

植物III型聚酮合酶的分子机制与应用前景

生书晶¹, 赵树进²

1 华南理工大学生物科学与工程学院, 广州 510640

2 中国人民解放军广州军区广州总医院, 广州 510010

摘 要: 植物 III 型聚酮合酶能催化生成一系列结构各异、具有不同生理活性、包含查耳酮合酶基本骨架的植物次生代谢产物, 这类次生代谢产物不仅使植物体本身的抗逆性提高, 并且对人类健康医疗有很好的应用前景。以下综述了近年来从植物中克隆、鉴定 III 型聚酮合酶的研究进展, 着重论述了其分子结构、催化反应的类型和机制、表达调控及其在转基因工程方面的研究和应用前景。这些研究将为有效地对其进行基因改造, 合成一些难以化学合成的新型天然化合物奠定基础, 并且为将来进一步开展 III 型聚酮合酶的转基因工程提供了参考。

关键词: III 型聚酮合酶(PKS), 分子结构, 催化机制, 表达调控, 转基因工程

A comprehensive overview of type III polyketide synthases from plants: molecular mechanism and application perspective— a review

Shujing Sheng¹, and Shujin Zhao²

1 School of Biological Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China

2 Department of Pharmacy, Guangzhou Liuhuaqiao Hospital, Guangzhou 510010, China

Abstract: Type III polyketide synthases (PKSs) from plants produce a variety of plant secondary metabolites with notable structural diversity and biological activity. These metabolites not only afford plants the ability to defend against pathogen attack and other external stresses, but also exhibit a wide range of biological effects on human health. Several plant PKSs have been identified and studied in recent years. This paper summarized what was known about plant PKSs and some of their aspects such as molecular structure, reaction mechanisms, gene expression and regulation, and transgenic engineering. The review provides information for manipulating polyketide formation and further increasing the scope of polyketide biosynthetic diversity, as well as new avenues for developing transgenic engineering of type III PKSs.

Keywords: type III polyketide synthase (PKS), molecular structure, catalytic mechanism, expression and regulation, transgenic engineering

聚酮化合物是一类含有碳、氧原子构成的大环结构的次生代谢产物, 广泛分布于生物界, 具有抗

菌、抗肿瘤、抗寄生虫和免疫抑制等药理活性, 它们形成的药物已用于抗菌、抗癌、降压、降脂、治

Received: July 7, 2009; **Accepted:** September 14, 2009

Supported by: Science and Technology Plan Program of Guangzhou City (No. 2007Z3-E5151).

Corresponding author: Shujin Zhao. Tel: +86-20-36653477; E-mail: gzsjzhs@163.com

广州市科技计划项目(No. 2007Z3-E5151)资助。

疗糖尿病、提高免疫力等疾病的治疗^[1]。聚酮化合物通常是在聚酮合酶(Polyketide synthase, PKS)的催化作用下生成。根据蛋白的结构可将 PKS 分为 I、II 和 III 型 PKS^[2]。其中 I、II 型 PKS 仅存在于微生物界, 分别含有多个功能模块和多个单功能亚基; 而 III 型 PKS 即查尔酮合酶(Chalcone synthase, CHS)超家族, 则是由 40~45 kD 的二聚体多肽组成, 主要分布于植物界, 但在少数细菌中也存在。III 型 PKS 能够催化许多天然聚酮化合物如花青素、查耳酮、二苯乙烯、苯甲酮、吡啶酮、间苯三酚、吡喃酮、苯并- γ -吡喃酮等含有黄酮类骨架结构的化合物的生物合成, 使植物拥有抗氧化、抗诱变、抗紫外辐射、抗病害侵扰等抵御外界胁迫的能力^[3]。目前研究表明, 它们还与人类的健康有密切的关系, 具有抗炎、抗癌、保护心脑血管系统等多种药理作用。聚酮化合物优越的生物学活性使之具有巨大的开发潜力和应用价值。

由于其独特的结构、作用机制及催化活性, III 型 PKS 的研究在过去 10 年备受瞩目。许多能催化形成不同产物的 PKS 不断被发现和鉴定, 对这些 PKS 的基因和蛋白进行调控可用于合成一系列难以化学合成的新型化合物^[4-5]。以下着重介绍植物 III 型 PKS 的分子结构、催化类型和机制、基因的表达调控及其在转基因方面的研究和应用。

1 各种 III 型 PKS 基因的结构

从 1983 年第一次在欧芹中克隆到 CHS 以来, 目前 GenBank 登录的 III 型 PKS mRNA 全序列已超过 1000 条, 对 CHS 及其超家族成员的研究无论是核酸水平还是蛋白水平都已经比较深入。截止到目前, 已经从苔藓类植物、裸子植物、单子叶植物、双子叶植物中克隆了多种 III 型 PKS 的基因组 DNA 或 cDNA 序列, 涉及的植物包括小立碗藓(*Physcomitrella patens*)、地钱(*Marchantia polymorpha*)、赤松(*Pinus densiflora*)、水稻(*Oryza sativa*)、玉米(*Zea mays*)、高粱(*Sorghum bicolor*)、小麦(*Triticum aestivum*)、大豆(*Glycine max*)、紫花苜蓿(*Medicago sativa*)、豌豆(*Pisum sativum*)、拟南芥(*Arabidopsis*)、啤酒花(*Humulus lupulus*)、矮牵牛

(*Petunia hybrida*)、山茶(*Camellia sinensis*)、翅叶决明(*Cassia alata*)、掌叶大黄(*Rheum palmatum*)、虎杖(*Polygonum cuspidatum*)、非洲菊(*Gerbera hybrid*)等多个不同的分类科目。

各种 III 型 PKS 基因的保守性很强, 序列一般由 2 个外显子和 1 个内含子组成。值得注意的是金鱼草(*Antirrhinum majus*)的 CHS 基因含有 2 个内含子^[6], 以及最近报道从虎杖中克隆到 2 个含有 3 个内含子的 *PcPKS1* 和 *PcPKS2* 基因^[7], 而本实验室在研究与虎杖同属蓼科的何首乌的 III 型 PKS 时也同样发现含有 3 个内含子的 PKS 基因(未发表)。对内含子的插入位点及序列进行分析发现, 所有物种的内含子插入位点都很保守, Intron 1 在所有已知序列中全部位于 Cys60 (与紫花苜蓿 *M. sativa* CHS2 等 III 型 PKS 序列进行多重比对后的计数)的第一和第二个三联密码子之间, Intron 2 位于催化活性位点 Cys164 附近, 而 Intron 3 则靠近 III 型 PKS 的另一个活性位点 His303。虽然内含子的长度和序列没有明显的同源性, 但是其插入位置却相同, 且插入边界都符合 GT-AG 的规则。序列比对分析发现, CHS 编码区比较保守, 长约 1.2 kb, 科之间的氨基酸同源性一般在 80% 以上, 裸子植物与被子植物之间也高达 60% 以上。这种高度一致的基因结构说明所有 III 型 PKS 基因可能来源于一个共同的祖先基因, 但在进化过程中, 伴随着物种分化和新类群的产生, PKS 基因发生了不同程度的重复和分化, 导致在不同植物基因组中产生了数目和分化程度不等的重复基因^[8]。

2 不同 III 型 PKS 成员的反应类型

目前已经发现的植物 III 型 PKS 多达 14 种, 它们都是具有独立活性中心的同源二聚体, 其中发现最早、研究最广泛和深入的是查尔酮合酶(Chalcone synthase, CHS)。它的起始底物是香豆酰辅酶 A, 合成的产物包括查尔酮、白藜芦醇、苯亚甲基丙酮、香豆酰-3-乙酸内酯、5-羟基八仙花酸等, 这些化合物是许多天然产物如花青素、黄酮、类黄酮等的骨架结构。现普遍认为植物体中其他一些与类黄酮代谢有关的 III 型 PKS 也都是由 CHS 通过重复-分化的

途径产生, 其中能够催化合成芪类物质的二苯乙烯合酶(Stilbene synthase, STS)被认为与 CHS 关系最为密切, 目前已从松树、花生、葡萄、大黄甚至高粱等多种植物中克隆得到^[9]。其他还包括菊科植物所特有的 2-吡喃酮合酶(2-pyrone synthase, 2-PS)^[10], 芸香科的吡啶酮合酶(Acridone synthase, ACS)、兰科的联苯合酶(Bibenzyl synthase, BBS)、以及大麻科植物与啤酒花苦味酸合成有关的 phlorisovalero phenone synthase(PVPS)^[11]等。

III型 PKS 通常以一个分子的酰基辅酶 A 为起始底物, 通过向底物中连续添加来自于丙二酸单酰辅酶 A 的乙酰基形成多酮中间体, 多酮中间体经过环化和芳香化形成终产物。不同类型的 III 型 PKS, 虽然基因及蛋白序列都高度同源, 但是在起始物种类、添加乙酰基的数目和多酮中间体环化方式 3 个方面却有不同的变化。同时, III 型 PKS 有广泛的底物适用性, 可接受许多芳香族和脂肪辅酶 A 内酯作为底物, 这些变化决定了植物类型 III 聚酮化合物数量和结构以及生理活性的多样性。不同 III 型 PKS 的

催化反应如图 1 所示。

3 催化机制

III 型 PKS 为同二聚物, 蛋白相对分子质量为 40~45 kD。所有 III 型 PKS 的氨基酸编码序列同源性几乎都在 60% 以上, 而通过对何首乌中 PKS 蛋白序列以及数据库中已有的序列比对分析发现, 蛋白 N 端序列的同源性远远低于 C 端, 有时甚至会缺失或者增加十几个残基, 推测可能是蛋白 N 端在稳定活性结构方面的作用远不如其他区域。紫花苜蓿(*M. sativa*)CHS2 的晶体结构解析和定点突变研究表明^[12], 其催化活性中心为 Cys-His-Asn 的组合结构, 且这一结构在所有发现的 III 型 PKS 中均高度保守, 其催化聚酮合成的机制为首先催化相关的底物辅酶 A 与活性位点 Cys164 结合, 经丙二酰辅酶 A 的一系列脱羧缩合, 使得聚酮链延长, 随之酶中间产物闭环和芳构化, 形成复杂的天然产物(图 2)。其中 Cys164 是聚酮链形成过程中的亲核活性位点, His303 和 Asn336 在丙二酰辅酶 A 的脱羧反应中起重要作用,

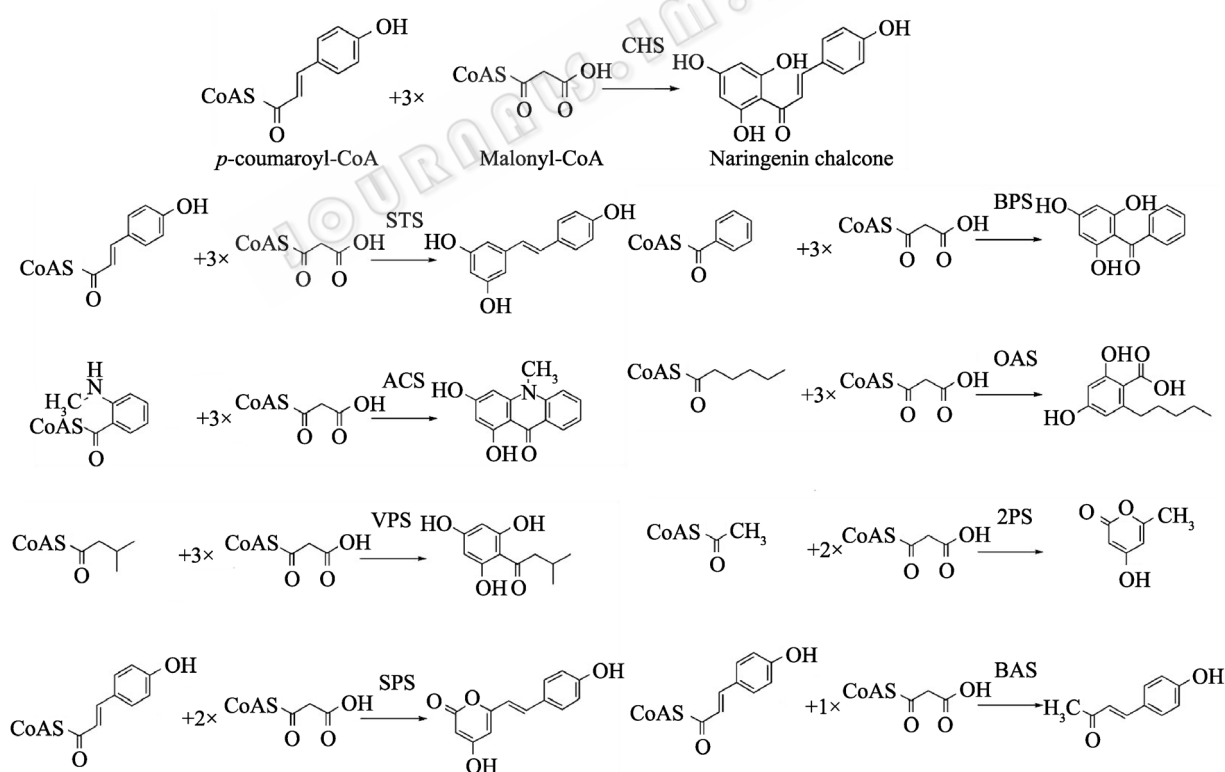


图 1 不同种类的 III 型 PKS 催化反应示意图

Fig. 1 Reaction catalyzed by different type III PKS. CHS: chalcone synthase; STS: stilbene synthase; ACS: acridone synthase; VPS: valerophenone synthase; SPS: styrylpyrone synthase; BPS: benzophenone synthase; OAS: olivetolic acid synthase; 2PS: 2-pyrone synthase; BAS: benzalacetone synthase.

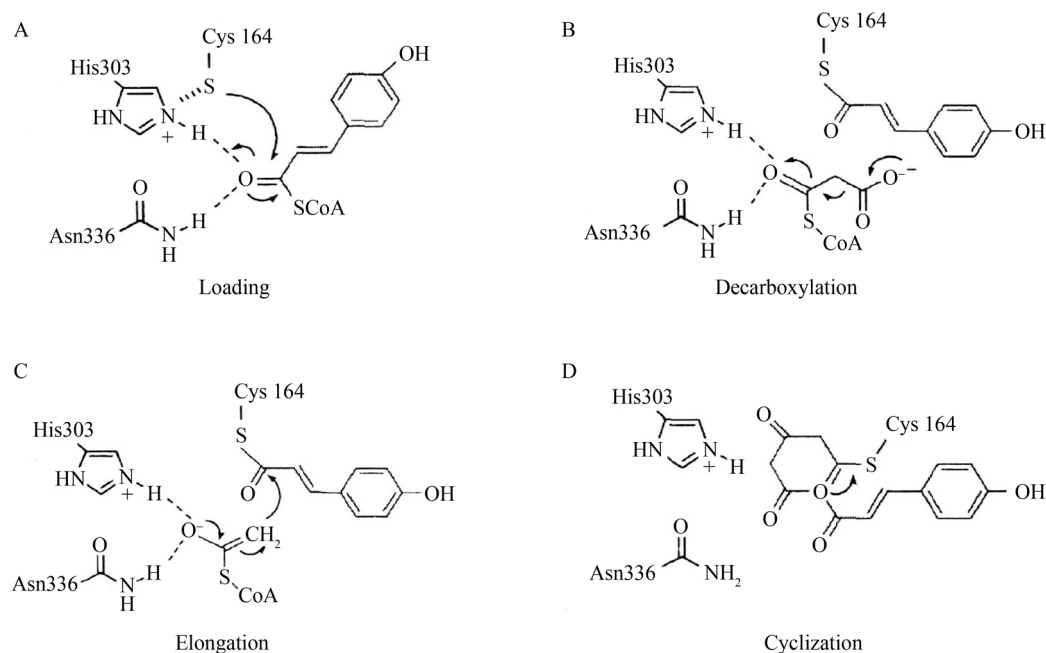


图2 III型 PKS 的催化作用机制

Fig. 2 Catalytic mechanism of type III PKS.

而另一个重要残基 Phe215 可能在聚合酮链延伸过程中起了底物导向作用,使底物能够准确地进入活性部位。由于III型 PKS 结构和功能的相似性,且这4个活性氨基酸残基在迄今发现的所有III型 PKS 中均相同,所以猜测III型 PKS 的三级结构都与 CHS 相似,而花生 STS 的晶体结构分析也确实证实了这一点^[13]。

研究发现,位于 Cys-His-Asn 活性中心腔内的氨基酸残基有 Thr197、Phe215、Gly256 和 Ser338,这些氨基酸通过调控腔内的空间大小决定了起始底物的选择性和聚酮链的延伸长度^[14]。其中, Phe215 位于活性位点腔与 CoA 结合通道之间,利于丙二酸辅酶 A 脱羧以及缩合反应中底物和中间产物的进入; Thr197 协同 Gly256 和 Ser338,在调控起始底物的选择性和产物的特异性中发挥重要作用,同时 Thr197 的立体空间大小决定了聚酮链的长度。不同功能的 III 型 PKS,其活性位点附近的氨基酸残基略有不同,导致活性结构也略有差异,而这种微小的不同足以导致产生不同的产物。如改变 CHS 不到 1% 的序列,就可以使 CHS 转换成 2-PS、PYS 的功能^[4],只需要在 CHS/STS 杂合体中改变 3 个氨基酸,即可以获得完全 STS 的活性^[15]。这些研究为进一步了解植物中

聚酮化合物生物合成的化学基础以及利用基因工程手段改造 III 型 PKS 的活性提供了结构基础;提示可以通过氨基酸定点突变等分子手段对 III 型 PKS 进行改造,获得所需要的工程酶或者提高目的酶的催化活性,从而生产出更多对人类社会有益的生物产品。

4 基因的表达调控

III 型 PKS 中的每个成员都可以被不同的调控方式所调控,如组织特异性表达,由光诱导处理或病原体侵染而诱导的转录,及由其他调节基因控制的转录。如 CHS 基因的表达在多数植物的早期发育阶段出现在叶片组织中,而成熟植株中则主要在花组织中表达^[16];而对于 STS 基因,其在葡萄、花生中的表达主要集中于果实,而在虎杖、大黄中则主要集中于块根组织^[9,17]。另外,由于 III 型聚酮化合物是植物防御机制的一部分,很多植物(如矮牵牛、菜豆等)在受到病原菌侵染、紫外线照射和臭氧、创伤等刺激时,会表达不同种类的 III 型 PKS 基因,且受激部位优先积累聚酮化合物,这主要是因为该处 III 型 PKS 基因被激发转录并转译成聚酮合酶,进而瞬时合成聚酮化合物,说明 PKS 基因高效表达的本质是转录

活性的提高, 其调控主要发生在转录水平上^[18-19]。

由于III型 PKS 基因属于多基因家族, 其中个体间存在一定的差异, 因而它们在受逆境胁迫时所产生的响应及表达差异较大^[20]。如苜蓿中至少含有 7 个不同的 CHS 基因, 但其细胞悬浮培养物受高盐处理时, 只有 5 个 CHS 基因被诱导转录。而且, 当苜蓿叶片被真菌苜蓿黑茎病菌株(*Phomamedicaginis*)侵染时, 不同的 CHS 基因转录本在侵染部位积累量不同, 其中一个 CHS 基因转录本积累的速度要远远高于其他 CHS 基因^[21]。当用灰霉菌细胞壁刺激葡萄悬浮培养液时, STS mRNA 的积累表现为 6 h 和 20 h 两个积累峰, 推测这两个峰是葡萄体内两种不同形式的 STS 基因, 即被早期诱导后快速降解的一类和被晚期诱导积累的另一类。由此推测植物体内不同形式的III型 PKS 基因可以在病原体、UV、O₃ 等诱发因子作用下被不同时期的诱导表达, 其表达受到不同的激发抑制因子及体内的顺反式作用元件的协控制。

由于III型 PKS 多基因家族的功能多样性, 以及在不同发育阶段、不同组织的特异性调控及其诱导调控的复杂性, 使它进化成为一个完善的调控系统。现在对于 PKS 基因表达调控的研究正在两个方向上进行: 一是观察植物受到外界刺激后的各种生理变化; 另一个是研究与 PKS 表达相关的调控因子及其基因的调控方式。虽然目前对于其调控过程还缺乏完整的认识, 但是相信随着研究的不断深入, 人类不但能够进一步认清植物基因调控的机理, 而且可以通过利用它们的调控途径来改变某些基因的表达效应, 从而为改良作物品种, 提高作物抗病能力开辟一条崭新的途径。另外, 对于III型 PKS 调控的系统研究使其可以作为模式基因家族, 用于研究植物基因表达调控的分子机制, 特别是多基因家族的分子机理研究。

5 转基因研究

由于III型 PKS 能够催化生成一系列具有多种有益的生物学功能的次生代谢产物, 使得III型 PKS 的基因工程研究成为目前的热点, 其中尤以 CHS 和 STS 的研究较为深入。目前, 转基因研究主要集中

在植物方面, 基本方案为利用已克隆的 CHS 和 STS 基因, 导入植物中, 在转基因植物中引入 CHS 和 STS 合成支路以合成黄酮类或者芪类次生代谢物, 从而达到改变转基因植物抗性及保健品质的目的。

CHS 的种类与活性对植物花色素的形成与积累起着重要的作用。CHS 基因的突变将导致植物颜色表型发生相应的变化, 如金鱼草、大麦、番茄、豌豆、玉米等的 CHS 功能失效会导致花色素苷缺乏而产生白化花的表型。鉴于此, 很多研究拟通过转基因技术将外源 CHS 基因导入花卉植物中以改变其花色, 且已取得了初步进展。如北京大学在研究中将来源于矮牵牛的 CHS 基因导入矮牵牛后发现, 原来的紫色花朵在转基因后有的变成了白色, 有的紫白相间, 而且紫白相间的方式各不相同^[22]。尽管如此, 迄今为止人们仍很难随心所欲的控制花色, 这也成为 CHS 花色基因工程中急待解决的问题。除了可控制花色素形成外, 将 CHS 基因导入植物还可提高植物的抗逆性, 这也成为目前 CHS 基因研究的一个热点。最新的研究表明, 将 CHS 基因导入杨树, 可以降低转基因杨树对低温的敏感性; 将 CHS 基因与黄酮醇合酶(Flavonol synthase) 基因共同转化至番茄后, 发现它们可协同作用正调节番茄果肉组织中黄酮醇的合成, 从而提高了番茄的抗氧化水平^[23]。

STS 的转基因工程主要是使转基因植物合成白藜芦醇等芪类次生代谢产物, 提高植物的抗病抗压等能力。1990 年 Hain 等第一次将从花生(*Arachis hypogea*)中克隆的全长 STS 基因转化烟草(*Nicotiana tabacum*)原生质体, 结果转基因烟草悬浮细胞培养物在短波紫外线诱导作用下合成了产物白藜芦醇^[24]。其后又将从葡萄中分离出的 STS 基因(Vst1 和 Vst2)转化烟草, 使转基因烟草对病原菌灰霉菌(*Botrytis cinerea*)表现出更高的抗性, 这成为通过转化外源植保素基因使植物获得抗病性能的第一例报道^[25]。自此, STS 基因被广泛研究并转化入水稻、番茄、紫花苜蓿、大麦、小麦、以及葡萄等多种作物中^[26]。大部分研究报道 STS 基因能够在外源植物中有效表达, 从而使转基因植物抗病害、抗氧化能力大大提高, 但是部分转基因植物却只能使病原菌的侵害速度降低而并不能消除其侵害, 甚至有些转基

因植物虽然体内积累了芪类物质,却没有表现出任何的抗病能力,其原因还没有很完善的解释,这也成为当前 STS 转基因研究的方向和热点。

6 总结和展望

在过去的几十年中,研究者在研究Ⅲ型 PKS 的基因克隆及生物合成机制方面都已经取得了重大进展,紫花苜蓿晶体结构的获得更是促进了对这一家族蛋白酶的催化机制、分子识别和蛋白质相互作用的诠释,将来的工作应该集中于对Ⅲ型 PKS 结构与功能关系的研究,以求提高其催化活性。目前对Ⅲ型 PKS 催化功能的诠释大都是通过体外催化获得,这主要是依赖于酶蛋白的活力,但是分离获得的天然 PKS 如 CHS、STS、OKS 以及 PCS 等通常都活力较低。所以,建立稳定的体内催化体系如异源细胞表达体系等,使催化反应可以长期有效的进行,是一个很好的解决途径;另外,在对Ⅲ型 PKS 结构与功能研究的基础上,对不同类型的 PKS 进行有效的定点突变以提高其酶催化活力或者改变其反应产物,将有可能得到更多有重要药理活性而难以化学合成的新型化合物。如果在这些方面都能取的长远的进展,那么Ⅲ型 PKS 将在新药开发领域有更广阔的应用。

在对Ⅲ型 PKS 生物合成途径深入研究的基础上,对其进行转基因技术的研究已经越来越受到人们的重视。将 CHS 基因导入花卉植物中以求改变其花色已经取得了初步进展,而通过对 CHS、STS 等的转基因研究以求改变植物中Ⅲ型 PKS 的含量,以达到合成某种有价值的聚酮化合物,或者提高转基因植物的抗氧化、抗寒和抗旱等抗逆性能力,无疑对植物次生代谢基因工程有巨大的推动作用。但是,在植物转基因方面仍然存在一些问题亟待解决,如植物中存在多种植保素合成酶基因,这些基因能否协调表达,外源基因的引入会不会影响植物体本身的其他代谢途径以及其间如何相互作用等还有待进一步研究;另外,转基因植物会不会影响人类健康和生态环境一直是人们关心的重点,外源基因的引入可能会使转基因植物出现一些常规育种中不曾遇到的新组合、新性状,这会不会影响生态环境的安全性

仍需进行系统研究。所以在已有研究的基础上,对Ⅲ型 PKS 的表达调控机理、转基因植株稳定性、合成途径中各种酶之间相互协同或抑制作用、以及转基因植物的安全性等方面还需要较为深入的研究。

REFERENCES

- [1] Sun YH, Deng ZX. Polyketides and combinatorial biosynthetic approaches. *Chin J Antibiot*, 2006, **31**(1): 9–17.
孙宇辉, 邓子新. 聚酮化合物及其组合生物合成. 中国抗生素杂志, 2006, **31**(1): 9–17.
- [2] Watanabe K, Praseuth AP, Wang CC. A comprehensive and engaging overview of the type III family of polyketide synthases. *Curr Opin Chem Biol*, 2007, **11**(3): 279–286.
- [3] Austin MB, Noel JP. The chalcone synthase superfamily of type III polyketide synthases. *Nat Prod Rep*, 2003, **20**(1): 79–110.
- [4] Abe I. Engineering of plant polyketide biosynthesis. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 2008, **56**(11): 1505–1514.
- [5] Jez JM, Ferrer JL, Bowman ME, *et al.* Structure and mechanism of chalcone synthase-like polyketide synthases. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 2001, **27**(6): 393–398.
- [6] Sommer H, Saedler H. Structure of the chalcone synthase gene of *Antirrhinum majus*. *Mol Gen Genet*, 1986, **202**: 429–434.
- [7] Ma LQ, Pang XB, Shen HY, *et al.* A novel type III polyketide synthase encoded by a three-intron gene from *Polygonum cuspidatum*. *Planta*, 2009, **229**(3): 457–469.
- [8] Jiang C, Kim SY, Suh DY. Divergent evolution of the thiolase superfamily and chalcone synthase family. *Mol Phylogenet Evol*, 2008, **49**(3): 691–701.
- [9] Samappito S, Page JE, Schmidt J, *et al.* Aromatic and pyrone polyketides synthesized by a stilbene synthase from *Rheum tataricum*. *Phytochemistry*, 2003, **62**(3): 313–323.
- [10] Jez JM, Austin MB, Ferrer JL, *et al.* Structural control of polyketide formation in plant-specific polyketide synthases. *Chem Biol*, 2000, **7**(13): 919–930.
- [11] Yang J, Gu HY. The pattern of gene duplication and differentiation in chalcone synthase superfamily. *Chin Sci Bull*, 2006, **51**(7): 745–749.
杨继, 顾红雅. 查尔酮合酶超家族(chalcone synthase superfamily)基因重复和分化的式样. 科学通报, 2006, **51**(7): 745–749.
- [12] Ferrer JL, Jez JM, Bowman ME, *et al.* Structure of chalcone synthase and the molecular basis of plant polyketide biosynthesis. *Nat Struct Biol*, 1999, **6**(8): 775–784.
- [13] Shomura Y, Torayama I, Suh DY, *et al.* Crystal structure

of stilbene synthase from *Arachis hypogaea*. *Struc Func Bioinform*, 2005, **60**: 803–806.

[14] Abe I, Utsumi Y, Oguro S, *et al*. A plant type III polyketide synthase that produces rentaketide chromone. *J Am Chem Soc*, 2005, **127**: 1362–1363.

[15] Austin MB, Bowman ME, Ferrer JL, *et al*. An aldol switch discovered in stilbene synthases mediates cyclization specificity of type III polyketide synthases. *Chem Biol*, 2004, **11**: 1179–1194.

[16] Wang M, Wang XJ. Effects of blue light and sucrose on anthocyanin accumulation and chalcone synthase gene expression in *Arabidopsis*. *J Tro Subtrop Bot*, 2004, **12**(3): 252–256.

王曼, 王小菁. 蓝光和蔗糖对拟南芥花色素苷积累和 CHS 基因表达的影响. *热带亚热带植物学报*, 2004, **12**(3): 252–256.

[17] Fornara V, Onelli E, Sparvoli F, *et al*. Localization of stilbene synthase in *Vitis vinifera* L. during berry development. *Protoplasma*, 2008, **233**: 83–93.

[18] Yu CK, Springob K, Schmidt J, *et al*. A stilbene synthase gene (*SbSTS1*) is involved in host and non host defense responses in Sorghum. *Plant Physiol*, 2005, **138**(1): 393–401.

[19] Jeandet P, Douillet-Breuil AC, Bessis R, *et al*. Phytoalexins from the Vitaceae: biosynthesis, phytoalexin gene expression in transgenic plants, antifungal activity, and metabolism. *J Agric Food Chem*, 2002, **50**(10): 2731–2741.

[20] Zinser C, Jungblut T, Heller W, *et al*. The effect of ozone in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.): gene expression, biochemical changes and interactions with UV-B radiation. *Plant Cell*, 2000, **23**: 975–982.

[21] Durbin ML, McCaig B, Clegg MT. Molecular evolution of chalcone synthase multigene family in the morning glory genome. *Plant Mol Biol*, 2000, **42**(1): 79–92.

[22] Li Y, Hui YW, Zhang ZK, *et al*. Studies on cosuppression in *Petunia hybrida* transformed with the chalcone synthase gene. *Science in China C*, 2001, **5**: 401–407.

李艳, 惠有为, 张仲凯, 等. 转查耳酮合酶基因矮牵牛共抑制的研究. *中国科学 C 辑*, 2001, **5**: 401–407.

[23] Zhang DQ, Tan XF, Wang XH. Gene characteristics and transgenic application of chalcone synthase and chalcone isomerase. *J Centr South For Univ*, 2007, **27**(2): 87–91.

张党权, 谭晓风, 王晓红. 查耳酮合酶与查耳酮异构酶基因特征及转基因应用. *中南林业科技大学学报*, 2007, **27**(2): 87–91.

[24] Hain R, Bieseler B, Kindl H. Expression of a stilbene synthase gene in *Nicotiana tabacum* results in synthesis of the phytoalexin resveratrol. *Plant Mol Biol*, 1990, **15**(2): 325–335.

[25] Hain R, Reif HJ, Krause E, *et al*. Disease resistance results from foreign phytoalexin expression in a novel plant. *Nature*, 1993, **361**(2): 153–156.

Delaunois B, Cordelier S, Conreux A, *et al*. Molecular engineering of resveratrol in plants. *Plant Biotechnol J*, 2009, **7**(1): 2–12.

本期广告索引

企 业	版 位	企 业	版 位
GE Healthcare 公司	封 底	美国 Promega 公司	内 页
Roche 诊断产品有限公司	封 二	生物谷网站	内 页
赛默飞世尔科技有限公司	封 三	上海国强生化工程装备有限公司	内 页
泰州贝今生物技术有限公司	内 页	镇江东方生物工程公司	内 页