

供氧速率对人参细胞生长的影响

中国药科大学植物组织培养研究室(南京 210038) 丁家宜* 蔡 军
赵宗德** 郭小鸥**

摘要 采用排气法测定 K_{La} 值,结果表明,供氧速率影响人参细胞的生长,其 K_{La} 值最适范围为18~27/h。

关键词 人参 细胞培养 供氧速率 K_{La} 值

以植物组织和细胞培养方法进行植物药的生产研究,是目前植物组织培养应用研究的一个重要课题,对缓解药用植物资源匮乏意义重大。

人参细胞液体培养过程受许多因素影响,如培养基、温度、pH、供氧速率等。其中,培养基、温度和pH易于控制,而供氧速率却不易控制。细胞在液体培养基中吸收溶解氧,因此,培养基的供氧速率成为影响细胞增殖及次生代谢产物生产的主要因素。供氧速率以氧气传质系数 K_{La} 表示, K_{La} 值越大,其供氧速率越大。 K_{La} 随通入气体的氧浓度、通气量、搅拌情况而变化,通过对这些条件的调节,而获得最适的 K_{La} 值。

国际上现有的人参细胞培养反应器规模最大的为2000L^[1],国内前几年一直停留在10L以下实验室反应器的水平上,其主要原因是植物细胞培养反应器有特殊的要求。供氧速率为所有生物反应器设计的重要参数之一。在一般微生物反应器中,传质系数 K_{La} 值越大越有利于微生物生长。而植物细胞培养要求反应器的 K_{La} 值在一个较窄的范围内,太小供氧不足,太大对生长也不利^[2,3]。因此,如何使反应器的传质系数 K_{La} 易于控制以适合植物细胞生长,是植物组织和细胞培养反应器设计中必须考虑的一个重要方面,目前国内在这方面研究尚未见报道。本文通过研究人参细胞液体培养中供氧速率对细胞生长的影响,为其反应器的设计提供理论依据,并为人参细胞培养的大规模工业化生产打下基础。

1 材料

人参细胞株:786-2

培养基:MS+IBA2.03mg/L、IAA1.78mg/L、KT0.1mg/L

2 方法

2.1 人参细胞接种在三角瓶中,置摇床上培养。在同一培养基、温度、pH、细胞类型和接种量条件下,只改变培养基体积和摇床转速。在500ml三角瓶中分别加50、100、150和200ml培养基、摇床转速为80~125r/min,培养时间为20d。在相同条件下,每次培养15瓶,最后称重,求平均值。

2.2 K_{La} 值测定采用排气法,以装有氧传感器的三角瓶测定溶存氧气浓度的变化。首先在有一定量培养液的三角瓶中充氮气,直到氧传感器置换至零,然后取下充氮管,并启动摇床,培养条件与2.1相同。记录仪记下溶存氧气浓度及时间。根据时间(t)与溶存氧气浓度(DO)的相关性,得出 K_{La} 值, $K_{La} = DO/t \cdot (1/h)$,并在不同条件下求出一系列 K_{La} 值。

3 结果和讨论

*Address: Ding Jiayi, Department of Plant Tissue Culture, China Pharmaceutical University, Nanjing

**南京化工学院化学工程研究所

3.1 人参细胞液体培养中, 供氧速率以 K_{La} ·值表示。 K_{La} ·值越高, 其供氧速率越大。 K_{La} ·受很多因素影响, 其中摇床转速为主要的因素。通常转速越高, K_{La} ·值越大, 如图1所示, 转速与 K_{La} ·相关为负指数函数, 指数约为3。

培养液的体积也为影响 K_{La} ·值的重要因素, 如图2所示。

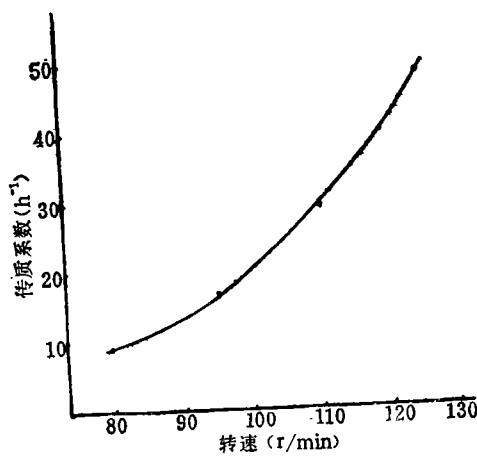


图1 摇床转速对供氧速率的影响

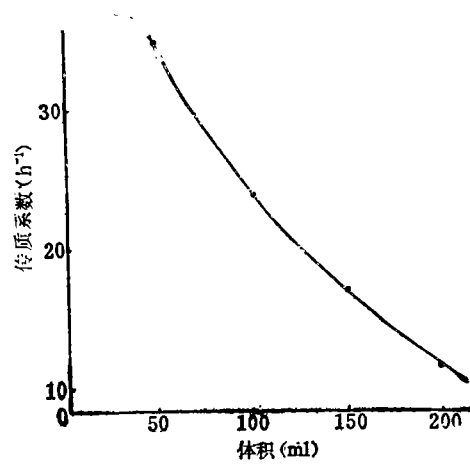


图2 培养基体积对供氧速率的影响

三角瓶封口对 K_{La} ·值也有影响。实验表明, 当 K_{La} ·值小于45/h时其影响可以忽略不计。 K_{La} ·值大于45/h时必须考虑其影响。

3.2 在同一培养基、温度、pH、细胞类型和接种量, 不同培养基体积和摇床转速条件下比较人参细胞培养过程, 意味着只改变其供氧速率。

实验结果如表1、2所示, 过高或过低的转速及过大或过小的培养液体积都会影响人参细胞生长。

人参细胞培养过程中, 生长量与 K_{La} ·值相关性接近抛物线函数, 如图3所示, 可以找出最高产量区。实验表明, 人参细胞培养的 K_{La} ·值最适范围为18~27/h。

根据三角瓶的实验结果, 还在20L气升式反应器中实验, 供氧速率控制在 K_{La} ·值18~27/h之间, 取得了相似结果。

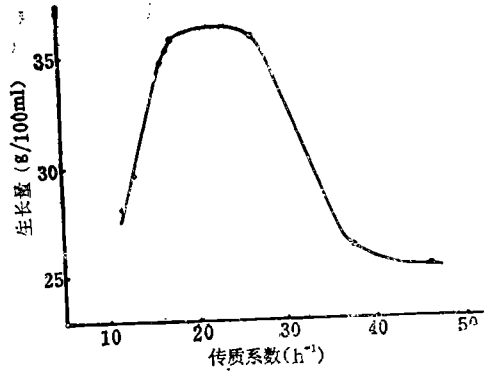


图3 供氧速率对人参细胞生长量的影响

表1 培养基体积对人参细胞生长影响

培养基体积 (ml)	50	100	150	200
接种量 (g/100ml)	5	5	5	5
生长量 (g·F·W/100ml)	26.00	35.70	35.63	29.94
生长率 (g·F·W/d·L)	10.50	15.35	15.31	12.47

表2 摇床转速对人参细胞生长影响

摇床转速 (r/min)	80	95	110	125
接种量 (g/100ml)	5	5	5	5
生长量 (g·F·W/100ml)	30.10	35.63	36.50	25.15
生长率 (g·F·W/d·L)	12.00	15.31	16.13	10.35

(下转第50页)

月见草油对肾功能的影响——附8例临床观察

河南新县人民医院 (465550) 刘崇智

多不饱和脂肪酸 (PUFA), 对非免疫机制调节的慢性肾衰 (CRF) 的作用, 已引起很多学者的注意。增加动物饲料中亚油酸成分, 可使慢性肾衰动物肾小球滤过率增加, 血肌酐 (Scr) 水平下降, 也有人认为 PUFA 可影响 CRF 病程的进展^[1]。

在临床工作中, 我们遇到慢性肾炎、糖尿病、多囊肾、高血压肾小球动脉硬化所致的氮质血症,

伴有不同程度的以高脂血症为特征的脂代谢紊乱。从1989年至今, 一共收治21例患者, 其中资料保存完整的8例。(其余的多为农村病人, 缺乏完整的随访资料) 对这21位患者, 除原发病的治疗外, 其高脂血症所用降脂药物为月见草油丸 (武汉第四制药厂和长白山制药厂产品), 对其氮质血症未加用其它药物。经连续观察半年以上, 其高脂血症部分纠正, 氮质血症不但没有恶化, 且有好转 (表)。

表 月见草油对肾功能的影响

例号	性别	年龄	基础病	治疗前 (mmol/L)				治疗后 (mmol/L)			
				BUN	Scr	Ch	TG	BUN	Scr	Ch	TG
1	男	67	多囊肾	9.64	203.3	8.05	3.1	6.43	150.28	5.96	1.9
2	男	81	高血压	8.57	203.3	8.08	2.21	6.07	88.4	6.21	2.0
3	男	62	高血压	9.46	212.16	9.59	3.20	6.6	159.12	6.73	2.03
4	男	67	高血压	10.35	221	7.5	2.49	7.14	159.12	6.18	2.07
5	女	47	糖尿病	11.7	247.53	9.06	3.07	7.85	185.64	7.59	2.15
6	男	61	高血压	9.28	203.32	7.69	2.40	6.78	132.6	6.50	1.94
7	女	62	高血压	11.7	223.85	7.50	3.27	6.35	132.6	6.29	2.42
8	女	59	慢性肾炎	9.25	203.32	7.67	2.87	6.78	141.44	6.40	2.33

讨论

近年来的研究证明, 脂代谢异常, 对肾小球动脉硬化有重要作用^[2]; 高脂血症往往会导致肾功能损害, 而慢性肾功能衰竭均有不同程度的以Ⅳ型高脂血症为特征的脂代谢紊乱^[3]。这部分病人用亚油酸类药物治疗后, 其高脂血症得到部分纠正, 氮质血症亦相应得到改善。说明亚油酸类药物对这类病人的肾功能有良好的影响。亚油酸是降脂药, 其改善功能的作用机制尚待研究。可能与肾内前列腺素 (PG), 血栓素 (TX) 的变化有关。亚油酸作为必须脂肪酸, 在体内可以合成亚麻酸和花生四烯酸。后者为前列腺素前体, 通过环氧化酶作用, 产生前列腺素和血栓素。而前者是血管扩张物质, 并可抑制

血小板凝集, 在肾内维持正常血流量起重要作用。

国产月见草油含亚油酸75%左右, γ -亚麻酸达7%~9%^[4]。本文用月见草油治疗的患者, 服药2月后胆固醇水平降低, 尿素氮及肌酐水平亦有下降。为肾动脉硬化和慢性肾功能衰竭的早期防治, 提供了一条值得研究的新途径。

参考文献

- 1 华增祺, 等. 中华内科杂志, 1992 (31): 7
- 2 Kasiske B L, et al. Circ Res, 1988(62):367
- 3 华增祺, 等. 中华内科杂志, 1991 (30): 69
- 4 中国油脂植物编委会编. 中国油脂植物. 北京: 科学出版社, 1987. 410

(1992-11-12收稿)

(上接第36页)

参考文献

- 1 Ushiyama K. VI Intnt Cong Plant Tissue and Cell Culture. Abstract. Minnesota, 1986. 252
- 2 Tanaka H. Biotech and Bioengin, 1982, 24: 425

- 2 森木, 他. 细胞生物学杂志, 1988, 10(4):

(1993-07-17收稿)

Effects of Ground Beetle on Blood Rheology of Rats

Zhou Chunfeng, Lai Meng, Wang Xiuhua, et al

Extract of Ground Beetle was found to affect rat rheology, when given orally to rats for 10 consecutive days, it resulted in the lowering of packed corpuscular volume, high and low whole blood shear viscosity, RBC aggregation and rigidity indices and sedimentation rate, but the constant of SR equation was raised and without effect on plasma viscosity and fibrinogen content. These results suggested that the effect of ground beetle extract is by way of its action on RBC.

(Original article on page 28)

Morphological and Histological Studies on Folium and Stem of *Potentilla*

Yang Bin and Yue Chongxi

Morphological and histological characters of the leaves and stems of 6 species of *Potentilla* (*Potentilla fragarioides*, *P. discolor*, *P. chinensis*, *P. 'kleiniana*, *P. freyniana*, *P. anserina*) are described and compared for the first time. Some Characters such as the form of glandular trichomes on stems; the form of trichomes on leaves and stems; the stomatal index of lower surface of leaves and the palisade ratio play important roles in the differentiation among the 6 species. The glandular trichome is reported for the first time.

(Original article on page 32)

Effect of K_{La}° on Ginseng (*Panax ginseng*) Cell Culture

Ding Jiayi, Cai Jun, Zhao Chongde, et al

Cell culture of Ginseng (*Panax ginseng*) was conducted under different K_{La}° , with other conditions kept constant. Results showed that the best range of K_{La}° for Ginseng cell culture was $18 \sim 27 h^{-1}$.

(Original article on page 35)

Study on the Cultural Practice of New Hybrid Yuanhu

Xu Zhaoxi, Li Ailian, and Wei Jianhe

Some cultural practices of a new hybrid yuanhu were reported. The planting density of the new variety was, using small seed tubers (2.8g/Per tuber), $50 \sim 75$ tubers/ m^2 for reproduction purpose, 100 tubers/ m^2 for high yield. 75 tubers/ m^2 was a suitable density when large or middle seed tubers was used. High reproduction coefficient and yield were obtained when the planting depth was 10cm. It was necessary to irrigate the hybrid yuanhu in North China. Adopting the negative pressure value of soil humidometer as the guide of beginning to irrigate and to obtain high reproduction coefficient and to save water, 26.7kPa would be adopted as the initial point of irrigation, exceeding 40.0 kPa led to a serious reduction of yield. The difference of yield between roller roller irrigation and drip irrigation treatment was not obvious, when planting with covering straw in level bed.

(Original article on page 37)