

# 知識天地

## 植物耐熱基因之功能研究

常怡雍副研究員（農業生物科技研究中心）

人類社會的發展過度依賴石油及煤炭等化石類能源。大量的溫室效應氣體排放至大氣層，逐漸使得全球暖化及氣候變遷成爲全人類所要面對的首要問題。專家預測，目前氣候變遷的趨勢將導致未來熱浪的天數與頻率明顯地增加。這樣的變化趨勢，對農業將形成艱鉅之挑戰。因爲，根據過去的統計數字顯示，以美國爲例，造成農業生產損失的主要原因正係熱浪所帶來的高溫及乾燥天氣。在因應氣候變遷當採取的眾多策略中，如何減低農作物受到乾旱及高溫逆境的衝擊也將變得越來越重要。目前，全世界在植物乾旱逆境方面的研究已投入大量的人力與經費，且獲得可觀的成果。在因應愈來愈嚴重的水荒問題的需求下，農業生技公司孟山多很可能在近期內推出耐乾旱的轉基因玉米。相對之下，植物高溫逆境的進展少得多。未來仍有非常大的努力空間。

### 植物高溫逆境與耐熱基因的研究

植物高溫逆境之生化與分子生物學研究的濫觴，應始於 1981 年美國喬治亞大學 Joe Key 教授的實驗室發表關於高等植物熱休克蛋白 (HSP) 的論文。值得一提的是，這篇論文的兩位共同作者林秋榮院士與臺大陳益明教授對這個領域後來的發展曾做出重要貢獻。他們發現，當黃豆芽受到短暫高溫或所謂熱休克處理時，植物體正常的蛋白質合成遭受到抑制，細胞轉向合成一群統稱爲 HSP 的蛋白質 (HSP 其實有很多種類)。一般而言，高溫可破壞細胞內蛋白質結構的穩定，使得蛋白質形成傾向容易糾結在一起的變性狀態，嚴重的話，最終會造成細胞甚至個體死亡。目前已知多種 HSP 的作用機制在參與防止蛋白質變性或協助其折疊的過程扮演重要角色。它們廣泛地存在於許多不同的生物物種之中，例如細菌、酵母菌、植物、昆蟲乃至哺乳動物，有些在結構上也非常相似。這顯示，HSP 所參與的生物耐熱機制在生物中存在高度的共通性。由於 HSP 也與人類多種疾病，如癌症的發生有關，而受到生物學及醫學研究人員的高度重視。因此，對於這些共通性高的 HSP 生化功能的理解，有許多是來自於對酵母菌、昆蟲系統或哺乳動物的研究。

### 植物特有的耐熱基因

由於形態、生存方式及生命週期的差異，面對高溫逆境，不同的物種也演化出不一樣的反應模式。在行爲上，動物和植物就運用明顯不同的策略。例如，動物在感受到高溫不適時，經由神經細胞離子通道的作用，刺激身體的移動來躲避高溫傷害。而植物並沒有這樣的能力，顯然得發展出別的法子。一般而言，植物體的結構，特別是葉子，能減少輻射熱的吸收以及藉由氣孔蒸散水分來保持自身溫度略低於環境氣溫。然而，相較於動物還具有保持體溫恆定的能力，植物細胞則得經常經歷溫度劇烈的變化。因此，植物應當具有特別的高溫逆境反應機制或耐熱基因。對這些基因功能進行研究，可以讓我們對於植物適應環境高溫的機制有更深入的了解。

舉個例子，在強烈的光線照射下，植物葉片的溫度會短暫地急遽升高，某些植物可透過生合成異戊二烯，以增加葉綠體的耐熱性。異戊二烯可能維持了葉綠體膜在高溫下之完整，或是減低高溫下活性氧化物對葉綠體所造成的傷害。有學者證明，若利用轉基因方法來抑制異戊二烯的生成，便會使得轉基因植物的光合作用在高溫下效率減低。有趣的是，大多數的植物物種並不會合成異戊二烯。像是常用的模式植物阿拉伯芥就不產生這種化合物。顯然，在演化的過程中，這不是植物普遍所發展出的耐熱機制。然而，在最近的一項研究發現，將灰楊樹的異戊二烯合成醇素基因轉殖到阿拉伯芥就能明顯增進轉基因植物的耐熱能力。這顯示，異戊二烯對於不產生它的植物也可以有所幫助。那麼，植物爲何不普遍採納這種機制呢？這個問題目前沒有答案。也許，對多數的植物而言這可能並不經濟。因爲合成異戊二烯需要投入不少能量，而異戊二烯具揮發性，生成後很快又會從氣孔釋放到大氣之中，可能是不小

的損失。

要發現更多的植物特有的耐熱基因，先進的研究工具提供了很好的契機。比較不同物種基因組解碼所獲得的資訊以及使用高通量基因表達分析系統如基因晶片，讓我們得以快速地發現可能屬於植物所特有的耐熱基因。接下來利用遺傳學的原則證明這些基因與耐熱性之間的關係。目前常用的方法是將目標基因破壞，然後觀察植物的耐熱性狀受到什麼影響。藉由轉基因 T-DNA 的插入來破壞基因功能的阿拉伯芥突變株的數量，已涵蓋了約 90% 以上的基因(阿拉伯芥目前已確認約有 33,000 個基因)。因此研究人員可以向生產 T-DNA 突變株種子的單位索取目標基因的突變株來進行研究。這是目前研究基因功能普遍使用且重要的一種方法，稱作“逆向遺傳學 (reverse genetics)”。

透過上述的研究系統，我們注意到了一個普遍存在於陸生植物，但卻不存在於大多數其他生物的新穎熱休克蛋白。我們將這個蛋白質暫時命名為 Hsa32 (Heat stress-associated 32kDa protein)。由氨基酸序列的相似性，Hsa32 跟古生菌的一個酵素(簡稱 PSLs) 可能是遠房親戚。PSLS 參與了一個與甲烷合成所需的輔基之生合成途徑，而 Hsa32 在植物裡的功能卻完全不清楚。植物會產生甲烷嗎？答案是不確定。2006 年一篇發表在自然(*Nature*)期刊的論文指出，植物也會產生可觀的甲烷。由於甲烷是比二氧化碳更為嚴重好幾十倍的溫室氣體，這篇報導顛覆了一般人認為甲烷只來自微生物的觀點，而引申出種樹也不能減少溫室氣體反而有可能更糟的看法，因而引起極大的爭議。然而，隨後陸續也有其他的學者發表植物不會產生甲烷的證據。新的實驗數據不支持植物產生甲烷外，植物也不具備其它生合成甲烷所需要的基因，雖然具有類似 PSLs 的 Hsa32 是個例外。目前，對於植物能否產生甲烷仍尚未有最終定論。我們認為 Hsa32 參與甲烷合成的可能性非常低。

Hsa32 在陸生植物普遍存在的事實，不免讓人想像這個基因與植物適應陸地上多變的氣溫有密切關連。透過逆向遺傳學實驗，我們證實了 Hsa32 在阿拉伯芥的耐熱性扮演重要角色。特別的是，Hsa32 影響阿拉伯芥後天耐熱性的衰退 (acquired thermotolerance decay) 速度。不久，我們又發現一個控制基因轉錄的熱休克因子 HsfA2 也同樣參與後天耐熱性衰退的調控。所謂後天耐熱性是指細胞先接受一個較為溫和的熱處理所誘導出之更高的耐熱能力。如前面提到的，高溫氛圍使得細胞正常的蛋白質合成受到抑制，轉而合成 HSP。這是生物普遍具有的短暫性保護機制，以防後續更致命的高溫襲擊。一旦回到正常溫度後不久，HSP 開始消逝，後天耐熱性迅速衰退，細胞恢復了平常的運作。如果我們把後天耐熱機制看成是細胞的防衛措施，植物利用 Hsa32 延長防衛效能，而 HsfA2 則參與了第二波防衛工事的部署。陸生植物或許正巧妙地運用這些基因的作用以適應環境溫度經常而不規率的變化。

發現與探討新的耐熱基因功能只是進一步理解植物高溫逆境反應所踏出的第一步。透過這方面的基礎研究，讓我們逐步獲得相關的知識，掌握大自然賦予植物生存的法則。當然，我們期望這些知識有朝一日能在改良作物適應氣候變遷上有實際貢獻。