红豆杉属植物组织与细胞培养影响因素研究进展*

李 健, 宋晓平, 陈树林
(西北农林科技大学 动物科技学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘 要] 红豆杉中的紫杉醇具有抗肿瘤活性, 直接从植物中提取紫杉醇的传统生产方法, 不仅产量低, 而且会对红豆杉野生资源造成严重破坏, 而组织与细胞培养是一种极具潜力的紫杉醇生产技术。文章对近年来国内外红豆杉属植物组织与细胞培养工作中的培养基、培养条件、外植体选择、诱导子以及褐变等影响因素的研究情况进行了全面系统地综述。

[关键词] 红豆杉; 培养基; 培养条件; 外植体; 诱导子; 褐变现象
[中图分类号] S791.490.4 [文献标识码] A [文章编号] 1671-9387(2005)10-0042-05

紫杉醇(taxol)是20世纪70年代由Wani从短叶红豆杉(*Taxus brevifolia*)树皮中提取出来的具有独特抗癌作用的天然产物。自1992-12美国食品与药品管理局(FDA)批准将其用于治疗卵巢癌以来, 紫杉醇已在多个国家获准上市, 中国医学科学院药物研究所和海口制药厂已于1995-10获得其新药证书。但红豆杉属植物的野生资源十分有限, 且生长缓慢, 体内紫杉醇含量亦很低, 所以紫杉醇的药源问题一直颇受关注, 而且至今仍未得到很好的解决。红豆杉属植物组织与细胞培养技术, 是一种很有潜力的紫杉醇生产方法。本文对国内外关于红豆杉属植物组织与细胞培养方面的研究作以综述。

1 培养基的种类与组成成分

1.1 培养基的种类

刘佳佳等[1]从红豆杉愈伤组织的诱导、继代保存、生长和紫杉醇的生产等4个不同方面对培养基进行了筛选, 结果表明, 在红豆杉愈伤组织的诱导方面, MS培养基优于B_5, N_6, SHN (Schenk & Hildebrandt New)等培养基, 以当年生嫩茎为外植体, 愈伤组织诱导率可达100%; 继代培养时以B_5培养基为好; 愈伤组织的生长以B_5和SHN培养基为好; 而紫杉醇的生产以MS培养基为好。另外, 有研究者[2]指出, 在MS, Miller, Nagata和Abou-Man 4种培养基中, 红豆杉细胞均生长较快; 其中在Abou-Man培养基上生长的红豆杉细胞干重最高, 但紫杉醇未被检出; H培养基上的红豆杉细胞中紫杉醇的含量可高达细胞干重的0.11%, 但是生长缓慢。因此, 建议以Abou-Man培养基为其基本生长培养基, 以H培养基为其基本生产培养基。冉懋雄[3]认为, 红豆杉愈伤组织的诱导, 应当以B_5培养基为基础, 并且液体培养基比固体培养基更有利于缩短从诱导到悬浮培养的生产周期。

总的来说, 关于红豆杉培养物在不同生长阶段应该采用何种培养基的问题, 各文献中提出的观点差异较大, 这可能与试验所用材料的种属、生理状态、取材部位、采集时间等多种因素有关, 在实际操作中, 需要根据具体情况进行选择和优化。

1.2 碳 源

碳源作为植物生长的基质和能量来源, 对细胞生长和次级代谢产物的生产有很大影响。Kim等[4]在短叶红豆杉细胞悬浮培养中, 比较了20 g/L的蔗糖、乳糖、半乳糖、葡萄糖、果糖对细胞生长的影响, 发现半乳糖和蔗糖最有利于细胞生长。在高起始糖浓度的培养基中, 果糖最能刺激紫杉醇的合成, 与高起始糖浓度培养的细胞相比, 采用补糖的方法, 紫杉醇产量在静止期可显著增加。元英进等[5]的研究发现, 南方红豆杉(*Taxas chinensis* var. *mairei* Cheng et L K Fu)细胞对蔗糖的消耗有一个临界点, 即培养液中总残留有1 g/L的蔗糖不能被吸收, 而培养

* [收稿日期] 2005-01-10
[基金项目] 国家自然科学基金项目(30170683)
[作者简介] 李 健(1980-), 男, 山西大同人, 在读硕士, 主要从事中药化学成分及药理作用的研究。
[通讯作者] 宋晓平(1963-), 男, 陕西周至人, 教授, 博士, 硕士生导师, 主要从事中药化学成分及药理作用的研究。E-mail: sxpxbnl@163.com

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

液中浓度为30 g/L 的蔗糖对细胞生长和产物合成最为有利。蔗糖大部分被降解成葡萄糖和果糖, 其中葡萄糖有利于细胞的前期生长以获得大量的悬浮细胞, 在中期添加果糖有利于细胞培养后期合成紫杉烷类化合物。

1.3　氮　源

在氮源组成中, 较低的NH_4^+/NO_3^-比有利于细胞的快速生长, 而其他无机盐浓度与细胞生长之间不存在这种关系。陈永勤等[6]报道, 培养基中高浓度的NO_3^-有利于云南红豆杉(*Taxas yunnanensis* Cheng et L K Fu)愈伤组织的生长, 而高浓度的NH_4^+则抑制愈伤组织的生长, 但可显著提高紫杉醇的含量。在无机氮全部为铵态氮的处理中, 愈伤组织接种1周后就变成砖红色, 增殖较少, 其生长指数显著低于对照, 但紫杉醇含量较对照高1倍。

1.4　前体化合物

在红豆杉属植物细胞培养过程中, 有时培养细胞不能按理论产率合成紫杉醇, 其中一个很重要的原因就是缺少紫杉醇合成的前体, 此时如在培养物中加入外源性前体, 就会增加紫杉醇产量。因此, 选择适当的前体相当重要。胡萍等[7]认为, 在红豆杉细胞悬浮培养过程中, 添加苯丙氨酸对其细胞生长有利, 而添加苯甲酸钠对其细胞生长不利, 这是因为酸性条件下苯甲酸钠部分以苯甲酸形式存在, 苯甲酸能进入细胞内部, 扰乱细胞内酶的代谢, 使细胞生长受到影响。但较低浓度的苯甲酸钠对细胞的生长影响不大。

但同样一种前体, 在细胞的不同生长时期加入, 对细胞的生长和次生代谢产物合成的作用大不相同, 有时甚至还会起抑制作用。在对中国红豆杉(*Taxus chinensis*)细胞紫杉醇合成途径的研究[8]中发现, 在培养第1天添加0.2 mmol/L 的苯丙氨酸和苯基甘氨酸, 到第15天, 紫杉醇产量较对照提高50%, 但添加更高浓度的前体则不能进一步提高紫杉醇的积累; 而在培养第7天时添加这2种前体, 紫杉醇的产量则没有提高。其可能的原因是, 细胞中并不缺乏苯丙氨酸等前体, 而是缺乏将苯丙氨酸或苯基甘氨酸转化为苯基异色氨酸的酶, 该酶活力的变化导致细胞无法接受更高浓度的前体和在某些时候不能将前体纳入正确的合成途径。

1.5　中间代谢产物和植物生长激素

孙彬贤等[9]的研究发现, 代谢中间产物　牛儿醇、　牛儿　牛儿醇、蒎烯和甲瓦龙酸在合适的浓度条件下, 对南方红豆杉培养细胞的生长没有明显影响, 并且蒎烯对其生长还有一定促进作用, 说明这4种代谢中间产物对细胞生长无毒害作用, 可以被吸收和利用。在合适的浓度时, 上述4种代谢中间产物对南方红豆杉培养细胞中紫杉醇含量的影响不同。其中,　牛儿醇和　牛儿　牛儿醇对紫杉醇含量的促进作用最为明显, 分别比空白对照提高了73%和91%, 甲瓦龙酸的作用居中(32%), 而蒎烯基本没有作用。

不同的激素种类及其用量水平直接影响细胞的生长和分化。盛长忠等[10]对南方红豆杉叶愈伤组织的诱导结果表明, 2, 4-D 比萘乙酸(NAA)更有利于愈伤组织的形成。培养基中添加适当浓度的水解酪蛋白(CA)、苯丙氨酸(Phe)和乙酸钠能促进南方红豆杉愈伤组织的生长和紫杉醇的积累。

2　培养条件

2.1　光　照

在离体无菌培养条件下, 细胞处于异养状态, 且培养基中已经添加了足够的碳源, 光照并非用来提供光合作用的能量, 但是不同的光照时间和光照强度仍然会对细胞代谢产生一定的影响。Fett-Neto等[11]研究了白光对东北红豆杉愈伤组织和悬浮培养细胞中紫杉醇积累的影响发现, 暗培养时悬浮细胞的生长量是白光培养下的2～3倍, 紫杉醇的产量也是白光培养下的3倍。其原因可能有2个: 一是紫杉醇(二萜)的远程前体是甲戊二羟酸(MVA), 而MVA 的合成量与甲戊二羟酸酰辅酶A 还原酶(HMGR)的活性正相关, 光照会导致HMGR 的活性降低, 最终导致紫杉醇积累的降低; 二是光照会抑制紫杉醇的胞外分泌, 从而可能导致胞内合成过程的反馈性抑制。

2.2　温　度

虽然大多数植物细胞的适宜生长温度范围较宽(22～30 ℃), 但在红豆杉细胞生长和紫杉醇合成过程中, 适宜温度还是起着一定作用。周爱文等[12]研究了低温处理对红豆杉细胞悬浮培养的影响, 比较了分别在2, 4, 6, 8 ℃下处理12, 24, 36 h 以及恢复12, 24, 36 h 对红豆杉细胞分裂指数的影响。结果表明, 在2 ℃下处理12 h, 恢复12 h, 红豆杉细胞分裂指数提高了115%, 说明低温对其细胞生长具有诱导作用。Choi等[13]发现, 中国红豆杉在24 ℃下培养一段时间后, 升高温度至29 ℃, 再培养14～21 d 时, 紫杉醇含量可达到137.5 mg/L, 如果21 d 后仍持续保持29 ℃, 紫杉醇含量可在这一峰值保持42 d。由此

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

可见,温度与紫杉醇合成途径之间有明显的相关性。

2.3 pH值

Fett-Neto等[14]曾指出,培养基pH值在4.8~7.8时,东北红豆杉愈伤组织的生长没有明显差异。但是盛长忠等[15]研究了培养基pH值对东北红豆杉和南方红豆杉愈伤组织生长、紫杉醇含量与苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性的影响后,提出了不同的观点,认为pH值的高低对红豆杉愈伤组织生长及紫杉醇含量影响很大,且PAL活性的大小与紫杉醇含量呈正相关,即PAL活性高,紫杉醇含量往往也高。这可能是因为:在PAL的作用下,由苯丙氨酸脱氨基而形成的肉桂酸参与了Wintersein酸的形成,而Wintersein酸是紫杉醇合成的前体。值得注意的是,有利于愈伤组织生长的pH值却不利于紫杉醇的积累,而且往往是愈伤组织生长越好,紫杉醇含量越低;生长状态较差的,紫杉醇含量反而可能增高。

2.4 气体

植物细胞在悬浮培养时需要氧气(O_2),同时也能非光合地固定一定浓度的二氧化碳(CO_2),只有O_2和CO_2的浓度达到某一平衡点时,细胞才会很好地生长。乙烯是植物细胞在不良刺激下产生的一种防御性气体,对紫杉醇产量的提高不利。丁如贤等[16]报道,对于浆果红豆杉(*Taxus baccata*)的悬浮培养细胞,在培养基中维持低浓度的CO_2并移走乙烯,同时提供充足的O_2能够促进细胞生长,增加紫杉醇的产量。

3 外植体的选择

红豆杉属植物细胞培养都是用愈伤组织建立起来的,所以选择适当的外植体就显得十分重要。不同种属应优选不同的组织作为外植体。陈永勤等[17]比较了云南红豆杉、南方红豆杉、杂种红豆杉(*Taxus media* Rehd)和东北红豆杉愈伤组织的诱导情况,结果几乎100%的云南红豆杉茎段都可以形成愈伤组织,但由于其植株来源不同,愈伤组织形成的迟早和形成可继代愈伤组织的比率差异较大,如早春取样的茎段形成愈伤组织的时间要比秋季取样的早得多。东北红豆杉在秋季取样时,不仅其茎段形成愈伤组织的时间晚、比率低,而且大部分外植体上的愈伤组织在形成后不久,就由淡黄色变成棕红色,停止生长,因而较难形成较大的愈伤组织块而进行继代培养;而春、夏季取样的茎段,其形成愈伤组织的颜色浅,为淡黄色。南方红豆杉和杂种红豆杉的茎段都比较容易形成愈伤组织,南方红豆杉在含2.0 mg/L 2,4-D的培养基上诱导效果最好,而杂种红豆杉的茎段和叶片在愈伤组织形成的时间早晚方面没有差异,但叶片形成愈伤组织的比率要比茎段低得多。

目前,在关于红豆杉属植物组织和细胞培养的文献[18~20]中,大多都是采用茎段作为外植体来诱导愈伤组织的。但是,以茎段作为外植体,材料的污染率很高,给诱导工作带来较大困难。从短叶红豆杉中分离得到的内生真菌至少就有300多种,因此,外植体特别是老的外植体受到真菌污染的情况经常出现。杨礼香等[21]发现,以芽作为外植体,可以解决这个问题,而且由芽诱导的愈伤组织生长速度较快。

4 诱导子

4.1 生物源性诱导子

孙彬贤等[9]证明,不同浓度茉莉酸甲酯对红豆杉细胞生长的影响虽然轻微,但对紫杉醇合成有明显的促进作用。其中,在起始培养时加入浓度为100 μmol/L茉莉酸甲酯时,培养细胞中紫杉醇含量增加10倍,达到5.38 mg/L。另外,系统中甲基茉莉酮酸酯(MJA)和乙烯的相互作用对紫杉醇的积累很重要,只有当乙烯浓度达饱和后,MJA才表现出诱导植物细胞Osmotin启动子的能力,促进紫杉醇的积累[22]。

花生四烯酸(Arachidonic Acid)是另一种能显著提高紫杉醇积累的诱导子。在中国红豆杉悬浮细胞培养中,对每克接种细胞在培养第1天添加5 μg的花生四烯酸,紫杉醇产量比对照提高了9倍多[23]。孙彬贤等[9]的研究指出,不同浓度的花生四烯酸对南方红豆杉培养细胞的生长与紫杉醇含量的影响基本相似,即轻微抑制细胞生长而促进紫杉醇的合成。其中,当花生四烯酸浓度为3.2 μmol/L时诱导作用最明显,细胞生长是空白对照的85%,而紫杉醇含量增加1倍。

4.2 非生物源性诱导子

葛志强等[24]的研究指出,在南方红豆杉细胞悬浮培养体系中加入适当浓度的铈(Ce^{4+}),对其增殖能力、细胞活力及紫杉醇含量均有明显的促进作用;Ce^{4+}的浓度与其对细胞产生的生物效应成正相关,同时细胞自身所处的生理状态也影响稀土离子的作用结果。李景川等[25]研究了Ce^{4+}对南方红豆杉细胞可溶性蛋白合成和细胞活力的影响,发现低浓度Ce^{4+}(0.10 mmol/L)可显著提高可溶性蛋白的合成强度和细胞活力,高浓度Ce^{4+}(5.00 mmol/L)对细胞表现出强伤害作用,适宜浓度Ce^{4+}(1.00

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

mmol/L)在短期内可大幅度提高紫杉醇的合成速度, 达到最高积累。李家儒等[26]在中国红豆杉悬浮培养中添加$CuCl_2$, 证实Cu^{2+}能够促进紫杉醇的形成, 最佳加入时期为细胞指数生长末期, 最适Cu^{2+}浓度为30 μmol/L; 诱导中培养细胞的可溶性蛋白质含量、PAL 活性及培养基pH 值均有变化, 他们认为Cu^{2+}诱导处理可能促进细胞内与紫杉醇合成相关的酶的合成, 但有关Cu^{2+}促进红豆杉培养细胞中紫杉醇合成的作用机制尚缺少深入的研究。

用超声波处理植物细胞, 是一种既可保持细胞正常生长又能有效刺激胞内次生代谢物释放的简易操作方法。张姝等[27]分析了超声波对悬浮培养的中国红豆杉细胞的生长、紫杉醇合成及释放的影响后指出, 细胞对不同强度及不同作用时间的超声波反应不同。用38 kHz 的超声波对悬浮细胞作用120 s, 紫杉醇胞外释放率由对照的约10% 提高到40%～50%, 总产量提高了47%。

5　褐变现象

传统观点认为, 植物组织在切割时溢出的一些酚类物质, 可被O_2或酶类催化氧化成有毒的醌类, 呈现褐色乃至黑色, 导致细胞死亡, 这就是褐变现象。关于褐变现象的原因, 近年来有人提出了不同的观点。陈永勤等[28]在试验中, 向培养基中添加酚类物质的吸附剂(乙烯吡咯烷酮, PVP)和抗氧化剂(抗坏血酸, Vc)发现, 这并不能有效地抑制云南红豆杉愈伤组织系的褐变, 认为红豆杉属植物愈伤组织的褐变可能与其细胞中谷氨酰胺- 谷氨酸循环受阻以及黄酮和类黄酮色素的形成有关。据此, 他们向培养体系中添加0.30 mg/L 的L-谷氨酰胺, 用以建立转移氨基的谷氨酰胺- 谷氨酸循环; 添加0.074～0.22 mg/L 的桂皮酸, 用以抑制苯丙烷类物质代谢的关键酶- PAL 的活性, 阻止黄酮和类黄酮植物色素的形成。结果表明, 添加这2 种物质可以改善愈伤组织的严重褐变现象, 使其能长期继代培养。

盛长忠等[29]研究表明, 在培养红豆杉愈伤组织时, 培养基中添加一定量的Vc、活性炭、水解酪蛋白(CA)、赤霉素(GA_3)、脱落酸(ABA)、果糖和葡萄糖等外源物质, 能较明显地抑制过氧化物酶和多酚氧化酶活性, 减轻愈伤组织和培养基褐变的程度, 从而促进愈伤组织的生长。梅兴国等[30]研究了活性炭对红豆杉细胞悬浮培养褐变的抑制作用, 指出活性炭主要是通过吸附分泌到细胞外的有害代谢产物而发挥作用, 并优化了活性炭培养基, 确定活性炭加入的最佳时间是对数生长期。黄浩等[31]研究了8 种药剂对红豆杉愈伤组织的抗褐变作用, 证实活性炭(1 000 g/L)、水解乳蛋白(600 mg/L)和植酸(100 mg/L)3 种药剂的抗褐变效果最好, 且对多酚氧化酶的抑制效果也最好。

6　小　结

目前, 从红豆杉组织与细胞培养中获得的紫杉醇含量已经很高, 具备了规模化、工业化生产的条件。但从实验室研究到工业化生产, 其间仍有许多"瓶颈"问题需要解决。如用离体培养方法生产的紫杉醇, 产量和稳定性还都不尽如人意, 许多反应机制需要进一步研究, 包括由前体物质生成紫杉醇的过程中有哪些限速酶类, 诱导子作用的分子机制以及各种中间产物相互作用的机理等, 都有待于从分子水平上进行阐明。紫杉醇属于红豆杉属植物细胞的次生代谢产物, 其产量随细胞生长条件的改善而有所下降, 这样就造成了细胞生长和紫杉醇积累之间的矛盾。因此, 建立反映细胞生长与紫杉醇积累关系的数学模型, 找到二者的最佳平衡点, 是实现工业化生产的必要条件。

[参考文献]

[1] 刘佳佳, 郭　勇. 红豆杉细胞培养生产紫杉醇研究进展[J]. 经济林研究, 1999, 17(2): 46- 48.

[2] 叶　勤. 现代生物技术原理及其应用[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2003.

[3] 冉懋雄. 中药组织培养实用技术[M]. 北京: 科学技术文献出版社, 2004.

[4] Kim J H, Yun J H, Hwang Y S, et al. Production of taxol and related taxanes in *Taxus brevifolia* cell cultures: effect of sugar[J]. Biotechnol Lett, 1995, 17: 101- 106.

[5] 元英进, 李　春, 胡宗定. 南方红豆杉悬浮培养细胞中糖代谢的波动性及其与紫杉烷合成关系的研究[J]. 石河子大学学报(自然科学版), 2001, 5(2): 109- 112.

[6] 陈永勤, 朱蔚华, 吴蕴祺, 等. 组培条件对云南红豆杉愈伤组织生长和形成紫杉醇的影响[J]. 中国中药杂志, 2000, 25(5): 269- 272.

[7] 胡　萍, 元英进. 诱导子和前体物质对红豆杉细胞培养的影响[J]. 中国医药工业杂志, 2002, 33(5): 223- 225.

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

[8] Srinivasan V, Ciddi V, Bringi V, et al. Metabolic inhibitors, elicitors, and precursors as tools for probing yield limitation in taxane production by *Taxus chinensis* cell culture[J]. Biotechnol Prog, 1996, 12: 457-465.

[9] 孙彬贤, 翁颖琦, 刘 涤, 等. 代谢中间产物和诱导子对南方红豆杉培养细胞生长和紫杉醇含量的影响[J]. 上海中医药大学学报, 2000, 14(3): 54-56.

[10] 盛长忠, 王淑芳, 王宁宁, 等. 南方红豆杉愈伤组织培养的研究[J]. 中草药, 2000, 31(2): 130-132.

[11] Fett-Neto A G, Pennington J J, Dicosmo F. Effect of white light on taxol and baccatin Ⅲ accumulation in cell cultures of *Taxus cuspidate* Sieb and Zucc[J]. J Physiol, 1995, 146: 584-590.

[12] 周爱文, 梅兴国, 柯 铁, 等. 低温诱导红豆杉细胞同步化的研究[J]. 武汉化工学院学报, 2001, 23(1): 12-14.

[13] Choi H, Kim S, Son J, et al. Enhancement of paclitaxel production by temperature shift in suspension culture of *Taxus chinensis*[J]. Enzyne and Microb Technol, 2000, 27(8): 593-598.

[14] Fett-Neto A G, Melanson S J, Sakata K, et al. Improved growth and taxol yield in developing calli of *Taxus cuspidate* by medium composition modification[J]. Bio/Technology, 1993, 11: 731-734.

[15] 盛长忠, 王淑芳. pH 对红豆杉愈伤组织生长、PAL 活性和紫杉醇含量的影响[J]. 中草药, 2001, 32(10): 929-931.

[16] 丁如贤, 王 昊. 红豆杉的生物工程研究进展[J]. 药学实践杂志, 2000, 18(5): 274-276.

[17] 陈永勤, 朱蔚华, 吴蕴祺, 等. 不同种类红豆杉愈伤组织的诱导及紫杉醇含量的差异[J]. 中草药, 2000, 31(3): 216-218.

[18] Hirasuna T J, Pestchanker L J, Srinivsan V, et al. Taxol production in suspension cultures of *Taxus baccata*[J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 1996, 44: 95-102.

[19] Jaziri M, Zhiri A, Guo Y W, et al. *Taxus* sp. cell, tissue and organ cultures as alternative sources for taxoids production: a literature survey[J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 1996, 45: 59-75.

[20] 甘烦远, 郑光植, 彭丽萍, 等. 云南红豆杉细胞的悬浮培养[J]. 植物生理学报, 1997, 23(1): 43-46.

[21] 杨礼香, 周诗毅. 南方红豆杉组织培养和紫杉醇含量测定[J]. 华中师范大学学报(自然科学版), 2001, 34(4): 453-455.

[22] Xu Y, Chang P, Liu D, et al. Plant defense genes are synergistically induced by ethylene and methyl jasmonate[J]. Plant Cell, 1994, (6): 1077-1085.

[23] Ciddi V, Srinivasan V, Shuler M L. Elicitator of *Taxus* sp. cell cultures for production of taxol[J]. Biotechnol Lett, 1995, 17: 1343-1346.

[24] 葛志强, 李景川, 元英进, 等. Ce^{4+} 对悬浮培养南方红豆杉细胞DNA 含量和PAL 活性的影响[J]. 稀土, 2000, 21(5): 35-37.

[25] 李景川, 马忠海, 孙安慈, 等. 铈对悬浮培养南方红豆杉细胞可溶性蛋白和紫杉醇合成动态的影响[J]. 中国稀土学报, 2001, 19(2): 162-166.

[26] 李家儒, 管志勇, 刘曼西, 等. Cu^{2+} 对红豆杉培养细胞中紫杉醇形成的影响[J]. 华中农业大学学报, 1999, 18(2): 117-120.

[27] 张 姝, 王传贵, 梅兴国, 等. 超声波对红豆杉悬浮细胞生长及紫杉醇释放的研究[J]. 生物技术, 2001, 11(2): 14-17.

[28] 陈永勤, 朱蔚华, 吴蕴棋, 等. L-谷氨酰胺和桂皮酸对云南红豆杉愈伤组织生长的影响[J]. 中草药, 1999, 30(7): 542-544.

[29] 盛长忠, 王淑芳, 王宁宁, 等. 红豆杉愈伤组织培养中褐变现象的初探[J]. 南开大学学报(自然科学版), 2001, 34(4): 120-121.

[30] 梅兴国, 董妍玲, 潘学武. 活性炭对红豆杉细胞褐变的抑制[J]. 海峡药学, 2001, 13(2): 51-53.

[31] 黄 浩, 鲁明波, 梅兴国. 红豆杉细胞培养中抗褐变剂的筛选[J]. 华中理工大学学报, 1999, 27(4): 107-109.

Advances in research on affecting factors of tissue and cell culture of *Taxus*

LI Jian, SONG Xiao-ping, CHEN Shu-lin

(*College of Animal Science and Technology, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi* 712100, *China*)

Abstract: The taxol in the *Taxus* is a kind of antitumor active composition. The traditional production method drawn from the plants directly has low producing rate, and destroys wild resources of the *Taxus*. The tissue and cell culture is a kind of extremely potential technology in taxol production. This paper gives a systematic review on the research of the influencing factors, such as culture medium, culture conditions, prosoma, elicitor and browning, in tissue and cell culture of *Taxus* in the recent years.

Key words: *Taxus*; culture medium; culture conditions; prosoma; elicitor; browning

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net