和定量分析. 代谢组学研究包括两个层面——仪器分析和数据分析. 仪器分析在植物代谢物组学研究中, 常常将多种技术联合应用以获得更多的代谢产物的信息. 现在被广泛使用的研究技术包括 GC/MS<sup>[36-38]</sup>、CLC/ESI/MS<sup>[39]</sup>、LC/NMR<sup>[40]</sup>、HPLC/PDA/ESI/

MS/MS<sup>[41]</sup>和 HNMR<sup>[42]</sup>等. 经过仪器分析, 会获取大量的、多维的信息, 数据分析就是要分析、挖掘所获得的数据中的潜在信息. 对数据的分析需要采用化学计量学的方法, 主要是通过数学算法对峰进行指认并分组, 整个过程的分析是非歧视的, 可以找出任何一个导致分组差异的物质, 无论是内源性的还是外源性的物质. 如主成分分析法(principal component analysis, PCA)<sup>[43-44]</sup>和神经网络(neural networks)等. 由于数据分析是否得当是代谢组学技术的关键, Bovy<sup>[45]</sup>研究小组以番茄(*Lycopersicon esculentum*)为材料于2005年建立起了一套代谢物图谱分析技术, 对94个基因型的番茄的次生代谢物开展了多变量质谱重建(multivariate mass spectral reconstruction), 并利用快速无偏比较多变量分析(fast and unbiased comparative multivariate analysis)方法, 从超过20 000个单一分子碎片中成功鉴定出322种次生代谢物, 实现了分析方法上的突破.

植物代谢组学的研究在一定程度上实现了对植物次生代谢网络的深入研究, 但总体来说, 植物代谢组学还在不断发展, 还将产生许多有效的研究手段和数据分析方法, 能更有效的研究植物次生代谢途径, 并进一步对代谢途径进行调控.

植物次生代谢途径的基本框架已初步探明, 在代谢途径调控、代谢工程及功能基因组学、代谢组学的研究方面中也已取得了不少进展. 同时随着“组学”的深入发展, 必将给植物次生代谢网络的研究带来新的技术手段, 一些未知代谢机制将被进一步揭示; 但是单纯的“组学”研究, 包括单纯的功能基因组学或是代谢组学研究, 最终都不能从根本上弄清植物的次生代谢网络. 因此将多种研究方法和技术手段结合起来, 尤其将功能基因组学与代谢组学技术结合起来, 将是研究植物次生代谢网络的一条新途径.

### 参 考 文 献

- [1] KUTCHAN T M. Ecological arsenal and developmental dispatcher: The paradigm of secondary metabolism [J]. *Plant Physiology*, 2001, 125: 58-60.
- [2] 付洋, 王洋, 阎秀峰. 萜类化合物的生理生态功能及经济价值 [J]. *东北林业大学学报*, 2003, 31(6): 59-62.  
FU Y, WANG Y, YAN X F. The eco-physiological function and economic value of terpenoids [J]. *Journal of Northeast Forestry University*, 2003, 31(6): 59-62.
- [3] 肖崇厚. 中药化学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1991: 323-374.  
XIAO C H. *Chinese pharmaceutical chemistry* [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1991: 323-374.
- [4] 赵玉军, 叶和春, 李国风, 等. 优系青蒿法呢基焦磷酸合酶基因的克隆和酶学分析[J]. *科学通报*, 2003, 48(2): 162-166.

- ZHAO Y J, YE H C, LI G F, *et al.* The cloning of major line artemisia annual Farnesyl Pyrophosphate Synthase (*fps*) gene and enzymology analysis [J]. *Chinese Science Bulletin*, 2003, 48(2): 162-166.
- [5] GERSHENZON J. Metabolic costs of terpenoid accumulation in higher plant [J]. *J Chem Ecol*, 1994, 20: 1 281-1 328.
- [6] FACCHINI P J, HUBER ALLANACH K L, TARI L W. Plant aromatic L-amino acid decarboxylases: evolution, biochemistry, regulation, and metabolic engineering applications [J]. *Phytochemistry*, 2000, 54(2): 121-138.
- [7] TAI Z L, ZEIGER E. *Plant physiology* [M]. 4th ed. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, Inc., Publishers, 2006.
- [8] CANE D E. Comprehensive natural products chemistry [C]// *Proceedings of isoprenoid biosynthesis*. Oxford: Pergamon, 1998.
- [9] BOHLMANN J, CROTEAU R. Diversity and variability of terpenoid defences in conifers; Molecular genetics, biochemistry and evolution of the terpene synthase gene family in grand fir (*Abies grandis*) [J]. *Novartis Found Symp*, 1999, 223: 132-145.
- [10] BOHLMANN J, PHILLIPS M, RAMACHANDIRAN V, *et al.* cDNA cloning, characterization, and functional expression of four new monoterpene synthase members of the *Tpsd* gene family from grand fir (*Abies grandis*) [J]. *Arch Biochem Biophys*, 1999, 368: 232-243.
- [11] 杨涛, 曾英. 植物萜类合酶研究进展 [J]. 云南植物研究, 2005, 27(1): 1-10.
- YANG T, ZENG Y. Plant terpenoid synthases: Molecular biology and genetic engineering [J]. *Acta Botanica Yunnanica*, 2005, 27(1): 1-10.
- [12] MCMULLEN M D, BYRNE P F, SNOOK M E, *et al.* Quantitative trait loci and metabolic pathways [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 1 996-2 000.
- [13] WANG C W, OH M K, LIAO J C. Engineered isoprenoid pathway enhances astaxanthin production in *Escherichia coli* [J]. *Biotechnol Bioeng*, 2000, 62(2): 235-241.
- [14] LEE P C, MIJTS B N, SCHMIDT-DANNERT C. Investigation of factors influencing production of the monocyclic carotenoid torulene in metabolically engineered *Escherichia coli* [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2004, 65: 538-546.
- [15] SCHMIDT-DANNERT C, UMENO D, ARNOLD F H. Molecular breeding of carotenoid biosynthetic pathways [J]. *Nat Biotechnol*, 2000, 18(7): 750-753.
- [16] 何水林, 郑金贵, 王晓峰, 等. 植物次生代谢: 功能、调控及其基因工程 [J]. 应用与环境生物学报, 2002, 8(5): 558-563.
- HE S L, ZHENG J G, WANG X F, *et al.* Plant secondary metabolism: function, regulation and gene engineering [J]. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology*, 2002, 8(5): 558-563.
- [17] KELLER H, CZERNIC P, PONCHET M, *et al.* Sesquiterpene cyclase is not a determining factor for elicitor and pathogen-induced capsidiol accumulation in tobacco [J]. *Planta*, 1998, 205: 467-476.
- [18] HASHIMOTO T, NAKAJIMA K, ONGENA G, *et al.* Two tropinone reductases with distinct stereospecificities from cultured roots of *Hyoscyamus niger* [J]. *Plant Physiol*, 1992, 100: 836-845.
- [19] VAN DER FITS L, MEMELINK J. ORCA3, a jasmonate-responsive transcriptional regulator of plant primary and secondary metabolism [J]. *Science*, 2000, 289: 295-297.
- [20] CANEL C, LOPES-CARDOSO M I, WHITMER S, *et al.* Effects of over-expression of strictosidine synthase, and tryptophan decarboxylase on alkaloid production by cell cultures of *Catharan thus rosues* [J]. *Planta*, 1998, 205: 414-419.
- [21] FACCHINI P J. Alkaloid biosynthesis in plants: biochemistry, cell biology, molecular regulation, and metabolic engineering applications [J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 2001, 52: 29-66.
- [22] RASMUSSEN S, DIXON R A. Transgene-mediated and elicitor-induced perturbation of metabolic channeling at the entry point into the phenylpropanoid pathway [J]. *Plant Cell*, 1999, 11: 1 537-1 551.
- [23] BURBULIS I E, WINKEL-SHIRELEY B. Interactions among enzymes of the *Arabidopsis* flavonoid biosynthetic pathway [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96: 12 929-12 934.
- [24] HE X Z, DIXON R A. Genetic manipulation of isoflavone 7-O-methyl transferase enhances biosynthesis of 4'-O-methylated isoflavonoid phytoalexins and disease resistance in *Alfalfa* [J]. *Plant Cell*, 2001, 13: 1 689-1 702.
- [25] DONG X Y, BRAUN E L, GROTEWOLD E. Functional conservation of plant secondary metabolic enzymes revealed by complementation of *Arabidopsis* flavonoid mutants with maize genes [J]. *Plant Physiol*, 2001, 127: 46-57.
- [26] WINKEL-SHIRLEY B. Flavonoids biosynthesis: A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology [J]. *Plant Physiol*, 2001, 126: 485-493.
- [27] DIXON R A, CHEN F, GUO D, *et al.* The biosynthesis of monolignols: "ametabolic grid", or independent pathways to guaiacyl and syringyl units? [J]. *Phytochemistry*, 2001, 57: 1 069-1 084.
- [28] 王莉, 史玲玲, 刘玉军. 不同光质对长鞭红景天悬浮细胞生长及苯丙氨酸解氨酶 PAL 的影响 [J]. 林业科学, 2007, 43(6): 49-51.
- WANG L, SHI L L, LIU Y J. Effects of different light treatments on growth and PAL activity of the suspension-cultured cells of *Rhodiola fastigiata* [J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2007, 43(6): 49-51.
- [29] DIXON R A, STEELE C L. Flavonoids and isoflavonoids: A gold mine for metabolic engineering [J]. *Trends Plant Sci*, 1999, 4: 394-400.
- [30] LIU C J, DEAVOURS B E, RICHARD S B, *et al.* Structural basis for dual functionality of isoflavonoid O-methyltransferases in the evolution of plant defense responses [J]. *Plant Cell*, 2006, 18: 3 656-3 669.
- [31] YU O, JUNG W, SHI J, *et al.* Production of the isoflavones genistein and daidzein in non-legume dicot and monocot tissues [J]. *Plant Physiol*, 2000, 124: 781-793.
- [32] BAUCHER M, MONTIES B, VAN MONTAGU M, *et al.* Biosynthesis and genetic engineering of lignin [J]. *Crit Rev Plant Sci*, 1998, 17: 125-197.
- [33] ATANASSOVA R, FAVET N, MARTIZ F, *et al.* Altered lignin composition in transgenic tobacco expressing O-methyl transferase sequences in sense and antisense orientation [J]. *Plant J*, 1995, 8: 465-477.
- [34] GOOSSENS A, THAKKIN N S, LAAKSO I, *et al.* A functional genomics approach toward the understanding of secondary metabolism in plant cells [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 8 595-8 600.
- [35] WOLUCKA B A, GOOSENENS A, LINZ D. Methyl jasmonate stimulates in the *de novo* biosynthesis of vitamin C in plant cell suspensions [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2005, 419(56):

- 2 527-2 538.
- [36] FIEHN O, KOPKA J, DORMANN P, *et al.* Metabolite profiling for plant functional genomics [J]. *Nat Biotechnol*, 2000, 18 (11): 1 157-1 161.
- [37] NARASIMHAN K, BASHEER C, BAJIC V B, *et al.* Enhancement of plant-microbe interactions using a rhizosphere metabolomics-driven approach and its application in the removal of polychlorinated biphenyls [J]. *Plant Physiol*, 2003, 132 (1): 146-153.
- [38] FIEHN O. Metabolic networks of *Cucurbita maxima* phloem [J]. *Phytochem*, 2003, 62 (6): 875-886.
- [39] TOLSTIKOV V V, LOMMEN A, NAKANISHI K, *et al.* Monolithic silica-based capillary reversed-phase liquid chromatography electrospray mass spectrometry for plant metabolomics [J]. *Anal Chem*, 2003, 75 (23): 6 737-6 740.
- [40] DAVISA L, GALL G L, COLQUHOUN I J, *et al.* Characterization and content of flavonoid glycosides in genetically modified tomato (*Lycopersicon esculentum*) fruits [J]. *Agr Food Chem*, 2003, 51 (9): 2 438-2 446.
- [41] HUHMANN D V, SUMNER L W. Metabolic profiling of saponins in *Medicago sativa* and *Medicago truncatula* using HPLC coupled to an electrospray ion-trap mass spectrometer [J]. *Phytochem*, 2002, 59 (3): 347-360.
- [42] WARD J L, HARRIS C, LEWIS J, *et al.* Assessment of H-1 NMR spectroscopy and multivariate analysis as a technique for metabolite fingerprinting of *Arabidopsis thaliana* [J]. *Phytochem*, 2003, 62 (6): 949-957.
- [43] VON ROEPENACK-LAHAYE E, DEGENKOLB T, ZERJESKI M, *et al.* Profiling of *Arabidopsis* secondary metabolites by capillary liquid chromatography coupled to electrospray ionization quadrupole time of flight mass spectrometry [J]. *Plant Physiol*, 2004, 134(2): 548-559.
- [44] CHOI H K, CHOI Y H, VERBERNE M, *et al.* Metabolic fingerprinting of wild type and transgenic tobacco plants by H-1 NMR and multivariate analysis technique [J]. *Phytochem*, 2004, 65 (7): 857-864.
- [45] SALZMAN R A, BRADY J A, FINLAYSON S A, *et al.* Transcriptional profiling of sorghum induced by methyl jasmonate, salicylic acid, and aminocyclopropane carboxylic acid reveals cooperative regulation and novel gene responses [J]. *Plant Physiology*, 2005, 138:352-368.

(责任编辑 赵 勃)

## 《中国林学(英文版)》征稿启事

《中国林学(英文版)》(Forestry Studies in China)始创于1992年,是一份由北京林业大学主办的全英文刊物,目前为季刊,大16开本。主要发表研究论文、简报、综述。内容包括森林生态学、森林培育学、森林经理学、林木遗传与育种、林木生理学、森林病虫害防治、森林资源信息管理、林业经济学以及林业相关学科(如水土保持科学、木材科学与技术、林产品加工)等,面向国内外征稿。

《中国林学(英文版)》致力于促进国内外林业领域科研人员的学术交流,缩短中国与其他国家在相关领域的差距。本刊从2007年开始与全球著名的学术出版机构——德国Springer出版社正式合作出版,全文链接于SpringerLink数据库,并委托其代理本刊在中国大陆以外地区的发行权,进一步加快了本刊的国际化步伐。详细信息请登录<http://www.springer.com/journal/11632>。

《中国林学(英文版)》为中国科学技术信息所核心刊物、中国期刊网全文数据库、万方数据库刊源期刊。目前收录、检索本刊的国外著名的检索机构、数据库有CA(美国化学文摘)、AJ(俄罗斯文摘杂志)、CABI(国际农业与生物科学中心)等。

地址:北京市清华东路35号北京林业大学148信箱《中国林学(英文版)》编辑部

邮编:100083

电话:010-62337915

Email:pjcheng@bjfu.edu.cn