

RT-PCR 技术在中药及其活性成分作用机制研究中的应用

杨丽敏, 陆 阳*

(上海第二医科大学 化学教研室, 上海 200025)

摘 要: RT-PCR 是近 10 年内中药及其活性部位、活性成分药用研究中应用的分子生物学技术之一, 它对于研究中药及其有效成分的作用机制、阐明中药药性理论及其可能的物质基础、建立分子水平上的中药活性检测系统, 或以受体和基因为靶点寻找新药具有重要的意义。对 RT-PCR 技术在中草药复方、单味药及其活性成分的药理活性和临床药用分子机制研究中的应用作一综述, 为传统中药的开发和寻找新药提供理论依据和实验基础。

关键词: 逆转录聚合酶链反应; 中药; 作用机制

中图分类号: R285.52

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2004)08-0956-04

Application of RT-PCR to study of effects and mechanism on Chinese materia medica and their bioactive components

YANG Li-min, LU Yang

(Department of Chemistry, Shanghai Second Medical University, Shanghai 200025, China)

Key words: RT-PCR; Chinese materia medica; mechanism

逆转录聚合酶链反应 (RT-PCR) 是国内外近几年来在天然药物活性研究中的应用的现代生物学技术之一。它对于研究中药及其有效成分的作用机制、阐明中药药性理论及其可能的物质基础、建立分子水平上的中药活性检测系统, 或以受体和基因为靶点寻找新药具有重要的意义。这方面的研究大多以细胞为试验对象, 用 RT-PCR 来测定药物对靶基因 mRNA 表达水平的影响。该方法快速灵敏, 可测定从 1 个到 10^6 个细胞中的 mRNA。该方法是从细胞中提取总 RNA, 用逆转录酶将其中的全部 mRNA 逆转录为 cDNA, 然后用靶基因的特异性引物经聚合酶链反应扩增特异性 cDNA, 扩增后的产物在 2% ~ 3% 琼脂糖凝胶上电泳, 再经染色, 观察 cDNA 并由此了解细胞中特异性 mRNA 的量。本文仅对 RT-PCR 技术在中药及其活性成分的药理活性和临床药用分子机制研究中的应用作一综述。

1 抗肿瘤作用的研究

RT-PCR 技术用于中药复方、单味药及其活性成分的抗癌作用方面的研究报道较多。Zhao 等^[1]在研究健脾中药成方四君子汤及以四君子汤为基础的中药复方 SRRS 水煎剂治疗胃癌的机制中, 给移植了人胃癌细胞的裸鼠分别服用以上两药, 40 d 后处死, 用 RT-PCR 技术半定量检测 p53 和 Bcl-2 的表达, 两种成方均下调突变型 p53 mRNA 的表达, SRRS 还能够抑制 Bcl-2 的表达, 从而得出结论: 四君子汤和 SRRS 抑制胃癌细胞增长的作用与 p53 和 Bcl-2 基因异常表达引起的细胞凋亡有关。在以人前列腺癌细胞系 LNCaP 细胞为试验对象, 应用 RT-PCR 对前列腺癌有治疗作用的中药复方和有效成分进行研究, Liu 等^[2]

发现人参皂苷 Rg3 (ginsenoside Rg3) 剂量依赖性地抑制前列腺特异性抗原 (PSA)、雄激素受体 (AR) 和 5-还原酶这 3 个前列腺标记基因的表达; 而人参皂苷 Rg3 对 4 个细胞周期基因的影响表现为 PCNA 和 Cyclin D1 下调, p21 和 p27 增加; 较高剂量 (250 $\mu\text{mol/L}$) 的人参皂苷 Rg3 抑制 Bcl-2 表达, 而活化 caspase-3。因此认为人参皂苷 Rg3 对雄激素依赖型 LNCaP 细胞具有多重抗增殖作用: 抑制睾丸酮的 5 位还原, 阻止细胞增殖和诱导 Caspase-3 介导的凋亡。Hsieh 等^[3]证实许多前列腺癌患者服用的中药复方 PC-SPES (由菊花、菘蓝、甘草、灵芝、三七等 8 味药组成) 的乙醇提取物能够剂量依赖性抑制 PSA 和 AR 的 RNA 水平, 而从该复方中分离到的抗前列腺癌活性成分黄芩素 (baicalein) 仅抑制 PSA 的表达, 说明单一成分黄芩素不能解释复方 PC-SPES 综合的生物活性作用。大戟科植物叶下株 *Phyllanthus urinaria* 的水提物可以抑制 Lewis 肺癌细胞 (LLC) 的增长, 其抗癌活性是由于诱导 LLC 的凋亡。Huang 等^[4]为了阐明其作用的分子机制, 用 RT-PCR 分析了在叶下珠诱导 LLC 细胞凋亡时, p53、p21、Bax 和 Bcl-2 的基因表达, 发现只有 Bcl-2 基因表达呈剂量依赖性下调, 这导致了 Bax/Bcl-2 比值的相对增加, 该变化与叶下珠诱导 LLC 细胞凋亡密切相关。黄连 *Rhizoma Coptidis* 含有丰富的小檗碱 (berberine), 具有抗癌活性。Iizuka 等^[5]在黄连和小檗碱接种了 colon 26/clone 20 腺癌细胞的小鼠的抗癌恶病质的研究中, 发现黄连及其主要成分小檗碱体外均剂量依赖性抑制由 IL-1 诱导的 colon 26/clone 20 细胞中 IL-6 mRNA 的表达, 因此黄连抗恶病质作用可能是由于服用了该中药后肿瘤细胞中

* 收稿日期: 2003-10-17

作者简介: 杨丽敏 (1957—), 女, 浙江绍兴人, 副教授, 1982 年毕业于合肥工业大学化学系, 现为上海第二医科大学药物化学专业在读硕士研究生, 主要从事作用于 M₁ 受体药物研究。Tel: (021) 63846590-776467 E-mail: hxyanglm@shsmu.edu.cn

IL-6 的转录受到抑制,并提示其作用是由小檗碱所致。Wu 等^[6]在研究柴胡皂苷 a(saikosaponin a)诱导的肝癌细胞系 Hep G2 增长停止过程中细胞周期分子的变化情况时,用 RT-PCR 法对 Hep G2 细胞中的细胞周期有关分子和 c-myc 原癌基因 mRNA 水平进行半定量分析,结果显示经柴胡皂苷处理 12 和 24 h 的细胞与未处理的细胞相比,p15^{INK4b} mRNA 增加 8~10 倍,p16^{INK4a} mRNA 增加了 3~4 倍,p27^{KIP1}增加很小,而 p21 和其他相关基因未观察到变化,结合 Western blotting 的结果,认为柴胡皂苷 a 抑制 Hep G2 细胞增长与 p15^{INK4b}和 p16^{INK4a}基因的表达有关。

2 抗炎作用的研究

Padma 28(由 19 种草药组成)是传统藏药中常用的具有抗炎作用的中药复方,Moesinger 等^[7]研究了 Padma 28 对脂多糖刺激的小鼠巨噬细胞(RAW 264.7)中诱导型一氧化氮合成酶(iNOS)合成 NO 的影响,RT-PCR 结果为 iNOS mRNA 呈剂量依赖性减少,这可能是由于 iNOS 基因的转录受到抑制和(或) iNOS mRNA 被降解,因 iNOS 表达被抑制而使 NO 的合成减少可能是 Padma 28 抗炎作用的原因。Suk 等^[8]在研究黄芩素的抗炎和抗氧化剂作用机制时,RT-PCR 分析发现经黄芩素处理的 BV-2 细胞不改变炎症诱导的蛋白酶 caspase-11 的表达,从而排除了通过抑制炎症激活的小胶质细胞的 caspase-11 依赖性凋亡途径的作用机制。Su 等^[9,10]以 WBN/Kob 大鼠为对象应用半定量 RT-PCR 方法研究柴胡桂枝汤对慢性胰腺炎的治疗作用,柴胡桂枝汤抑制胰腺炎关联蛋白、转化生长因子 TGF- β 和纤维结合蛋白 FN 的表达,可分别解释其抗炎作用和防止纤维化作用。Yu 等^[11]报道了人参皂苷对老年鼠慢性炎症模型海马神经元中 IL-1 和 IL-6 mRNA 表达的影响,根据半定量 RT-PCR 结果得出结论:海马神经元中 IL-1 和 IL-6 mRNA 水平随着年龄的增长而增加,人参皂苷对此具有抑制作用。

3 治疗高血压和心血管疾病的研究

在研究中药黄芪对心血管疾病的治疗作用中,马骥等^[12]报道了膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge 对由动静脉瘘引起的充血性心力衰竭中钠水潴留具有疗效,并用半定量 RT-PCR 法检测精氨酸加压素(AVP) V1a、V2 受体和水通道蛋白-2(AQP-2)受体 mRNA 表达,发现黄芪能完全或部分纠正动静脉瘘大鼠主动脉和肾皮质中 AVPV1a 受体、肾髓质中 AVPV2 受体和 AQP-2 的 mRNA 的过低表达,同时纠正肾髓质 AVPV1a 受体和肾皮质 V2 受体的过高表达,认为膜荚黄芪改善 AVP 系统和 AQP-2 mRNA 的异常表达可能是其作用机制之一。何建国等^[13]建立了缺氧性肺动脉高压大鼠模型,探讨黄芪阻抑肺动脉高压作用的可能机制。用 RT-PCR 观测到缺氧鼠右心室 I 型胶原 mRNA 和肺组织内皮素-1(ET-1) mRNA 的表达升高,黄芪干预后下降,肺组织 NOS mRNA 的表达降低,黄芪干预后明显升高,因此黄芪阻抑缺氧性肺动脉高压的作用机制可能与调节 ET-1、NOS 及胶原 mRNA 表达水平有关。甄志军等^[14]用 RT-PCR 方法检测出红景天苷可抑制大鼠血管平滑肌细胞 ACE 基因的表达。滋水降火饮是中医治疗高血压的经验方,廖圣宝

等^[15]以二肾一夹高血压大鼠(2K1C-RHR)为模型,RT-PCR 检测滋水降火饮干预前后淋巴细胞中 AngII 受体(AT-1) mRNA 的表达,实验发现,与正常鼠相比,2K1C-RHR 淋巴细胞 AR-1 表达显著升高,滋水降火饮(20,40 g/kg)对此有抑制作用,可能是其发挥神经免疫调节作用的机制所在。张永生等^[16]在探讨甘草甜素通过抑制 11-羟类固醇脱氢酶 2(11-HSD2)催化活性导致血压升高及其机制中,通过 RT-PCR 观察到甘草甜素给药 5 周及 3 个月的大鼠主动脉 11-HSD2 和醛固酮合成酶 mRNA 的表达受到抑制,这导致了血管皮质醇水平增高,醛固酮的合成减少,血压升高可能与皮质醇与醛固酮的比例失调有关。

4 抗过敏反应的研究

Yang 等^[17]在用由 3 种中药处方组成的新的混合方治疗全年性过敏性鼻炎病人时,用 RT-PCR 法比较了具有高免疫球蛋白 E(IgE>200 kIU/L)的病人治疗前和治疗 3 个月后的脂多糖或 IL-13 刺激的多形核白细胞(PMN)中诱导型环氧合酶(COX-2)的表达,发现治疗后 COX-2 的表达受到明显抑制,认为调节中性粒细胞中 COX-2 表达是新的中药混合方治疗过敏性鼻炎机制的一部分。白虎加人参汤(BN)是用于治疗变应性湿疹的经验方之一,具有止痒作用。Tbha 等^[18]利用变应性湿疹小鼠模型研究了 BN 的止痒作用,RT-PCR 结果显示 BN 对模型鼠中枢皮层中与瘙痒感觉相关的肌细胞特异性增强关联因子(MEF2C) mRNA 的表达不产生影响,提示 BN 的止痒作用不是通过抑制中枢皮层的 MEF2C 表达。中药栝楼的主要有效成分栝楼素(trichosanthin, TCS)是一种潜在的致敏原。上海细胞生物研究所等^[19,20]用 RT-PCR 方法证明 TCS 能够使小鼠肠系膜淋巴细胞中 IL-4 基因表达上调,同时抑制 IFN- γ 基因表达,说明 TCS 能够激发辅助性 T 细胞 2(Th2)应答。进一步研究 TCS 对小鼠腹膜巨噬细胞中细胞因子和趋化因子表达的影响,发现 TCS 增加 IL-10 和 MCP-1 的表达,但是减少 IL-12 和 TNF- α 的表达,这些作用部分解释了 TCS 诱导 Th2 和免疫球蛋白(IgE)的能力。

5 诱导分化

1,7-二羟基 β -酮(euxanthone)是从药用植物尾叶远志的根中分到的神经药理活性化合物,具有剂量依赖性诱导神经胚细胞瘤 BU-1 细胞分化的作用。Mak 等^[21]用 RT-PCR 法检测了 1,7-二羟基 β -酮处理的 BU-1 细胞中各种蛋白激酶 C(PKC)异构体的表达,结果显示:BU-1 细胞表达 6 种不同的 PKC 异构体(PKC- α 、 β 、 γ 、 δ 、 ϵ 和 ζ);用 1,7-二羟基 β -酮 100 μ mol/L 处理的细胞中,PKC- α 、 β 、 γ 、 δ 和 ζ 均被上调,在药物处理后 30~60 min 增加了 1.7~9.5 倍,PKC- ϵ 的表达保持相对稳定。提示该药物诱导 BU-1 细胞分化作用可能是通过这些 PKC 异构体的不同表达而被介导。贾延劫等^[22]在探讨黄芩苷诱导大鼠骨髓基质细胞分化为神经细胞的可行性时,RT-PCR 实验显示黄芩苷诱导骨髓基质细胞 6 h,神经干细胞标记物 nestin、神经生长因子受体(Trk B) mRNA 出现表达;诱导 6 d, nestin 表达消失,谷氨酸脱羧酶(GAD65)、神经细胞生长相关蛋白(GAP-43)、神经细胞

黏附分子(NCAM)、Tf α B 均出现表达;胶质细胞标记物 GFAP mRNA 在诱导前后均无表达。说明黄芩苷可以定向诱导骨髓基质细胞分化为神经细胞。

6 其他方面

CMX-13 是从中药复方 CM(由 21 种草药组成)中分离得到的具有免疫抑制活性的疏水性部位,在研究其对高度组织不相容的大鼠肺移植模型的急性排异反应的抑制作用时,发现 CMX-13 与环孢霉素 A(CsA)具有同等的抑制排异作用,但是体外试验的 RT-PCR 结果显示:CMX-13 对刀豆球蛋白 A(ConA)刺激的脾细胞中 IL-2 和 -IFN mRNA 表达无抑制作用,而阳性对照物 CsA 则表现明显的抑制作用,提示 CMX-13 抑制排异作用的机制与 CsA 不同^[23]。Jung 等^[24]在研究甘草甜素(glycyrrhizin, GR)对 B-16 黑素瘤细胞中黑素生成的影响机制中应用 RT-PCR 探讨 GR 对在调节黑素生成中起重要作用的酪氨酸酶基因家族的作用,发现 GR 使酪氨酸酶相关蛋白 TRP-2 的 mRNA 表达增加,而 TRP-1 无明显变化,表明 GR 诱导的黑素生成刺激可能发生在逆转录水平。贯叶连翘(SJW)被广泛用于治疗抑郁症,它与其他药物的相互作用正越来越受到重视。Hennesy 等^[25]提出 SJW 调节 P 糖蛋白的表达和功能,可能导致有害的药-药相互作用,试验结果表明,服用 SJW 16 d 的健康志愿者的外周血单核细胞中 P 糖蛋白的表达明显增加,RT-PCR 证实了编码 P 糖蛋白的 MDR1 基因产物的存在。参麦注射液是红参和麦冬提取物制成的中药复方制剂,用于临床烧伤治疗。高潮等^[26]采用小鼠 11% TBSA 度烧伤模型,ip 参麦液连续 5 d,半定量 RT-PCR 结果表明参麦注射液能显著降低烧伤引起的巨噬细胞 TNF α mRNA 的表达,提示参麦制剂提高烧伤小鼠存活率的原因可能与这降低 TNF α 表达有关。Hakamatsuka 等^[27]建立了应用定量 RT-PCR 以细胞的信号转导途径为目标筛选生物活性化合物的新方法,并首次应用新方法研究了人 T 细胞系 Jurkat 细胞中 IL-2 基因的表达,从传统中常用的几种草药中筛选出黄连。用这一方法发现的化合物将成为研究与基因表达有关的细胞信号发送机制的适用工具。

7 结语

RT-PCR 技术在中药及其活性部位、活性成分药用研究中的应用,对于揭示药物作用的分子机制具有重要的意义,可为传统中药的开发和寻找新药提供理论依据和实验基础。

References:

- [1] Zhao A G, Zhao H L, Jin X J, et al. Effects of Chinese Jianpi herbs on cell apoptosis and related gene expression in human gastric cancer grafted onto nude mice [J]. *World Gastroenterol*, 2002, 8(5): 792-796.
- [2] Liu W K, Xu S X, Che C T. Antiproliferative effect of ginseng saponins on human prostate cancer cell line [J]. *Life Sci*, 2000, 67: 1279-1306.
- [3] Hsieh T C, Lu X, Chea J, et al. Prevention and management of prostate cancer using PC-SPES: a scientific perspective [J]. *J Nutr*, 2002, 132(11 Suppl): 3513S-3517S.
- [4] Huang S T, Yang R C, Yang L J, et al. *Phyllanthus urinaria* triggers the apoptosis and Bcl-2 down-regulation in Lewis lung carcinoma cells [J]. *Life Sci*, 2003, 72(15): 1705-1716.
- [5] Iizuka N, Hazama S, Yoshimura K, et al. Anticarcinogenic effects of the natural herb *Rhizoma Coptidis* and berberine on mice bearing colon 26/clone 20 adenocarcinoma [J]. *Int J Cancer*, 2002, 99(2): 286-291.
- [6] Wu W S, Hsu H Y. Involvement of p15^{INK4b} and p16^{INK4a} gene expression in saikosaponin a and TPA-induced growth inhibition of Hep G2 cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 285(2): 183-187.
- [7] Moeslinger T, Friedl R, Volf I, et al. Inhibition of inducible nitric oxide synthesis by the herbal preparation Padma 28 in macrophage cell line [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2000, 78(11): 861-866.
- [8] Suk K, Lee H, Kang S S, et al. Flavonoid baicalein attenuates activation-induced cell death of brain microglia [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2003, 305(2): 638-645.
- [9] Su S B, Motoo Y, Xie M J, et al. Expression of pancreatitis-associated protein (PAP) in spontaneous chronic pancreatitis in the WBN/Kob rat: effect of herbal medicine Saiko-keishi-to (TJ-10) [J]. *Pancreas*, 1999, 19: 239-247.
- [10] Su S B, Motoo Y, Xie M J, et al. Antifibrotic effect of the herbal medicine Saiko-keishi-to (TJ-10) on chronic pancreatitis in the WBN/Kob rat [J]. *Pancreas*, 2001, 22(1): 8-17.
- [11] Yu S C, Li X Y. Effect of ginsenoside on IL-1 beta and IL-6 mRNA expression in hippocampal neurons in chronic inflammation model of aged rats [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2000, 21(10): 915-918.
- [12] Ma J, Peng A, Lin S. Mechanisms of the therapeutic effect of *Astragalus membranaceus* on sodium and water retention in experimental heart failure [J]. *Chin Med J*, 1998, 111(1): 17-23.
- [13] He J G, Jing Z C, Gu Q, et al. Collagen expression of intracinar pulmonary arteries and right ventricle and intervention of *Radix Astragalii* in rats with hypoxic pulmonary hypertension [J]. *Natl Med J China (中华医学杂志)*, 1999, 79(9): 654-656.
- [14] Zhen Z J, Li Z H, Li J. Effect of salidroside on the expression of ACE mRNA of vascular smooth muscle cells in rats [J]. *Northwest Pharm J (西北药学杂志)*, 2002, 17(4): 163-164.
- [15] Liao S B, Ding R G, Ding L L, et al. Effect of Zishuijianghuoyin on expression of lymphocyte Any II receptor (AT-1) mRNA of experimental hypertension rats [J]. *China J Chin Mater Med (中国中药杂志)*, 2002, 27(7): 531-533.
- [16] Zhang Y S, Wu P S, Liu Y L, et al. Effects of glycyrrhizin on blood pressure and its mechanism [J]. *Chin J Intern Med (中华内科杂志)*, 1999, 38(5): 302-305.
- [17] Yang S H, Hong C Y, Yu C L. Decreased serum IgE level, decreased IFN-gamma and IL-5 but increased IL-10 production, and suppressed cyclooxygenase 2 mRNA expression in patients with perennial allergic rhinitis after treatment with a new mixed formula of Chinese herbs [J]. *Int Immunopharmacol*, 2001, 1(6): 1173-1182.
- [18] Tohda C, Sugahara H, Kuraishi Y, et al. Inhibitory effect of Byakkokanjinjir-to on itch in a mouse model of atopic dermatitis [J]. *Phytother Res*, 2000, 14: 192-194.
- [19] Yang C H, Ji Y Y, Yeh M. The kinetics of IL-4 and IFN-gamma gene expression in mice after Tichosansin immunization [J]. *Cell Res*,

- 1998, 8(4) : 295-302.
- [20] Xu W, Hsu W, Yao G, *et al.* Inhibition of Th1 and enhancement of Th2-initiating cytokines and chemokines in trichosanthin-treated macrophages [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 284 (1) : 168-172.
- [21] Mak N K, Lung H L, Wong R N, *et al.* Expression of protein kinase C isoforms in euxanthone-induced differentiation of neuroblastoma cells [J]. *Planta Med*, 2001, 67(5) : 400-405.
- [22] Jia Y J, Yang Y J, Zhou Y, *et al.* Differentiation of rat bone marrow stromal cells into neuron induced by baicalin [J]. *Natl Med J China* (中华医学杂志), 2002, 82(19) : 1337-1341.
- [23] Zuo X J, Okada Y, Toyoda M, *et al.* Hydrophobic extracts of a Chinese herb (CMX-13) exhibit potent immunosuppressive properties and prevent acute rejection in a highly histoincompatible model of rat lung transplantation [J]. *Transplantation*, 2000, 70(7) : 1094-1098.
- [24] Jung G D, Yang J Y, Song E S, *et al.* Stimulation of melanogenesis by glycyrrhizin in B16 melanoma cells [J]. *Exp Mol Med*, 2001, 33 (3) : 131-135.
- [25] Hennessy M, Kelleher D, Spiers J P, *et al.* St Johns wort increases expression of P-glycoprotein: implications for drug interactions [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2002, 53(1) : 75-82.
- [26] Gao C, Wang R T, Liu D W. The effect of Shenmai Injection on the expression of TNF- α mRNA of the macrophages in scaled mice [J]. *Chin J Burns* (中华烧伤杂志), 2000, 16(5) : 289-291.
- [27] Hakamatsuka T, Tanaka N. Screening for bioactive compounds targeting the cellular signal transduction pathway using a RT-PCR-based bioassay system [J]. *Biol Pharm Bull*, 1997, 20(4) : 464-466.

诱导子在药用植物细胞培养中的应用

王和勇¹, 罗恒², 孙敏^{3*}

(1. 中山大学生命科学学院 基因工程教育部重点实验室, 广东 广州 510275; 2. 徐州医学院药理学教研室, 江苏 徐州 221002; 3. 西南师范大学生命科学学院, 重庆 400715)

摘要: 详细地介绍了在药用植物细胞培养中诱导子的概念, 常用的诱导子种类及其生物学特征。诱导子根据防卫反应可分为内源性诱导子和外源性诱导子; 根据特异性可分为特异性诱导子和非特异性诱导子; 根据其来源可分为生物诱导子和非生物诱导子。生物诱导子主要包括真菌类诱导子、细菌类诱导子、病毒类诱导子、酵母提取物等; 而常用的非生物诱导子包括水杨酸、茉莉酸、茉莉酸甲酯、稀土元素以及重金属盐类等。同时诱导子具有专一性、快速性、浓度效应、时间效应以及协同效应。因此在实际应用中需综合考虑与灵活运用, 使诱导子在药用植物细胞培养发挥最佳促进作用。

关键词: 诱导子; 药用植物; 细胞培养; 次生代谢产物

中图分类号: R282.13 **文献标识码**: A **文章编号**: 0253-2670(2004)08-附3-05

Application of elicitor to cell culture of medicinal plants

WANG He-yong¹, LUO Heng², SUN Min³

(1. The Key Laboratory of Gene Engineering of Ministry of Education, School of Life Science, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China; 2. Department of Pharmacology, Xuzhou Medical College, Xuzhou 221002, China; 3. School of Life Science, Southwest Normal University, Chongqing 400715, China)

Key words: elicitor; medicinal plant; cell culture; secondary metabolite production

生长在自然环境中的植物经常遭受不良因素如微生物入侵与伤害等胁迫, 为了抵御不良环境, 植物细胞往往产生次生代谢物质。而植物次生代谢物质的合成具有全能性和多条代谢途径^[1]。因此, 通过改变培养条件, 可定向诱导目的产物的合成。根据这个原理, 可利用诱导子诱导药用植物细胞合成目的产物及其胞外分泌。这也为研究植物次生代谢调控提供了新思路与手段。近 10 余年来, 这方面的研究一直是国内外研究的热点。本文着重以红豆杉等为例介绍药用植物细胞培养中所用的诱导子种类及其生物学特点, 为从事该研究的工作者提供参考。

1 诱导子的定义与种类

诱导子 (elicitor) 从植物病理学的角度来讲, 是指在抗病生理过程中诱发植物产生植保素 (phytoalexin) 和引起植物过敏反应 (hypersensitive reaction, HR) 的因子。从细胞培养的角度来讲, 是指能促进植物细胞产生目的产物的因子。这表明细胞诱导培养与植物防卫反应的机制是一致的。

根据防卫反应可分为内源性诱导子 (endogenous elicitor) 和外源性诱导子 (exogenous elicitor), 前者指来自植物细胞的诱导子, 后者指来自植物细胞以外的其他可诱导防卫反应的因子^[2];

* 收稿日期: 2003-10-05

作者简介: 王和勇 (1973—), 男, 四川达县人, 在读博士研究生, 主要从事药用植物分子生物学与代谢基因工程研究。

E-mail: Heyongwang@hotmail.com

* 通讯作者 Tel: (023) 68254061