

• 综述 •

真菌诱导子在药用植物细胞培养中的作用机制和应用进展

张莲莲, 谈 锋*

(西南大学生命科学学院 三峡库区生态环境教育部重点实验室, 重庆市三峡库区植物生态与资源重点实验室, 重庆 400715)

摘 要: 在药用植物细胞培养中, 真菌诱导子被识别后, 通过信号传导途径, 引起植物基因表达发生变化, 从而调节植物次生代谢产物合成途径中相关酶的活性, 最终刺激植物发生防御反应, 诱导特定次生代谢产物的生成和积累。因此, 真菌诱导子对植物细胞培养的诱导途径主要包含: 信号识别、转导以及由信号转导介导的胞内应答。真菌诱导子在药用植物中的应用十分广泛, 主要涉及到诱导生物碱、萜类、皂苷等天然产物的生成和积累。

关键词: 真菌诱导子; 诱导机制; 信号传导; 药用植物; 细胞培养

中图分类号: R282.13 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2670(2006)09-1426-05

Advances in application and mechanism of fungal elicitor to cell culture of medicinal plants

ZHANG Lian-lian, TAN Feng

(Key Laboratory of Eco-environments in Three Gorges Reservoir Region, Ministry of Education,

Key Laboratory of Plant Ecology and Resources in Three Gorges Reservoir Region,

School of Life Sciences, Southwest China University, Chongqing 400715, China)

Key words: fungi elicitor; elicitation mechanism; signal transmission; medicinal plant; cell culture

1968年, Cruickshank 从梗孢菌 *Monilinia fructicola* (Winter) Honey 菌丝体中分离到一种多肽链核盘素 A (monilicolin A), 将其加入菜豆细胞培养基后发现, 它能够诱导菜豆内果皮的形成和异黄酮植保素—菜豆素 (phaseollin) 的积累^[1]。这是真菌诱导子在植物细胞培养中应用的首次报道。从此, 真菌便作为一种新型的诱导子在研究植物与真菌相互作用的植物病理学机制和利用真菌诱导子提高药用植物中天然产物的产率等领域受到了越来越多的关注。近年来, 随着分子生物学以及基因工程技术的日益发展, 真菌诱导子的作用机制研究也取得了可喜的进展, 这必将进一步推进真菌诱导子在药用植物细胞培养中的应用。因此, 本文将介绍真菌诱导子作用机制的研究以及真菌诱导子在药用植物细胞培养中应用的进展。

1 真菌诱导子作用机制研究进展

真菌诱导子的主要成分是多糖、多肽、脂肪酸、蛋白质等物质, 近年来, 研究者对真菌诱导子的诱导机制进行了广泛的研究, 表明真菌诱导子被识别后, 通过信号传导途径, 引起植物基因表达发生变化, 从而调节植物次生代谢产物生物合成途径(如苯丙烷类生物合成途径和类异戊二烯生物合成途径等)中相关酶的活性, 最终刺激植物发生防御反应, 诱导特定次生代谢产物的生成和积累。因此, 真菌诱导子对植物细胞培养的诱导途径主要包含: 信号识别、信号转导以及由信

号转导介导的胞内应答。

1.1 信号识别: 真菌诱导子主要是通过植物细胞膜上的受体结合参与植物抗病防御反应的。真菌诱导子成分如寡聚糖、 β -葡聚糖、几丁质寡糖、糖蛋白、蛋白质和多肽等均结合在植物细胞质膜上, 其中 β -葡聚糖的结合蛋白研究较为深入。Yoshikawa 等首先证明大豆原生质膜上有诱导子受体, 他们用³H 真菌昆布多糖 (mycolaminarin) 来确定受体在大豆细胞中的位置, 发现结合位点位于膜上, 特别是原生质膜上更加丰富, 这种结合可以被链霉素蛋白酶预处理所阻止。此后, Schmidt 等^[2]发现¹³⁵I 标记的来自大雄疫霉 *Phytophthora megasperma* sp. *glycinea* 的具诱导子活性的 β -葡聚糖与大豆细胞膜制备物具有不同程度的亲合力, 这种亲合力具有饱和性和可逆性; 诱导子活性较高的¹³⁵I-葡聚糖与膜的亲合力也大。一般认为具有特定结构的诱导子与植物细胞膜上特定的受体类蛋白结合, 能够快速、选择性地诱导特定基因的表达^[3]。

目前, 研究者研究发现了多种存在于植物细胞膜上的真菌诱导子的亲和受体蛋白, 如在烟草和番茄的细胞膜上存在的受体蛋白, 能够与真菌诱导子结合, 诱导木聚糖酶的活性^[4]。欧芹 *Petroselinum crispum* Mill. 细胞质膜上也存在大雄疫霉诱导子活性成分(一种相对分子质量为 4.2×10^4 的蛋白质)的结合位点。

收稿日期: 2005-12-06

基金项目: 国家 863 课题资助项目 (2002AA212191)

作者简介: 张莲莲 (1982—), 女, 山东人, 硕士研究生, 主要从事药用植物生物技术与生物工程领域的研究。

Tel: (023)68367091 E-mail: woshi12@swu.edu.cn

* 通讯作者 谈 锋 Tel: (023)68252698 Fax: (023)68252365 E-mail: tanfeng@swu.edu.cn

1.2 信号转导:诱导子被识别后,细胞膜便开始去极化,引起离子通道的开闭,或者通过 G 蛋白偶联,激活第二信使系统,引发信号转导途径,并导致胞内应答。

1.2.1 离子通道:张长平等^[5]运用顺磁共振、电镜和能谱等手段研究了寡聚糖对红豆杉细胞氧化还原生理态势的影响。结果表明,诱导前红豆杉细胞处于相对稳定的生长态势,氧化还原电势较低,细胞初生代谢旺盛,紫杉醇合成速率很低。诱导后红豆杉细胞向产物合成态势转移,超氧化物歧化酶(SOD)活性迅速提高,过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性被强烈抑制;细胞出现活性氧迸发现象,且在 4 h 达最大值;细胞的氧化还原电势增高,细胞膜上离子通道被激活, H^+ 和 Ca^{2+} 内流, Cl^- 和 K^+ 外流;液胞内出现大量含 Ca^{2+} 的高电子致密区并呈规律性变化,培养环境碱化;细胞生长被抑制,紫杉醇合成速率升高,其产量提高了 55 倍,达 761 mg/L。Piedras 等^[6]分离了一种植物细胞膜的 Ca^{2+} -ATPase,它不同于动物的 Ca^{2+} -ATPase,可以在大豆细胞中被真菌诱导子快速大量诱导。Nurnberger^[7]提出欧芹细胞膜受体在来自大雄疫霉糖蛋白诱导子作用下,引起细胞内外离子流动,从而引发蛋白的磷酸化,进而引起防卫基因的表达。

以上研究表明:植物细胞膜上离子通道的开启或闭合可能参与了真菌诱导子对植物细胞培养的诱导。其他细胞器上相关的离子通道是否参与了真菌诱导子的诱导过程则有待进一步的研究。

1.2.2 蛋白介导的信号转导途径:G 蛋白是细胞信号转导途径中重要的物质。尽管没有直接证据显示植物中有类似于动物中的三聚体 G 蛋白的存在,但真菌对植物的诱导作用确实有 G 蛋白的参与。G 蛋白激活剂百日咳毒素和霍乱毒素可以促进菜豆和大豆悬浮细胞对真菌诱导子的应答反应^[8]。在柏木 *Cupressus lusitanica* Endl. 细胞培养中加入酵母诱导子,发现 Ca^{2+} 和 G 蛋白介导了酵母诱导子的信号途径,G 蛋白所有的抑制剂和出流的 Ca^{2+} 对诱导子诱导的脂氧化酶(lipoxygenase)的活性起抑制作用,而 G 蛋白催化剂和 Ca^{2+} 介导的信号途径则增强了脂氧化酶的活性,最终使植物抗毒素欧侧柏酚(β -thujaplicin)的产量提高^[9]。

真菌诱导子作用于植物细胞后,通过离子通道的开闭和 G 蛋白偶联,在胞内产生第二信使,将胞外的信号跨膜传递到胞内,从而影响细胞的行为。在酵母诱导子诱导鼠尾草 *Salvia deserta* Schang 细胞时,通过第二信使 IP_3 ,促使 Ca^{2+} 通道的打开,使磷脂酶 C 的活性增强,从而激活多聚磷酸肌糖的生物合成途径,提高植物抗毒素的量^[10]。因此,质膜肌醇磷脂分解产生的第二信使 IP_3 是诱导内质网 Ca^{2+} 通道的开放的次级信号。在真菌诱导子作用于长春花细胞时发现,它的诱导机制是通过一个依赖于蛋白激酶的信号途径,从而引起了萜类吲哚生物碱的生物合成^[11]。并且 Pauw 等还发现了由于蛋白磷酸化和钙内流而激活的活性氧因子可能作为第二信使起作用。

1.3 信号转导介导的胞内应答:通过信号转导途径,一方面引起核内基因表达的变化,导致参与防御反应的蛋白质转录

和翻译被活化,从而引起植物过敏反应(hypersensitive reaction,HR);另一方面通过调节次生代谢产物合成途径中相关酶的基因表达,改变酶活性,从而提高次生代谢产物的产量。

刘文奇等^[12]研究发现,在大豆细胞中加入诱导子的同时再加入转录和翻译的抑制剂,能明显降低大豆毒素积累和抗性基因的表达。有证据表明,氧化跃变参与了转录依赖性防卫反应(如植保素的形成、木质素沉淀)的激活过程^[13]。在长春花悬浮细胞中,许多萜类吲哚生物碱生物合成的基因,如直夹竹桃啉合酶和色氨酸脱羧酶都能被真菌诱导子(如酵母提取物)诱导。这种诱导有许多信号步骤,包括茉莉酸的生物合成和茉莉酸响应的转录因子 ORCA 的活化^[14](图 1)。

Matsumura 等^[15]采用连续分析基因表达技术(SAGE)对稻瘟病真菌诱导的水稻细胞进行了研究,发现在诱导子处理的细胞下游调控基因中,由拟南芥 *Arabidopsis thaliana* L. BI-1 基因编码的 Bax 抑制剂对水稻的超敏反应起着功能性的作用。

许多酶也参与植物细胞次生代谢产物的合成途径,改变这些酶的活性会引起天然产物量或活性的变化。侯丕勇等^[16]将真菌诱导子与铁皮石斛原球茎共培养,发现它能诱导原球茎苯丙氨酸解氨酶(PAL)、POD 和脂氧合酶(LOX)活性的升高从而促进石斛总碱量的提高。在烟草细胞悬浮培养中,真菌诱导子还可以增强倍半萜烯环化酶活性的提高,从而促进植物抗毒素的积累。并且真菌诱导子的成分 β -1,3 葡聚糖酶和几丁质酶能够增强胞溶酶的活性。在对照中,胞溶酶的活性在 72 h 后才表达,加入真菌诱导子后,活性 24 h 内就显示出来,并且持续时间长达 60~72 h^[17]。

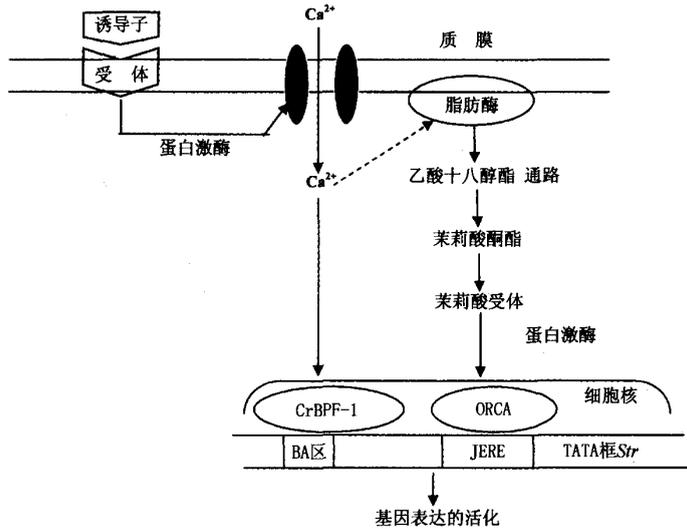
在红豆杉细胞悬浮培养中,加入真菌诱导子后,提高了细胞内 6-磷酸葡萄糖脱氢酶(glucose-6-phosphate dehydrogenase, G6PD)、苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonia-lyase, PAL)的活性和酚类化合物量;真菌诱导子和谷氨酸的联合处理也可提高细胞中 G6PD、PAL 的活性,且联合处理后的酶活性较真菌诱导子单独处理的高^[18]。红豆杉细胞经尖孢镰刀菌 *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* 的细胞壁粗提物诱导后,SOD、POD、CAT 的活力出现了较大的变化,产生了大量的活性氧;紫杉醇量比对照提高了近 4 倍,这可能是诱导过程发生了质膜氧化还原反应,从而在细胞表面迅速产生而造成氧化跃变,导致起保护作用的次生代谢产物的合成和积累。

2 真菌诱导子在药用植物细胞培养中的应用

真菌诱导子在药用植物中的应用十分广泛,尤其是在细胞悬浮培养和毛状根培养方面。目前的研究主要集中于真菌诱导子在细胞悬浮培养中的应用,涉及到生物碱、萜类、皂苷等天然产物的诱导。

2.1 在植物细胞培养中的应用

2.1.1 生物碱类:赵建等^[19]用来自 12 种真菌诱导子的菌丝体的混合匀浆液刺激长春花 *Catharanthus roseus* (L.) G. Don 培养细胞,发现不同种类的吲哚生物碱,如长春花碱、阿



CrBPF-1: 长春花框 P—结合因子 1 同系物; ORCA: 十八烷酸应答的长春花 AP2—结构域蛋白; JERE: 茉莉酸和诱导子应答元件; Str: 异胡豆合成酶基因
 CrBPF-1: *C. roseus* box P-binding factor 1 homologue; ORCA: octadecanoid-responsive *C. roseus* AP2-domain protein;
 JERE: jasmonate-and elicitor-responsive element; Str: strictosidine synthase gene

图 1 诱导子信号转导介导茉莉酸应答的 ORCA 转录因子的基因表达的模型

Fig. 1 Model for elicitor signal transduction leading to ORCAization of jasmonate-responsive gene expression

玛碱的产量比其他诱导子提高了 2~5 倍。一些真菌培养的滤出液也是引起吲哚生物碱积累的有效诱导子。Namdeo 等^[20]在长春花细胞悬浮培养中,加入黑曲霉、镰刀霉的抽提物,发现阿玛碱的量比不加诱导子时提高了 3 倍。罗焕亮等^[21]通过对胡桐叶斑病菌病的分离培养,制成真菌诱导子补加到胡桐 *Calophyllum inophyllum* Linn 细胞悬浮培养基中,结果表明来自壳多孢菌的真菌诱导子能有效提高胡桐细胞悬浮培养体系中红厚壳素(inophyllum,一种香豆素化合物)的产量。张向飞等^[22]研究分别来源于镰刀菌和黑曲霉的真菌诱导子对长春花愈伤组织中吲哚生物碱积累的影响。结果表明:两种真菌诱导子对吲哚总碱及阿玛碱、长春质碱的积累有较明显的正向调节作用,并且确立了真菌诱导子最佳处理时间。侯丕勇等^[7]用真菌诱导子与铁皮石斛 *Dendrobium candidum* Wall. ex Lindl. 原球茎共培养,结果发现,它能诱导原球茎 PAL、POD 和 LOX 活性的升高,从而促进石斛总碱量的提高。

罂粟是一种提取可待因和吗啡的原料,来自这种植物的培养细胞会丢失产吗啡的能力,其产生的生物碱主要是血根碱。罂粟细胞悬浮培养基中加入真菌诱导子会提高血根碱产量,也可提高多酚氧化酶活性^[23]。真菌诱导子能提高野罂粟 *Papaver nudicaule* L. 悬浮培养细胞中活性生物碱的产量,通过蜜环菌 *Armillaria mellea* (Vahl ex Fr.) Karst 的诱导,龙辛碱(murensinine)的积累量达到 0.026 mg/(g·min),野罂粟碱(nudicauline)的积累量由 0.015 9 mg/(g·min)增加到 0.017 8 mg/(g·min)^[24]。

2.1.2 菇类:戴均贵等^[25]将来自畸雌腐霉 *Pythium irregulare*、冠毛犁头霉 *Absidia cristate*、日本根霉 *Rhizopus*

japonicus、轮枝孢霉 *Verticillium dahliae*、小刺青霉 *Penicillium spinulosum*、腐皮镰孢霉 *Fusarium solani*、米曲霉 *Aspergillus oryzae*、桔青霉 *Penicillium citrinum*、鲁氏毛霉 *Mucor rouxianus* 和酵母 10 种真菌的诱导子加入到银杏悬浮细胞系中,结果表明 10 种诱导子的效果不同。其中日本根霉的作用最明显,当加入质量浓度为 5 mg GE/L 时(GE 为 glucose equivalent,葡萄糖当量)细胞中银杏内酯(GKB)的量最高。王红等^[26]用 3 种真菌大丽花轮枝孢 *Verticillium dahliae* Kleb.、葡枝根霉 *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb. ex Fr.) Vuill. 和束刺刺盘孢 *Colletotrichum dematium* (Pers.) Grove 的诱导子处理青蒿 *Artemisia annua* L. 的毛状根细胞,发现均能促进毛状根中青蒿素的积累,其中以大丽花轮枝孢诱导子的诱导效果最好;对细胞生长均没有明显影响,其培养基中糖的最适质量浓度为含糖 0.4 mg/mL;发现在指数生长末期对诱导作用最敏感;在加入诱导子 4 d 后收获的毛状根中青蒿素量最高。

陈永勤等^[27]用来自桔青霉菌丝、灰葡萄孢霉菌、鲁氏毛霉和灰绿梨头霉的真菌诱导子对云南红豆杉细胞进行诱导,结果显示,以含桔青霉菌丝诱导子的处理效果最好,其紫杉醇量和产量分别比对照高 113.2%和 104.0%。其次是灰葡萄孢霉菌诱导子处理后,紫杉醇量和产量分别比对照提高了 58.7%和 51.2%。鲁氏毛霉和灰绿梨头霉诱导子对云南红豆杉悬浮培养细胞形成紫杉醇的促进作用不显著。虽然桔青霉菌的培养液也能提高细胞中紫杉醇的量,但效果不如菌丝的显著。在红豆杉细胞悬浮培养中,加入由南方红豆杉树皮分离的黑曲霉制备的真菌诱导子,培养 24 h 后,发现细胞快速死亡,但是紫杉醇的量依次增加了 5.8、3 倍^[28]。由香菇发

醇木质纤维素所得的降解液和尖孢镰刀菌的胞壁粗提物,也可以促进紫杉醇的生物合成^[29]。

2.1.3 皂苷:方琦民等^[30]用 7 种真菌菌丝体作为诱导因子,其中 6 种能促进西洋参悬浮细胞的皂苷合成,尤以匍枝根霉作用更明显,皂苷量可比对照提高 2 倍,而质量浓度为 50 mg/L 的人参寡糖素既能维持细胞较好的生长又能提高皂苷量。刘俊等^[31]提取黄瓜炭疽病菌 *Colletorichum lagenarium*、青菜炭疽病菌 *Phoma filtrate*、棉花枯萎病菌 *Fusarium oxysporum*、黑曲霉中的真菌诱导子与人参毛状根共培养,应用高效液相色谱法对培养物中几种单体皂苷及总苷进行分析测定。结果表明,真菌诱导子不但影响人参毛状根总苷的合成量,也能使某些单体皂苷消失或增加,如培养液中黑曲霉多糖诱导子质量浓度 20 mg/L 时,使总苷量增加 3.649%,而单体皂苷中人参皂苷 R_{G1}、R_e 未检出,人参皂苷 R_{G2}、R_{b1} 的量则有明显增加,并可促进人参毛状根的生长。

2.2 真菌诱导子对毛状根的诱导:关于真菌诱导子对毛状根的诱导,目前研究最多的是人参和丹参,通过真菌诱导子诱导后,皂苷合成途径中 POD、CAT 和多酚氧化酶(PPO)的活性增强,使毛状根对诱导物产生更高的抗性,从而促进次生代谢产物的积累,提高了皂苷的量。如黑曲霉多糖、大丽花轮枝孢诱导子 V44 和酵母诱导子等,都能促进皂苷量的提高。

黄柏青等^[32]研究了大丽花轮枝孢诱导子 V44 和酵母提取物分别诱导丹参 *Salvia miltorrhiza* Bunge 毛状根和丹参转化细胞后,POD 活力的变化。结果表明,诱导后 POD 活力显著提高,丹参毛状根酶活力变化大于丹参转化细胞,两种植物材料 POD 活力变化与诱导浓度和诱导时间有关。

2.3 其他方面的应用:人们从 20 种真菌中筛选出米曲霉可促进滇草细胞合成紫草色素(shikonin derivative),米曲霉粗提物中含有可促进紫草色素合成的诱导子、色素合成的抑制物质、与色素生物合成无关的物质^[33]。酵母诱导子在鼠尾草细胞培养中,能促进植物激素的积累^[34],并且在处理柏木细胞时,能够促进多聚磷酸肌糖的快速积累,其诱导机制是诱导子触发 Ca²⁺介导的信号转导途径,使 PLC 的活性增强,从而激活多聚磷酸肌糖的生物合成途径,提高其产量^[9]。

假单胞菌和假丝酵母的诱导子在延命菊 *Bellis perennis* L. 悬浮培养中,对类黄酮的量有很大的影响,其最佳效果是光照培养 24 h 后加入,或者黑暗培养 48 h 后加入,类黄酮的量就会有明显的提高^[35]。

宋元等^[36]利用计算机软件“均匀设计、回归分析及优化系统”,研究了蜜环菌诱导子对丹参冠瘿组织的影响。结果表明,119 mL/L 蜜环菌诱导子第 0 天加入,第 29 天收获培养物与培养液时可获得最高的丹参醇产量(147 mg/L, P<0.05)。

3 结语

真菌诱导子是一种有效的、快速的、专一性较强的诱导子,它的诱导作用对植物的细胞培养具有很高的研究和应用价值,作为一种生物诱导子,它的应用越来越受到人们的重视,已经广泛应用于药用植物生物技术各个方面,如细胞悬浮培养、毛状根的诱导等,但是真菌诱导子仍然有很多问题

有待于解决,它的诱导机制到目前还没有完全研究清楚,诱导子和诱导产物之间的关系如何,如何促进代谢途径中相关酶活性的提高,如何导致信号传导途径的开放,如何促进 mRNA 的转录等,都需要作进一步的研究。

References:

- [1] Cruickshank I A M, Perrin D R. The isolation and partial characterization of monilicolin A, a polypeptide with phaseollin-inducing activity from *Monilinia fructicola* [J]. *Life Sci*, 1968, 7: 449-458.
- [2] Schmidt W E, Ebel J. Specific binding of a fungal glucans phytoalexin elicitor to membrane fractions from soybean [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1987, 84: 4117-4121.
- [3] Scheel W E, Parker J E. Elicitor recognition and signal transduction in plant defense gene activation [J]. *Z Naturforsch*, 1990, 45: 569-575.
- [4] Ron M, Avni A. The receptor for the fungal elicitor ethylene-inducing xylanase is a member of a resistance-like gene family in tomato [J]. *Plant Cell*, 2004, 16(6): 1604-1615.
- [5] Zhang C Q, Yuan J Y, Ma Z H, et al. Changes of physiological state of suspension cultures of *Taxus chinensis* var. *marirei* induced by oligosaccharide [J]. *J Chem Ind Eng (化工学报)*, 2002, 53(1): 1133-1138.
- [6] Piedras P, Rivas S, Droge S, et al. Functional, c-myc-tagged Cf-9-resistance gene products are plasma-membrane localized and glycosylated [J]. *Plant J*, 2000, 21(6): 529-536.
- [7] Hung W S, Lee S H, Kim J C, et al. Identification of a calmodulin regulated soybean Ca(2+)-ATPase (SCA1) that is located in the plasmamembrane [J]. *Plant Cell*, 2000, 12(8): 1393-1407.
- [8] Gregg N. Investigation of a putative interaction between TGalphal, a heterotrimeric G protein alpha subunit, and a DnaJ homologue in tomato [J]. *MAI*, 2000, 38(6): 1546-1551.
- [9] Zhao J, Sakai K. Multiple signalling pathways mediate fungal elicitor-induced beta-thujaplicin biosynthesis in *Cupressus lusitanica* cell cultures [J]. *Exp Bot*, 2003, 54(383): 647-656.
- [10] Zhao J, Guo Y, Kosai Hira A, et al. Rapid accumulation and metabolism of polyphosphoinositol and its possible role in phytoalexin biosynthesis in yeast elicitor-treated *Cupressus lusitanica* cell cultures [J]. *Planta*, 2004, 219(1): 121-131.
- [11] Xu M J, Dong J F. Nitric oxide stimulates indole alkaloid production in *Catharanthus roseus* cell suspension cultures through a protein kinase-dependent signal pathway [J]. *Enzyme Microb Technol*, 2005, 37: 49-53.
- [12] Liu W Q, Guo Z J. Effects of signal transduction antagonists on phytoalexin and isoflavonoid accumulation in soybean cells [J]. *J Plant Physiol Mol Biol (植物生理与分子生物学学报)*, 2003, 29(4): 301-308.
- [13] Wang H, Ye H C, Li G F. Elicitor's action modes and their application in plant tissues culture [J]. *Chin Bull Bot (植物学通报)*, 1999, 16(1): 11-18.
- [14] Pauw B, van Duijn B, Kinjin J W, et al. Activation of the oxidative burst by yeast elicitor in *Catharanthus roseus* cells occurs independently of the activation of genes involved in alkaloid biosynthesis [J]. *Plant Mol Biol*, 2005, 55(6): 797-805.
- [15] Matsumura H, Nirasawa S, Kiba A, et al. Overexpression of Bax inhibitor suppresses the fungal elicitor-induced cell death in rice (*Oryza sativa* L.) cells [J]. *Plant J*, 2003, 33(3): 425-434.
- [16] Hou P Y, Guo S X. Influences of fungus *Mycenae* sp. on activities of some enzymes and extracellular pH of protocorms of *Dendrobium candidum* [J]. *Microbiol Bull (微生物学通报)*, 2004, 31(2): 26-29.
- [17] Shin'ya T, Gondo S, Iijima H, et al. Cell-lytic activity of tobacco BY-2 induced by a fungal elicitor from alternaria alternata attributed to the expression of a class I beta-1,3-glucanase gene [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2004, 68(6): 1265-1272.
- [18] Chen C, Fu C H, Jiang G M, et al. Relationship between phenolics content and taxol production in *Taxus* cells [J]. *J Huazhong Agric Univ (华中农业大学学报)*, 2005, 24(1):

83-87.

[19] Zhao J, Zhu W H, Hu Q. Selection of fungal elicitors to increase indole alkaloid accumulation in *Catharanthus roseus* suspension cell culture [J]. *Enzyme Microbiol Technol*, 2001, 28: 666-672.

[20] Namdeo A, Patil S, Fulzele D P. Influence of fungal elicitors on production of ajmalicine by cell cultures of *Catharanthus roseus* [J]. *Biotechnol Prog*, 2002, 18(1): 159-162.

[21] Luo H L, Guo Y, Cui T B, et al. Effects of fungal elicitor on inophyllums production in suspension cultured cells of *Calophyllum inophyllum* L. [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2004, 39(4): 305-308.

[22] Zhang X F, Zhang R T, Wang N N, et al. Effects of fungal elicitors on accumulation of indole alkaloids in *Catharanthus roseus* calli [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2004, 35(2): 201-205.

[23] Balazova A, Bilka F, Blarikova V, et al. Effect of a fungal elicitor on levels of sanguinarine and polyphenoloxidase activity in a suspension culture of *Papaver somniferum* L. [J]. *Ceska Slov Farm*, 2002, 51(4): 182-185.

[24] Yu R M, Wang Y, Ma L, et al. Production of active alkaloids by elicited *Papaver nudicaule* cell suspension culture [J]. *Pharm Biotechnol*, 2003, 10(4): 218-222.

[25] Dai J G, Zhu W H, Wu Y Q, et al. Effects of precursors and fungal elicitors on GKB production in suspension cultured cells of *Ginkgo biloba* L. [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2000, 35(2): 151-155.

[26] Wang H, Ye H C, Li G F, et al. Effects of fungal elicitors on cell growth and artemisinin accumulation in hairy root cultures of *Artemisia annua* [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 2000, 42(9): 905-909.

[27] Chen Y Q, Zhu W H, Wu Y Q, et al. Effects of fungus elicitors on taxol productions insuspension cells of *Taxus yunnanensis* [J]. *Chin J Biotechnol* (生物工程学报), 1999, 15(4): 522-524.

[28] Lan W Z, Yu L J, Li M Y, et al. Cell death unlikely contributes to taxol production in fungal elicitor-induced cell suspension cultures of *Taxus chinensis* [J]. *Biotechnol Lett*, 2003, 25(1): 47-49.

[29] Yu L J, Li W, Liu X F, et al. An initial study on elicitation of basidiomycetes and its lignocellulose biodegradation broth on *Taxus* cells culture [J]. *Acta Bot Boreal Occident Sin* (西北植物学报), 2000, 20(6): 992-996.

[30] Fang Q M, Zheng G Z, Zhou L G. The metabolic control of ginsenoside's biosynthesis in *Panax quinquefolium* L. cells suspension [J]. *Chin J Biotechnol* (生物工程学报), 1992, 8(3): 261-264.

[31] Liu J, Ding J Y, Zhou Q Y, et al. Studies on influence of fungal elicitor on hairy root of *Panax ginseng* biosynthesis ginseng saponin and biomass [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2004, 29(4): 302-305.

[32] Huang B Q, Liu M X. Effects of fungal elicitors on peroxidase activities in hairy root cultures and transformed cells of *Salvia miltiorrhiza* [J]. *J Hubei Agric Coll* (湖北农学院学报), 2001, 21(3): 235-237.

[33] Ning W, Cao R Q. Fractionation and biological activity of *Aspergillus oryzae* elicitor promoting biosynthesis of shikonin derivatives [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 1996, 38(5): 367-374.

[34] Li G J, Wang S C, Xia K, et al. Effect of yeast elicitor and salicylic acid on the fluctuation of phytohormone contents in Ti-transformed *Salvia miltiorrhiza* cell cultures [J]. *Plant Growth Regul*, 2003, 39: 27-32.

[35] Siatka T, Kasparova M. The effect of biotic elicitors on the production of flavonoids in suspension cultures of *Bells perennis* L [J]. *Ceska Slov Farm*, 1999, 48(6): 268-271.

[36] Song J Y, Qi J J, Lei H T, et al. Effects of *Armillaria mellea* elicitor on accumulation of transhinones in crown gall cultures of *Salvia miltiorrhiza* [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 2000, 42(3): 316-320.

大蒜活性成分阿藿烯的抗肿瘤作用研究进展

魏少荫, 李 敏*

(北京大学医学部 天然药物及仿生药物国家重点实验室, 北京 100083)

摘要:近年来, 鉴于抗肿瘤药物的较大不良反应, 中药中活性成分的抗肿瘤作用日益成为研究热点。阿藿烯为大蒜中一种丙烯基硫化物, 无辛辣味和蒜臭味, 且具化学稳定性, 对多种肿瘤细胞尤其是对白血病细胞的生长抑制作用显著, 无明显不良反应, 极具开发潜力。对其抗肿瘤活性及作用机制进行综述。

关键词:大蒜; 阿藿烯; 抗肿瘤; 白血病; 凋亡

中图分类号: R286.91

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2006)09-1430-04

Advances in studies on antitumor activity of ajoene derived from garlic

WEI Shao-yin, LI Min

(National Research Laboratory of Natural and Biomimetic Drugs, Health Science Center,

Peking University, Beijing 100083, China)

Key words: garlic; ajoene; antitumor; leukemia; apoptosis

大蒜 *Allium sativum* L. 为百合科植物, 药用其鲜茎。大蒜性温, 味辛辣, 具下气、消谷、除风、止痢、散痛、消毒气等功

效。有抗菌、消炎、杀虫等作用。流行病学调查结果表明, 大蒜可能与某些地区的肿瘤低发有关, 人们又发现大蒜有调血

收稿日期: 2006-02-06

基金来源: 国家高技术研究发展(863)计划——新药筛选及关键技术研究(2002AA2Z343C)

作者简介: 魏少荫(1981—), 男, 河南省濮阳市人, 在读硕士, 研究方向为肿瘤分子细胞药理学。

Tel: (010)82801161 E-mail: wsy1921@tom.com

* 通讯作者 李 敏 Tel: (010)82801161 Fax: (010)82802724 E-mail: limin63@yahoo.com.cn