



植物细胞工程制药

生物技术制药

目 录

- 0 1 基本概念
- 0 2 植物细胞工程发展简史
- 0 3 植物细胞的形态
- 0 4 植物细胞基本技术
- 0 5 **影响植物次级代谢产物累积的因素**
- 0 6 应用实例



影响植物次级代谢产物累积的因素

影响次级代谢产物产生和累积的因素主要有：

一、外植体的选择

不同外植物体的悬浮细胞培养物，其最大次级代谢产物的累积时间各异。 P193

二、培养条件的影响

营养成分、生物及非生物元素、酸度、通气与混合程度、与接种有关的因素以及剪切力、搅拌频率、温度和光。



影响植物次级代谢产物累积的因素

培养条件的影响可以分为培养环境的内在因素和外部因素，内部因素包括营养成分、生物及非生物元素、pH、通气及混合程度、与接种有关的因素等。在这些内容的讲解中让学生加深以下认识：内外因辩证原理是指在唯物辩证法中认为事物的内部矛盾(即内因)是事物自身运动的源泉和动力，是事物发展的根本原因。外部矛盾(即外因)是事物发展、变化的第二位的原因。内因是变化的根据，外因是变化的条件，外因通过内因而起作用。

影响植物次级代谢产物累积的因素

1、内在因素

(1) 接种和诱导:

长春花培养物中蛇根碱的合成要求其外植体直径在1~12cm之间,在此条件下才能分泌噻吩类成分。

单冠毛菊悬浮细胞培养物暴露于蓝光中时才能合成花青苷。

(2) 培养基的组成:

磷、氮、铜、碳源、植物生长调节剂、 O_2 和pH等。



影响植物次级代谢产物累积的因素

碳源对长春花悬浮细胞培养中次级代谢作用的影响

次级代谢产物	糖类		
	乳糖 (6%)	蔗糖 (3%)	甘露糖醇 (0.3 ~ 0.6 mol/L)
长春花碱/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	50	16.60	—
蛇根碱/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	—	1.40	21.50
游离氨基酸/ $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	—	0.55	2.86



影响植物次级代谢产物累积的因素

2. 两步培养法

第一步使用适合细胞生长的培养，营养丰富；

**第二步使用适于次级代谢产物合成的培养基，
较低含量的硝酸盐和磷酸盐，并含有较低的糖分或
少量的碳源。**



影响植物次级代谢产物累积的因素

3、培养环境的外部因素

- (1) 温度
- (2) 搅拌频率
- (3) 培养容器的影响
- (4) 光的影响



影响植物次级代谢产物累积的因素

3、培养环境的外部因素

- (1) 温度
- 培养物中次级代谢产物产生的最佳温度为20~28℃。在一定温度 ($\leq 15\text{ }^{\circ}\text{C}$) 下, 细胞不再生长, 次级代谢产物也不再产生。但应该指出的是, 在某些极端情况下 (如 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$), 细胞也能正常生长。终产物和中间产物的累积, 甚至与其生物合成直接相关的化合物, 也并非需要相同的温度。**低温**对次级代谢产物产生的影响类似于2, 4-D的抑制作用。当培养温度与培养物正常生长所要求的温度相差很大时, 可引起某些应激效应以及对次级代谢产物产生的激活作用。温度的变化尚可引起产物类型在质和量上的改变, 个别情况下由于激活了新的生物合成途径也可能产生新的代谢物质。



影响植物次级代谢产物累积的因素

3、培养环境的外部因素

- (2) 搅拌频率

- 植物培养细胞的产率与发酵罐的搅拌速度有关，具体表现在发酵液中的溶氧浓度和机械搅拌对细胞所产生的剪切力上，如上述因素对海巴戟长方形细胞（累积蒽醌类成分）、产生甜菜苷（betanine）的甜菜（*Beta vulgaris*）细胞和累积蛇根碱的长春花细胞等的影响就非常明显。但搅拌频率也不宜过小，如低于28r/min时，次级代谢产物的生物合成反应就有可能发生反转。



影响植物次级代谢产物累积的因素

• (3) 培养容器的影响

- 植物培养细胞次级代谢产物的产生可因为所用培养容器的大小和搅拌装置的不同而得到不同的结果。如小规模实验室培养所用的培养容器(50~500ml)具有较高的氧转移率,通过简单的定期搅拌,培养物的每个部位均可得到比大规模培养更好的氧供应。用于生产次级代谢产物反应器中的搅拌器对细胞产率可产生一定的影响,这些差异及由剪切力引起的不良影响可通过使用气升式发酵罐或一个沿水平轴转动的发酵罐而予以避免。但因为植物细胞生长和次级代谢产物的生产过程是完全分离的,所以这对细胞生产过程会有不利影响。延长稳定期就意味着延长培养时间,从而增加成本、增大污染机会等,可以通过两步培养等方法解决。



影响植物次级代谢产物累积的因素

3、培养环境的外部因素

- (4) 光的影响
- 光照时间、光质和光强对次生代谢产物（如黄酮、黄酮醇、花色素苷、挥发油等）的累积都有一定影响。

谢谢观看



thanks for watching