

## 植物天然产物与合成生物学

罗杰<sup>1</sup>, 王勇<sup>2</sup>, 郑亚洁<sup>3</sup>, 黄继荣<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup>华中农业大学生命科学技术学院, 武汉430070; <sup>2</sup>中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所, 上海200032; <sup>3</sup>中国植物生理与植物分子生物学学会, 上海200031; <sup>4</sup>上海师范大学生命与环境科学学院, 上海200234

天然产物一般指分子量小于2 000 Da的小分子代谢物, 广泛存在于动物、植物、微生物等各种生物中。天然产物数量非常巨大, 据估计仅植物中的天然产物就多达上百万种, 主要为次生代谢物。一般认为, 初生代谢物是维持生命活动和生长发育所必需的, 而次生代谢物主要参与生物与环境的应答过程。天然产物种类繁多, 结构各异、含量差异很大, 使之成为生物合成及调控的理想材料, 但其复杂性也对天然产物研究提出了严峻的挑战。近年来, 随着天然产物分析技术的发展, 特别是基于质谱及核磁共振的代谢谱分析的发展, 通过代谢组学与其他组学技术(如转录组学、基因组学)的整合, 天然产物研究在功能基因鉴定、代谢途径解析及自然变异的遗传分析等方面都取得了较大的进展。

天然产物, 特别是来自植物的天然产物, 一直是合成生物学的研究热点。通过合成生物学的思路与技术, 在微生物细胞中快速高效地获得珍稀植物的活性成分, 不仅大大降低了天然药物的生产成本, 也为保护珍稀植物资源、药用植物开发、药物开发提供了新的途径。Peplow (2016)在*Nature*上撰文指出酵母发酵合成青蒿酸虽然是微生物合成生物学的里程碑之一, 但生产成本比青蒿(*Artemisia annua*)种植提取法高50%, 产业化竞争力不足, 难以推进, 也从一个侧面说明植物合成生物学的必要性, 以及植物底盘在生产复杂次生代谢物方面的优势。近年来, 研究人员已经开始尝试在植物体内通过重组代谢途径合成有价值的复杂代谢物中间体或终产物。

### 1 植物天然产物代谢途径研究中的新技术、新方法与新成果

随着RNA测序(RNA sequencing, RNA-seq)技术的发展, 通过代谢组与转录组数据关联分析也有不少成功的案例。Winzer等(2012)以罂粟(*Papaver somniferum*)为材料, 对靶向代谢组学和RNA测序技术获得的转录组数据进行关联分析, 发现了一

个参与吗啡生物合成的基因簇(由分属于5个酶家族的10个基因组成), 并利用基因沉默技术验证了其中6个基因的功能。同样利用“共表达”(co-expression)的研究策略, Geu-Flores等(2012)从甘草(*Glycyrrhiza uralensis*)中鉴定了参与甘草甜素(glycyrrhizin)合成的两个细胞色素P450基因。

高通量测序技术快速发展, 使研究者很容易获得植物基因组和转录组的大量信息, 为解析植物次生代谢途径提供了有力工具, 推动了植物活性代谢物合成生物学的发展。例如Sotirios等在酵母中建立了植物源二萜鼠尾草酸的片段化生物合成途径, 并以酵母作为功能筛选平台, 鉴定了鼠尾草酸生物合成所需要的4个细胞色素羟化酶基因, 阐明了鼠尾草酸的生物合成途径(Ignea等2016)。Qu等(2015)通过分析长春花(*Catharanthus roseus*)叶片表皮细胞表达序列标记(expressed sequence tag, EST)数据并结合病毒诱导的基因沉默技术鉴定了长春新碱生物合成途径中的3个酶编码基因, 并证明了不同的中间体在植物叶片的不同组织中合成。

近年来, 我国科学家在药用植物基因组学研究和次生代谢途径解析方面取得了显著进展。如中国医学科学院药用植物研究所陈士林课题组已完成赤芝(*Ganoderma lucidum*)、茯苓(*Wolfiporia cocos*)、丹参(*Salvia miltiorrhiza*)、人参(*Panax ginseng*)、三七(*Panax notoginseng*)等药用植物种的基因组精细图绘制或转录组学研究; 中国中医科学院黄璐琦等课题组部分解析了丹参酮的生物合成途径中的miltiradiene合成酶、*CYP76AH1*、*CYP76AH3*、*CYP76AK1*等基因功能, 并获得了中间体(Guo等2016)。中国农业科学院蔬菜花卉研究所黄三文课题组通过对黄瓜(*Cucumis sativus*)全基因组关联分析, 发现黄瓜中葫芦素(cucurbitacin)合

收稿 2017-01-19 修定 2017-06-03

资助 国家重点基础研究发展计划(973计划)(2013CB127000)。

\* 通讯作者(E-mail: huangjr@shnu.edu.cn)。

成途径基因簇, 以及调控葫芦素合成途径的转录因子Bl和Bt (Shang等2014)。中科院合成生物学重点实验室通过解析和挖掘贝壳杉烯母核四环二萜类化合物生物合成途径中的未知基因, 重构了甜菊苷类化合物的合成途径, 实现了该类化合物的合成生物学制造; 通过挖掘鉴定UDP-糖基转移酶元件, 在酵母底盘细胞实现了从单糖到稀有人参皂苷CK (compound K)的生物合成, 并已开始进行药物转化相关研究。此外, 通过代谢组学与基因组学的结合进行代谢相关基因的克隆及鉴定是该领域另一项重要进展。华中农业大学罗杰课题组利用广泛靶向代谢分析对524份不同水稻(*Oryza sativa*)品种中超过800个代谢物进行定量分析, 研究了水稻代谢组的自然变异。在此基础上通过代谢物含量与基因型数据的全基因组关联分析, 预测了36个代谢相关基因的功能, 并对其中的5个进行了功能验证; 进而重构了水稻中包括类黄酮、酚胺等在内的多个代谢途径(Chen等2014)。

## 2 植物天然产物代谢研究中的瓶颈问题

植物次生代谢物种类繁多且结构复杂, 虽然大多具有共同的前体合成途径, 但后修饰具有高度特异性和多样性, 这些酶的编码基因通常不是成簇存在于植物基因组, 因此需要逐个解析。从大量基因中快速找到特定合成途径基因并鉴定催化功能是植物合成学领域的重点之一, 也是该领域的难点。到目前为止, 生物合成途径完全得以解析的植物活性代谢物还很少。这些关键合成酶编码基因的缺失, 正成为植物活性次级代谢物异源合成的最大障碍。如一线抗肿瘤药物紫杉醇的途径上还缺少4~5步关键酶基因, 青蒿素过氧桥的形成还未知等。在合成生物学方面, 多数研究以单细胞微生物为底盘, 取得了有限的突破, 但仍然存在许多问题, 如对特定化合物生物合成途径的解析不够, 尚未能解析最终活性产物的合成途径; 由于微生物底盘的局限性, 如对植物来源的细胞色素P450酶系表达性差、对活性产物的耐受性差等原因, 多数体系不能获得最终的活性产物或产量很低。植物细胞中存在复杂的膜结构和细胞器, 其中的代谢途径高度区域化, 同一途径中的酶经常分布在不同的内膜系统中, 代谢中间产物需要运输和扩散到其他结构中才能完成代谢过程。目

前对于植物细胞内中间体化合物的运输和扩散机制, 以及不同细胞器中的酶如何协同高效地进行催化了解很少。此外, 不同细胞器和内膜系统中的pH值、氧化还原环境、离子环境、辅酶种类和浓度都不完全相同, 在代谢网络分析和建模时不仅需要考虑优化基因表达强度和蛋白丰度, 还要考虑酶的亚细胞定位和周围环境, 增加了植物合成生物学设计和建模的难度, 这些都是目前迫切需要解决的问题。

## 3 未来我国植物代谢研究领域中的重要方向

我国科学家在天然产物及合成生物学方面的研究经过长期的积累, 特别是近年来的快速发展, 总体研究水平与国际本领域学科发展水平差距不大, 部分领域还处于领先地位。将来在充分利用我国丰富的植物、动物、微生物资源, 深入解析并深度开发天然产物资源等方面还有巨大的发展潜力。随着我国经济社会的发展, 特别是人民生活水平的提高带来的营养及健康方面的需求, 对于天然产物的开发和利用将越来越受到关注和期待。未来应加强利用与人类营养健康密切相关的天然产物, 包括中药资源在内的传统药用(含药食同源)植物天然产物的开发及利用等方面的基础理论与产业化研究。

根据国际本领域发展现状及趋势, 结合我国本领域的实际, 提出如下可能取得突破的方向:

- (1)高通量天然产物检测体系的开发。
- (2)作物重要健康品质相关天然产物代谢途径解析及调控研究。
- (3)重要药(食)用天然产物代谢途径解析及调控研究。

## 参考文献

- Chen W, Gao Y, Xie W, Gong L, Lu K, Wang W, Li Y, Liu X, Zhang H, Dong H, et al (2014). Genome-wide association analyses provide genetic and biochemical insights into natural variation in rice metabolism. *Nat Genet*, 46 (7): 714-721
- Geu-Flores F, Sherden NH, Courdavault V, Burlat V, Glenn WS, Wu C, Nims E, Cui Y, O'Connor SE (2012). An alternative route to cyclic terpenes by reductive cyclization in iridoid biosynthesis. *Nature*, 492 (7427): 138-142
- Guo J, Ma X, Cai Y, Ma Y, Zhan Z, Zhou YJ, Liu W, Guan M, Yang J, Cui G, et al (2016). Cytochrome P450 promiscuity leads to a bifurcating biosynthetic pathway for tanshinones. *New Phytol*, 210: 525-534

- Ignea C, Athanasakoglou A, Ioannou E, Georgantea P, Trikkas FA, Loupassaki S, Roussis V, Makris AM, Kampranis SC (2016). Carnosic acid biosynthesis elucidated by a synthetic biology platform. *Proc Natl Acad Sci USA*, 113 (13): 3681–3686
- Peplow M (2016). Synthetic biology's first malaria drug meets market resistance. *Nature*, 530 (7591): 389–390
- Qu Y, Easson MLAE, Forese J, Simionescu R, Hudlicky T, De Luca V (2015). Completion of the seven-step pathway from tabersonine to the anticancer drug precursor vindoline and its assembly in yeast. *Proc Natl Acad Sci USA*, 112 (19): 6224–6229
- Shang Y, Ma Y, Zhou Y, Zhang H, Duan L, Chen H, Zeng J, Zhou Q, Wang S, Gu W, et al (2014). Biosynthesis, regulation, and domestication of bitterness in cucumber. *Science*, 346 (6213): 1084–1088
- Winzer T, Gazda V, He Z, Kaminski F, Kern M, Larson TR, Li Y, Medade F, Teodor R, Vaistij FE, et al (2012). A *Papaver somniferum* 10-gene cluster for synthesis of the anticancer alkaloid noscapine. *Science*, 336 (6089): 1704–1708

## Plant natural products and synthetic biology

LUO Jie<sup>1</sup>, WANG Yong<sup>2</sup>, ZHENG Ya-Jie<sup>3</sup>, HUANG Ji-Rong<sup>4,\*</sup>

<sup>1</sup>College of Life Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China; <sup>2</sup>Institute of Plant Physiology and Ecology, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200032, China; <sup>3</sup>Chinese Society for Plant Biology, Shanghai 200031, China; <sup>4</sup>College of Life and Environmental Sciences, Shanghai Normal University, Shanghai 200234, China

Received 2017-01-19 Accepted 2017-06-03

This work was supported by the National Key Basic Research Program of China (Program 973) (Grant No. 2013CB127000).

\*Corresponding author (E-mail: huangjr@shnu.edu.cn).