

转基因改良植物的营养价值

吴永美^{**} 毛雪^{**} 王书建 李润植^{*}

(山西农业大学生物工程中心, 太谷 030801)

摘 要 植物是人类所需大部分营养物质的主要来源, 植物产品的营养品质直接影响着人类的健康。分子克隆和遗传转化技术的发展为改良植物的营养价值开辟了新途径。植物营养价值的转基因改良已在改进作物蛋白质含量及品质、淀粉和油脂成分及品质, 提高抗氧化物水平(如类胡萝卜素、类黄酮等) 培育具有医疗效应的营养品质等方面取得了可喜的进展。迄今, 已获得许多营养品质改良的转基因作物品系。这些转基因作物经过一系列的安全性及对人类营养有效性的验证后, 可直接食用, 或应用于开发具有特殊营养品质和保健作用的“功能食品”。我们实验室开展了大豆油脂改良研究, 构建了能特异抑制大豆 FAD2-1 基因表达的锌指转录因子, 获得了油酸含量显著提高的转基因材料。初步结果表明锌指转录因子的分子设计是改良植物油脂代谢的一条可行途径, 亦可用于调控植物其它内源靶基因的表达。

关键词 营养品质, 遗传改良, 锌指转录因子, 转基因植物

中图分类号 Q943 文献标识码 A 文章编号 1000-3061(2004)04-0471-06

植物是人类所需大部分营养物质的主要来源, 植物产品的营养品质直接影响着人类的健康。然而, 主要粮食作物通常缺少其中一些必需营养成分。以植物食品为主的人群, 常发生诸如 V_A 、铁及锌等微量营养成分的不足所引起的营养不良, 约占世界 40% 以上的人口。人类和畜类饮食中的 8 种必需氨基酸通常来源于植物。然而没有任何一种植物储藏器官中含有所有这 8 种氨基酸, 如大麦、高粱缺乏赖氨酸和苏氨酸, 玉米缺乏色氨酸, 小麦等禾谷类粮食作物缺乏赖氨酸, 大豆蛋白质中则缺少含硫的蛋氨酸。在食物中, 一种限制性氨基酸缺乏时会影响其它氨基酸吸收, 因而谷物和大豆蛋白质得不到充分利用。

随着人类生活水平的提高, 人们对饮食质量的要求也越来越高。对植物材料的营养价值进行遗传改良愈来愈受到关注。应用常规育种方法改良植物营养品质取得一定的成效, 高含芥子油苷(glucosinolate)的花椰菜品种的育成就是一例。芥子油苷被认为有预防癌症之功效, 它是作为抗癌变的标识酶即苯醌还原酶的诱导物来起作用的。新育成的杂交种品种在诱导此酶的能力上提高了 100 倍^[1]。然而, 许多植物营养品质的改良应用常规育种技术难以奏效。

分子克隆和遗传转化技术的飞速发展, 为改良植物材料的营养价值开辟了新途径。例如, 随着人们对植物体内类胡萝卜素 (V_A) 和生育酚 (V_E) 合成代谢途径的深入研究及相关

重要酶基因的克隆, 转基因培育高含量 V_A 和 V_E 的作物品种已成为可能。瑞士科学家 Potrykus 和德国科学家 Beyer 应用基因工程技术, 培育出富含维生素 A 的转基因水稻品种“金米”。此品种籽粒中 β -胡萝卜素的含量显著提高^[2,3]。 β -胡萝卜素是人类饮食中 V_A 的前体, 该品种谷粒中 β -胡萝卜素的合成是由于通过基因工程导入了类胡萝卜素生物合成途径中三个编码关键酶基因(八氢番茄红素合成酶、八氢番茄红素饱和酶和番茄红素 β -环化酶)。

应用转基因技术将一些用传统育种方法无法培育出的品质性状引入不同作物, 以提高作物的营养价值, 已成为植物遗传改良的一个热点研究领域, 且获得许多具应用价值的转基因作物品系。所改良的目标性状有: 不同作物的蛋白质含量及品质, 淀粉的组成成分, 食用油料作物的脂肪酸成分及油脂含量, 微量元素营养和维生素含量, 具有医疗效应的特殊营养物质的生物合成途径和积累水平, 以及引入甜味蛋白质改善水果及蔬菜的口味等^[4,5]。结合我们对植物油脂代谢和大豆脂肪酸遗传改良的研究^[6], 本文主要论述有关改良植物种子油脂成分、具有医疗及保健作用的抗氧化物质生物合成途径和积累水平的基因工程研究进展。

1 脂肪酸成分及含量

油脂是人类从植物中获得的重要营养物质。植物可合

收稿日期 2003-11-25, 修回日期 2004-03-29。

基金项目 国家教育部科技重点项目(No. 2002-03) 和国家教育部归国留学人员科研基金资助(No. 2001-11)。

* 通讯作者。Tel 86-354-6288374; Fax 86-354-6289821; E-mail runzhi_luo@yahoo.com.cn

** 对本文有同等贡献。

成 200 多种不同的脂肪酸,种子中积累和储藏的油脂通常是由 12~22 个碳原子和 0~3 个双键构成的脂肪酸混合物^[7]。人类所利用的植物油脂主要来源于六大油料作物(大豆、油棕、油菜、向日葵、棉花和花生),其主要成分是棕榈酸(16:0, 16 个碳原子, 0 个双键)、油酸(18:1)、亚油酸(18:2)和亚麻酸(18:3)。这些作物的种子油 90% 用于人类的食品, 10% 用于工业。脂肪酸碳链的长度、饱和度、双键的数目及位置决定着脂肪酸的理化性质、烹饪特性和对人类健康的影响。因此,不同用途的脂肪酸要求有不同的碳链长度、饱和度和双键数目。对来源于油料作物的种子油常需要经过一系列昂贵的加工过程,才能符合利用的标准。

图 1 简示植物油脂生物合成的主要途径。由脂肪酸合成酶(FAS)催化,植物在叶绿体中从头合成脂肪酸。先形成 16 个碳的棕榈酸(16:0)结合于酰基载体蛋白(ACP),经硫酯酶(TE)作用,棕榈酸脱离 ACP,进入细胞质,与辅酶 A(CoA)结合,形成 CoA-16:0。棕榈酸(16:0)还可以在叶绿体中进一步延长碳链,形成硬脂酸(18:0)。再在 $\Delta 9$ -硬脂酰-ACP-去饱和酶($\Delta 9$ DES)作用下,硬脂酸(18:0)发生第一步去饱和反应,形成油酸(18:1 $\Delta 9$, $\Delta 9$ 指在第 9 和 10 碳原子间形成 1 个双键)。油酸经硫酯酶催化,脱离 ACP,从质体进入细胞质中。然后,在 $\Delta 12$ -油酸去饱和酶($\Delta 12$ DES)和 $\Delta 15$ -亚麻酸去饱和酶($\Delta 15$ DES)依次作用下,分别生成亚油酸(18:2 $\Delta 9, 12$)和亚麻酸(18:3 $\Delta 9, 12, 15$)。在细胞质中,除了去饱和以及链延长反应外,还可发生羟化和环氧化等反应,从而合成其他种类脂肪酸。

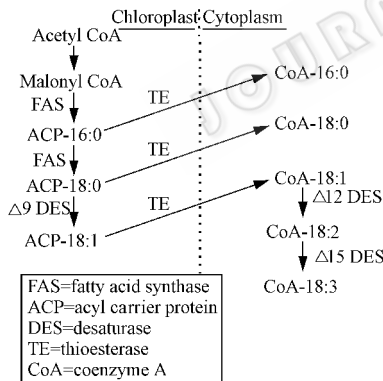


图 1 植物脂肪酸生物合成示意图

Fig.1 Overview of fatty acid biosynthesis in plants

1.1 提高硬脂酸和油酸的含量

现今医学研究表明油脂食品中饱和、氢化脂肪酸或反式不饱和脂肪酸易引起心血管疾病(coronary heart disease, CHD)^[8],多数植物油要经过氢化等加工后再用于食品,然而这一过程导致饱和脂肪酸和反式不饱和脂肪酸含量增加。高含油酸和硬脂酸的种子油则能明显减少在加工过程中形成饱和、氢化脂肪酸和反式不饱和脂肪酸。因此,提高种子油中油酸(18:1)和硬脂酸(18:0)含量是植物油脂基因工程改良的一个主要目标。

采用共抑制、反义核酸和 RNA 干扰技术,抑制或降低内源硬脂酰-ACP $\Delta 9$ -去饱和酶($\Delta 9$ DES)的表达,已成功地培育

出高含油酸和硬脂酸的转基因油料作物。Knutzon 等(1992)^[9]通过种子特异表达的反义 $\Delta 9$ DES mRNA 策略,培育出第一个转基因油脂改良的油菜品系,种子油中硬脂酸(18:0)含量比对照提高了 30%~40%。Kinney(1996)采用同样策略获得了硬脂酸(18:0)含量提高 30% 的遗传修饰的大豆^[10]。Liu 等(2000)^[11]应用 mRNAi 干扰技术沉默 $\Delta 9$ DES 基因,获得了硬脂酸(18:0)高达 38% 的转基因棉花。这些转基因植物种子油含量和生长发育与对照相同。然而,高含 32% 硬脂酸(18:0)的转基因 *Brassica rapa* 种子油含量明显降低,种子萌发差。这说明某种脂肪酸超积累可能影响到种子形成,并不是所有植物都能忍耐脂肪酸超积累。

高含油酸(18:1)的种子油,不仅营养价值大,而且还可用于合成许多有重要工业价值的油脂化合物。为了提高种子油中油酸(18:1)的含量,基因修饰策略是抑制或降低关键酶即油酰基- $\Delta 12$ -去饱和酶(oleoyl- $\Delta 12$ -desaturase, $\Delta 12$ DES)基因的表达。采用这一策略,已培育成功油酸(18:1)含量达 86% 的大豆(Kinney, 1996), 89% 的油菜(Stoutjesdijk *et al.*, 2000)^[12]和 77% 的棉花(Liu *et al.*, 2000)。

我们实验室所开展的大豆油脂改良研究的目标之一是提高大豆种子油中油酸(18:1)的含量。如上所述, $\Delta 12$ DES 这种微体酶对油酸高积累有重要作用,在不同油料作物中,该酶活性可由 2 个基因和小基因家族编码^[13]。从大豆中已分离到 2 个编码 $\Delta 12$ DES 的基因即 *FAD2-1* 和 *FAD2-2*^[14],其中 *FAD2-1* 控制种子中油酸(18:1)积累。

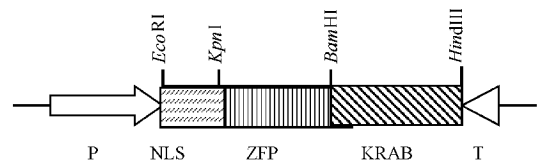


图 2 锌指蛋白转录因子表达盒示意图

Fig.2 Schematic illustration of ZFP-TF expression cassette (pCAMBIA1301)

P: seed-specific promoter; NLS: maize opaque-2 nuclear localization signal; ZFP: designed zinc finger protein; KRAB: mammalian repressor domain; T: Terminator

我们对转录因子锌指蛋白(zinc finger proteins, ZFPs)进行分子设计,使其能特异地结合 *FAD2-1* 靶序列,关闭该基因的表达,从而达到种子高积累油酸。我们设计了含 3 个锌指的 ZFPs,它能够特异结合 *FAD2-1* 编码区 18bp 序列。将这些 ZFPs 与转录因子的抑制域(KRAB)序列融合,置于种子特异启动子控制下,成功地构建了 ZFP-TF 表达盒(图 2)。用基因枪转化大豆幼胚组织,经培养获得转化的体细胞胚。对其靶基因的表达和目标产物合成的检测表明(图 3),与对照相比, *FAD2-1* 基因表达在转化的体细胞胚中显著减低了 70%~95%,油酸(18:1)含量提高了 2~4.5 倍(表 1)。进一步将对转基因植株的成熟种子及其后代中转基因的行为、靶基因表达和目标产物的积累进行分析。

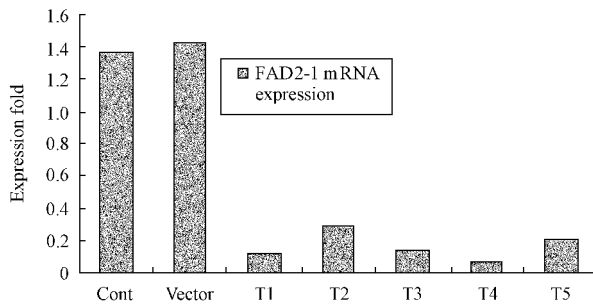


图3 ZFP-TF 对大豆体细胞胚中 FAD2-1 表达的影响

Fig.3 Effects of ZFP-TF on soybean FAD2-1 expression in somatic embryos

Cont : untransformed control /Vector : transformed control by vector without ZFP-TF expression cassette ; T1-T5 Soybean somatic embryos transformed by ZFP-TF expression cassette. FAD2-1 gene expression was analyzed by Taqman quantitative RT-PCR

表 1 ZFP-TF 转化的与未转化的大豆体细胞中油酸的合成

Table 1 Oleic acid (18:1) synthesis in the ZFP-TF transformed and control soybean somatic embryos

	Oleic acid(18:1) conten(%)				
	N	Mean	Min	Max	SEM
Untransformed control	30	9.5	9.1	9.8	0.02
Vector-transformed control	25	9.5	8.7	9.9	0.68
ZFP-TF-transformed	33	38.4	28.2	41.4	6.14

1.2 提高多聚不饱和脂肪酸的含量

油脂改良的另一目标是提高饮食中多聚不饱和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acids ,PUFAs) 含量。多聚不饱和脂肪酸包括 γ -亚油酸 (γ -linolenic acid ,GLA ,18:3 ω 6), 二十碳五烯酸 (eicosapentaenoic acid ,EPA 20:5 ω 3) 和二十二碳六烯酸 (docosahexaenoic acid ,DHA 22:6 ω 3), 这些脂肪酸对人类健康十分有益^[15]。GLA 是通过 Δ 6 去饱和酶 (18:2- Δ 6DES) 的作用, 由亚油酸合成的。将来自琉璃苣的编码 Δ -6 去饱和酶的基因导入烟草基因组, 转基因烟草获得了合成 GLA 的能力^[16]。进一步将这一基因导入番茄基因组, 转基因番茄果实总脂肪酸中含有 10% 的 GLA^[17]。此外, 从真菌中分离的一个 Δ -6 去饱和酶基因也已用于油菜的遗传转化, 转基因油菜籽油中含有约 40% 的 GLA^[18]。

一个更具挑战性的油脂改良目标是 ω -3 PUFAs 的生物合成, 尤其是 EPA 和 DHA, 它们在人类饮食中通常来源于鱼油。由于全球鱼类资源逐渐减少, 人们期望通过油料作物的基因改良来为人类提供这些高营养价值的脂肪酸。这些脂肪酸分别含有 20 和 22 个碳原子, 其生物合成需要一个特异的延伸酶, 即去饱和酶的参与。将编码该酶的基因导入到目标作物中, 就可在作物中合成这两种脂肪酸。对这些脂肪酸典型的需氧生物合成途径以及厌氧途径已有了较多的了

解^[19]。参与这些途径的酶基因可转入到异源植物基因组中, 可使这些长链脂肪酸在异源宿主中合成。现已对从酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 分离出的氧化还原酶特性进行了鉴定, 此酶参与微体的延伸酶作用^[20,21]。从富含 DHA 的海藻 *Isochrysis galbana* 中也鉴定和分离到一种可能的延伸酶。该基因在酵母中表达, 赋予了酵母细胞延长亚油酸和 α -亚油酸的碳链形成 20 个碳脂肪酸的能力^[22]。

1.3 提高种子油总含量

人们从脂肪酸合成的前体物质、代谢流和终产物积累等方面来探讨提高种子总油量的途径。丙二酰-辅酶 A (Malonyl-CoA) 的合成是脂肪酸从头合成的第一个限速步骤, 在叶绿体中, 它的含量比乙酰-辅酶 A (acetyl-CoA) 低 10%。丙二酰-辅酶 A 由乙酰-辅酶 A 羧化酶 (Acetyl-CoA carboxylase, ACCase) 催化形成。ACCase 亦是脂肪酸生物合成途径中一个对反馈抑制不敏感的酶, 提高该酶的表达可促进丙二酰-辅酶 A 的大量生成。Roesler 等 (1997) 将拟南芥 ACCase 导入油菜, 在种子中超表达, 仅获得了种子含油量比对照增加 3% ~ 5% 的转基因植株^[23]。增加前体物质丙二酰-辅酶 A 合成仅使种子总含油量轻微提高, 这说明还有其他一些限制因素。通过提高脂肪酸合成酶 (FAS) 表达, 并没有使含油量提高, 反而引起减少, 看来过量表达单个合成酶不足以使代谢流增强。通过对三酰甘油 (triacylglycerol, TAG) 生物合成途径后期步骤的调控则获得了较好的结果。例如, Zou 等 (1997) 将酵母长链 sn-2 乙酰转移酶在拟南芥和油菜中过量表达, 得到了种子油含量大于 50% 的转基因植株^[24]。大田栽培实验表明油菜种子油含量提高了 8.1% ~ 13.5% (Katavic *et al.* 2000)^[25]。Jako 等 (2001) 报道拟南芥二酰甘油酰基转移酶 (diacylglycerol acyltransferase) 基因的超表达可提高种子油含量和种子重量。这说明对代谢途径后期反应的调节较易提高含油量。近年来, 人们开展了鉴定能调控脂肪酸合成途径的转录因子、蛋白激酶和其它调控因子的研究, 以期建立对油脂代谢进行有效的调节途径 (Thelen *et al.* 2002)。

2 抗氧化物质的生物合成途径和积累

植物来源的抗氧化物质对人类有特殊的营养和保健作用。一些研究发现, 饮食中水果和蔬菜的多少与癌症发生率成反比。心血管疾病发生率与水果和蔬菜的食用也有相似的关系。Bazzano 等 (2002) 对美国人口心血管疾病发生率与水果蔬菜摄取量的相关性的研究支持了这一观点^[26]。这种预防疾病的作用被认为是源于水果和蔬菜中的抗氧化物质。还有研究表明多摄取水果和蔬菜能提高人体血浆中抗氧化物水平, 进而降低血压。血压降低则起到了预防心血管疾病的效果^[27]。果蔬中含有很多的抗氧化物质, 例如, 类胡萝卜素 (如番茄红素和 β -胡萝卜素), 维生素 C 和维生素 E, 类黄酮, 以及多酚 (如苯酚) 等。转基因提高这些抗氧化物质含量的研究已在水稻、玉米、大豆和番茄等作物中进行。

2.1 番茄红素

维生素含量高与植物来源的食品营养价值密切相关。

发展中国家有不少人口的食物中维生素营养严重不足。据统计,全世界 12 400 万儿童维生素 A(类胡萝卜素)营养缺陷(Hirschberg, 1999)^[28]。近年来,番茄中的主要胡萝卜素即番茄红素已引起人们广泛的关注,尤其是作为一种潜在的预防癌症的化学药品。尽管不同研究所得结果不尽一致,但番茄红素的摄取确实与预防前列腺癌、乳腺癌和结肠癌有关^[29]。用一些模式动物所作的研究证实番茄红素有保护性反应功能,但其作用机制仍不清楚。

应用基因修饰技术策略提高番茄果实中的番茄红素含量已获得了成功的试验。有关类胡萝卜素生物合成途径的研究表明,八氢番茄红素合成酶是该合成途径的关键酶。把来自细菌 *Erwinia uredovora* 的编码此酶的基因(*crtB*)导入番茄基因组,在转基因番茄植株中,该基因的表达导致番茄果实中胡萝卜素总含量水平增长了 2~4 倍,其中番茄红素和 β -胡萝卜素分别增长了 1.8 倍和 2.2 倍^[30]。更为惊奇的是,将该基因(*crtB*)导入油菜转基因种子中 α -和 β -胡萝卜素含量增加了 50 倍^[31]。在转基因番茄中,特异启动子驱动的番茄红素 β -环化酶(*β Lcy*)基因的超表达导致该酶的直接产物 β -胡萝卜素的含量增加 7 倍(Rosati 等, 2000)^[32, 33]。另一个成功的实例是,酵母 S-腺苷-L-甲硫氨酸羧基裂解酶在番茄果实中的表达,提高了转基因番茄果实中番茄红素的含量^[34]。在这个例子中(Mehta 等 2002),实验的原本目标是通过多氢生物合成途径的遗传修饰以提高番茄果实中精脞和精胺含量水平,结果意外地获得了转基因番茄果实中番茄红素含量水平的提高。这说明对目标代谢产物合成途径进行基因修饰,也会对其它代谢产物有影响。

一个有争议的问题是番茄果实中的番茄红素含量的提高是否就能影响它的生物有效性。番茄红素是一种脂溶性化合物,人体很少能从新鲜果实中吸收和利用。但从番茄加工产品(如果酱)中大量吸收,特别是与脂肪混合时更易吸收。那么,番茄红素以哪一种方式被人体吸收?已有研究表明在番茄果实及其制品如番茄酱和乳-番茄红素中,90% 以上的番茄红素以全反式结构存在^[35]。然而,在血浆及人体组织中积累的番茄红素则主要以顺式结构存在。顺式番茄红素更易溶于胆汁微团中,这就可以解释为什么这种顺式结构可优先被吸收。需指出的是,这种同分异构体对番茄红素作为抗氧化剂或预防药物的功效有何影响仍不清楚。

2.2 维生素 E

生育酚又称 V_E , 是另一种重要的饮食中的抗氧化剂,也是遗传修饰的靶标分子。 V_E 以多种同分异构体的形式存在于植物体中,其中以 α -和 β - V_E 最为丰富。 α - V_E 被认为是最有益的食用形式,但在许多食物中 γ - V_E 是主要存在形式。应用基因修饰技术提高植物材料中 α - V_E 与 γ - V_E 的比率是改良营养品质的一个目标。Shintani 等(1998)通过 γ - V_E 甲基转移酶基因在拟南芥中的过量表达使种子油中维生素 E 水平增加了 10 倍, α - V_E 与 γ - V_E 的比率也明显提高^[36]。Rochefford 等(2002)采用同样的遗传修饰策略来提高玉米籽粒中 α - V_E 与 γ - V_E 的比率,鉴定分子标记以用于辅助育种^[37]。不

过,近来有研究指出 γ - V_E 或由它衍生的化合物,可能也对健康起很重要的作用,因此提出应当增加 V_E 这两种同分异构体的总含量水平。Porfirova 等(2002)通过拟南芥 V_E 缺陷突变体的研究,鉴定出参与所有 V_E 生物合成的关键酶—— V_E 环化酶^[38],该酶未来可进一步用于提高 V_E 总含量的植物基因工程。

2.3 黄酮类化合物及其它抗氧化物质

除各种维生素外,植物还提供人类营养和健康所需的其它抗氧化物质,如黄酮醇等多酚类物质。番茄是常用来研究提高这些抗氧化物质含量的一种模式植物。在普通番茄果实中,黄酮醇含量低,且仅存在于果皮中。研究发现查尔酮异构酶(CHI)是增加黄酮醇产物的关键酶。矮牵牛 CHI 基因在番茄植株中异源超表达,导致转基因番茄果皮中黄酮醇含量比未转基因的对照果皮增加 78 倍,果肉中黄酮醇增加 21 倍(Muir 等 2001)^[39]。除了黄酮醇的含量有明显差异外,植株及果实的其它形状在转基因植株和对照之间没有区别。该实验表明应用基因工程在番茄果实中增加有益于人体健康的化合物的生物合成是可行的。与上述导入关键酶基因策略不同,Bovy 等(2002)^[40]成功地应用转录因子的遗传修饰获得了一个完整生物合成途径异源超表达的转基因植物。他们将玉米转录因子 LC 和 C1 导入番茄,获得了 LC 和 C1 超表达的转基因番茄植株,其果肉中黄酮醇被成功地诱导合成,并高水平积累。

黄酮类化合物是一些中药的主要有效成分,它是一类小分子的酚类物质,具有抗癌活性,减少冠心病发生率、降低胆固醇含量和预防骨质疏松症等功效。细胞色素 P450 加氧酶(P450s)是催化合成类黄酮化合物的关键酶之一。近年来,已从拟南芥、大豆、甘草和油菜等多种植物中分离和克隆了许多编码 P450s 的基因,如 *chp79*、*cyp83* 和 *cyp93C1* 等。应用这些基因,可对植物中异黄酮类代谢途径进行修饰或导入到其它作物中进行异源表达,培育能够大量特异生产所需黄酮类化合物的“化学工厂”的转基因植物,满足医药业对这些中药有效成分的需求,或者应用这些转基因植物生产出更有价值的植物产品或营养价值更高的食品^[41]。Kenneth 等(2001)报道,将大豆 P450 基因编码的异黄酮合成酶导入拟南芥转基因植株合成并积累了野生型拟南芥从未有的异黄酮类物质^[42]。

3 前景及展望

上述表明,通过对目标生物合成途径的遗传操作能够提高目标化合物的积累和改善其营养价值。既可在具有目标代谢的植物中增加特定营养物质的含量,也可将其代谢途径或部分代谢途径转移到其他植物基因组中,合成目标营养物质,既可改变目标生物合成途径中一个或几个关键酶基因的表达,又可改变一些控制生物合成途径的调节基因(如转录因子)的表达,还可采用反义 mRNA、共抑制、RNA 干扰或者酶抗体的超表达等技术减少一些靶基因的表达,使一些有副作用的物质含量降低,从而提高目标物质的营养有效性。

然而,一些研究中,目标基因超表达,没有改变目标营养物质的含量,却导致了未预期的产物的生成。这就表明代谢途径网络的复杂性和我们对这些代谢网络及其调节还知之不多。未来的研究应将遗传信息与蛋白组学和代谢组学知识进行整合,以便建立代谢网络和充分认识这些代谢网络,以有利于确定对植物营养物质进行改良的分子靶标。

目前,鉴定适于基因修饰的目标营养成分仍存在许多困难。例如,流行病学的研究指出,多吃蔬菜和水果有助于减少疾病包括癌症和心血管疾病的发生。然而,很难证明此效果归属于这些食物中的某一特殊营养成分。这就需要了解更多的相关信息,如营养物质如何被吸收以及它们在体内的代谢形式等。今后还有待进一步发现更广范围的植物生化物质的营养价值。随着愈来愈多参与植物重要营养物质代谢途径基因的克隆和分离,结合应用常规育种和基因修饰技术,可望培育出高营养价值或高保健功效的一系列新型作物。鉴于转基因植物存在环境潜在风险和转基因食品安全问题,需要对这些转基因改良的植物营养有效性、环境和食品安全性进行一系列严格的评价后,才可进一步最后推广应用,扩大受益群体,提高人类健康水平。

REFERENCES(参考文献)

- [1] Faulkner K, Mithen R, Williamson G. Selective increase of the potential anticarcinogen 4-methylsulphanylbutyl glucosinolate in brovvoli. *Carcinogenesis*, 1998, **19**: 605 - 609
- [2] Ye XD, Al-Babili S, Kloti A *et al.* Engineering the provitamin A (β -carotene) biosynthetic pathway into (carotenoid-free) rice endosperm. *Science* 2000, **287**: 303 - 305
- [3] Beyer P, Al-Babili S, Ye XD *et al.* Golden rice: Introducing the β -carotene biosynthesis pathway into rice endosperm by genetic engineering to defeat vitamin a deficiency. *J Nutr*, 2002, **132**: 506s - 510s
- [4] Mao X(毛雪), Liu Z(刘征), Li RZ(李润植). Analysis of wheat gliadin and glutenin gene expression under heat stress, Paper Collection of *International Wheat Genetics and Breeding Symposium*(小麦遗传育种国际学术讨论会论文集), Beijing: China Agricultural Sciencetech Press(中国农业科技出版社) 2001 pp.317 - 320
- [5] Yan XR(闫新甫), Li RZ(李润植) *et al.* Transgenic Plants, Beijing Sciences Press(科学出版社) 2003 pp.10 - 27
- [6] Li RZ(李润植), Mao X(毛雪), Wu KX(吴克学) *et al.* Modifying fatty acid accumulation in soybean seed oil, *Proceedings of Plant Biotechnology Symposium*. The Consortium for *Plant Biotechnology Research*, 2004 **2**: 216 - 220
- [7] Thelen JJ, Ohlrogge JB. Metabolic engineering of fatty acid biosynthesis in plants. *Metabolic Engineering*, 2002 **4**: 12 - 21
- [8] Hu FB, Manson JE, Willett WC. Types of dietary fat and risk of coronary heart disease: A critical review. *J Am Coll Nutr*, 2001, **20**: 5 - 19
- [9] Knutzon DS, Thompson GA, Radke SE *et al.* Modification of *Brassica* seed oil by antisense expression of a stearyl-acyl carrier protein desaturase gene. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, **89**: 2624 - 2628
- [10] Kinney AJ. Development of genetically engineered soybean oils for food applications. *J Food Lipids*, 1996 **3**: 273 - 292
- [11] Liu Q, Singh S, Green A. High-oleic and high-stearic cottonseed oils. *J Am Coll Nutr*, 2002 **21**: 205s - 211s
- [12] Stoutjesdijk PA, Hurlstone C, Singh SP *et al.* High-oleic acid Australian *Brassica napus* and *B. juncea* varieties produced by co-suppression of endogenous delta-12 desaturases. *Biochem Soc Trans*, 2000, **28**: 938 - 940
- [13] Drexler H, Spiekermann P, Meyer A *et al.* Metabolic engineering of fatty acids for breeding of new oilseed crops: strategies, problems and first results. *J Plant Physiol*, 2003, **160**: 779 - 802
- [14] Heppard EP, Kinney AJ, Stecca KL *et al.* Developmental and growth temperature regulation of two different microsomal omega-6 desaturase genes in soybeans. *Plant Physiol*, 1996, **110**: 311 - 319
- [15] Alonso DL, Maroto FG. Plants as 'chemical factories' for the production of polyunsaturated fatty acids. *Biotechnol Adv*, 2000, **18**: 481 - 497
- [16] Sayanova O, Smith MA, Lapinskas P *et al.* Expression of a borage desaturase cDNA containing an N-terminal cytochrome b5 domain results in the accumulation of high levels of D6-desaturated fatty acids in transgenic tobacco. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, **94**: 4211 - 4216
- [17] Cook D, Grierson D, Jones C *et al.* Modification of fatty acid composition in tomato (*Lycopersicon esculentum*) by expression of a borage D6-desaturase. *Mol Biotechnol*, 2002, **21**: 123 - 128
- [18] Hong H, Datla N, Reed DW *et al.* High-level production of γ -linolenic acid in *Brassica juncea* using a $\Delta 6$ desaturase from *Pythium irregulare*. *Plant Physiol*, 2002, **129**: 354 - 362
- [19] Napier JA. Plumbing the depths of PUFA biosynthesis. *Trends Plant Sci*, 2002 **7**: 51 - 54
- [20] Beaudoin F, Gable K, Sayanova O *et al.* A *Saccharomyces cerevisiae* gene required for heterologous fatty acid elongase activity encodes a microsomal β -ketoreductase. *J Biol Chem*, 2002 **277**: 11481 - 11488
- [21] Han GS, Gable K, Kohlwein SD *et al.* The *Saccharomyces cerevisiae* YBR159w gene encodes the 3-ketoreductase of the *Microsomal fatty acid* elongase. *J Biol Chem*, 2002 **277**: 35440 - 35449
- [22] Broun P, Somerville C. Progress in plant metabolic engineering. *PNAS* 2001 **98**: 8925 - 8927
- [23] Roesler K, Shintani D, Savage L *et al.* Targeting of the Arabidopsis homomeric acetyl-coenzyme A carboxylase to plastids of rapeseeds. *Plant Physiol*, 1997, **113**: 75 - 81
- [24] Zou JT, Katavic V, Giblin EM *et al.* Modification of seed oil content and acyl composition in the Brassicaceae by expression of a yeast sn-2-acyltransferase gene. *Plant Cell*, 1997 **9**: 909 - 923
- [25] Katavic V, Friesen W, Barton DL *et al.* Utility of the Arabidopsis FAE1 and yeast SLC1-1 genes for improvement in erucic acid and oil content in rapeseed. *Biochem Soc Trans*, 2000 **28**: 935 - 937
- [26] Bazzano LA, He J, Ogden LG *et al.* Fruit and vegetable intake and risk of cardiovascular disease in US adults. *Am J Clin Nutr*, 2002, **76**: 93 - 99
- [27] John JH, Ziebland S, Yudkin P *et al.* Effects of fruit and vegetable consumption on blood pressure concentrations and blood pressure

- a randomized controlled trail. *Lancet*, 2002, **359**:1969 – 1974
- [28] Hischberg J. Production of high-value compounds : carotenoids and vitamin E. *Curr Opin Biotech*, 1999, **10**:186 – 191
- [29] Kucuk O, Sarkar FH, Sakr W *et al.* Lycopene in the treatment of prostate cancer. *Pure Appl Chem*, 2002, **74**:1443 – 1450
- [30] Fraser PD, Romer S, Shipton CA *et al.* Evaluation of transgenic tomato plants expressing an additional phytoene synthase in a fruit-specific manner. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, **99**:1092 – 1097
- [31] Shewmaker CK, Sheehy JA, Daley M *et al.* Seed-specific overexpression of phytoene synthase :increase in carotenoids and other metabolic effects. *Plant J*, 1999, **20**:401 – 412
- [32] Rosatic C, Aquilani R, Kharnapuri S *et al.* Metabolic engineering of beta-carotene and lycopene content in tomato fruit. *Plant J*, 2000, **24**(3):413 – 419
- [33] Richelle M, Bortlik K, Liardet S *et al.* A food-based formulation provides lycopene with the same bioavailability to humans as that from tomato paste. *J Nutr*, 2002, **132**:404 – 408
- [34] Mehta RA, Cassol T, Li N *et al.* Engineered polyamine accumulation in tomato enhances phytonutrient content, juice quality, and vine life. *Nat Biotechnol*, 2002, **20**:613 – 618
- [35] Boileau TWM, Boileau AC, Erdman JW. Bioavailability of all-trans and cis-isomers of lycopene. *Exp Biol Med*, 2002, **227**:914 – 919
- [36] Shintani D, Dellapenna D. Elevating the vitamin E content of plants through metabolic engineering. *Science*, 1998, **282**:2098 – 2100
- [37] Rocheford TR, Wong JC, Egesel CO *et al.* Enhancement of vitamin E levels in corn. *J Am Coll Nutr*, 2002, **21**:191s – 198s
- [38] Porfirova S, Bergmuller E, Tropf S *et al.* Isolation of an Arabidopsis mutant lacking vitamin E and identification of a cyclase essential for all tocopherol biosynthesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, **99**:12495 – 12500
- [39] Muir S, Collins G, Robinson S *et al.* Overexpression of *petunia chalcone isomerase* in tomato results in fruit containing increased levels of flavonols. *Nature Biotechnology*, 2001, **19**(5):470 – 474
- [40] Bovy A, de Vos R, Kemper M *et al.* High-flavonol tomatoes resulting from the heterologous expression of the maize transcription factor genes LC and C1. *Plant Cell*, 2002, **14**:2509 – 2526
- [41] Yang ZH(杨致荣), Mao X(毛雪), Yang ZH(杨致芬) *et al.* *Cytochrome P450 genes* and their application in plant improvement. *Hereditas*(遗传) 2003, **25**(2):237 – 240
- [42] Kenneth A Feldmann. *Cytochrome P450s* as genes for crop improvement. *Curr Opin Plant Biol*, 2001, **4**(2):162 – 167

Improving the Nutritional Value of Plant Foods Through Transgenic Approaches

WU Yong-Mei^{* *} MAO Xue^{* *} WANG Shu-Jian LI Run-Zhi^{*}

(Center for Agricultural Biotechnology, Shanxi Agricultural University, Taiyuan 030801, China)

Abstract The most nutrients required in the human diet come from plants. The nutritional quality of plant products affects the human healthy. The advance of molecular cloning and transgenic technology has provided a new way to enhance the nutritional value of plant material. Transgenic modification of plant nutritional value has progressed greatly in the following aspects :improving the quality, composition and levels of protein, starch and fatty acid in different crops ; increasing the levels of antioxidants (e.g. carotenoids and flavonoids); breeding the new type of plants with medical value for human. To date, many transgenic plants with nutritional enhancement have been developed. These transgenic plant products could be directly used as human diet or as valued materials in developing the “ functional food ” with especial nutritional quality and healthy effects after they are approved by a series of evaluations on their safety and nutritional efficiency for human being. We designed new zinc finger transcription factors (ZFP-TFs) that can specifically down-regulate the expression of the endogenous soybean *FAD2-1* gene which catalyzes oleic acid to linoleic acid. Seed-specific expression of these ZFP-TFs in transgenic soybean somatic embryos repressed *FAD2-1* transcription and increased significantly the levels of oleic acid, indicating that the engineered ZFP-TFs are capable of regulating fatty acid metabolism and modulating the expression of endogenous genes in plants.

Key words nutritional quality, genetic improvement, zinc finger transcription factor, transgenic plants

Received : 11-25-2003

This work was supported by Grant from the Key project of Chinese Ministry of Education(No. 2002-03) and the Returned Scholarship funded by Chinese Ministry of Education(No. 2001-11).

* Corresponding author. Tel 86-354-6288374 ; Fax 86-354-6289821 ; E-mail : runzhi_li03@yahoo.com.cn

* * Contributed equally to the paper