



生長於台大校園中的喜樹

高喜樹鹼含量之喜樹的篩選與培育

是毒也是藥的二次代謝物

植物主要生化代謝路徑中所沒出現的化合物，如：生物鹼（喜樹鹼也是一種生物鹼）、配醣體、酚、單寧、固醇等，稱為二次代謝物，種類相當多。但同樣的二次代謝物，對某一生物具有毒性，可能對

另一生物不但沒有毒性，而且可能是一種營養。對同一個生物體，高劑量時可能致毒，但劑量較低時，或與其他物質同服用時，反而具有醫療的效果。本文將介紹高喜樹鹼含量之喜樹的篩選與組織培養苗木的培育。

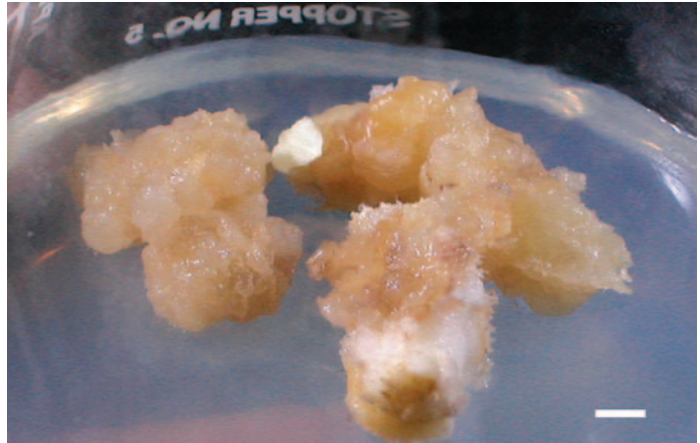


喜樹的果實與種子

組織培養技術與二次代謝物

組織培養是在控制的無菌環境下，利用人工合成的培養基，進行植物細胞培養，以誘發小植株或細胞增生的過程，可用以加速種苗繁殖、生產無病毒種苗、均一化種苗、製作人工種子、縮短育種時間、量產二次代謝物、保存與交流種質原等。利用細胞培養方法生產二次代謝物，成功的首要在細胞篩

選，好的細胞系(株)應具備生長快速、二次代謝物含量高且經長期培養仍可維持穩定的產量。組織培養過程中的各種因子，如培養基的種類、生長激素的種類與濃度組合、培養環境，如溫度、光照等，都必須加以調控。找出各種有效培養條件的組合，才能成功的利用細胞培養快速的生產二次代謝物。

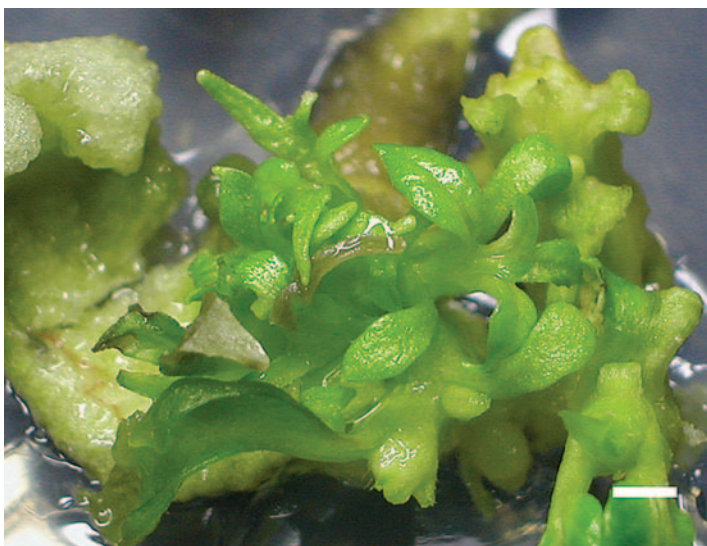


喜樹胚誘導出黃、白色癒合組織

高二次代謝物含量之培植體篩選的效益

以喜樹為例，根據研究報告指出，利用高效液相層析儀(HPLC)分析2年生之喜樹小苗不同部位的喜樹鹼含量顯示：根含量最高，其次是莖，葉的最少；其中，根的喜樹鹼含量約為葉的3.8倍。在不同種源的種子苗間與組培苗間的喜樹鹼含量均呈極顯著差異；同一種源之種子苗間的喜樹鹼含量差異也很大，最高與最低的喜樹鹼濃度相差2倍，顯示種子苗的變異極大。種源、葉

齡、葉片位置、樹齡、季節與葉的乾燥方法等因子都可能影響二次代謝物的含量，不同喜樹種源種子苗的濃度差異顯著。不同地區種源種子苗的喜樹鹼含量差異可達3.5倍。喜樹的葉片越幼嫩、越接近頂芽、或樹齡越小，則喜樹鹼的含量越高。在各種內外條件足以造成二次代謝物含量差異很大的狀況下，篩選高二次代謝物含量之細胞或組織作為組織培養之培植體就有很大的效益。

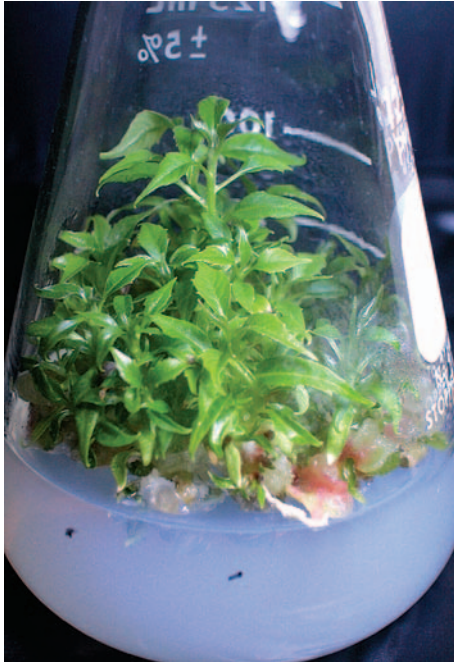


喜樹的胚誘導出多芽體

喜樹的選育

喜樹(*Camptotheca acuminata*)為落葉大喬木，富含喜樹鹼(camptothecin, CPT)等生物鹼成分。根據臨床研究報告指出，已證實其肺癌、乳癌及子宮頸癌具有相當的療效，在動物實驗時有良好抗腫瘤活性，臨床上也用於治惡性大腸結腸、卵癌、胰臟癌等。

利用HPLC測定了喜樹不同器官及不同種源幼枝中喜樹



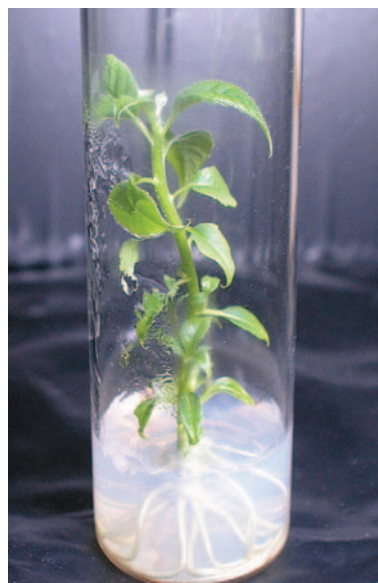
多芽體繼續培養抽長



喜樹馴化的第一階段，改為紙橋式液態培養，使其根系發育更為完善

鹼的含量。喜樹鹼在葉、種子和幼枝中的含量較高，木質部中較少，髓中最低；兩年生喜樹各器官中喜樹鹼含量普遍比一年生高，幼枝中頂枝的喜樹鹼含量比側枝高；越是幼嫩的組織如幼葉、幼枝，其 CPT 含量越高；不同生長月份中則以 7 月喜樹嫩葉中的含量最高。種源、葉齡、葉片位置、樹齡與季節等因子都可能影響其二次代謝物的含量。

MS 培養基添加 4 毫克/公升 NAA 與 2 毫克/公升 BA 可誘導喜樹種子的胚形成癒合組織。胚在 MS 培養基中添加 0.5 毫克/公升 IBA 與 BA 可得到多側芽之無根無菌種子苗，若將 BA



抽長的芽體切離，誘導發根成為完整的組培苗

換成同濃度之 Kinetin，則容易得到無側芽完整根系之無菌種子苗。將由無菌種子苗切離之頂芽或帶節莖段培養於添加 0.5 毫克/公升 IBA 與 0.5 毫克/公升 BA 之 MS 培養基 8 星期，兩種培植體系均可誘導出多芽體，平均每個莖段可長 10 個芽，頂芽則可產生 20 個以上的芽體與芽塊。切離此多芽體為單芽或小芽塊繼代培養於添加 0.05 至 0.5 毫克/公升 IBA 與 0.1 至 0.5 毫克/公升 BA 之 MS 培養基 6 星期可誘導出更多的多芽體，最多可增殖到 36 個芽，並且可使芽體抽長，最多可由 1 公分抽長至 6 公分高。將抽長之芽體移至含不同植物生長素組合之 1/2 MS 培養基，其中以添加 0.5 毫克/公升 IBA 與 0.1 毫克/公升 Kinetin 之組合可使組培苗的芽與根均生長良好，進一步達到完整根系之組培苗，其發根率為 96%。

喜樹之微體繁殖技術用於木本植物優良基因保



喜樹馴化的第二階段，移植於封閉的消毒介質中，保持在較高的濕度與無菌狀態

存與大量繁殖已證實具有經濟價值。經調查不同種源喜樹種子苗的 CPT 含量呈顯著差異，選擇高量 CPT 之母樹繁殖或培養與篩選優良細胞系證實可提高苗木或細胞之 CPT 產量。

組織培養苗木的馴化

喜樹發根組培苗先經過兩段式的馴化，首先移植於不加任何植物生長素之 1/2 MS 基礎培養基內，然後以消毒過的等比例珍珠石和蛭石為介質，經由在培養室與溫室第二階段的馴化之後，再移植到適當之培養土內即可長成健康完整的喜樹苗木。一般而言，組織培養苗從無菌、溫度適中與高濕度的培養瓶環境，逐漸轉換至室外環境中，必須特別注意溫度變化逐次加大與濕度由高而低

的漸進式調整，經馴化後的組織培養苗木即可適應一般的環境成長而後出栽。

利用生物反應器量產二次代謝物

目前已知的 30,000 多種天然化合物中，80% 以上是來自於植物，全球市場超過百億美元。由於這些二次代謝物不易以化學方法合成，目前仍以萃取自植物體為主，但受限於植物體的濃度低，加上植物生長慢，或在自然界中生產有限、或繁殖困難，故利用組織(細胞)培養方式來生產二次代謝物是最佳的途徑。在發酵槽(生物反應器)內培養生長快速、二次代謝物含量高且經長期培養仍可維持穩定產量的植物細胞或癒合組織來量產二次代謝物，不僅可滿足醫療上對藥品的需求，還可免除伐採原生林木的諸多壓力，可謂經濟又環保。🌱



喜樹馴化的第三階段，從封閉的狀態逐漸開放，最終能適應外在的環境