

柴胡生物培养技术与柴胡皂苷合成生物学分析

杨 健 (宁明县科学技术情报研究所, 广西 崇左 532500)

摘 要: 合成生物学是分析中药有效成分的生物合成途径, 发现与生物合成相关的功能基因的一门新兴学科。应用生物培养和合成生物学技术可以扩大柴胡皂甙的来源, 使柴胡资源得到保护。不同植物的培养条件没有固定的模式, 不同药用活性成分的生物合成途径不一致。目前对柴胡皂苷的组织培养技术和生物合成途径的研究尚未见报道。本文介绍了柴胡皂苷的愈伤组织培养、不定根培养、毛状根培养和悬浮细胞培养的研究进展, 以及柴胡皂苷及其关键酶功能基因的生物合成途径, 旨在为柴胡皂苷生物合成途径的研究及代谢调控提供有价值的参考。

关键词: 柴胡; 生物培养技术; 柴胡皂苷; 合成生物学

合成生物学为一门复杂的学科, 涵盖了基因组测序、生物工程、计算机模拟、及化学合成设计等多种先进生物植物化合物合成技术。将合成生物学应用于中药活性成分的研究, 是获取中药活性成分, 有效保护和可持续利用中药资源的重要方法之一, 中药有多种活性成分, 如丹参酮、青蒿素、紫杉醇、柴胡皂苷等。柴胡是我国最常用的中药材之一, 它有着悠久的药用历史, 被广泛应用至各个领域, 并取得理想的临床治疗效果, 关于柴胡的详细药用价值记录最先载于《神农本草经》。柴胡是柴胡疏肝丸、感冒清热颗粒、小柴胡颗粒及逍遥丸等人们常用药物中的重要组成部分, 药用范围广泛且价值高。市场需求不断增加的背景下, 野生柴胡资源不断被开发, 蕴藏量在这样的背景下快速降低。以此同时野生柴胡资源存在着来源不明、种质混杂、药材同质性差、药材市场混乱及药效不稳定等弊端。目前, 市场常见的柴胡均为人工栽培的, 具有发芽率低、出苗不规则、栽培周期长及产量低的特点, 无法取得良好的经济效益及市场效益。利用现代生物技术, 特别是组织培养技术和大规模工业化栽培技术, 解决这些问题, 对保护濒危野生柴胡资源, 保证药材的质量和功效具有重要意义。

1 柴胡生物培养技术研究进展

现阶段我国已发现的柴胡属植物共计 36 种, 我国柴胡来自全国各地, 品种也不尽相同。根据调查, 我国目前使用的柴胡有 25 种, 除海南省外, 广泛分布于全国各省。然而, 在 2015 年版《中国药典》(上) 中^[1], 只有中国柴胡和狭叶柴胡分别称为“北柴胡”和“南柴胡”。柴胡(北柴胡) 是一种传统的根部药物, 可用于提取北柴胡提取出来。进行生物培养的过程中可以进行人为的激素调整及外源物质调整达到促进生长、提高产量和提升药用活性成分含量的目的。

1.1 愈伤组织培养技术

植物愈伤组织为细胞质疏松, 细胞壁薄。愈伤组织培养为现代植物繁殖与培养中的最基础的技术, 操作过程较为简单简便, 推广应用在种植业扩大规模中, 实践应用价值高。愈伤组织培养技术是指在人工培养基中, 在无菌条件下对植物器官、组织、细胞、胚胎和原生质体进行培养, 在按照适合植物生长的培养条件, 诱导愈伤组织分化繁殖。研究指出, 在适宜的培养条件下, 愈伤组织比原植体产生更多的次生代谢产物, 柴胡愈伤组织的常用培养方法是取不同部位的柴胡, 添加适宜浓度植物激素的培养基的

过程中展开不断诱导, 即为脱分化。无菌苗的不同部位, 在添加了适宜浓度植物激素的培养基中进行诱导, 即脱分化的过程。郭丽^[2]等发现在 MS 培养基内增加 0.2mg/L^{-1} 激动素 (KT) 或 4mg/L^{-1} 萘乙酸 (NAA) 可为愈伤组织的愈合创造最佳条件。愈伤组织在培养过程中易发生褐化, 在 N6 培养基上加入 3.0mg/L 2,4-二氯苯氧乙酸 (2,4-D), 6-苄氨基腺嘌呤 (6-BA) 0.5mg/L 及 1.5g/L^{-1} 抗褐化剂聚乙烯吡咯烷酮 (PVP), 可以减少褐化问题, 愈伤组织诱导率得到提升。

1.2 悬浮细胞培养技术

植物悬浮细胞培养技术是将植物愈伤组织用特殊培养基加入培养瓶中, 摇床振荡培养获得植物代谢物。影响北柴胡悬浮细胞生长速度的因素包括愈伤组织接种量、培养基体积、外源物质的种类和浓度等。在细胞悬浮培养过程中, 细胞应具有一定的初始密度, 但如果细胞密度过高, 细胞液泡就会膨胀, 有害物质积累, 影响次生代谢产物的合成。

1.3 不定根培养技术

不定根培养技术是一种农业生产常用技术, 指直接应用植物的叶、茎或枝条上进行生产, 或先产生愈伤组织然后分生组织再分化的形式进行生产, 具有养增殖率高、技术要求较高、生产成本低及产量高的特点。

1.4 毛状根培养技术

毛状根培养的起源来自 20 世纪 80 年代, 在基因工程和细胞工程共同联合研究的背景下探讨出来的生物技术, 在 1977 年被首次应用至发根农杆菌感染维管植物中并获得毛状根, 将发根农杆菌 Ri 质粒的转移 DNA (T-DNA) 整合到植物细胞 DNA 中, 诱导毛状根的形成。毛状根具有适应环境能力强、不需外源激素干预、次生代谢物合成高而稳定及生长速度快的特点, 可大幅度提升植物栽培效果, 使植物栽培得到大面积推广。韩晓伟^[3]等在其研究中指出, 在添加了 0.5mg/L^{-1} 的 IBA 的 B5 培养基内, 柴胡及毛状根内的皂苷产量可到最高峰值, 分别达 0.45g 及 0.93g 。

2 柴胡皂苷合成生物学研究进展

合成生物学的研究包括分析化合物的生物合成途径, 确定关键酶基因的功能, 构建人工系统, 优化培养方案, 实现大规模生产。目前, 柴胡皂苷的生物合成途径尚不完全清楚, 但已报道了其上游中间体及相关酶基因, 而下游细胞色素 P450 和糖基转移酶基因尚未完全研究。

3 展望

生物培养技术与合成生物学的结合 (下转第 96 页)

为 800m。此外为了能够解决抽采过程中瓦斯的涌出问题,需要在该区域分配 4 个走向状况,对其他区域所产生的状况以及整个系统的钻孔深度都要进行适当的控制。

2.3 抽采技术的应用

抽采技术的应用过程中,已经完成了钻孔之后,可以采用相关的抽采设备实现对地下空间内存在瓦斯的前面抽离,之后根据这类抽采的设备运行方案,实现对检查工作规范的了解,实现对于整个系统运行状态和运行流程的合理制定^[2]。此外要能够全面分析当前运行状况的相关参数,并了解实际得到的参数与建设的参数,尤其是针对各类器械当前运行状态的控制以及各项运行参数的控制,尤其是需要经过长期性的跟踪和检查,以了解该设备是否能够处于安全稳定的运行状态,并且对于这小空间内,当前剩余瓦斯含量进行预测和测量,从而了解该设备在运行过程中是否可以充分发挥应有作用。

2.4 跟踪检查技术的应用

跟踪检查技术的运用过程中,一方面要全面了解抽采过程中所生成的参数,另一方面要根据所有参数和设备的

(上接第 94 页)益紧密,二者相辅相成。以发根农杆菌为外植体,将其转化为特异性载体,可进一步研究基因沉默和过表达技术在基因功能研究中的应用。此外,绿色荧光蛋白等蛋白质基因可以转移到原生质体和毛状根中,以便进一步研究基因功能^[2]。今后,生物培养技术将广泛应用于合成生物学,加快柴胡皂苷生物合成的分析进程。在生物培养技术的应用中,将逐步优化培养条件,使培养方法更加成熟。毛状根和悬浮细胞在相关代谢途径中引入或沉默基因,产生更多次生代谢产物,两者的补充可以扩大柴胡皂苷的来源,提高药材质量,是解决柴胡皂苷资源混乱和野生资源短缺的重要途径。柴胡用途广泛,药效显著。因此,不定根培养、毛状根培养和悬浮细胞培养的研究和应用具有广阔的前景。但是,每种植物都有自己的特点,

(上接第 93 页)钻孔抽出。

以寺河矿某 B 工作面为例,该工作面采用了高位顶板定向钻孔瓦斯抽采技术,在技术实施过程中,共设置有 7 个高位定向钻孔,在完成钻孔施工后,直接与瓦斯抽采系统进行连接,针对一些深入采空区钻孔,可以结合实际情况选择关闭,然后集中开启在工作面边角位置的钻孔,在进行瓦斯抽采的过程中,从不同钻孔入手,做好内部信息的收集,比如瓦斯的实际浓度变化、煤层负压情况等。例如在 R-1 钻孔中,钻孔长度为 270m,钻孔倾角为 25°,终孔高度为 61.8m。在钻深至 35m 后,顶板垮塌,形成了裂隙,此时钻孔瓦斯流量突然增大,最高为每分钟 9m³,此时钻孔持续推进,在钻深至 190m 混,顶板垮落,钻孔流量开始明显下降,维持在每分钟 4m³。该工作面在实际进行瓦斯抽采过程中,经过相关人员计算统计,工作面风排瓦斯量为 9.8-16.5m³/t,高位顶板定向钻孔瓦斯抽采量为 4.5-12.1m³/t,在该抽采技术的帮助下,使得流入风流的瓦斯量得到了有效地减少,全面保障了后续煤层开采的安全^[3]。

当前状态进行考量。对于前项工作,需要研究钻头设施、钻孔设施以及各类孔洞的相关参数能否符合要求,如果发现在实际的处理过程中,这类参数和数据标准之间差异过大,那么就需要对整个系统做出相关的调整。在后续的抽采技术中,要分析当前的抽采效率和相关参数,并且研究该系统的后续运行规范。

3 结论

综上所述,定向长距离大区域瓦斯治理技术的使用过程,需要完成的工作包括勘测技术、抽采技术以及技术跟踪技术,所有技术使用过程都必须要根据现有的技术规范和技术要点进行处理。在具体的技术使用中,需要实现对所有参数的精准记录以及各类信息的研究,之后才可以让取得的跟踪分析结果具有更高的可靠度。

参考文献:

- [1] 蔡春城. 定向长距离高位岩层瓦斯抽放钻孔在瓦斯治理中的应用 [J]. 山东煤炭科技, 2020(08):69-71.
- [2] 梁道富, 魏泽云, 李希建, 等. 长距离定向钻孔大区域瓦斯治理技术及应用 [J]. 煤炭技术, 2020, 39(06):93-96.

每种植物的诱导模式没有固定的模式可循,受多种因素的影响。因此,在柴胡生物培养技术方面还有许多方向需要研究。

参考文献:

- [1] 王晨, 安立成, 李剑超, 等. 柴胡生物培养技术与柴胡皂苷合成生物学的研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 025(014):228-234.
- [2] 郭丽, 王瑞, 李爱荣. 柴胡中柴胡皂苷成分的研究进展 [J]. 饮食保健, 2018, 5(048):298.
- [3] 韩晓伟, 严玉平, 贾河田, 等. 干旱胁迫对柴胡皂苷合成途径关键酶基因表达的影响 [J]. 中药材, 2017, 40(012):2772-2774.

3 总结

综上所述,在实际进行矿井开采过程中,通常会面临诸多安全风险问题,其中瓦斯爆炸是一种比较常见且危害比较大的事故问题。尤其是需要注意,针对不同煤层之中瓦斯分布情况以及煤层自身分布情况,注意选择一些针对性的定向钻进瓦斯抽采技术,更有利于提升瓦斯抽采效率,保障矿井开采工作有条不紊地开展进行。

参考文献:

- [1] 许超. 基于复合钻进技术的煤层瓦斯抽采定向钻孔施工 [J]. 矿井安全, 2015, 46(004):130-133.
- [2] 董利辉, 赵云龙, 陈晓永, 等. 深孔定向钻进技术及其在瓦斯抽采中的应用 [J]. 煤炭技术, 2016, 035(004):129-131.
- [3] 段会军, 郝世俊, 武建军. 高位定向钻孔在综放工作面上隅角瓦斯抽采中的应用 [J]. 探矿工程-岩土钻掘工程, 2016, 043(010):215-218.

作者简介:

成晨, 男, 山西阳城人, 本科, 2014 年毕业于太原理工大学现代科技学院, 助理工程师, 从事瓦斯抽采工作。