

基因工程改良植物重金属抗性与富集能力的研究进展

郎明林^{1,2} 张玉秀³ 柴团耀^{1*}

¹(中国科学院研究生院生物系,北京 100039)

²(河北农业大学生命科学院,保定 071000)

³(中国矿业大学化学与环境工程学院,北京 100083)

摘 要 基于分子水平上对植物吸收、解毒、忍耐以及超富集重金属的几个关键步骤的认识,以及一些功能基因相继在细菌、酵母、植物和动物中被分离、鉴定,近年来,人们利用转基因技术提高植物重金属抗性和富集能力方面已获得进展,一些功能基因(如 *gsh1*, *MerA* 和 *ArsC*)及其工程植物已显示出植物修复产业化潜力。特别对转基因技术所采取的分子生物学途径、达到的效果以及存在的问题进行了详述,对今后研究的重点和策略进行了探讨。

关键词 植物,基因工程,重金属,抗性,富集

中图分类号 Q943 文献标识码 A 文章编号 1000-3061(2004)02-0157-08

由于人类的生产活动和全球工业化进程的加剧,世界许多国家和地区的空气、土壤及水体面临着越来越严重的重金属污染威胁,特别是重金属在土壤中产生的污染,由于具有隐蔽性、长期性和不可逆的特点,不但会严重影响作物的产量与品质,更重要的是通过食物链危害人类的生命和健康^[1,2]。因此土壤-植物系统中的重金属污染(如 Cd, Pb, Hg, As 等)受到国际社会的普遍关注。

20 世纪 80 年代,利用绿色植物修复重金属污染的土壤和水体这一思想的提出,即植物修复(Phytoremediation)^[2],赋予了过去只是作为金属矿藏指示植物的重金属富集或超富集植物(Hyperaccumulator)^[3]以新的生命力。植物修复技术通常包括植物提取(Phytoextraction)、植物挥发(Phytovolatilization)、植物稳定(Phytostabilization)和根际过滤(Rhizofiltration)^[4]。相对于污染土壤治理的常规方法(如客土法、淋溶法、吸附固定法等),植物修复技术以其廉价、清洁、生态友好等优势,受到国内外学术界和产业界的密切关注,表现出潜在广阔的市场需求。然而,由于自然界中已发现的绝大多数重金属富集或超富集植物往往生长周期长、生物量低、植株矮小,因而限制了其对污染土壤重金属的移除效率,也不利于大面积的机械化操作。通过基因工程技术改良植物对重金属的抗性,增加或减少重金属在植物体内的累积量被认为是进行污染土壤的生态恢复以及减少食物链重金属污染的一条切实可行的有效途径。自 20 世纪 90 年代,随着细胞和分子水平上对植物耐受和富集重金属机理的认识及相关基因的不断克隆^[5-7],应用转基因技术提高植物对重金属的耐

性已取得一些重要进展,一些转基因植物茎叶部表现了较高的金属离子富集量,并在污染土壤的生态恢复中进行了初步应用^[8]。本文就该领域近几年所取得的主要成就进行了阐述。

1 转基因技术实施的双重目标与策略

土壤中的重金属及其类似物有 Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Zn, Mn, Co, Fe, Se, As 等^[9]。一些重金属是植物生长发育所必需的微量营养素,如 Cu, Fe, Mn, Zn 等是许多酶反应的辅因子,在蛋白质结构和信号传递中一些重金属(Zn, Cu 等)也扮演了重要角色^[10]。而另一些重金属则是植物生长发育的有害元素,如 Cd, Hg, Pb, As 等。有害重金属元素通过取代功能蛋白中的金属离子(如 Ca, Zn, Mg 等),从而导致酶活性丧失、生物膜破坏和细胞的氧化胁迫,最终引起植物生长发育受抑,甚至死亡。而植物必需重金属元素其离子水平达到或超过植物所能忍受的生理极限时便会刺激生成自由基和活性氧成分,造成氧化胁迫,也会成为毒性元素^[11]。此外重金属在植物(特别是粮食作物)体内的超标累积将会严重威胁人类的食品安全,通过食物链污染直接或间接影响到人类的生命和健康。

用于植物修复的植物改良目标不仅要高产、快生,最好能富集和忍耐几种重金属,而且适于机械化收获。其策略一是提高超富集植物的生物产量和生长速率,策略二是提高高产作物或植物的重金属富集量和忍耐力^[12,13]。由于植物的高产性状是由多基因控制的数量性状,对其改良的难度极

收稿日期 2003-07-31, 修回日期 2003-10-07。

基金项目 国家自然科学基金资助项目(39870078, 39970070)、中国科学院生命科学创新青年科学家小组经费资助项目和国家转基因植物研究专项经费资助项目(J00-A-00803, JY03A2002)。

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>

* 通讯作者。 Tel 86-10-88256343; Fax 86-10-88256343; E-mail tychai@gscas.ac.cn

大,而超富集性状可能由少数几个关键基因控制^[14],因此利用超富集基因改良高产作物或植物的途径较为可行。对于禾本科作物,由于其本身具有较高的生物产量和生长速率等优势,若作为用于生态恢复的超富集植物改良目标,则重点是提高其重金属的富集量和忍耐力,通过收割植物带走重金属,进而灰化处理将重金属提纯成为有用工业原料(Phytomining)^[2],来达到清除土壤污染和有害物质受害为宝的双重目的,而对于作为人类食物的主要来源,则要通过基因工程技术为其构建起一道有效的防御屏障,即使在土壤受到重金属污染的情况下也能有效避免有害重金属在这些作物类植物体内的累积,同时也提高了它们对毒性重金属的抵抗力,使其正常生长及产量品质不受影响。要实现上述目标,其中首要的工作是鉴定和克隆在重金属超富集及拒吸收植物中起关键作用的基因,以及探明其中特定的分子生物学机制。

2 转基因技术实施的分子生物学机制与功能基因的克隆

目前这一领域已成为国内外植物修复研究的热点,其中植物超富集和耐受重金属的分子生物学机制已有不少报道^[6,7,15],一些功能基因也相继在细菌、真菌、植物和动物中被发现、分离和鉴定(见表1)^[5-7,16-37]。植物对重金属的解毒和忍耐机制主要包括(1)根际微生物限制金属离子的移动(Restiction)^[38](2)被根部细胞壁和分泌物束缚(Binding)^[39](3)减少跨细胞质膜的输入(Reducing)^[33,35](4)从胞质向质外体主动输出(Active efflux)^[32](5)在胞质内被各类配基螯合(Chelation)^[5](6)金属离子或其螯合物向液泡内运输和累积(Vacuole compartmentation)^[7,28](7)热击蛋白或金属硫蛋白对胁迫损伤蛋白的修复和对细胞质膜的保护(Repairing)^[22,36](8)化学转化与挥发(Transformation and volatiliza-

表 1 部分从细菌、真菌、植物和动物中已克隆鉴定的重金属抗性 or 富集基因

Table 1 Partial genes cloned from bacteria, fungi, plants and animals which conferred tolerance or accumulation of heavy metals

| Gene | Source | Product | Main fuction | Reference |
|---------------|------------------------|------------------------------------|---|---|
| <i>gsh1</i> | <i>E. coli</i> | γ -Glu-Cys synthase | Cd (T&A) | Murata and Kimura (1982) ^[16] |
| <i>ArsC</i> | <i>E. coli</i> | Arsenate reductase | As ^V \rightarrow As ^{III} (A) | Dhankher, et al. (2002) ^[17] |
| <i>CzcD</i> | Gram-negative Bacteria | Cation transporter | Co/Zn/Cd (T) | Nies (1992) ^[18] |
| <i>MntA</i> | <i>L. plantarum</i> | Mn/Cd transporter | Mn/Cd uptake (H) | Hao, et al. (1999) ^[19] |
| <i>ZnB</i> | <i>E. coli</i> | Zn transporter | Zinc efflux (T) | Grass, et al. (2001) ^[20] |
| <i>MerA</i> | Gram-negative Bacteria | Hg(II) reductase | Hg (T) | Wang, et al. (1989) ^[21] |
| <i>CUP1</i> | <i>S. cerevisiae</i> | MT | Cd/Cu (T) | Jeyaprakash, et al. (1991) ^[22] |
| <i>Zrt1</i> | <i>S. cerevisiae</i> | Zn transporter | Zn uptake (H) Cd uptake | Zhao, et al. (1996) ^[23] ; Gomes, et al. (2002) ^[24] |
| <i>Zrc1</i> | <i>S. cerevisiae</i> | Zn transporter | Zn storage (T) | Li and Kaplan (1998) ^[25] |
| <i>Zhf</i> | <i>S. pombe</i> | Zn/Co/Cd/Ni transporter | Zn/Cu (T), Cd/Ni (S) | Clemens, et al. (2002) ^[26] |
| <i>APS1</i> | <i>A. thaliana</i> | ATP sulfurylase | Se (A) | Leustek, et al. (1994) ^[27] |
| <i>ZAT1</i> | <i>A. thaliana</i> | Zn transporter | Zn (T) | Van der Zaal, et al. (1999) ^[28] |
| <i>IRT1</i> | <i>A. thaliana</i> | Fe transporter | Fe/Zn/Mn/Cd uptake | Eide, et al. (1996) ^[29] ; Korshunova, et al. (1999) ^[30] ; Rogers, et al. (2000) ^[31] |
| <i>AtDTX1</i> | <i>A. thaliana</i> | MATE-related efflux protein | Toxic compounds/Cd detoxification | Li, et al. (2002) ^[32] |
| <i>CdH9</i> | <i>A. thaliana</i> | putative metal binding protein | Cd (T) | Suzuki, et al. (2002) ^[33] |
| <i>ZNT1</i> | <i>T. caeruleusens</i> | Zn transporter | Zn uptake | Pence, et al. (2000) ^[6] |
| <i>TgMTP1</i> | <i>T. geoesingense</i> | TgMTP1t1p TgMTP1t2p | Cd/Co/Zn (T) Ni (T) | Persans, et al. (2001) ^[7] Persans, et al. (2001) ^[7] |
| <i>PtSR2</i> | <i>P. vulgaris</i> | Heavy metal stress related protein | Cd (T) | Zhang, et al. (2001) ^[34] |
| <i>TaPCSI</i> | Wheat | PCs | Cd (T&A) | Clemens, et al. (1999) ^[5] |
| <i>NtCBP4</i> | <i>N. tabacum</i> | Cation channel | Ni (T), Pb (A) | Arizi, et al. (1999) ^[35] |
| <i>MT-1</i> | Mouse | MT | Cd (T) | Brzezinski, et al. (1987) ^[36] |
| <i>ZnT1</i> | Rat | Zn transporter | Zn efflux (T) | Palmiter and Findley (1995) ^[37] |

A: Accumulation; H: High affinity; S: Sensitive; T: Tolerance

tion),如 $As(As^V \rightarrow As^{III})$ 、 $Hg(Hg^{II} \rightarrow Hg^0)$ 、 $Cr(Cr^{VI} \rightarrow Cr^{III})$ 等^[17,21]。然而,人们对植物吸收和排斥重金属的抗性机制的专一性基础还了解甚少,一般认为主要与植物体内运载蛋白对重金属离子的特殊亲和力及选择性有关,其中所涉及的各种植物生化内容很大程度上依赖于植物及金属种类。对于重金属超富集植物,重金属在土壤中的生物利用率(Bioavailability)根的吸收、木质部运输以及茎叶部的区域化都是植物超富集重金属所必需的,其中金属阳离子跨膜运载蛋白的高水平表达发挥了重要作用^[6,7]。金属阳离子跨膜运载蛋白可能决定性地参与了重金属在根部的吸收、木质部的载与卸以及液泡的区室化,特别是在叶片的表皮细胞、表皮毛及气孔保卫细胞^[40]。另外,有机酸(Organic acids)、氨基酸(Amino acids)、植物络合素(Phytochelatin)和金属硫蛋白(Metallothioneins)等^[5,15,36]金属离子络合剂对重金属离子的螯合作用能够缓冲胞质金属离子浓度、增加其溶解性,从而不同程度地提高了植物对重金属的抗性及其在植物体内的运输效率和各部位的有效分配。

3 转基因技术实施的分子生物学途径

人们在不断从细胞和分子水平上获取对植物抵抗或富集重金属机理的认识的同时,利用转基因技术从不同的角度或途径在提高植物对重金属的抗性和富集量上进行了尝试,并取得了可喜的进展。所采取的策略主要是减少胞质内毒性金属离子浓度,以及提高根际金属的生物利用率。

3.1 提高根际金属离子的生物利用率的研究

De La Fuente 等^[41](1997)从 *Pseudomonas aeruginosa* 中分离出一个柠檬酸合成酶基因,导入烟草(*Nicotiana tabacum* L.)和 *Carica papaya* 中,在 35S 启动子控制下获得高水平表达。与对照相比,转基因植株的根部柠檬酸含量提高了 10 倍多,能够分泌出 4 倍多的柠檬酸,忍耐 2 倍多的 Al^{3+} 浓度。证明过量表达金属络合剂基因足以得到从根部分泌出大量金属络合配基。另一有趣现象是在土壤中添加柠檬酸可以提高植物对污染土壤 U 的吸收^[42]。Pickering 等^[43](2000)发现,在水培条件下添加 As^{3+} 螯合剂二巯基丁二酸可以使印度芥菜叶片 As 水平提高 5 倍多,但植株总 As 累积量增加有限,说明添加二巯基丁二酸促进了 As^{3+} 由根部向茎叶部的累积和重新分布,这一过程对土壤 As 的植物修复很有意义。另外向土壤添加金属螯合剂可显著提高 $Pb^{[44]}$ 和 $Au^{[45]}$ 在植物体的富集水平。

3.2 转金属离子跨膜运载蛋白基因的研究

目前许多在金属离子的区域化(如在液泡内)或胞外输出起作用的膜运载蛋白基因和基因家族被鉴定出来,如 CPx 型 ATP 酶^[46]、NRAMP 家族成员^[47]、CE 家族成员^[6,7]、ATP 结合盒运载蛋白(ABC 运载蛋白)^[48]、双价阳离子/质子反向运载蛋白如拟南芥的 *CAX*^[49] 和 *AtMHX*^[50]。然而,对这些运载蛋白基因功能的确定及其过量表达对生物体内金属离子平衡的效应的研究刚刚开始。拟南芥过量表达 Zn 运载蛋白基因 *ZAT1* 在根部比对照植物累积了高浓度的 Zn,在 200 μ mol/L

Zn 的水培条件下,对照植株的根生长被抑制了 85%,而转基因植株的根只被抑制了 15%^[28]。在 35S 启动子控制下,转基因烟草根部表达拟南芥的 *CAX2* 比空载体转基因植株累积了约 2 倍浓度的 Ca^{2+} 和 Mn^{2+} ,以及 4 倍浓度的 Cd^{2+} ,并且表现了略微提高的对 Mn^{2+} 的耐性。Samuelsen 等^[51](1998)利用从酿酒酵母分离出的 Fe 还原酶基因 *FRE1* 和 *FRE2* 转化烟草,在水培条件下转基因烟草植株的叶片 Fe 含量增加了 50%。金属离子运载蛋白在转录和转录后水平上受到严格调控,还未见有关工程植物过量表达 ZIP 家族金属运载蛋白的报道。Arazi 等^[55](1999)报道了转 *NiCBP4* (一个推断的环核苷酸和钙调素调控的质膜离子通道基因)烟草提高了 Ni-CBP4 蛋白的表达量,表现了对 Pb 的敏感性,对 Ni 的忍耐性和 1.5~2.0 倍茎叶 Pb 的累积量。野生型和转基因品系 50%生物量的减少分别发生在 90 μ mol/L 和 200 μ mol/L Ni 浓度下。转基因烟草对 Ni 忍耐的提高伴随着茎叶 Ni 累积量的减少,说明过量表达 *NiCBP4* 使 Ni 从茎叶部排除从而增加了转基因烟草对 Ni 的耐力。小麦的 *LCT1* cDNA 编码一个低亲和力的阳离子运载蛋白,*LCT1* 转化酵母表现了对 Cd^{2+} 的高敏感性和 Ca 累积量的增加^[52]。Song 等(2003)^[53]将酵母的 ATP 结合盒运载蛋白基因 *Ycf1* 导入拟南芥中过量表达,转 *Ycf1* 拟南芥显著增强了对 Pb 和 Cd 的耐受性和累积量。已报道 *Ycf1* 是介导重金属及其复合物在液泡内累积的跨膜运载蛋白。对控制膜运载蛋白专一性的了解,可以生产具有底物专一性改变的突变运载蛋白,将有助于鉴定新的靶基因,提高植物对金属离子的吸收。

3.3 应用植物体对金属离子的化学转化与挥发作用

来自细菌的 Hg 还原酶基因 *merA* 和裂解酶基因 *merB* 对 Hg 污染土壤的植物修复表现了巨大潜力。*MerA* 可以使 Hg^{2+} 还原为 Hg^0 ,*merB* 可以将高毒性 CH_3Hg^+ 转化为毒性较低的 Hg^0 。为了使 *merA* 在植物中高水平表达,Rugh 等^[54](1996)对 *merA* 的核苷酸序列进行了改造,在 35S 启动子控制下,表达改造的 *merApe9* 基因的拟南芥在 50~100 μ mol/L $HgCl_2$ 的琼脂培养基上可以正常生长发育,而对照野生植株的萌发完全被抑制。转基因植株还表现了对 Au^{3+} 的较高耐受性。转 *merApe9* 烟草在 500×10^{-6} mol/L Hg^{2+} 含量的土壤上可以正常发育和开花,但未测定其从土壤中移除 Hg 的效率^[55]。由于树木具有庞大的根系和长的生活期,其大量落叶还可提高土壤金属的利用率,因此利用树木作为改良受体具有许多优势。Rugh 等^[56](1998)将改造的 *merA18* 导入了黄白杨(yellow poplar, *Liriodendron tulipifera*)获得的转基因植株比对照 Hg^0 的产量提高了 10 倍以上。在 10 μ mol/L $HgCl_2$ 琼脂培养基上,转基因植株每天挥发 Hg^0 的速率大约为 $1\mu g \cdot g^{-1}$ 组织。亚微摩尔的 CH_3Hg^+ 使野生型和 *merApe9* 转基因拟南芥都不能萌发,在 35S 启动子下表达 *merB* 基因的拟南芥幼苗可在 2 μ mol/L CH_3Hg^+ 浓度下正常生长发育^[57]。*MerA* 和 *merB* 均表达的转基因拟南芥可以在 10 μ mol/L CH_3Hg^+ 培养基上正常发育,比野生型幼苗所能忍耐的最高 CH_3Hg^+ 浓度高出 40 余倍^[58]。在 25 μ mol/L CH_3Hg^+ 水培条件下, Hg^0 的

挥发速率大约在 $14.4 \sim 85.0 \mu\text{g Hg}^0 \cdot \text{g}^{-1}$ 鲜重。因此,用 *merA*、*merB* 同时转化高等植物将对产生 Hg 修复植物迈出很有意义的一步。然而大量产生 *merA*、*merB* 蛋白容易使运输途径饱和使之成为限速步骤,而在土壤中根吸收的 Hg 复合物可利用率可能会成为限速步骤。

由于硝酸盐与硫酸盐化学性质的类似性,硝酸盐很容易被高等植物吸收和代谢,这将导致植物体产生大量的硒半胱氨酸和硒甲硫氨酸而取代功能蛋白的半胱氨酸和甲硫氨酸,使其丧失活性⁵⁹。拟南芥的 *APSI*cDNA 编码 ATP 硫酸化酶,将其导入印度芥菜 (*Brassica juncea*) 转 *APSI* 印度芥菜比对照野生植株表现了略微提高的硝酸盐抗性,在茎叶部积累了 2 倍多的硒^{27,60}。转基因印度芥菜提高的硫吸收能力导致了 GSH 浓度的增加,在茎叶部和根部分别提高了 100% 和 30%。预示 ATP 硫酸化酶基因可以对其它金属元素的植物修复特别是 Cd 发挥作用。

最近, Dhankher 等(2002)¹⁷利用转基因技术培育修复 As 污染的超富集植物获得了突破。他们把 *Escherichia coli* 的砷酸盐还原酶基因 *ArsC* 与大豆的光诱导强启动子 SRS1p 结合, γ -Glu-Cys 合成酶基因 *ECS* 与组成型表达的肌动蛋白强启动子 ACT2p 结合,然后成功导入到模式植物拟南芥中。虽然 *ArsC* 将砷酸盐(Arsenate)还原为比它本身毒性更大的亚砷酸盐(Arsenite),由于其只在叶部表达,而且叶部表达的 *ECS* 产生大量的巯基肽配基可以紧紧地螯合亚砷酸盐,使其不再轻易被生物利用,因此转 SRS1p/*ArsC* 和 ACT2p/ γ -*ECS* 拟南芥表现了对砷高的耐受力 and 富集量。在砷污染土壤上,转基因植物比普通或野生植物茎叶鲜重高出 17 倍,每克组织砷含量高 2~3 倍。该植物修复体系的一个非常重要的特点是可以适用于更广泛的植物种类。目前该研究小组正在进行将 SRS1p/*ArsC* 和 ACT2p/ γ -*ECS* 导入棉白杨(Cottonwood)的研究。棉白杨具有庞大的根系和高的生物量,转基因的成功将对砷污染土壤的植物修复发挥重要作用。

3.4 过量生产金属螯合肽或复合物的研究

3.4.1 金属硫蛋白(MTs):MTs 是富含 cys 的低分子量蛋白,对金属阳离子如 Cd、Cu 和 Zn 等具有高结合亲和力,最初发现于哺乳动物,之后陆续在高等植物中发现 MT-like 蛋白及其基因⁶¹。许多研究者将动物来源的 MTs 基因导入植物中,主要是通过将金属离子捕获到根部,从而减少在茎叶部的积累^{69,63},对降低重金属在作物可食部位的积累具有意义,但不适于植物修复植物。过量表达 MTs 以及转 MTs 突变体 $\alpha\alpha$ 可以显著提高植物对 Cd、Cu 等重金属的忍耐性⁶⁴,但提高植物茎叶部重金属积累量的成功报道却很少。转 MTs 突变体 $\alpha\alpha$ 烟草可在含 $300 \mu\text{mol/L}$ Cd 的培养基中正常生长,过量表达哺乳动物 MTs 的烟草可以在 $100 \sim 200 \mu\text{mol/L}$ Cd 浓度下正常生长,而对照野生烟草在 $10 \mu\text{mol/L}$ Cd 浓度下生长便严重受到抑制^{64,65}。转基因 *B. oleracea* 过量表达酵母 MTs 基因 *CUPI* 可以忍耐 $400 \mu\text{mol/L}$ 的 Cd,而对照野生型植物在 $25 \mu\text{mol/L}$ Cd 浓度下便不能生长⁶⁶。转基因植株在 $50 \mu\text{mol/L}$ Cd 浓度下比对照野生型植物在 $25 \mu\text{mol/L}$ Cd 浓度下

在上部叶片多积累 10%~70% 的 Cd。在组成型启动子的控制下,拟南芥表达了大豆 MTs 基因(*P8MTA*),其幼苗比非转基因植株累积了 8 倍多的 Cu⁶⁷。Thomas 等(2003)⁶⁸把酵母的 MTs 基因 *CUPI* 导入烟草中表达,结果表明,在含 Cu 量高的沙地上生长,*CUPI* 烟草幼苗叶片比对照累积了 2~3 倍高的 Cu,但转 *CUPI* 烟草却没有表现出对 Cd 的显著抗性。过量表达 MTs 可以提高植物对某一特殊重金属的抗性如 Cd、Cu 等,但只有少数例子表现了略微增加的茎叶部金属累积量,这明显限制了 MTs 在植物修复中的应用。然而,依据某一特殊应用的需要,在根部或茎叶部组织特异启动子的调控下可以修饰 MTs 的过量表达。

3.4.2 植物络合素(PCs):PCs 对许多重金属的清除和解毒有作用。在重金属 Cd、Hg、Ag、Cu、Ni、Au、Pb 和 Zn 诱导下,植物和酵母可以迅速产生 PCs,其中 Cd 是最强的诱导剂⁶⁹。PCs 的结构为 $(\gamma\text{-Glu-Cys})_n\text{X}$,式中 X 可以是 Gly、 γ -Ala、Ser 或 Glu, $n = 2 \sim 12$,其中最常见的是 $n = 2 \sim 4$ 。PCs 是由 γ -Glu-Cys 二肽转移酶(PC 合酶)催化其底物 GSH 合成的。GSH 的合成分两步,第一步由 γ -Glu-Cys 合成酶(γ -ECS)催化 Glu 和 Cys 合成 γ -Glu-Cys,第二步由 GSH 合成酶(GS)催化 ATP 驱动的转移 Gly 到 γ -Glu-Cys 上形成 γ -Glu-Cys-Gly(GSH)。 γ -ECS 受 GSH 的负反馈调节并依赖于 Cys 的可用性⁷⁰。

Zhu 等⁷¹(1999a)将大肠杆菌(*E. coli*)GS 基因(*gsh2*)转入印度芥菜,Cd 处理时转 *gsh2* 印度芥菜根部 GSH 水平提高了 5 倍多,其中还有 2 倍多的 $(\gamma\text{-Glu-Cys})_2\text{-Gly}$ (PC2),表达 *gsh2* 的印度芥菜茎叶部 Cd 浓度增加了 25%,在 $150 \mu\text{mol/L}$ 的琼脂培养基上其根的生长没有受到影响,而对照野生型幼苗的根被抑制了 50%。Zhu 等⁷²(1999b)又将 *E. coli* 的 γ -ECS 基因(*gsh1*)转入印度芥菜,*gsh1* 融合了含有双增强子 P70 的 CaMV 35S 启动子,使转 *gsh1* 印度芥菜过量表达 γ -ECS。结果表明, γ -ECS 转基因植株比野生型(WT)表现了较高的 Cd 耐受性和植物螯合肽(PCs)、谷胱甘肽(GSH)和总非蛋白巯基水平。在水培 Cd 胁迫体系中,尽管转 *gsh1* 印度芥菜茎叶 Cd 浓度比对照高出 40%~90%,长势仍好于对照,转基因植株与野生型植株 14d 内的鲜重损失分别为 44% 和 70%。

Arisi 等⁷³(2000)在白杨树(*poplar*)胞质中过量表达细菌的 γ -ECS,其中 *ggs11* 和 *ggs28* 两个品系叶片中 γ -ECS 活性比对照提高了 30 倍。在转基因植株中叶片 γ -EC 含量提高了 10 倍,GSH 增加了 3.5 倍。在 $0 \sim 1100 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ Cd 浓度范围的土壤中栽种转基因和非转基因白杨,发现所有品系生长的抑制程度和叶片中 Cd 的累积量成正相关。Cd 处理提高了所有品系叶片的 Cys、 γ -ECS 和 GSH 水平,但对照品系叶片中 GSH 水平要少于转基因品系。Rennenberg 等⁷⁴(2000)也发现,在水培 Cd 胁迫条件下,转基因白杨胞质中过量表达细菌的 γ -ECS 或 GS 所增强的 GSH 生物合成提高了 PCs 的产量,但 PCs 合成的提高并没有阻止 Cd 胁迫对白杨的伤害。过量表达 γ -ECS 提高了转基因白杨根部 Cd 的累积量。因此,在白杨中过量表达 γ -ECS 可以提高 Cd 的累积量,但对 Cd 耐性的提高却不明显。

另外, Dominguez-Solis 等^[75](2001)报道了在拟南芥中过量表达 O-乙酰丝氨酸 硫基 酶基因 (*Atcys-3A*) 的研究。在含有 250 μmol/L CdCl₂ 的介质中, 转基因拟南芥对 Cd 的耐受能力比野生型提高了 9 倍, 叶部也累积了较高水平的 Cd。 *Atcys-3A* 的过量表达, 促进了 Cys 的生物合成, 而 Cys 是植物解毒机制中合成 GSH 和 PCs 的底物。

PCs 对 Pb 污染土壤的植物修复也可能发挥重要作用。 Gisbert 等^[76](2003)报道了向烟草中转小麦 PCs 基因 *TaPCs1* 的研究。他们在西班牙东部重金属严重污染的土壤中生长的植物种群中选择了一种野生型烟草 (*Nicotiana glauca* R. Graham) 作为转基因受体。该植物具有明显的适于作为植物修复改良受体植物的优势: 地理分布广、生长快、生物量大, 而且是草食动物拒食的。转 *TaPCs1* 烟草比其野生型对重金属如 Pb, Cd 的耐受性又大大增强, 根长出野生型 1.6 倍, 在高浓度 Pb (1572 × 10⁻⁶ mol/L) 矿土壤中, 转基因烟草比野生型累积了 2 倍多的 Pb。

4 展 望

利用绿色植物清除土壤中的重金属污染是近几年资源与环境领域发展起来的研究热点, 尤其是重金属超富集植物的开发和应用将为人类赖以生存的环境和食品安全提供保障, 而其中所蕴藏的巨大商机已为众多投资者所亲睐, 在北美和欧洲已有 30 多家公司从事污染土壤和水体的植物修复产业^[77]。但是, 目前用于植物修复的主体植物仍然是自然界中已发现的重金属富集或超富集植物, 通过转基因培育的人工超富集植物还处于实验室开发探索阶段, 不过一些功能基因及其工程植物已显示出商业化潜力^[17, 56, 58, 68, 75, 76]。由于转基因植株的实验大都以水培或琼脂为基质, 其表现是否与污染土壤为基质的实际修复效果相一致? 因为土壤中金属离子的生物利用率要明显低得多。最近, Bennett 等人^[78](2003)的研究表明来自水培体系的实验结果可以作为转基因植物是否具有植物修复潜力的标识。他们把分别过量表达 ECS, GS 和 APS 的转基因印度芥菜种植在重金属污染的土壤上, 结果均显著减少了土壤中重金属的含量, 约 6% 的 Zn 和 25% 的 Cd 被转基因印度芥菜移除。此外, 转 ECS 印度芥菜比野生型 (WT) 累积了 2.4 ~ 3 倍多的 Cr, Cu 和 Pb。这也同时表明金属结合肽对植物富集金属的重要性。

然而, 对于通过基因工程技术减少毒性重金属在粮食作物以及蔬菜可食部位累积方面却还未见报道, 而该领域研究对于直接保障人类的食品安全具有重要意义。相关研究表明 MTs 以及质膜泵出运载蛋白 (Plasmamembrane efflux proteins) 可能发挥作用^[20, 32, 33, 35, 37]。我们实验室在法国菜豆中克隆的重金属特异响应基因 *PvsR2* 导入烟草的研究表明, 在高浓度 (0.1 mmol/L) Cd 胁迫条件下, *PvsR2* 烟草比对照明显降低了 Cd 在根部及叶片内的累积, 同时提高了 *PvsR2* 烟草的抗 Cd 胁迫能力^[34, 79]。此外, 我们已克隆了 *PvsR2* 基因特异响应重金属胁迫的启动子 *PvsR2p*, 并在重金属富集植物印度芥菜中克隆了 CE (cation-efflux) 家族的 4 个转运蛋白的

全长 cDNA *BjCET1-4* (已在 GenBank 上注册), 目前正在进行这些基因和启动子的转基因研究, 有望在开发重金属安全食品与人工超富集植物方面作出贡献, 而一些人体比较缺乏的矿物质元素 (如 Fe, Zn, Se) 在作物籽实和蔬菜中的富集对增进人类健康将会产生积极效应^[80]。

随着现代分子生物学的飞速发展, 拟南芥以及更多植物全基因组图谱的测序完成, 基因芯片 (gene arrays) 技术的应用, 人们将会从植物整体水平上揭示参与金属离子吸收、运载、贮藏、泵出以及整合的全套基因和信号响应途径, 通过转基因技术改良植物重金属抗性或富集能力的手段将大大增强, 有理由相信在不久的将来人类的环境将变得清洁, 人类的食品将充足而富有营养。

REFERENCES (参考文献)

- [1] Cheng S. Heavy metal pollution in China: origin, pattern and control. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2003, **10**(3): 192 - 198
- [2] Chaney RL. Plant uptake of inorganic waste. In: Parr JE, Marsh PB, Kla JM (eds) Land treatment of hazardous wastes. *Noyes Data*, Park Ridge, Ill., 1983, pp. 50 - 76
- [3] Brooks RR, Lee J, Reeves RD *et al.* Detection of nickeliferous rocks by analysis of herbarium species of indicator plants. *Journal of Geochemistry Exploration*, 1977, **7**: 49 - 57
- [4] Salt DE, Smith RD, Raskin L. Phytoremediation. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1998, **49**: 643 - 668
- [5] Clemens S, Kim EJ, Neumann D *et al.* Tolerance to toxic metals by a gene family of phytochelatin synthases from plants and yeast. *EMBO J*, 1999, **18**(12): 3325 - 3333
- [6] Pence NS, Larsen PB, Ebbs SD *et al.* The molecular physiology of heavy metal transport in the Zn/Cd hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97**: 4956 - 4960
- [7] Persans MW, Nieman K, Salt DE. Functional activity and role of cation-efflux family in Ni hyperaccumulation in *Thlaspi goesingense*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98**: 9995 - 10000
- [8] Bennett LE, Burkhead JL, Hale KL *et al.* Analysis of transgenic Indian mustard plants for phytoremediation of metal-contaminated mine tailings. *J Environ Qual*, 2003, **32**(2): 432 - 440
- [9] Lasat MM. Phytoextraction of toxic metals: A review of biological mechanisms. *J Environ Qual*, 2002, **31**: 109 - 120
- [10] Fox TC, Guerinet ML. Molecular biology of cation transport in plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1998, **49**: 669 - 696
- [11] Dietz K-J, Baier M, Krämer U. Free radicals and reactive oxygen species as mediators of heavy metal toxicity in plants. In: Prasad MNV, Hagemeyer J, eds. *Heavy metal stress in plants: from molecules to ecosystems*. Berlin: Springer-Verlag, 1999, pp. 73 - 97
- [12] Felix H. Field trials for in situ decontamination of heavy metal polluted soils using crops of metal-accumulating plants. *Z Pflanzenernaehr Bodenkd*, 1997, **160**: 525 - 529
- [13] Chaney RL, Li YM, Brown SL *et al.* Improving metal hyperaccumulator wild plants to develop commercial phytoextraction systems: approaches and progress. In: Terry N, Bañuelos G (eds) *Phytoremediation*

- 2000, pp.129 – 158
- [14] Macnair MR, Bert V, Huitson SB *et al.* Zinc tolerance and hyperaccumulation are genetically independent characters. *Proc R Soc London Ser B*, 1999, **266** :2175 – 2179
- [15] Krämer U, Cotter-Howells JD, Charnock JM *et al.* Free histidine as a metal chelator in plants that accumulate nickel. *Nature*, 1996, **379** :635 – 638
- [16] Murata K, Kimura A. Cloning of a gene responsible for the biosynthesis of glutathione in *Escherichia coli* B. *Appl Environ Microbiol*, 1982 **44** (6) :1444 – 1448
- [17] Dhankher OP, Li Y, Rosen BP *et al.* Engineering tolerance and hyperaccumulation of arsenic in plants by combining arsenate reductase and gamma-glutamylcysteine synthetase expression. *Nat Biotechnol*, 2002, **20** (11) :1140 – 1145
- [18] Nies DH. CzcR and CzcD, gene products affecting regulation of resistance to cobalt, zinc, and cadmium (*czc* system) in *Alcaligenes eutrophus*. *J Bacteriol*, 1992 **174** (24) :8102 – 8110
- [19] Hao Z, Chen S, Wilson DB. Cloning, expression, and characterization of cadmium and manganese uptake genes from *Lactobacillus plantarum*. *Appl Environ Microbiol*, 1999 **65** (11) :4746 – 4752
- [20] Grass G, Fan B, Rosen BP *et al.* ZitB (YbgR), a member of the cation diffusion facilitator family, is an additional zinc transporter in *Escherichia coli*. *J Bacteriol*, 2001 **183** (15) :4664 – 4667
- [21] Wang Y, Moore M, Levinson HS *et al.* Nucleotide sequence of a chromosomal mercury resistance determinant from a *Bacillus* sp. with broad-spectrum mercury resistance. *J Bacteriol*, 1989 **171** (1) :83 – 92
- [22] Jayaprakash A, Welch JW, Fogel S. Multicopy CUP1 plasmids enhance cadmium and copper resistance levels in yeast. *Mol Gen Genet*, 1991, **225** (3) :363 – 38
- [23] Zhao H, Eide D. The yeast ZRT1 gene encodes the zinc transporter of a high affinity uptake system induced by zinc limitation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, **93** :2454 – 2458
- [24] Gomes DS, Fragoso LC, Riger CJ *et al.* Regulation of cadmium uptake by *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2002 **1573** :21 – 25
- [25] Li L, Kaplan J. Defects in the yeast high affinity iron transport system result in increased metal sensitivity because of the increased expression of transporters with a broad transition metal specificity. *J Biol Chem*, 1998, **273** :22181 – 22187
- [26] Clemens S, Bloss T, Vess C *et al.* A transporter in the endoplasmic reticulum of *Schizosaccharomyces pombe* cells mediates zinc storage and differentially affects transition metal tolerance. *J Biol Chem*, 2002, **277** :18215 – 18221
- [27] Leustek T, Murillo M, Cervantes M. Cloning of a cDNA encoding ATP sulfurylase from *Arabidopsis thaliana* by functional expression in *Saccharomyces cerevisiae*. *Plant Physiol*, 1994, **105** (3) :897 – 902
- [28] Van der Zaal BJ, Neuteboom LW, Pina JE *et al.* Overexpression of a novel *Arabidopsis* gene related to putative zinc-transporter genes from animals can lead to enhanced zinc resistance and accumulation. *Plant Physiol*, 1999 **199** :1047 – 1055
- [29] Eide D, Broderius M, Fett J *et al.* A novel ironregulated metal transporter from plants identified by functional expression in yeast. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996 **93** :5624 – 5628
- [30] Korshunova YO, Eide D, Clark WG *et al.* The IRT1 protein from *Arabidopsis thaliana* is a metal transporter with broad specificity. *Plant Mol Biol*, 1999, **40** :37 – 44
- [31] Rogers EE, Eide DJ, Guerinot ML. Altered selectivity in an *Arabidopsis* metal transporter. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000 **97** :12356 – 12360
- [32] Li L, He ZY, Randey GK *et al.* Functional cloning and characterization of a plant efflux carrier for mutidrug and heavy metal detoxification. *J Biol Chem*, 2002, **277** :5360 – 5368
- [33] Suzuki N, Yamaguchi Y, Koizumi N *et al.* Functional characterization of a heavy metal binding protein CdH19 from *Arabidopsis*. *Plant J*, 2002 **32** (2) :165 – 73
- [34] Zhang YX, Chai TY, Zhao WM *et al.* Cloning and expression analysis of the heavy-metal responsive gene PvSR2 from bean. *Plant Science*, 2001, **161** (4) :783 – 790
- [35] Arazi T, Sunkar R, Kaplan B *et al.* A tobacco plasmamembrane calmodulin-binding transporter confers Ni²⁺ tolerance and Pb²⁺ hypersensitivity in transgenic plants. *Plant J*, 1999, **20** :171 – 182
- [36] Brzezinski R, Smorawska M, Vezina G *et al.* Cloning and characterization of the metallothionein-I gene from mouse LMTK cells. *Cytobios*, 1987 **52** (208) :33 – 38
- [37] Palmiter RD, Findley SD. Cloning and functional characterization of a mammalian zinc transporter that confers resistance to zinc. *EMBO J*, 1995 **14** :639 – 649
- [38] Jentschke G, Godbold DL. Metal toxicity and ectomycorrhizas. *Physiologia Plantarum*. 2000 **109** :107 – 116
- [39] Salt DE, Kato N, Krämer U *et al.* The role of root exudates in nickel hyperaccumulation and tolerance in accumulator and nonaccumulator species of *Thlaspi*. In : Terry N, Banuelos G, eds. *Phytoremediation of contaminated soil and water*. CRC Press LLC 2000, pp.189 – 200
- [40] Heath SM, Southworth D, Dallura JA. Localization of nickel in epidermal subsidiary cells of leaves of *Thlaspi montanum* var *siskiyouense* (Brassicaceae) using energy-dispersive x-ray microanalysis. *International Journal of Plant Science*, 1997 **158** :184 – 188
- [41] De La Fuente JM, Ramirez-Rodriguez V, Cabrera-Ponce J L *et al.* Aluminum tolerance in transgenic plants by alteration of citrate synthesis. *Science*, 1997, **276** :1566 – 1568
- [42] Huang JW, Blaylock MJ, Kapulnik Y *et al.* Phytoremediation of uranium-contaminated soils : role of organic acids in triggering uranium hyperaccumulation in plants. *Environ Sci Technol*, 1998, **32** :2004 – 2008
- [43] Pickering IJ, Prince RC, George MJ *et al.* Reduction and coordination of arsenic in Indian mustard. *Plant Physiology*, 2000 **122** :1171 – 1177
- [44] Huang JW, Cunningham SD. Lead phytoextraction : Species variation in lead uptake and translocation. *New Phytol*, 1996 **134** :75 – 84
- [45] Anderson CWN, Brooks RR, Stewart RB *et al.* Harvesting a crop of gold in plants. *Nature*, 1998 **395** :553 – 554
- [46] Williams LE, Pittman JK, Hall JL. Emerging mechanisms for heavy metal transport in plants. *Biochim Biophys Acta*, 2000 **1465** :104 –

- [47] Vidal SM , Malo D , Vogan K *et al.* Natural resistance to infection with intracellular parasites : isolation of a candidate for *Beg.* *Cell* , 1993 **73** :469 – 485
- [48] Rea PA. MRP subfamily ABC transporters from plants and yeast. *J Exp Bot* , 1999 , **50** :895 – 913
- [49] Hirschi K D. Expression of *Arabidopsis CAX1* in tobacco : altered calcium homeostasis and increased stress sensitivity. *Plant Cell* , 1999 , **11** :2113 – 2122
- [50] Shaul O , Hilgemann DW , Almeida-Engler JD *et al.* Cloning and characterization of a novel Mg^{2+}/H^{+} exchanger. *EMBO J* , 1999 , **18** :3973 – 3980
- [51] Samuelsen AI , Martin RC , Mok DWS *et al.* Expression of the yeast *FRE* genes in transgenic tobacco. *Plant Physiol* , 1998 , **118** :51 – 58
- [52] Clemens S , Antosiewicz DM , Ward JM *et al.* The plant cDNA *LCT1* mediates the uptake of calcium and cadmium in yeast. *Proc Natl Acad Sci USA* , 1998 , **95** :12043 – 12048
- [53] Song WY , Ju SE , Martinioia E , Jik LY *et al.* Engineering tolerance and accumulation of lead and cadmium in transgenic plants. *Nat Biotechnol.* 2003 , **21**(8) :914 – 919
- [54] Rugh CL , Wilde HD , Stack NM *et al.* Mercuric ion reduction and resistance in transgenic *Arabidopsis thaliana* plants expressing a modified bacterial *merA* gene. *Proc Natl Acad Sci USA* , 1996 , **93** :3182 – 3187
- [55] Heaton ACP , Rugh CL , Wang N-J *et al.* Phytoremediation of mercury-and methylmercury-polluted soils using genetically engineered plants. *J Soil Contam* 1998 **7** :497 – 509
- [56] Rugh CL , Senecoff JF , Meagher RB *et al.* Development of transgenic yellow poplar for mercury phytoremediation. *Nat Biotechnol* , 1998 , **16** :925 – 928
- [57] Bizili SP , Rugh CL , Summers AO *et al.* Phytoremediation of methylmercury pollution : *MerB* expression in *Arabidopsis thaliana* confers resistance to organomercurials. *Proc Natl Acad Sci USA* , 1999 , **96** :6808 – 6813
- [58] Bizili SP , Rugh CL , Meagher RB. Phytodetoxification of hazardous organomercurials by genetically engineered plants. *Nat Biotechnol* , 2000 , **18** :213 – 217
- [59] Neuhiel B , Böck A. On the mechanism of selenium tolerance in selenium-accumulating plants : purification and characterization of a specific selenocysteine methyltransferase from cultured cells of *Astragalus bisulcatus* . *Eur J Biochem* , 1996 , **239** :235 – 238
- [60] Neuhiel B , Böck A. On the mechanism of selenium tolerance in selenium-accumulating plants : purification and characterization of a specific selenocysteine methyltransferase from cultured cells of *Astragalus bisulcatus* . *Eur J Biochem* , 1996 , **239** :235 – 238
- [61] Prasad MNV. Metallothioneins and metal binding complexes in plants. In : Prasad MNV , Hagemeyer J eds. Heavy metal stress in plants : from molecules to ecosystems. Berlin :Springer-Verlag , 1999 , pp. 51 – 72
- [62] Yeargan R , Maiti I B , Nielsen M T *et al.* Tissue partitioning of cadmium in transgenic tobacco. Seedlings and field grown plants expressing mouse metallothionein I gene. *Transgen Res* , 1992 **1** :261 – 267
- [63] Elmayan T , Tepfer M. Synthesis of a bifunctional metallothionein/beta-glucuronidase fusion protein in transgenic tobacco plants as a means of reducing leaf cadmium levels. *Plant J* , 1994 , **6** :433 – 440
- [64] Zhang XY (张晓钰) , Zhou W (周慰) , Ru BC (茹炳根) . Transgenic tobacco with *camutant* gene has higher tolerance to heavy metals. *Acta Botanica Sinica* (植物学报) 2000 **26**(4) :416 – 420
- [65] Pan A , Yang M , Tie F *et al.* Expression of mouse metallothionein-I gene confers cadmium resistance in transgenic tobacco plants. *Plant Mol Biol* , 1994 , **24** :341 – 352
- [66] Hasegawa I , Terada E , Sunairi M *et al.* Genetic improvement of heavy metal tolerance in plants by transfer of the yeast metallothionein gene (*CUP1*). *Plant Soil* , 1997 , **196** :277 – 281
- [67] Evans KM , Gatehouse JA , Lindsay WP *et al.* Expression of metallothionein-like gene *PsMT-alpha* in *Escherichia coli* and *Arabidopsis thaliana* and analysis of trace metal ion accumulation : implications for *PSMT-ALPHA* function. *Plant Mol Biol* , 1992 , **20** :1019 – 1028
- [68] Thomas JC , Davies EC , Malick FK *et al.* Yeast metallothionein in transgenic tobacco promotes copper uptake from contaminated soils. *Biotechnol Prog* , 2003 **19**(2) :273 – 280
- [69] Zenk MH. Heavy metal detoxification in higher plants. *Gene* , 1996 , **179** :21 – 30
- [70] Noctor G , Arisi A CM , Jouanin L *et al.* Glutathione : biosynthesis , metabolism and relationship to stress tolerance explored in transformed plants. *J Exp Bot* , 1998 , **49** :623 – 647
- [71] Zhu YL , Pilon-Smits EAH , Jouanin L *et al.* Overexpression of glutathione synthetase in Indian mustard enhances cadmium accumulation and tolerance. *Plant Physiol* , 1999a , **119** :73 – 79
- [72] Zhu YL , Pilon-Smits EAH , Tarun AS *et al.* Cadmium tolerance and accumulation in Indian mustard is enhanced by overexpressing γ -glutamylcysteine synthetase. *Plant Physiol* , 1999b , **121** :1169 – 1177
- [73] Arisi ACM , Mocquot B , Lagriffoul A *et al.* Responses to cadmium in leaves of transformed poplars overexpressing glutamylcysteine synthetase. *Physiologia Plantarum* , 2000 , **109** :143 – 149
- [74] Rennenberg H , Will B. Phytochelatin production and cadmium accumulation in transgenic poplar (*Populus tremula* X *P. ALBA*). *Paul Haupt Bern* , 2000 , pp. 393 – 398
- [75] Dominguez-Solis JR , Gutierrez-Alcala G , Vega JM *et al.* The cytosolic O-acetylserine(thiol)lyase gene is regulated by heavy metals and can function in cadmium tolerance. *J Biol Chem* , 2001 **276**(12) :9297 – 9302
- [76] Gisbert C , Ros R , De Haro A *et al.* A plant genetically modified that accumulates Pb is especially promising for phytoremediation. *Biochem Biophys Res Commun* 2003 **303**(2) :440 – 445
- [77] [Http://www.mobot.org/jwccross/phytoremediation/](http://www.mobot.org/jwccross/phytoremediation/)
- [78] Bennett LE , Burkhead JL , Hale KL *et al.* Analysis of transgenic Indian mustard plants for phytoremediation of metal-contaminated mine tailings. *J Environ Qual* , 2003 **32**(2) :432 – 440
- [79] Chai TY , Chen Q , Zhang YX *et al.* Cadmium resistance in transgenic tobacco plants enhanced by expressing bean heavy metal-responsive gene *PvSR2* . *Science In China*(Series C) 2003 **46**(6) :623 – 630
- [80] Guerinot ML , Salt DE. Fortified foods and phytoremediation. Two

Advances in the Research of Genetic Engineering of Heavy Metal Resistance and Accumulation in Plants

LANG Ming-Lin^{1 2} ZHANG Yu-Xiu³ CHAI Tuan-Yao^{1*}

¹(Department of Biology , Graduate school of the Chinese Academy of Sciences , Beijing 100039 , China)

²(College of Life Science , Hebei Agricultural University , Baoding 071000 , China)

³(College of Chemical and Environmental Engineering , China University of Mining and Technology , Beijing 100083 , China)

Abstract Using plants to remove or inactivate heavy metal pollutants from soils and surface waters provide a cheap and sustainable approach of Phytoremediation. However, field trials suggested that the efficiency of contaminant removal using natural hyperaccumulators is insufficient, due to that many of these species are slow growing and produce little shoot biomass. These factors severely constrain their potential for large-scale decontamination of polluted soils. Moreover, both the micronutrient and toxic metal content accumulated in crops determine the quality and safety of our food-chain. By a transgenic approach, the introduction of novel genes responsible for hyperaccumulating phenotype into high biomass plants and/or stable crops uptaking minerals as food is a promising strategy for the development of effective techniques of phytoremediation and improvement of nutritional value of stable food through a viable commercialization. Recently, the progress at molecular level for heavy metal uptaking, detoxification and hyperaccumulation in plants, and also the clarification of some functional genes in bacteria, yeasts, plants and animals, have advanced the research on genetic engineering plants of heavy metal resistance and accumulation, and on the functional genes(*e. g.* *gsh1*, *MerA* and *ArsC*) and their genetic transformed plants. These studies demonstrated commercialization potentials of phytoremediation. In this paper, the molecular approach, effects and problems in gene transformation were discussed in details, and also the strategy and emphases were probed into the future research.

Key words plants, genetic engineering, heavy metal, resistance, accumulation

Received : 07-31-2003

This work was supported by Grand from China National Natural Sciences Foundation(No. 39870078, 39970070), Foundation of Youth Innovation Group of Life Science of CAS and the National High Technology Plan Program of China(J00-A-00803, JY03A2002)

* Corresponding author. Tel 86-10-88256343 ; Fax 86-10-88256343 ; E-mail: tychai@gscas.ac.cn