

Sekundární metabolity rostlin

Definice

Příklady a využití

Biotechnologie

Primární metabolity

sloučeniny, které **jsou nutné** při základních procesech, které udržují rostliny při životě

(stavba těla a metabolismus)

nukleové kyseliny (NK)

uhlohydráty (sacharidy, polysacharidy)

bílkoviny

lipidy

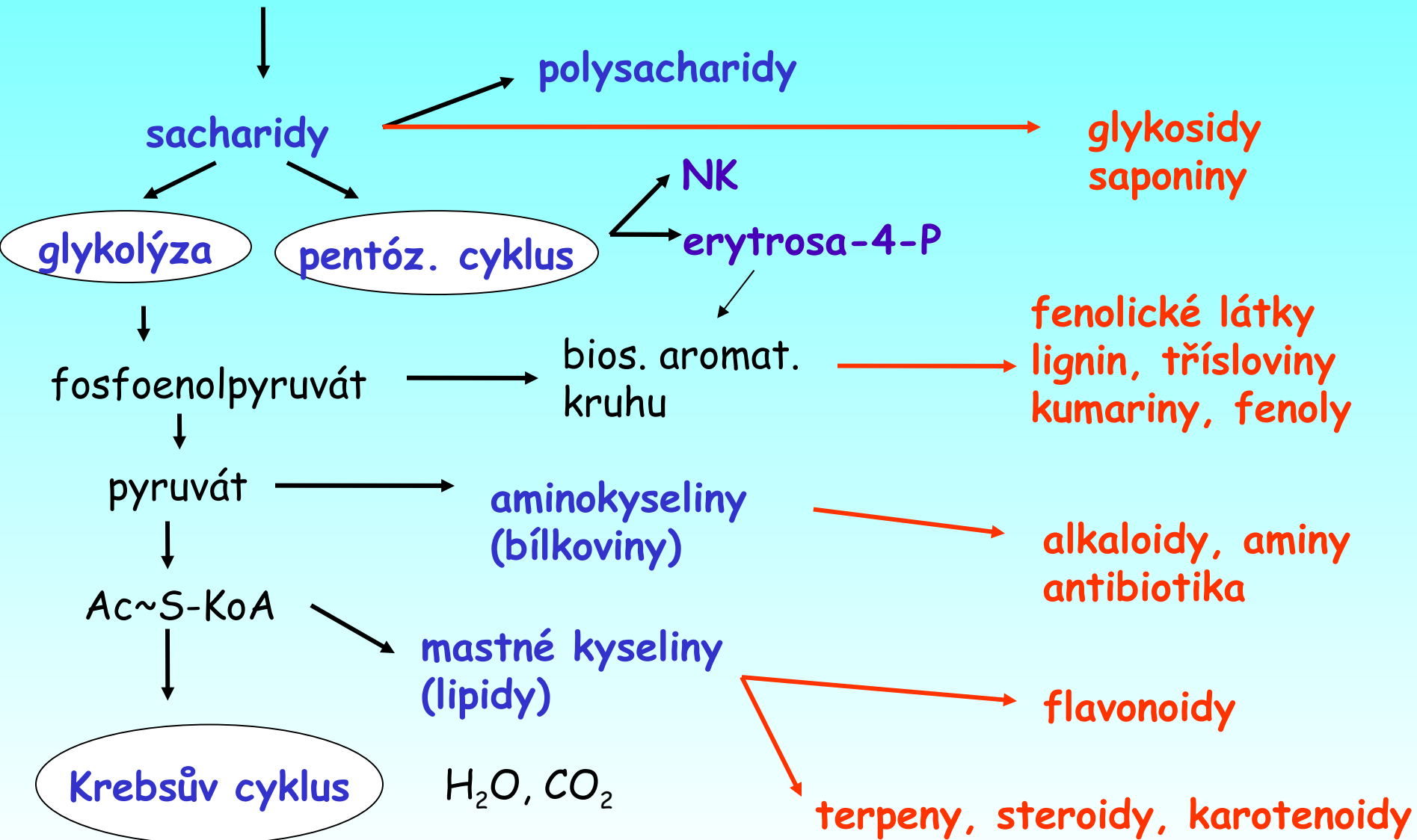
Sekundární metabolity

- rostlinami produkované sloučeniny, které **nejsou nezbytné** pro základní životní funkce
- jejich biosyntéza navazuje na primární metabolismus a jejich význam není vždy jasný

Primární metabolismus

Sekundární metabolismus

H₂O, CO₂, energie



Některé skupiny sekundárních metabolitů (Harborne 1993)

| druh | přibližný počet |
|---------------|-----------------|
| antibiotika | 6 000 |
| alkaloidy | 10 000 |
| flavonoidy | 4 000 |
| saponiny | 600 |
| monoterpeny | 1 000 |
| seskviterpeny | 3 000 |

Funkce sekundárních metabolitů

1. ekologická:

chemická ochrana proti mikroorganismům
(baktericidní účinky, fungicidní účinky)

chemická ochrana proti živočichům - repelentní efekt
(hořká chuť, zápach, toxicita)

2. regulační

3. produkty detoxikačního metabolismu

Využití sekundárních metabolitů

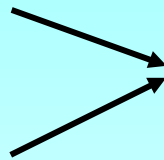
průmysl:

farmaceutický
(25% léčiv)



antibiotika, cytostatika,
kardiaka, diuretika

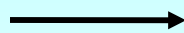
potravinářský



barviva a vonné látky

kosmetický

zemědělství



insekticidy, herbicidy

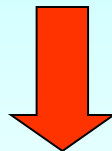
Nevýhody získávání sekundárních metabolitů

z intaktních rostlin

- úbytek rostlin na přírodních stanovištích
- závislost obsahových látek na vnějších podmínkách (klíma, minerální výživa, ozáření, dostupnost vody) = kolísání obsahu a nebezpečí znečištění

chemickou syntézou

- často obtížné a drahé
- výsledkem chemických syntéz = směs izomerů



snaha o biotechnologickou produkci

Využití tkáňových a buněčných kultur pro produkci sekundárních metabolitů

množení rostlin - nahrazuje úbytek z přírodních lokalit

produkce sekundárních metabolitů *in vitro*

kalusy

buněčné suspenze

kultury orgánů

Výhody

1. řízené prostředí bez klimatických vlivů
2. absence mikroorganismů a škůdců
3. možnost selekce produktivních linií
4. automatizace (bioreaktory) - definovaná kvalita, pokles výrobní ceny, kontinuální produkce

Obecná metodologie biotechnologických postupů pro produkci SM (ZENK 1978)



Vinca rosea, barvínek z Madagaskaru

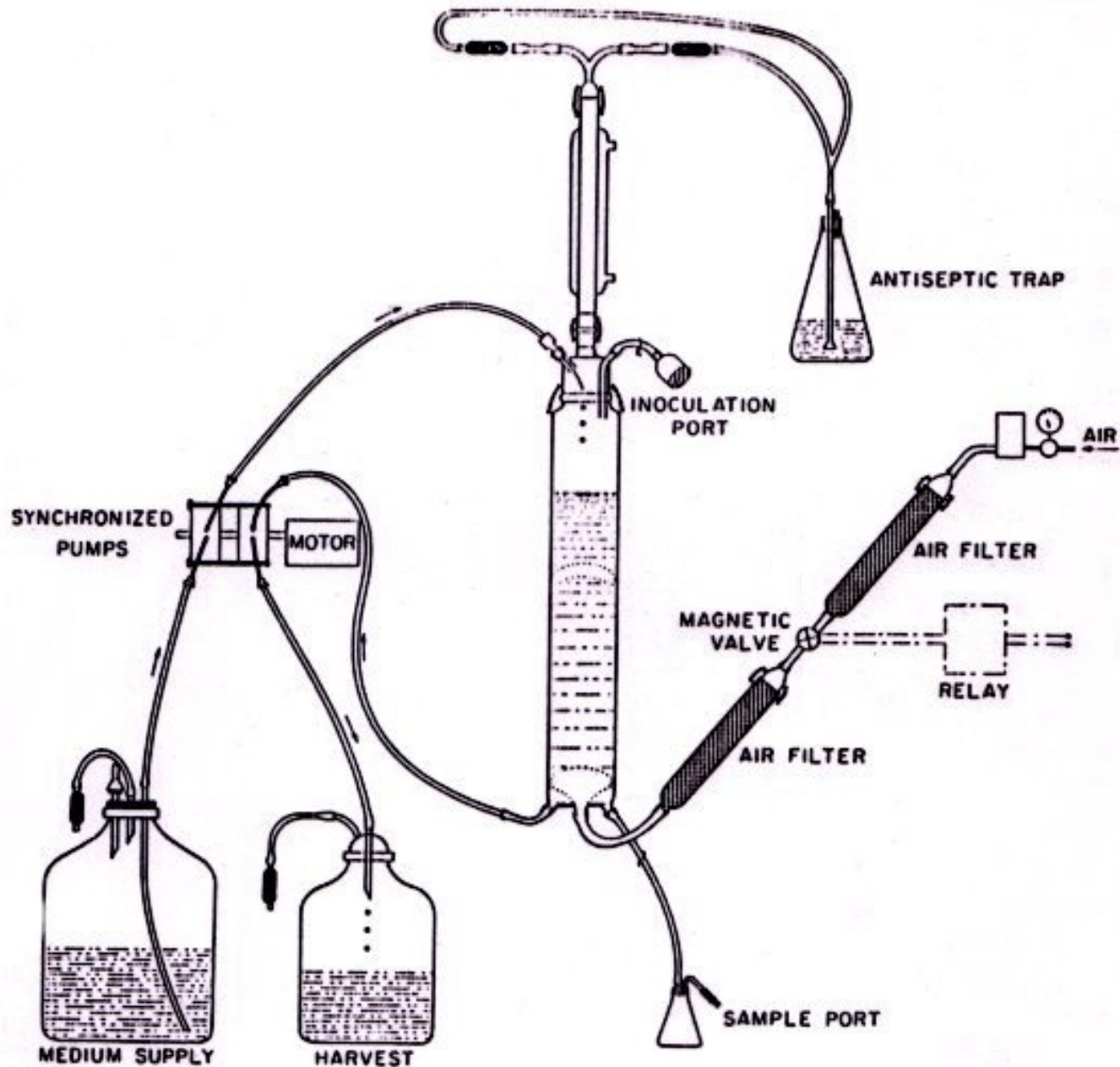


vincristin a vinblastin
antikancerogeny

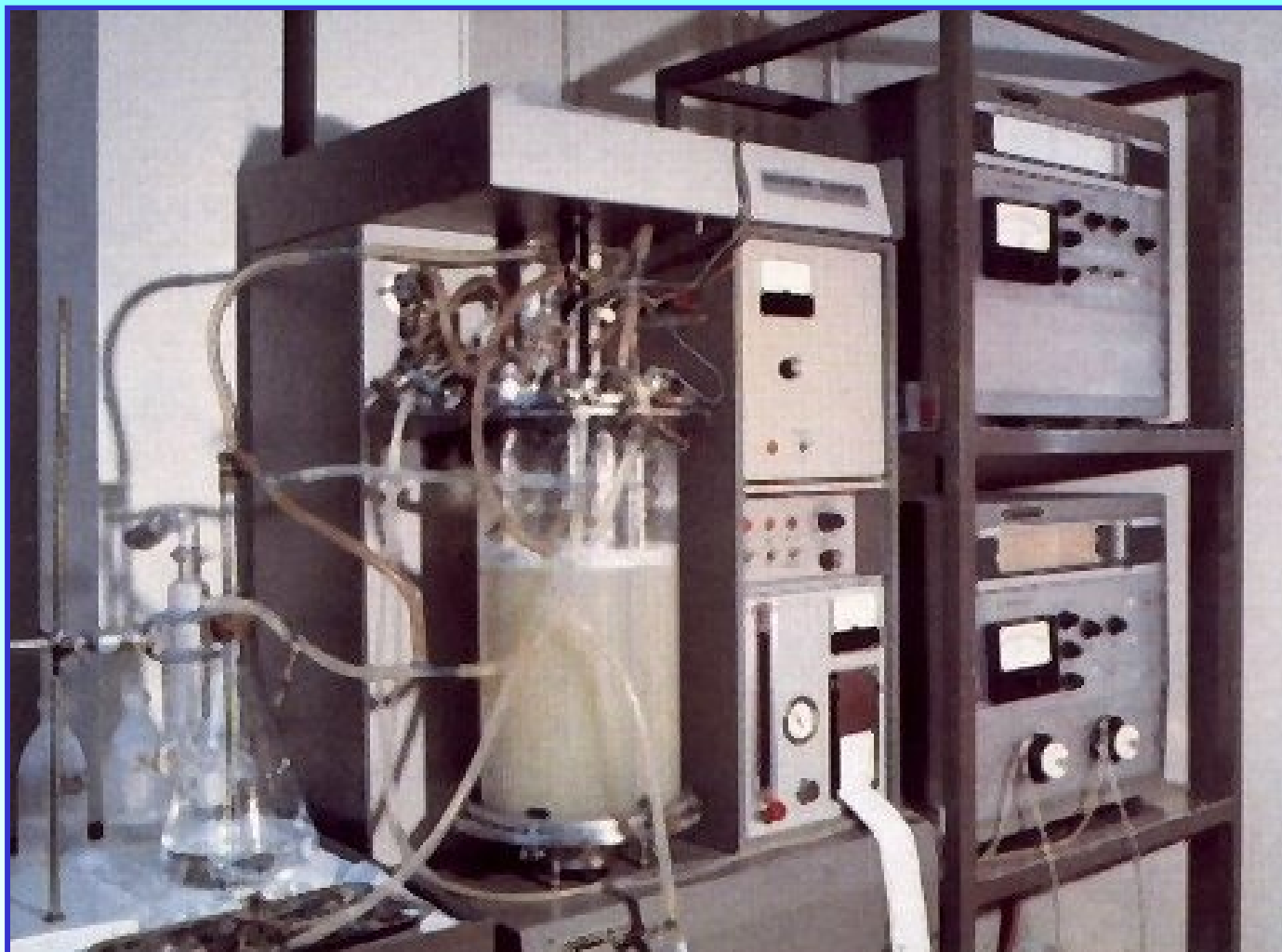


kalusové linie *Vinca rosea*
variabilita mezi liniemi

Schéma bioreaktoru



Laboratorní bioreaktor



Průmyslový bioreaktor



v roce 2005 největší
automatický provzdušňovaný
bioreaktor pro pěstování
rostlinných buněk a orgánů
na světě

pracovní objem každého
tanku 20 000 l (20 tun)

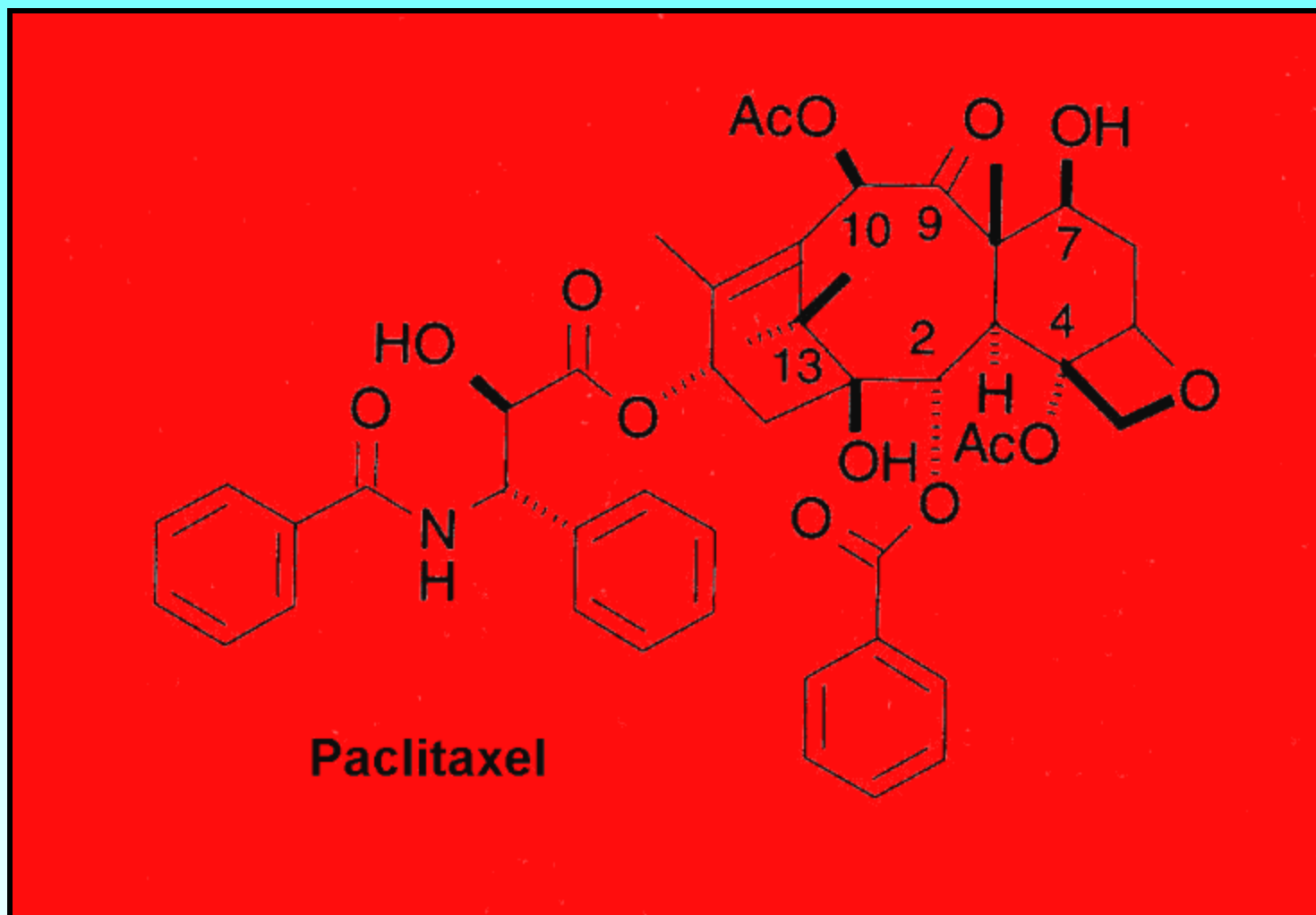
celkový objem 160 000 l
(160 tun)

Foto: Sung Ho Son
VitroSys Inc., Korea

SM produkované buněčnými nebo orgánovými kulturami

| | | | |
|--------------|------------------------|---|----------------------------|
| alkaloid | ajmalicin | antihypertensivum zlepšení cirkulace v mozku | <i>Catharanthus roseus</i> |
| alkaloid | berberin | antimikrobiální | <i>Coptis japonica</i> |
| seskviterpen | artemisinin | antimalarikum | <i>Artemisia annua</i> |
| diterpen | taxol | cytostatikum | <i>Taxus brevifolia</i> |
| alkaloid | codeine, morphine | | <i>Papaver somniferum</i> |
| alkaloid | atropin scopolamine | | <i>Atropa bella-donna</i> |
| glykosid | digoxin digitoxin | kardiotonikum | <i>Digitalis lanata</i> |

Struktura paclitaxelu (taxolu) - *Taxus brevifolia*, *T. baccata*



léčení karcinomu vaječníků a plic, přírodní zdroje omezené, nelze syntetizovat chemicky - má 10 stereocenter

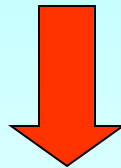
Produkce paclitaxelu u stromů, buněčných a houbových kultur

| Materiál | Specifická biosynt. rychlost | Prům. obsah (% sušiny) |
|--|--------------------------------|---------------------------|
| kůra dosp. stromů (100leté stromy) | 4.70×10^{-6} mg/g/den | 0.017 |
| <i>Taxus</i> plantáž (4leté stromy) | 0.34×10^{-6} mg/g/den | 0.005 |
| <i>Taxus</i> susp. kultura | 640×10^{-3} mg/l/den | 0.200 |
| <i>Taxomyces andreanae</i> | 400×10^{-6} mg/l/den | - |

Buněčná kultura může produkovat paclitaxel rychleji
a může tak být cestou pro jeho produkci.

Nevýhody tkáňových a buněčných kultur pro produkci sekundárních metabolitů

1. nízká produkce SM x **vysoké náklady**
2. **absence SM v buněčných kulturách** (narozdíl od mateřských rostlin nebyly SM u mnoha kalusových a buněčných kultur zjištěny. Produkce SM začíná až při tvorbě kořenů nebo prýtů či při embryogenezi = **nutnost diferenciacce pletiv**)



**produkce SM není zatím (až na výjimky)
komerčně úspěšná**

Důvody absence SM v buněčných kulturách

- přesun prekurzorů do primárního metabolismu
- suprese nebo redukce exprese klíčových enzymů biosyntézy
- nedostatek vhodných skladovacích míst, jako sekreční buňky, dutiny nebo váčky, latexová pletiva nebo žláznaté trichomy, které se vyskytují pouze v diferencovaných pletivech

Produkce pigmentů

- Některé buněčné kultury akumulují vysoké koncentrace pigmentů
- Např. kultura *Lithospermum erythrorhizon* produkuje červený pigment **šikonin**, používaný v kosmetice (barvení rtěnek)
- Jiné buněčné kultury produkují **anthocyaniny**, červené nebo modré flavonoidy, které mohou být použity jako přírodní barviva pro potraviny

Rozdíly v produkci anthokyanů na světle a ve tmě



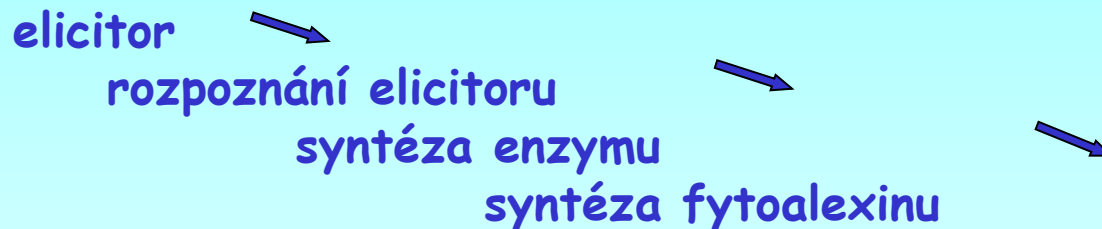
Kalusy *Oxalis reclinata* jsou při kultivaci na světle žluté, ale po přenosu ze tmy na světlo začínají produkovat červené pigmenty anthocyaniny.

Elicitace

Určité sekundární metabolity, **fytoalexiny**, jsou akumulovány v rostlinách po infekci mikroorganismy.

Tyto látky mají antimikrobiální aktivitu a tak fungují jako chemická ochrana rostlin.

Sloučeniny podporující tvorbu fytoalexinů byly nazvány **elicitory** a proces produkce fytoalexinů **elicítace**.



Akumulace fytoalexinů může být indukovaná rovněž různými **stresovými faktory**: UV- radiace, expozice chladu nebo horka, ethylen, fungicidy, antibiotika, soli těžkých kovů, vysoká koncentrace solí.

Elicitace SM v kulturách *in vitro*

| Elicitor | Druh | Produkt |
|---|----------------------------|----------------------------|
| <i>Phytophthora megasperma</i> | <i>Glycine max</i> | glycollin |
| houbové homogenáty | <i>Ruta graveolens</i> | akridon. expoxydy |
| <i>Phytium aphanidermatum</i> | <i>Catharanthus roseus</i> | ajmaciline catharanthin |
| <i>Botrytis</i> <i>Colletotrichum</i> <i>Verticillium</i> <i>Altenaria</i> | <i>Papaver somniferum</i> | sanguinarin |

Biokonverze

Kultury rostlinných buněk obsahují **enzymy**, které mohou **katalyzovat** velký počet reakcí.

Výhodou aplikace rostlinných enzymů při biosyntéze je, že jsou tak produkovány **čisté stereochemické látky** (a ne směsi izomerů jako při chemické syntéze).

Biokonverze - postup, při kterém se používají buněčné kultury, kterým se přidá prekurzor a v průběhu kultivace dojde k jeho přeměně na žádaný sekundární metabolit.

= levnější než biosyntéza SM od počátku

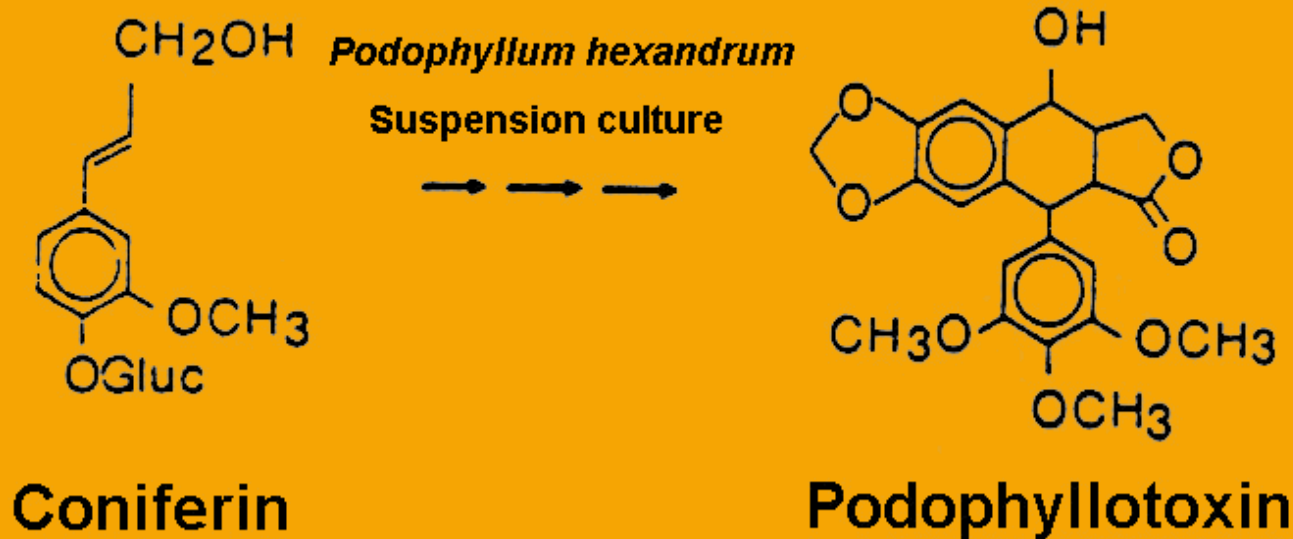
Biokonverze

Přidávání prekursoru k suspenzím (**feeding a precursor**), který je levný a dostupný může zvýšit výnos sekundárních metabolitů. Prekursor je zpracován stejnými metabolickými drahami jako v intaktní rostlině.

Někdy ale buněčné kultury mění prekursor na **nové sloučeniny**, které se v rostlině nenacházejí.

Příklad biokonverze v buněčné kultuře:

Koniferin je přidáván k suspenzní kultuře *Podophyllum hexandrum* a je produkován podophyllotoxin.



Podophyllotoxin se používá k výrobě protirakovinných léčiv.

Imobilizace buněk

upevnění do inertního materiálu

- 1. aktivní** = uzavírání do polymerů
(alginát, agar, polyakrylamid, želatina)
- 2. pasivní** = vcestování a usazení buněk na nosiče
(polyuretan - molitan)

Využití transgenozy pro tvorbu SM

při produkci SM v kořenech rostlin

indukce tvorby kořínků pomocí *Agrobacterium rhizogenes*

Nicotiana rustica, Datura stramonium

pro zvýšení produkce prýtků - vnášení genu *ipt* nebo pro auxiny

z *Agrobacterium tumefaciens*

Mentha