

继代周期和接种量对葡萄细胞培养的影响

Impact of Subculture Cycles and Inoculum Sizes on Suspension Cultures of *Vitis vinifera*

曲均革^{1,2}, 张 卫^{1*}, 胡全利¹, 金美芳¹

QU Jun-Ge^{1,2}, ZHANG Wei^{1*}, HU Quan-Li¹ and JIN Mei-Fang¹

1 中国科学院大连化学物理研究所, 大连 116023

2 中国科学院研究生院, 北京 100039

1 Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Dalian 116023, China

2 Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China

摘 要 在每种不同的继代周期和接种量条件下, 葡萄细胞在连续 10 次继代培养过程中的生物量、花青素含量、胞内糖、胞内蛋白及胞内总磷均表现出不同程度的波动。不同接种量对培养不稳定性的影响比不同继代周期大; 在所考察的条件中, 7d 继代周期与 1.60g 接种量组合的继代条件下花青素合成相对稳定; 花青素合成与胞内蔗糖或胞内总磷水平呈负相关。

关键词 葡萄, 细胞培养, 花青素, 继代周期, 接种量

中图分类号 Q813 文献标识码 A 文章编号 1000-3061(2006)06-0984-06

Abstract The commercial application of plant cell cultures is often hindered by the instability of secondary metabolite biosynthesis, where the metabolite yield fluctuates and decline dramatically over subcultures. This study proposed that such instability is due to the fluctuations of culture variables. To validate this hypothesis, the effects of the fluctuations of two culture variables (subculture cycle and inoculum size) on the biomass, anthocyanin biosynthesis, intracellular carbon, nitrogen and phosphate during continuous 10 subculture cycles were investigated. The subculture cycle was fluctuated for 12h in a 7 day cycle (6.5, 7 and 7.5d), and the inoculum size was fluctuated by 20% on basis of 2.00g (1.60, 2.00 and 2.40g). It was found that all the measured culture parameters fluctuated over the 10 subculture cycles. The fluctuation in terms of inoculum sizes had a greater effect on the stability of anthocyanin biosynthesis in suspension cultures of *V. vinifera*. Among all the subculture conditions investigated, 7d-subculture cycle and 1.60 g-inoculum size was the best one to hold the relatively stable anthocyanin production. The anthocyanin yield presented a negative correlation with intracellular sucrose content or intracellular total phosphate content.

Key words *Vitis vinifera*, suspension culture, anthocyanin, subculture cycle, inoculum size

植物是自然界中最好的生物化工厂, 已经有超过 100 000 种化合物从植物中分离鉴定, 并且以每年 4 000 种新化合物的速度逐年增长^[1], 美国的医

药市场超过 25 % 的药物来源于植物^[2], 这些有生物活性的物质大多是植物的次级代谢物质。与直接从天然植株中提取相比, 用植物细胞培养的方法生产

Received: April 25, 2006; Accepted: June 13, 2006.

This work was supported by the grant from the National Natural Science Foundation of China (No. 20176058).

* Corresponding author. Tel: 86-411-84379069; E-mail: WeiZhang@dicp.ac.cn

国家自然科学基金项目资助 (No. 20176058)

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>

次生代谢物具有不可比拟的优势,如可以克服土地资源有限的障碍,不受季节、气候和病虫害的限制,可通过多种途径有效调控次生代谢途径,可选择性地提高感兴趣的次生代谢物产量等^[2,3]。

尽管植物细胞培养具有诱人的应用前景,但目前该技术实现商业化应用的例子非常少^[1,4],其中很重要的一个原因就是植物细胞培养过程中次生代谢物生产的不稳定性问题^[5-7]。不稳定性是植物细胞培养过程中一个普遍存在的现象和制约因素^[8,9],但目前其产生机制仍不十分明确。我们实验室以生产花青素的葡萄细胞为模式体系,对花青素合成的不稳定性研究已经开展了一些工作^[10]。

植物细胞在长期培养过程中,培养温度、光照、继代周期、接种量等条件很难保持完全一致,而这些培养条件的变化很可能就是加剧植物细胞培养过程中次生代谢物不稳定生产的一个因素。本文在严格保持培养过程中其它条件稳定的情况下,分别考察了不同继代周期和不同接种量条件下,葡萄悬浮细胞在连续 10 次继代过程中初生及次生代谢指标的变化情况。

1 材料和方法

1.1 细胞株及继代培养条件

葡萄(*Vitis vinifera* L.)细胞株由加拿大 Francois Cormier 实验室提供^[10],已在我们实验室继代培养 4 年。继代培养基为 B5 培养基^[11]添加 30g/L 蔗糖、250mg/L 水解酪蛋白、0.1mg/L NAA 和 0.2mg/L KT (pH 5.7~5.8),115℃灭菌 15 min。悬浮细胞系每周继代 1 次,继代时用 250mL 三角瓶盛 50mL 继代培养基,将培养 1 周后的种子细胞经 50 μ m 筛网过滤后,称取 5.0g 湿细胞接种,然后置于 100r/min 摇床上,(25 \pm 1)℃黑暗培养。

1.2 继代周期对花青素合成稳定性的影响

取培养 7d 左右的种子细胞,经 50 μ m 筛网过滤后,精确称取 2.00g 湿细胞接种至盛有 20mL 上述继代培养基的 100mL 三角瓶中,置于 100r/min 摇床上,(25 \pm 1)℃黑暗培养,继代周期分别为 6.5、7 和 7.5d。每次继代时接种 6 瓶细胞,其中 3 瓶用作一个继代周期后的再继代,另 3 瓶用作一个继代周期后的分析检测,一共考察 10 次继代的培养情况。

1.3 接种量对花青素合成稳定性的影响

取培养 7d 的种子细胞,经 50 μ m 筛网过滤后,分别称取 1.60、2.00 和 2.40g 湿细胞,以 3 种不同的接种密度接种至盛装 20mL 上述继代培养基的 100mL

三角瓶中,置于 100r/min 摇床上(25 \pm 1)℃黑暗培养,均以 7d 为 1 个继代周期。每次继代时接种 6 瓶细胞,其中 3 瓶用作 1 个继代周期后的再继代,另 3 瓶用作 1 个继代周期后的分析检测,一共考察 10 次继代的培养情况。

1.4 生物量测定

细胞培养达一个继代周期时,将细胞悬液真空抽滤,用重蒸水冲洗除去培养基中残留的蔗糖,称取抽滤后的鲜重(Fresh Cell Weight,FCW)。留取一定量的鲜细胞用于提取花青素和胞内初生代谢物的测定,其它鲜细胞在 80℃烘箱中烘干过夜至恒重,称量细胞干重(Dry Cell Weight,DCW)。

1.5 花青素的提取和测定

提取和测量花青素时,将大约 0.15g 鲜细胞按其准确质量加入 20 倍体积(3mL 左右)的 50% 冰醋酸,振荡混匀后室温条件下黑暗浸取 1 h,浸取液经过 0.22 μ m 注射式滤器过滤。取 1mL 花青素提取液加入 3mL McIlvaine 缓冲液($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 14.7g/L 和无水柠檬酸 16.7g/L,pH 3.0)混合,于波长 535nm 处测 OD 值(50%冰醋酸:McIlvaine 缓冲液 = 1:3,为空白对照)。花青素含量以色度值(color value,CV)表示,单位鲜细胞重的色度值用 CV/g-FCW 表示,按如下公式计算:CV/g-FCW = 0.1 \times 吸光度 \times 稀释倍数^[12],此处的稀释倍数为 80。

1.6 胞内糖、蛋白和磷的提取和测定

可溶性糖用酒精水浴法提取,蔗糖和果糖用间苯二酚-HCl 法测定^[13],葡萄糖用酶法测定^[13];可溶性蛋白超声提取后用 Bradford 法测定^[14];总磷提取采用干法消化,用磷钼蓝法测定^[15]。

1.7 数据分析

数据采用 Microsoft Excel 2000 和 SPSS 13.0 软件进行统计分析。

2 结果和分析

2.1 不同继代周期和接种量对葡萄细胞生长和花青素合成的影响

如图 1 和 2 所示,对每一种继代条件而言,尽管始终保持着培养条件的恒定不变,但葡萄细胞在 10 代培养过程中的生物量和花青素合成均表现出不同程度的波动。生物量生长波动最大超过 50%(图 1A 和图 2A),花青素合成的波动最大超过 100%(图 1B 和图 2B),花青素产量的波动最大超过 300%(图 1C 和图 2C)。关于植物细胞培养生产次生代谢物的不稳定性问题,在以往的文献中也曾有过一些类似

的报道^[7]。

从连续 10 代培养的变化趋势看,葡萄细胞培养生产花青素的不稳定具有长期累积效应,越到培养后期波动相对越大。如图 1 中,6.5d 继代周期在第 8 代和第 10 代花青素产量由 10 代中的次高值 659CV/L 降低至最低值 193CV/L;7d 继代周期在第 8 代和第 10 代花青素产量由 10 代中的最高值 996

CV/L 降低至最低值 279CV/L;7.5d 继代周期在第 9 代和第 10 代花青素产量由 10 代中的最低值 315CV/L 增加至最高值 974CV/L。又如图 2-c 中,1.6g 接种量在第 8 代和第 10 代花青素产量由 10 代中的最高值 759CV/L 降低至最低值 183CV/L;2.4g 接种量在第 8 代和第 10 代花青素产量由 10 代中的最高值 1159CV/L 降低至最低值 296CV/L。

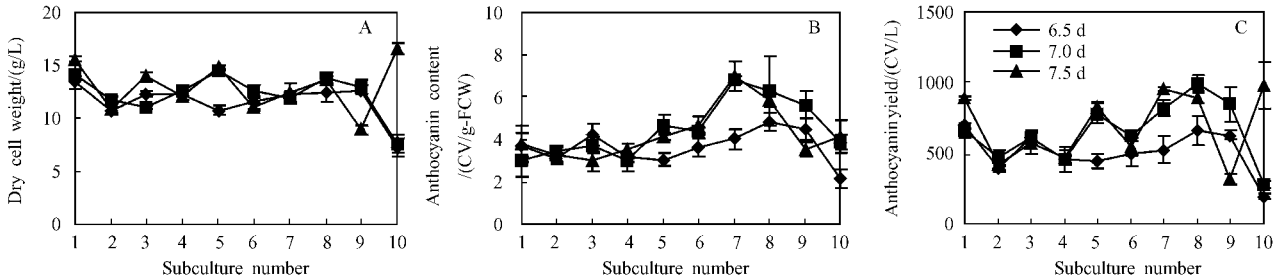


图 1 葡萄细胞在不同继代周期连续培养过程中的生长和花青素合成

Fig.1 Cell growth and anthocyanin accumulation under different subculture cycles in successive subcultures of *V. vinifera*

(A) Biomass (DCW); (B) Anthocyanin content; (C) Anthocyanin yield.

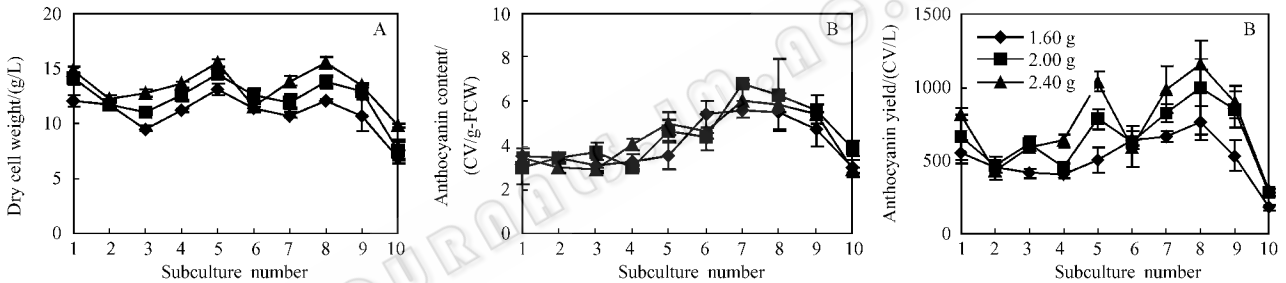


图 2 葡萄细胞在不同接种量连续培养过程中的生长和花青素合成

Fig.2 Cell growth and anthocyanin accumulation under different inoculum sizes in successive subcultures of *V. vinifera*

(A) Biomass (DCW); (B) Anthocyanin content; (C) Anthocyanin yield.

为了比较不同继代条件对葡萄细胞花青素合成的影响,我们引入了不稳定系数 δ 来表征连续 10 代培养过程中花青素合成的不稳定情况:

$$\delta = \sum_{n=1}^9 \frac{(X_{n+1} - X_n)^2}{X_n \bar{X}} \quad (1)$$

由公式(1)所示, δ 不仅考虑了相邻样本即样本间顺序差异的影响,而且还考虑到了样本的总体情况,能全面反映连续培养过程中次生代谢物合成的不稳定情况。各继代条件在 10 代培养中花青素含

量的不稳定系数如表 1 所示,当接种量不变时,不同继代周期的不稳定系数几乎相同(δ 分别为 0.65、0.68 和 0.62),而当继代周期不变时,不同接种量的不稳定系数却有很大变化,且接种量低于或高于 2.0g, δ 值均较小(分别由 0.68 减小至 0.44 和 0.54),即不稳定程度较低,其中以 1.60g 为最好。由此可见,接种量对不稳定的影响比继代周期大,7d 继代周期和 1.60g 接种量的继代条件下花青素合成相对较稳定。

表 1 各继代条件在 10 代培养中花青素含量的不稳定系数

Table 1 Instability coefficients of anthocyanin content under different subculture conditions in 10 successive subcultures of *V. vinifera*

Subculture condition	(6.5d, 2.0g)	(7d, 2.0g)	(7.5d, 2.0g)	(7d, 1.6g)	(7d, 2.4g)
δ	0.65	0.68	0.62	0.44	0.54

(6.5d, 2.0g) means 6.5d-subculture cycle and 2.0g-inoculum size, and so on.

变异系数是标准偏差与平均值的比值。变异系数越大,表明不稳定程度越大^[10]。表2分别对不同继代周期和接种量条件下每代培养时细胞中花青素含量的变异系数进行了比较,每代培养分别对3个不同继代周期或3个不同接种量(每个条件3个平行)的9个数值求变异系数,每代培养的变异系数可以表示不同的继代周期或不同的接种量之间花青素合成的不稳定程度。如表2所示,在10代培养过程中,不同继代周期比不同接种量的变异系数相对大

些。不同继代周期10代培养的变异系数总和是1.9,不同接种量10代培养的变异系数总和是1.4。结合表1的结果,这是由于在考察不同继代周期影响时所采用的接种量均是2.0g,而该接种量是在所考察的3个接种量中对不稳定性影响最大的一个,正是由于以这样一个极为不稳定的因素,所以造成了整体不同继代周期的变异系数比不同接种量的变异系数大。这也说明葡萄细胞培养过程中,不同接种量对花青素生物合成的不稳定性有显著影响。

表2 所有继代周期和接种量在各代培养中花青素含量的变异系数
Table 2 Variation coefficients of anthocyanin content under all the subculture cycles and inoculum sizes in 10 successive subcultures of *V. vinifera*

No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Sum
VC of SC	0.21	0.08	0.18	0.13	0.20	0.13	0.25	0.17	0.22	0.31	1.9
VC of IS	0.15	0.09	0.14	0.15	0.18	0.14	0.11	0.14	0.13	0.16	1.4

No. : subculture number.

VC of SC : variation coefficients of subculture cycle.

VC of IS : variation coefficients of inoculum size.

2.2 花青素合成与胞内糖、蛋白及总磷的关系

以7d继代周期和2.0g接种量的培养条件为例,在连续10代培养过程中,图3A是10代培养过程中的花青素产量的变化情况,B~F是蔗糖、果糖、葡萄糖、可溶性蛋白及总磷变化情况。从变化趋势

可以看出,在葡萄细胞长期培养过程中,伴随着花青素产量的波动,各种糖、蛋白和总磷也表现出不同程度的波动。但是简单的从趋势变化中很难总结出彼此间内在的联系和规律,为此我们用SPSS软件的相关分析研究其中的内在联系。

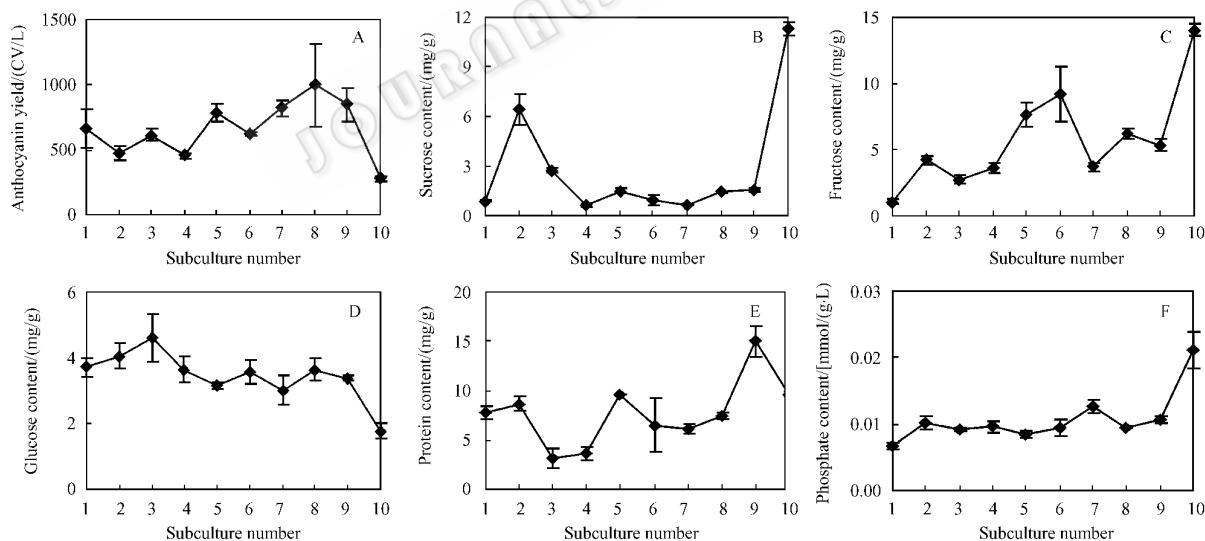


图3 葡萄细胞连续培养过程中初生代谢与次生代谢情况

Fig.3 Primary and secondary metabolites accumulation in successive subcultures of *V. vinifera*

如表3所示,葡萄细胞连续培养过程中,胞内蔗糖、果糖、葡萄糖、蛋白以及总磷与花青素产量有不同的相关性,比较突出的是蔗糖和总磷。如在6.5d继代周期和2.0g接种量、7.5d继代周期和2.0g接种量组合的继代条件下,花青素产量与总磷含量在0.05水平上呈负相关;在7d继代周期和2.0g接种

量、7d继代周期和2.4g接种量组合的继代条件下,花青素产量与蔗糖含量在0.05水平上呈负相关;在7d继代周期和1.6g接种量组合的继代条件下,花青素产量与蔗糖和总磷含量在0.05水平上并呈负相关。

表3 葡萄细胞培养花青素产量与蔗糖、果糖、葡萄糖、蛋白及总磷的相关性
Table 3 Correlation between anthocyanin yield and sucrose, fructose, glucose, protein, phosphate content in successive subcultures of *V. vinifera*

		Sucrose	Fructose	Glucose	Protein	Phosphate
(6.5d, 2.0g)	Pearson Correlation	-0.097	0.172	-0.021	-0.484	-0.643*
	Sig. (2-tailed)	0.789	0.634	0.955	0.156	0.045
(7d, 2.0g)	Pearson Correlation	-0.690*	-0.336	0.263	0.217	-0.510
	Sig. (2-tailed)	0.027	0.343	0.463	0.547	0.132
(7.5d, 2.0g)	Pearson Correlation	-0.203	-0.482	-0.554	-0.339	-0.646*
	Sig. (2-tailed)	0.574	0.159	0.097	0.337	0.044
(7d, 1.6g)	Pearson Correlation	-0.751*	-0.212	0.191	-0.261	-0.652*
	Sig. (2-tailed)	0.012	0.557	0.598	0.466	0.041
(7d, 2.4g)	Pearson Correlation	-0.722*	-0.416	-0.202	-0.122	-0.597
	Sig. (2-tailed)	0.018	0.231	0.577	0.736	0.068

Pearson Correlation: Pearson 相关系数; Sig. (2-tailed) 双尾显著性概率; * $P = 0.05$ 水平上显著。

3 讨论

植物细胞培养生产次生代谢产物的不稳定性是制约其商业化应用的瓶颈之一。在我们以前的研究中发现,葡萄细胞在连续33次继代培养过程中,不同产量细胞株的花青素生物合成能力均表现出大幅度的波动^[10],如其中细胞株A在33代中花青素含量的最高值为4.89CV/g-FCW,而最低含量仅为0.28CV/g-FCW,两者相差17倍之多;Vogelien和Hirasuma等也报道了葡萄和胡萝卜细胞长期连续培养过程中花青素合成能力的不稳定现象^[16,17]。本文结果与上述报道一致,葡萄细胞在不同继代周期和不同接种量条件下连续10代培养过程中的生物量、花青素生物合成以及胞内C、N、P等初级代谢指标均表现出不同程度的波动(图1~图3)。

植物细胞在长期培养过程中,继代条件很难保持完全一致,比如培养温度、光照、继代周期、接种量等。本文结果证实了继代周期和接种量确实是影响葡萄细胞培养不稳定性程度的一个因素,相对于继代周期而言,接种量对葡萄细胞培养生产花青素不稳定的影响更大(表1),其中(7d, 1.60g)继代条件下花青素生物合成相对稳定。针对特定的植物细胞培养体系,通过对上述诸如培养温度、光照、继代周期、接种量、细胞种龄、剪切力等培养条件进行系统考察,可以优化出提高次生代谢物产量及保持次生代谢物稳定生产的最适培养条件,这对保证植物细胞培养次生代谢物的持续稳定高产具有重要意义,是实现植物细胞培养工业化生产的基础。

同时,通过对葡萄细胞培养过程中花青素产量及胞内一系列生理生化指标进行相关分析表明,花青素生产胞内蔗糖或胞内总磷呈负相关(表3)。曾有研究表明,培养基中磷酸盐浓度直接影响PAL

活性^[18,19],培养基中蔗糖浓度是通过调解渗透压来改变单位细胞花青素含量^[20,21]。植物细胞培养过程中,外源营养元素会在一定程度上对胞内这些物质的含量产生一定的影响。在进一步的研究过程中,我们可以系统考察培养基中蔗糖和磷酸盐含量胞内蔗糖及胞内总磷含量的关系,开发相应的培养工艺通过控制培养基中蔗糖及磷酸盐浓度来控制胞内蔗糖及胞内总磷含量,进而达到调控葡萄细胞花青素生产的目的。通过这种调控,一方面可以使花青素的产量提高,另一方面也可以达到稳定生产的目的。目前,这方面的研究正在进一步深入当中。

REFERENCES (参考文献)

- [1] Verpoorte R, van der Heijden R, ten Hoopen HJG *et al.* Metabolic engineering of plant secondary metabolite pathways for the production of fine chemicals. *Biotechnology Letters*, 1999, **21**: 467-479
- [2] Rao S, Ravishankar GA. Plant cell cultures: Chemical factories of secondary metabolites. *Biotechnology Advances*, 2002, **20**: 101-153
- [3] Zhang W, Furusaki S. Production of anthocyanins by plant cell cultures. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 1999, **4**: 231-252
- [4] Roberts SC, Shuler ML. Large-scale plant cell culture. *Current Opinions in Biotechnology*, 1997, **8**: 154-159
- [5] Callebaut A, Terahara N, de Haan M *et al.* Stability of anthocyanin composition in *Ajuga reptans* callus and cell suspension cultures. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 1997, **50**: 195-201
- [6] Deus-Neumann B, Zenk MH. Instability of indole alkaloid production in *Catharanthus roseus* cell suspension cultures. *Planta Medica*, 1984, **50**: 427-431
- [7] Kim BJ, Gibson DM, Shuler ML. Effect of subculture and elicitation on instability of taxol production in *Taxus sp.* suspension cultures. *Biotechnology Progress*, 2004, **20**: 1666-1673
- [8] Vogelien DL, Hrazdina G, Reevers S *et al.* Phenotypic differences in anthocyanin accumulation among clonally related cultured cells of carrot. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 1990, **22**: 213-

- [9] Ketchum REB , Gibson DM , Croteau RB *et al.* The kinetics of taxoid accumulation in cell suspension cultures of *Taxus* following elicitation with methyl jasmonate. *Biotechnology and Bioengineering* , 1999 , **62** (1) : 97 - 105
- [10] Qu JG , Zhang W , Yu XJ *et al.* Instability of anthocyanin accumulation in *Vitis vinifera* L. var Gamay Fréaux suspension cultures. *Biotechnology and Bioprocess Engineering* , 2005 , **10** : 155 - 161
- [11] Gamborg OL , Miller RA , Ojima K. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Experimental Cell Research* , 1968 , **50** : 151 - 156
- [12] Zhang W , Curtin C , Kikuchi M *et al.* Integration of jasmonic acid and light irradiation for enhancement of anthocyanin biosynthesis in *Vitis vinifera* suspension cultures. *Plant Science* , 2002 , **162** : 459 - 468
- [13] Tang ZC (汤章城). *Modern Plant Physiology : A Laboratory Manual* (现代植物生理学实验指南). Beijing : Science Press , 1999
- [14] Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* , 1976 , **72** : 248 - 254
- [15] Ma QK (马钦科). *Measurement of Element by Spectrophotometric Method* (元素的分光光度测定). Beijing : Geological Publishing House , 1983
- [16] Vogelien DL , Hrazdina G , Reeves S *et al.* Phenotypic differences in anthocyanin accumulation among clonally related cultured cells of carrot. *Plant Cell , Tissue and Organ Culture* , 1990 , **22** : 213 - 222
- [17] Hirasuna TJ , Shuler ML , Lackney VK *et al.* Enhanced anthocyanin production in grape cell cultures. *Plant Science* , 1991 , **78** : 107 - 120
- [18] Knobloch KH. Uptake of phosphate and its effect on phenylalanine ammonia-lyase activity and cinnamoyl putrescine in cell suspension cultures of *Nicotiana tabacum* . *Plant Cell Reports* , 1982 , **1** : 128 - 130
- [19] Knobloch KH , Berlin J. Influence of phosphate on the formation of the indole alkaloids and phenolic compounds in cell suspension cultures of *Catharanthus roseus* . I. Comparison of enzyme activities and product accumulation. *Plant Cell , Tissue and Organ Culture* , 1983 , **2** : 333 - 340
- [20] Do CB , Cormier F. Accumulation of anthocyanins enhanced by a high osmotic potential in grape (*Vitis vinifera* L.) cell suspensions. *Plant Cell Reports* , 1990 , **9** : 143 - 146
- [21] Do CB , Cormier F. Accumulation of peonidin 3-glucoside enhanced by a high osmotic stress in grape (*Vitis vinifera* L.) cell suspension. *Plant Cell , Tissue and Organ Culture* , 1991 , **24** : 49 - 54

生物技术手段生产抗疟药——青蒿素

中药材青蒿(*Artemisia annua* L.)中提取的青蒿素(artemisinin)是杀死疟疾寄生虫的高效药物之一 , 目前供不应求。

疟疾(Malaria)是寄生虫(疟原虫 , *Plasmodium falciparum*)引发的疾病 , 是热带地区国家最为流行、也是危害最大的疾病。全球每年有 3 亿人患疟疾 , 其中 90% 在非洲。

美国加州伯克利分校的一个研究小组运用基因工程技术 , 将青蒿植物合成青蒿酸有关的酶基因 , 先是转入大肠杆菌获得一些中间产物 , 再经多步骤反应获得青蒿酸(artemisinic acid) , 再经化学方法改造后制成青蒿素衍生物 , 步骤较繁 ; 后改为用酿酒酵母为受体菌转入该酶基因后获得有效表达 ; “工程酵母”直接制造青蒿酸 , 再经化学方法进行改造 , 能获取活性青蒿素衍生物 , 这项研究成果有望大幅度降低青蒿素生产成本 , 为扩大规模生产、缓解该药物短缺开辟了新的途径。推测一下 , 如果使用毕赤酵母做基因工程受体菌的话 , 或许酶基因表达产物会更高一些呢 ! 然而值得注意的是 , 已发现疟原虫对传统的青蒿素产生了抗药性 , 尽管此“素”治疗疟疾已有 20 ~ 30 年的历史 , 取得了显著效果 , 但抗药性或耐药性问题的出现 , 又提出了一个重要的研究课题 : 一是通过基因工程技术建构“工程生物”用来研发青蒿素以解决抗药性问题 , 是否奏效应通过实践继续观察 ; 二是研制以青蒿素为基础的含有多种成分的抗疟疾复合药物 , 据报道 , 这种复合青蒿素的抗疟疾效果可达 95% 。中国研制的“抗疟药物复品”即“科泰复”抗疟药已进入商品阶段 , 临床试验结果表明 , 该抗疟药是目前国际上最好的抗疟药之一 , 对疟疾治愈率达 99% , 深受非洲国家的欢迎。

(柯 为)