

B. 突变的肌动蛋白基因和转化细胞内原肌球蛋白的减低表达。

细胞转化时发生的肌动蛋白的改变, 其生化基础尚不清楚, 但有几种解释最近已被提出。在化学致癌物转化的人类细胞中, 曾检出畸变的 β -肌动蛋白^[177]。造成畸变肌动蛋白的点突变被认为是变异肌动蛋白结合成骨架减少的原因。在裸鼠中, 也存在着在裸鼠身上形成肿瘤的能力与变异肌动蛋白的相关现象^[177]。最近报道, 在DNA或RNA肿瘤病毒诱导的转化中, 原肌球蛋白(它是肌动蛋白的结合蛋白)的表达有明显的降低^[197-199]。当使用的是温度敏感的转化病毒时,

上述这些变化也表现出是温度依赖性的^[198]。应用被温度敏感的RSV所转化的鸡胚成纤维细胞的一个类似的系统, 显示出 α -肌动蛋白的合成有温度敏感性的降低^[200]。一种有趣的可能性是原肌球蛋白和 α -肌动蛋白(α -isoactin)的改变地表达, 与某些其它肌动蛋白结合蛋白的改变相协调(参阅下文)是与转化细胞内F-肌动蛋白不同组织是有责任的。

汪堃仁 译自 *Biochimica et Biophysica Acta*, 780, 197-212(1985) 何大澄校

(全译文未完待续)

译文内参考文献可查原文

植物组织培养的次生代谢产物V、皂角苷(Saponin)*

石塚 一広

近年来从植物培养细胞分离出皂角苷, 及其糖苷配基(aglycon)的皂角苷配基(Sapogenin)。其中主要者列于表1。这些研究虽未达实用阶段, 但可从其中看出培养细胞中产物含量正在超出亲本植物, 今后会

有进一步的发展。其中有代表性的是人参(*Panax ginseng*)产生人参皂角苷和由薯蓣属的一种 *Dioscorea deltoidea* 产生薯蓣皂角苷配基(diosgenin), 本文叙述迄今为止的研究动向和利用细胞培养的生产方法。

表1 植物组织培养生产皂角苷的例子

生产物	植物	文献
薯蓣皂角苷配基 (diosgenin)	薯蓣属 <i>Dioscorea deltoidea</i> <i>Dioscorea tokoro</i>	参看本文第2节 Tomita等(1970) ^[1]
人参苷 (ginsenoside) prototokoronin	人参 <i>Panax ginseng</i>	参看本文第1节
羟基茄碱 (solasonin)	薯蓣属 <i>Dioscorea tokoro</i>	Tomita等(1974) ^[2]
<i>Glycyrrhiza aculeatisside</i>	茄属 <i>Solanum xanthocarpum</i>	Heble等(1971) ^[3]
柴胡皂苷 (Saikosaponin)	洋甘草 <i>Glycyrrhiza glaba L</i> <i>Solanum aculeatissimum</i>	玉置等(1973) ^[4] 锅田等(1983) ^[5]
	柴胡属 <i>Bupleurum falcatum L</i>	鱼森等(1974) ^[6]

1. 人参生产人参皂角苷(saponin)

人参是自古以来就认为具有药效, 因而需求量很大。由于分布的局限性和栽培的困难, 长期以来成为贵重品。为此, 很早进行有关组织培养的研究^[7-11], 最近从愈伤组织也再分化出植株^[12]。另一方面利用组织培养试行生产人参皂角苷, 首先分离出

panaxatril^[13], 继而又分离出人参苷(ginsenoside)R_{b1}、R_{g1}, 而且这些皂角苷类显示与原来植物体的皂角苷完全一致^[14]。改良培养基后, 细胞中皂角苷的含量提

* 本文摘译自山田康之编著(1981年)“植物细胞培养マニュアル”一书第73-78页。

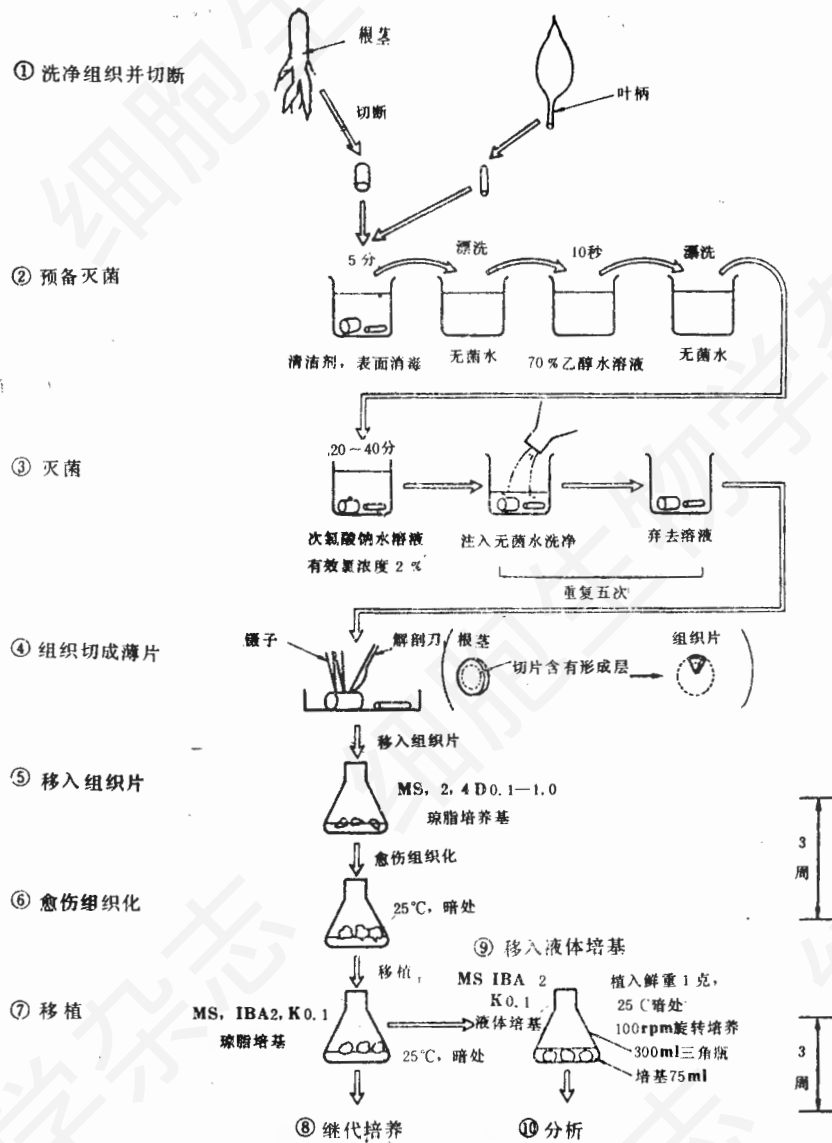


图 1 用人参生产人参皂角苷

高到白参的 6 倍左右^[15]。试行添加皂角苷生物合成的中间体：3-甲基-3,5-二羟基戊酸 (mevalonic acid)、法呢醇 (farnesol)，皂角苷产量又可提高 2 倍^[16]。此外，也研讨了大量培养，进行了用发酵槽的各种试验^[17-18]。

用细胞培养的人参皂角苷生产方法(参看图 1)

① 准备新鲜人参根茎部、叶柄等(地上部分只在 4—9 月有，此后即枯死)。充分洗涤，用水漂洗干净。切成易于灭菌的一定大小。以后操作除⑩外全部在无菌条件下进行。

② 切碎的组织在 0.2% 洁尔灭的水溶液中浸渍 5 分钟后，用无菌水洗涤；以 70% 乙醇溶液浸沾 10 秒钟后，再次用无菌水洗涤。

③ 这一组织浸入次氯酸钠溶液(有效氯浓度 2%) 中灭菌 20—40 分钟，弃去水溶液，用无菌水清洗。清洗重复五次。

④ 将组织移入灭菌培养皿，用解剖刀仔细地切碎(组织片若含有形成层等增殖能力强的部分，以后易于发生愈伤组织)。

⑤ 将组织片植入含有 2,4-D 0.1~1.0 ppm 的

MS 琼脂培养基(见表2), 在 25℃、黑暗下培养约三周。

⑥从组织片上形成愈伤组织。

⑦愈伤组织移入含有 IBA 2.0 ppm、激动素 0.1 ppm 的 MS 琼脂培养基上培养。

⑧间隔三周, 将愈伤组织进行继代培养。

⑨将愈伤组织在成分相同的液体培养基中培养三周。

⑩收集悬浮培养细胞, 将人参皂角苷定量。定量方法参照文献^[19-21]。培养基见表2。

2. 用薯蓣属 *Dioscorea deltoidea* 生产薯蓣皂苷配基(Diosgenin)。

皂角苷, 薯蓣素(dioscin)一类的薯蓣皂苷配基是肾上腺皮质激素(contison)等各种有用甾体激素的重要制造原料, 主要取薯蓣属的块茎。用薯蓣属的组织培养以获得薯蓣皂苷配基^[22,23], Stable 等从 *D. delto-*

表2 各种培养基的组成(mg/l)

培养基成分	修改MS	MS
无机成分	MS 的无机盐	MS 的无机盐
蔗糖	30000	30000
肌醇	5000	100
维生素类		
氰钴胺素(VitB ₁₂)	0.0015	—
叶酸(VitB ₁₁)	0.5	—
核黄素(VitB ₂)	0.5	—
生物素	1.0	—
胆碱盐酸盐	1.0	—
泛酸钙	1.0	—
磷酸吡哆醇(VitB ₆)	1.0	—
盐酸吡哆醇	—	0.5
盐酸硫胺素(VitB ₁)	1.0	0.1—1.0
烟酰胺	2.0	—
烟酸	—	0.5
甘氨酸	—	2.0
铁类		
FeSO ₄ ·7 H ₂ O	27.8	27.8
Na ₂ EDTA	37.3	37.3

注: 固体培养基: 加入琼脂 1%

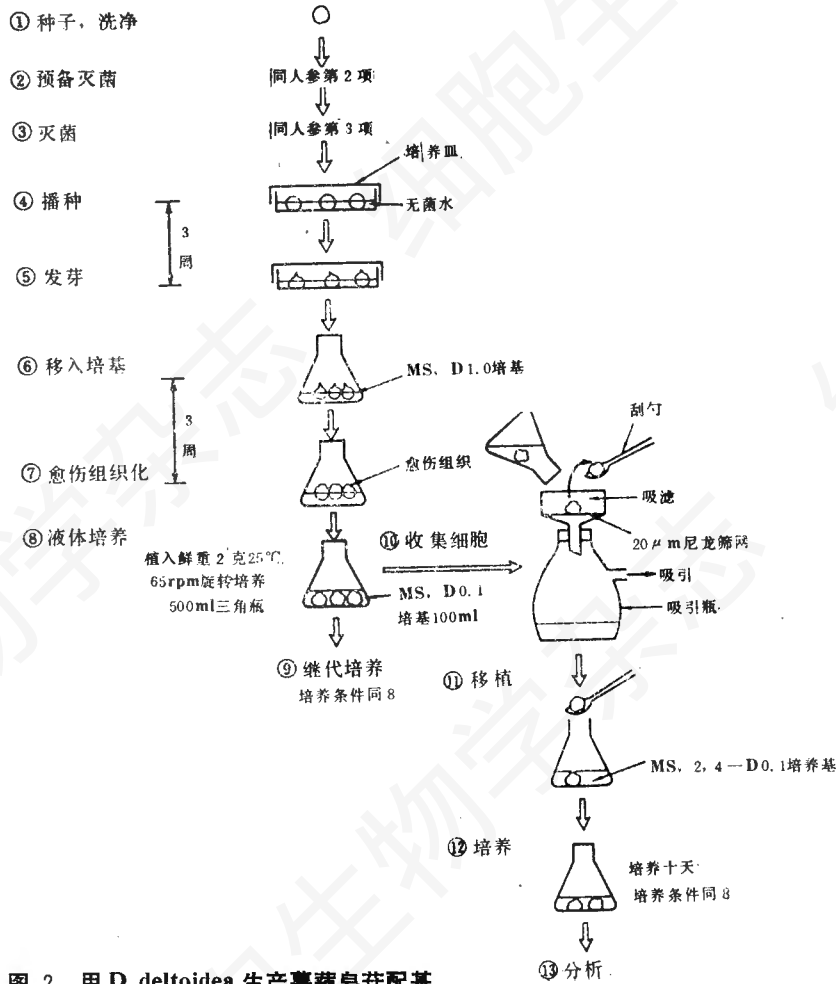


图2 用 *D. deltoidea* 生产薯蓣皂苷配基

idea 培养细胞分离出薯蓣皂苷配基, 未分化细胞含量高(约为干重的1%), 分化细胞含量少^[24](薯蓣皂苷配基在芽等生长旺盛部分合成, 贮于根茎^[25])。在 *D. deltoidea* 培养细胞中 ¹⁴C 标记的胆固醇显示进入薯蓣皂苷配基^[26]。添加胆固醇能将薯蓣皂苷配基含量提高到 2.5%^[27]。此外, 也研究了激素对薯蓣皂苷配基生产的影响, 发现 2,4-D 最佳^[28]。*D. deltoidea* 细胞增殖停止后产生薯蓣皂苷配基, 间歇培养时延长稳定期可使薯蓣皂苷配基的产量增加^[29]。Tal 等将连续培养与间歇培养结合, 薯蓣皂苷配基产量可提高到 3.8%^[30]。

用细胞培养生产薯蓣皂苷配基的方法(参看图 2)。

- ① *D. deltoidea* 种子用清洁剂洗涤, 漂洗干净, 以后进行无菌操作。
- ② 同人参培养第②项。
- ③ 同人参培养第③项。
- ④ 将种子放入有无菌水的培养皿中, 于 25℃ 下培养。
- ⑤ 约经三星期发芽。
- ⑥ 发芽种子植入加有 2,4-D 1.0 ppm 的改良 MS 培养基。每天 16 小时光照, 转速 65 r/m 旋转培养。
- ⑦ 约间隔三星期进行继代培养。
- ⑧ 培养第 25 日, 用 20 μm 尼龙筛网收集细胞。
- ⑨ 然后移入加有 2,4-D 0.1 ppm 的改良 MS 培养基(除去蔗糖与 IAA), 在与第⑧项相同的条件下培养 10 天。
- ⑩ 收集细胞, 将薯蓣皂苷配基定量, 定量方法参照文献^[25], 培养基参照表 2。

(周荣仁译, 周郑校)

参 考 文 献

- [1] Y. Tomita, A. Uoinori and H. Minato., 1970. *Phytochemistry*, 9, 111.
- [2] Y. Tomita and A. Uomori, 1974. *Phytochemistry*, 13, 729.
- [3] M. R. Heble, S. Narayanaswami and M. S. Chadha., 1971 *Phytochemistry*, 10, 2393.
- [4] 玉置, 西田, 加藤松本., 1973 日本特许, 48, 4560.
- [5] 锅田, 松原, 杉沢., 1983 第 8 回植物组织培养シンポジウム讲演要旨集 p.63.
- [6] 鱼森温子, 妹尾修次郎, 富田裕 1974 生薬学雑誌, 28(2), 152.
- [7] R. G. Butenko, 1967 *Probl. Pharmacol.*, 21, 184.
- [8] 喜多, 杉井., 1969 生薬学雑誌 89(10), 1474
- [9] J. J. Jhang, E. J. Staba and J. Y. Kim., 1974 *In vitro.*, 9: 253.
- [10] K. T. Choi, M. W. Kim and H. S. Shin, Korean 1981 *J. Ginseng Sci.*, 5(1), 35.
- [11] K. T. Choi, M. W. Kim and H. S. Shin., 1982 *Proc. 5 th Intl. Cong. Plant Tissue & Cell Culture*, 171.
- [12] W. C. Chang and Y. I. Hsing., 1980, *Nature*, 284, 341.
- [13] T. Furuya, H. Kojima, K. S̄yono, T. Ishii., 1970, *Chem. Pharm. Bull.*, 18, 2371.
- [14] T. Furuya, H. Kojima, K. S̄yono, T. Ishii, K. Uotani and M. Nishio. 1970, 21, 98.
- [15] 古谷, 石井, 1973, 日本特许, 48, 31917.
- [16] 古谷, 石川, 石井, 1981 日本特许, 56, 12119.
- [17] T. Furuya, 1982 *Proc. 5 th Int. Congr. Plant Tissue & Cell Culture*, p. 269.
- [18] 大浦彦吉ほか編 1981 薬用人参, P. 74, 共立出版.
- [19] 真田修一, 庄司顺三, 柴田承二, 1978, 薬学雑誌, 98(8), 1048.
- [20] 坂本征则, 森本一義, 田中治 1975, 薬学雑誌 95(12), 1456.
- [21] T. Nagasawa, T. Yokozawa, Y. Nishino, and H. Oura, 1980, *Chem. Pharm. Bull.*, 28(7), 2059.
- [22] W. Tulecke and L. G. Nickell, 1960, *Trans. N. Y. Acad. Sci.*, 22, 196.
- [23] J. D. Ehrhardt, L. Hirth and G. Ourisson., 1967, *Phytochemistry*, 6, 815.
- [24] B. Kaul and E. J. Staba., 1967, *Lloydia*, 31(2), 171.
- [25] E. A. Baker, J. T. Martin and A. P. Wilson., 1966, *Ann. Appl. Biol.*, 58, 203.
- [26] S. J. Stohs, B. Kauland E. J. Staba., 1969 *Phytochemistry*, 8, 1679.
- [27] Kaul, B., S. J. Stohs and E. J. Staba., 1969, *Lloydia*, 32, 347.
- [28] Jo G. Marshall and E. J. Staba., 1976 *Phytochemistry*, 15, 53.
- [29] M. R. Heble and E. J. Staba., 1980, *Planta Medica Suppl.*, p. 124.
- [30] B. Tal and I. Goldberg., 1982, *Planta Medica*, 44, 107—111.