

利用毛狀根生產喜樹鹼

◎林業試驗所育林組·張淑華、何政坤

一般利用組織培養生產二次代謝物，需將培植體培養於添加植物賀爾蒙的培養基，唯細胞長期培養於植物荷爾蒙中，常導致細胞變異而無法維持二次代謝物生產的穩定性。近年來許多研究成功的利用轉殖農桿腫瘤菌(*Agrobacterium tumefaciens*)的Ti-plasmid或農桿叢根菌(*A. rhizogenes*)的Ri-plasmid基因進入植物基因體，由於Ti-與Ri-plasmid內含有生長素基因，因此可以使植物體不需要外來之生長調節劑刺激，即可自行分裂產生腫瘤細胞或毛狀根，這些腫瘤細胞與毛狀根會保留與維持植物體生產二次代謝物能力。

在台灣地區只有蘭嶼與綠島為青脆枝的原生地，1972年印度的Govindachari與1995年成大的吳天賞教授都發現其含有抗癌藥物喜樹鹼(camptothecin)。喜樹鹼可經半合成製成許多衍生物用以治療各種癌症，全球喜樹鹼衍生物的產值高達10億美金以上。

我們利用青脆枝的葉片與莖段接種野生型農桿叢根菌AR15834，可成功的誘導出毛狀根。農桿菌的轉殖率在不同單株間有很大的差異，在12個接種的營養系中，轉殖率最高可達100%，但也有4個營養系轉殖率為0。以聚合酶連鎖反應與南方雜交法來確認青脆枝的毛狀根含有農桿叢根菌的rol B基因，而此基因並不存在於正常的青脆枝根中。青脆枝的毛狀根與正常根不同，可於不含植物生長激素培養基中培養，且具有生長快速、惰性生長及有很高的分支等毛狀根特性。

青脆枝毛狀根與正常根以MS固體培養基培養40天，毛狀根的生長量比正常根高出3.5-4倍，且其喜樹鹼含量為0.06-0.17%(乾重)

也高於正常根的0.05-0.08%。毛狀根的喜樹鹼含量與來源母樹有關，來源材料的喜樹鹼含量高則其誘導出的毛狀根喜樹鹼含量也高，如編號A的正常根的CPT含量較編號B為高，相對的由A誘導產生的毛狀根喜樹鹼含量也比來自B的高，但不同的毛狀根係間很有差異。

將毛狀根移入液體培養基中培養，其生長更快，約為固體培養基的1.8倍。液體培養20天後，毛狀根的喜樹鹼產量為6.8mg/L，其中94.2%(mg/L)會由根釋出於培養液中，對未來利用生物反應器培養是一項有利的生產模式。

本研究室建立之青脆枝毛狀根含有0.17%的喜樹鹼，為目前所有報導以正常根或毛狀根生產喜樹鹼的研究中含量最高者。且毛狀根培養於液體，喜樹鹼會釋出於培養基中，因此可以收穫培養基方式來生產喜樹鹼，大大降低成本。唯研究也發現，不同毛狀根系的喜樹鹼產量差異很大，未來將由不同種源接種農桿菌來誘導毛狀根、選擇高產量的毛狀根系、適當誘導劑與培養方式，及利用生物反應器等來提高青脆枝毛狀根大量生產喜樹鹼之效益。⊙



青脆枝毛狀根之液體培養(張淑華 提供)