

重金属植物螯合肽(PC)的研究进展

徐照丽^{1,2}, 吴启堂¹, 依艳丽²

(1. 华南农业大学资源环境学院, 广东 广州 510642; 2. 沈阳农业大学土地与环境学院, 辽宁 沈阳 110161)

摘要: 综述了近年来植物螯合肽(PC)研究的一些最新进展, 主要对 PC 的结构、在植物体内的合成及 PC 在植物体内的功能和作用进行了阐述, 并展望了其今后的发展前景。

关键词: 植物螯合肽; 结构; 植物合成; 作用

中图分类号: X173 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000 - 0267(2001)06 - 0464 - 03

Advanced Progress of phytochelatins in Plant

XU Zhao-li^{1,2}, WU Qi-tang¹, YI Yan-li²

(1. College of Natural Resources and Environment, South China Agricultural University, Guangzhou 510642;

2. College of Land and Environment, Shenyang Agricultural University, Shenyang, 110161)

Abstract: Phytochelatins, a series of non - protein thiol compounds, are found universally in higher plants. They usually play an important role in detoxification for heavy metals. If their function mechanism was made clearly, the application of the compounds may be available in remediation on soils polluted by heavy metals. The present paper reviewed the advanced progress of phytochelatin in plant, mainly including the structure of PC, induced biosynthesis, and its function and action in detoxification mechanisms on heavy metals in plants.

Keywords: Phytochelatins; structure; induction biosynthesis; function

目前, 重金属污染土壤的植物修复受到越来越多的重视, 重金属对植物的毒性机理已成为研究的热点问题。自从 1985 年 Grill 等人分离纯化得到镉结合肽^[1], 并正式命名为植物螯合肽(Phytochelatin, 即 PC)以来, PC 对重金属的解毒作用特别是解 Cd 毒的作用受到广泛的关注, 但研究结果存在许多不一致的地方。因此, 有必要对 PC 近期的研究进展作一综述。

1 植物螯合肽的结构

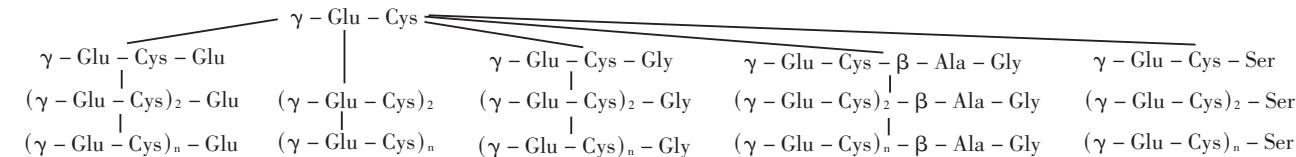


图 1 各种 γ -Glu-Cys 肽的结构

Figure 1 Various chemical structures of γ -Glu-Cys peptides

2 植物螯合肽的产生

2.1 植物螯合肽的金属诱导

2.1.1 植物螯合肽的产生与金属的种类有关

多种金属如 Ni、Cu、Zn、Ag、Sn、Te、V、Au、Hg、Pb、Bi 的硝酸

Grill 等人研究发现, PC 是由 Glu、Cys、Gly 3 种氨基酸组成, 一般化学式为 $(\gamma$ -Glu-Cys)_n-Gly ($n = 2 - 11$)^[1]。最近的研究发现, 某些植物与重金属接触, 可产生一系列与 PC 结构相似又不相同的化合物, 称为同源 PC^[2]。PC 与同源 PC 有 3 个共同的特征: (1) Glu 位于氨基酸的末端; (2) Glu 相邻的碱基为 Cys, 与 Glu 以 γ -羟基相连; (3) γ -Glu-Cys 被重复 2 次或更多次^[4]。因此, 可以根据以上 3 个共同特征来识别 γ -Glu-Cys 肽, 又根据羧基末端氨基酸的不同分为 5 类(图 1)。

盐或硫酸盐或 As、Se 的阴离子均可诱导 PC 的产生, 对 PCs 合成的影响顺序为: $Cd^{2+} > Pb^{2+} > Zn^{2+} > Sb^{3+} > Ag^{+} > Hg^{2+} > As^{5-} > Cu^{2+} > Sn^{2+} > An^{3+} > Bi^{3+}$ ^[4]。但是只有 Cd 诱导形成 PC 的速度最快, 数量最多, 是其他金属离子的几倍或几十倍^[5]。

2.1.2 PC 是在 PC 合成酶的催化下形成的

PC 是在 PC 合成酶的催化下形成的^[3]。而且这种酶存在于不同的作物中。它在不同的作物中发挥作用, 使 γ -Glu-Cys 残基不断的延伸形成谷胱甘肽(GSH)或者 PCs。Howden 等人的研究发现, 在缺少 PC 合成酶的植株中, 尽管有大量 GSH 的

收稿日期: 2001 - 01 - 02

基金项目: 广东省自然科学基金(980122)、广东省环保科技研究开发项目和教育部骨干教师基金资助

作者简介: 徐照丽(1972-), 女, 现在云南烟草科学研究院工作。

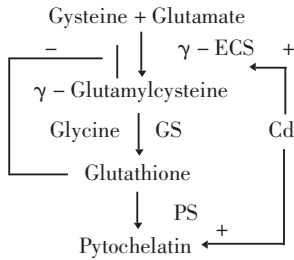
存在,也不能合成 PCs^[6]。

2. 1. 3 植物螯合肽的产生与金属的浓度及存在的形态有关

不同的金属在不同的浓度下对 PC 合成酶的活性的影响是不同的。对 Cd 而言,10—100 μmol · L⁻¹ 为 PC 合成酶的最适活化浓度;而在 10 μmol · L⁻¹ 时,Cu、Pb、Ni、Co 对 PC 合成酶的催化能力影响最大;50 μmol · L⁻¹ 时为 Ag、Zn;100 μmol · L⁻¹ 时为 Hg、Mg。并且与重金属元素的交互作用有关。Cd 在 50 μmol · L⁻¹ 时,Cu - Cd、Hg - Cd 为拮抗作用,而 Pb - Cd、Mn - Cd 为协同作用^[7]。Ahner 等人对海生的矽藻类进行研究,发现 (γ - Glu - Cys)₂₋₄ - Gly 的产生主要决定于 Cd²⁺、Cu²⁺、Ni²⁺、Pb²⁺ 的自由离子的浓度,而不是金属的总浓度^[8]。

2. 2 谷胱甘肽(GSH)是 PC 的前体

大量的试验结果表明,植物或细胞用重金属处理后,随着其中 PC 含量的增加,GSH 的水平相应的下降。Grill 等的研究发现,蛇根木细胞接触 Cd²⁺ 的最初 3 h,γ - 谷氨酰半胱氨酸残基掺入到 PC 中的量几乎与 GSH 的消耗量相当,二者呈相互消长关系。PC 的生成源自于 GSH 链的延伸,是由 γ - 谷氨酰半胱氨酸残基逐步与 GSH 结合而成。而 GSH 是 PC 产生的前体是由 Steffens 在 1990 年正式提出的^[9]。总的说来,认为 GSH 是 PC 产生的前体的主要原因有以下 4 个方面:(1) PC 与 GSH 的结构相似;(2) PC 的增加伴随着 GSH 的减少;(3) 如果没有 GSH 合成酶或谷氨酰胺合成酶,PC 产生的很少或没有 PC 的产生;(4) BSO 是谷氨酰胺合成酶的抑制剂,添加 BSO 后,抑制 PC 的产生^[3]。GSH 产生的过程如图 2 所示。



注: γ - ECS, γ - glutamyl - Cys synthetase; GS, Glutathione synthetase; PS, Phytochelatin synthetase; ‘+’表示增加; ‘-’表示减弱。

图 2 植物中 PC 的合成^[10]

Figure 2 Synthesis of phytochelatins in plant^[10]

2. 3 植物螯合肽的产生是一个快速的反应

植物螯合肽的产生是一个快速的反应过程。许多研究都发现了这一点。3—500 μmol · L⁻¹ 的 Cd 处理植物或细胞悬液,10—15 min 内,(γ - Glu - Cys)₂ - Gly 生成^[11];番茄和 *Silene vulgaris* 的细胞悬液中加入 0.1 mmol · L⁻¹ 的 Cu²⁺ 和 Cd²⁺ 后,20—30 min 检出 PC 的存在^[12];Keltjens 等人的研究也发现,Cu 或 Cd 处理后的很短时间内,玉米特别是根系中便有 Cd 的产生,因此,他们认为 PC 可以用来作为植物重金属胁迫的早期预报^[13]。

2. 4 植物螯合肽的产生与植物的种类有关

PC 在高等植物中的存在具有普遍性,但存在形式与植物的种类有关。同是 Cd 处理,裂殖酵母 *s. pombe* 和 *candida glabrata* 生成 (γ - Glu - Cys)_n - Gly 和 (γ - Glu - Cys)_n;在试验

的豆科植物中,有 7 种生成 (γ - Glu - Cys)_n - Gly,13 种生成 (γ - Glu - Cys)_n - β - Ala,23 种同时生成 PC 的 5 种类别;而水稻、小麦、燕麦等禾本科植物生成 (γ - Glu - Cys)_n - Gly,(γ - Glu - Cys)_n,(γ - Glu - Cys)_n - Ser^[11]。

3 植物螯合肽的作用

自植物螯合肽(PC)被发现命名后,关于它在植物中的作用的研究报道很多。研究发现主要有两方面的作用:一方面是对植物体内重金属的解毒作用;另一方面是调节和维持植物体内金属离子的平衡。下面分别加以说明。

3. 1 植物螯合肽的解毒作用

植物螯合肽是一种富含 -SH 的多肽,只能在植物体内形成^[14]。植物体内重金属诱导形成 PC 后,通过 -SH 络合过量的重金属,从而避免重金属以自由离子的形式在细胞内循环,减少了重金属对细胞的伤害。Strasdeit 等人 1991 年运用 EXAFS (extended X - ray absorption fine structure) 技术,发现 Cd - S 键的键长为 2.52 ± 0.02 Å^[15]。但是,由于 PC 与金属离子络合的机制不同,尽管许多重金属诱导下均可产生 PC,只有少数几种重金属能与其形成络合物。特别是对 Cd 而言,PC 的产生是高等植物解 Cd 的普遍机制^[3]。Grill 等的试验证明,植物细胞内 90% 以上 Cd 与 PC 结合^[4]。而 Ver 等人的研究发现,根系中吸收的 Cd 60% 以 Cd - PC 的形式存在^[16]。PC 与植物的耐 Cd 性相关显著,耐 Cd 植物中 PC 累积比不耐 Cd 植物的多得多^[14]。Gupta 等利用不同的植株试验也得出了相一致的结果^[17]。Zhu 等的研究表明,Indian mustard 中 E. Coil gsh II 基因表达后,GSH 和 PCs 的增加使 Cd 的累积和对 Cd 的抗性增加,而且此种影响与 GSH II 的表达水平呈正相关,从而得出结论:GSH 或 PCs 的水平决定了植物对 Cd 的累积及抗 Cd 的能力^[10]。而且 PCs 对植物抗 Cd 的能力随着 PC 生成量的增加、PC 链的延长及 S²⁻ 的键入而增加^[18]。另外,有研究发现,PCs 在解 Hg 毒的方面也发挥一定的作用^[19]。Gupta 等人也分离出了 Pb - PC 的络合物,证明了 PC 对 Pb 的解毒作用^[20]。黄玉山等人从 Cu 处理的紫羊茅根中分离纯化,得到了铜结合肽(CuBP - 2a),从而证明了结合肽在抗 Cu 作物中的作用^[21]。

但是,近来人们对 PC 的解毒效果提出了质疑。Knecht 等观测到 *Silene vulgaris* 中 Cd 的敏感植株比 Cd 的耐性植株产生更多 Cd - PC,而且稳定的长链 Cd - PC 在敏感植株的形成更多、更快,植株中 PCs 的产生与植物对重金属的抗性不存在明显的比例关系^[22]。Schat 等的试验也发现,抗 Cu 与对 Cu 敏感的 *Silene vulgaris* 在 Cu 的诱导下均产生 PC^[23],而 Vos 等人的研究也证明,仅对 Cu 敏感的植株的 GSH 的含量下降,合成 PC^[24]。说明植物对 Cu 的抗性可能与其体内 PC 的合成无关。

因此,当我们在研究 PC 对重金属的解毒作用时不能一概而论。这种解毒作用可能因重金属的种类、处理时间及植物种类的不同而产生差异。

3. 2 植物螯合肽调节和维持植物体内金属离子的平衡作用

在金属离子敏感或具抗性的番茄细胞内,即使无过量的金属离子存在,也会产生少量的 PC,说明 PC 参与正常的细胞活

动^[1]。Kneer 等人运用 ^{109}Cd 示踪技术研究发现,一系列对金属敏感的酶如硝酸还原酶、脲酶、过氧化物酶等对 PC - Cd 的耐性是自由 Cd^{2+} 离子的 10 到 1 000 倍,因此,植物体内 PC 与 Cd^{2+} 的络合,保护了酶的活性,从而保证细胞正常代谢的顺利进行^[25]。一方面,植物螯合肽络合 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 等金属离子,将过量的金属离子贮存于液泡中;另一方面,将金属离子转运至新的合成酶^[26]。由此可以得出,PC 对必需的金属离子在植物体内的代谢起调节作用。

4 展望

自 20 世纪 80 年代以来,国内外特别是国外有关植物螯合肽的研究一直处于比较活跃的地位,研究也越来越深入,尤其是 PC 对重金属的解毒作用机制及 PC 与植物对重金属的抗性的关系报道较多。但是在研究中也存在一些问题,今后应加强以下几个方面的研究。

(1)植物螯合肽在某些植物中对重金属的解毒作用特别是对 Cd^{2+} 的解毒作用已得到了多方面的证实^[4, 16, 18],但 PC 与植物抗性的关系不同学者的研究结果有不一致的地方^[10, 14, 22],这是因为与植物对金属抗性有关的机制是多方面的,如细胞壁的作用、液泡的分室化、有机酸的作用等,PC 只是抗性机制中的一个方面,所以在研究植物对重金属的抗性时,不能只局限于某一方面的机制,而应根据具体的植物,发现对其抗性起决定作用的因素。

(2)目前,对于 PC 在植物中的作用机理还研究得不够透彻,特别是有必要加强 PC 在植物中的作用过程的研究,从而为通过转基因技术获得对重金属高抗性、高累积、高生物量的植物,为重金属污染地区的植物修复提供理论依据。

(3)有关植物对重金属的解毒及抗性机制的研究,多为急性的伤害,处理的时间较短,从几小时到几天,处理的重金属浓度较高,从 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 到 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$,且多为在水培中的浓度^[26],此浓度远远高于实际土壤中重金属的污染程度,在今后的工作中有必要加强植物对重金属长期效应的研究,以及在重金属的低浓度下,PC 在植物中的作用机理研究。

(4)另外,现在的研究多侧重于在单一重金属存在的条件下 PC 的作用机理,而实际情况是,往往多种重金属同时存在,因此,在以后的研究中应加强在复合污染的情况下,植物螯合肽(PC)对植物的作用机理研究。

参考文献:

- [1] Grill E, et al. Phytochelatin: the principal heavy metal complexing peptides of higher plants[J]. *Science*, 1985, 230: 674 - 676.
- [2] Gekeler W, Grill E, et al. Survey of plant kingdom for the ability to bind heavy metals through phytochelatin[J]. *Z. Naturforsch*, 1989, 44c: 361 - 369.
- [3] Rauser W E. Phytocheltins and related peptides[J]. *Plant Physiology*, 1995, 109: 1 141 - 1 149.
- [4] Grill E, Winnacker E L, and Zenk M H. Phytochelatin, a class of heavy - metal - binding peptides from plants, are functionally analogous to metallothioneins[C]. *Proc natl acad sci USA*. 1987. 84: 439 - 443.
- [5] Reddy G N and Prasad M N V. Heavy metal binding - proteins/peptides: occurrence, structure, synthesis and functions. A review[J]. *Journal*

- of Enviromental and Experimental Botany*, 1990, 30: 252 - 264.
- [6] Howden R, et al. Cadmium - sensitive, cad1 mutants of Arabidopsis thaliana are phytochelatin deficient[J]. *Plant Physiology*, 1995, 107: 1 059 - 1 066.
- [7] Nakazawa R, and Takenaga H. Interactions between cadmium and several heavy metals in the activation of the catalytic activity of phytochelatin synthase[J]. *Soil Science and Plant Nutrition*, 1998, 44 (2): 265 - 268.
- [8] Steffens J C. The heavy metal - binding peptides of plant. Annual review of plant physiology and molecular biology[J], 1990, 41: 553 - 575.
- [9] Zhu Y L, Elizabeth A H, et al. Overexpression of glutathione synthetase in Indian Mustard enhances cadmium accumulation and tolerance[J]. *Plant Physiology*, 1999, 119: 73 - 79.
- [10] Klapheck, fliegner W and Zimmer I. Hydroxymethyl - phytochelatin [(γ - glutamylcysteine) n - serine] are metal - induced peptides of the Poaceae[J]. *Plant Physiology*, 1994, 104: 1 325 - 1 302.
- [11] Leopold I, et al. Phytochelatin and heavy metal tolerance[J]. *Phytochemistry*, 1999, 50: 1 323 - 1 328.
- [12] Keltjens W G, Beusichem M L. Phytochelatin as biomarkers for heavy metal toxicity in Maize: single metal effects of copper and cadmium [J]. *Journal of Plant Nutrition*, 1998, 21(4): 635 - 648.
- [13] Steffens J C, et al. Accumulation of non - protein mrtal - binding polypeptides (γ - Glu - Cys) n - Gly in mustard cadmium resistant tomato cells[J]. *Journal of Biology Chemistry*, 1986, 261: 13 879 - 13 882.
- [14] Strasdeit H, et al. Evidence for discrete Cd(Scys)₄ units in cadmium phytochelatin complexes from EXAFS spectroscopy[J]. *Journal of Chemistry Socieity and Chemistry Communication*, 1991, 16: 1 129 - 1 130.
- [15] Verkleij J A C, Koevoets P. Poly(γ - glutamylcysteinyl)glucines or phytochelatin and their role in cadmium tolerant of *Silene vulgaris*[J]. *Plant Cell Environment*, 1990, 13: 913 - 921.
- [16] Gupta S C, and Goldsbrough P B. Phytochelatin accumulation and cadmium tolerance in selected tomato cell lines[J]. *Plant Physiology*, 1991, 97: 306 - 312.
- [17] R N, winge D R. Sulfide stabilization of the cadmium - γ - glutamyl peptides complex of *Schizosaccharomyces pombe*[J]. *Journal of Biology Chemistry*, 1988, 263: 12 832 - 12 835.
- [18] Gupta M, et al. Role of glutathione and phytochelatin in *Hydrilla verticillata* (l. f.) Royle and *Vallisneria spiralis* L. Under mercury stress [J]. *Chemosphere*, 1998, 37(4): 785 - 800.
- [19] Gupta M, et al. Lead induced changes in glutathione and phytochelatin in *Hydrilla verticillata* (l. f.) Royle[J]. *Chemosphere*, 1995, 30(10): 2 011 - 2 020.
- [20] 黄玉山,邱国华. 紫羊茅根中铜结合肽的分离与纯化[J]. *应用与环境生物学报*, 1998, 4(4): 335 - 339.
- [21] Knecht J A, et al. Evidence against a role for phytochelatin in selected increased cadmium tolerance in *Silene vulgaris* (Moench) Garcke[J]. *New Phytologist*, 1992, 122: 681 - 688.
- [22] Knecht J A, et al. Phytochelatin in cadmium - sensitive and cadmium - tolerant *Silene vulgaris*[J]. *Plant Physiology*, 1994, 104: 255 - 261.
- [23] De Vos C H R, et al. Glutathione depletion due to copper - induced phytochelatin sunthesis causes oxidative stress in *Silene cucubalus* [J]. *Plant Physiology*, 1992, 98: 853 - 858.
- [24] Thumann J, et al. Reactivation of metal requiring apoenzymes by phytochelatin - metal complexes[J]. *FEBS Lett*, 1991, 284: 66 - 69.
- [25] Kneer R and Zenk M H. Phytochelatin protect plant enzymes from heavy - metal poisoning [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31: 2 663 - 2 667.
- [26] Toppi L S D and Gabbrielli R. Response to cadmium in higher plants [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 1999, 41: 105 - 130.