

# 原位吸附和茉莉酸甲酯联合使用显著提高中国红豆杉细胞云南紫杉烷 c 的生产

高明波<sup>1,2,3</sup>, 张卫<sup>1,4</sup>, 虞星炬<sup>1</sup>

1 中国科学院大连化学物理研究所 海洋生物产品工程组, 大连 116023

2 中国科学院研究生院, 北京 100049

3 大连民族学院生命科学学院, 大连 116600

4 澳大利亚 Flinders 大学 海洋分子生物过程及生物产品实验室, 阿德莱德 SA 5042

**摘要:** 本实验所用的中国红豆杉细胞悬浮培养体系中, 云南紫杉烷 c (Tc) 是主要的次生代谢产物, 该化合物有类神经生长因子活性, 提高其产量是进一步规模化生产的前提。本研究考察了原位吸附和茉莉酸甲酯 (MJA) 联合调控提高 Tc 产量的可能性。在培养的第 7 天加入浓度为 100  $\mu\text{mol/L}$  的 MJA 虽然会使细胞的生物量下降 10%~30%, 但是单位细胞内 Tc 含量和 Tc 产量均有显著提高, 分别是对照的 3.6 和 3.3 倍。吸附剂 XAD-7 在不同时间加入对 Tc 的合成影响显著。在培养的第 7 天同时加入 100  $\mu\text{mol/L}$  的 MJA 和 100 g/L 的 XAD-7 会使细胞生物量增加, Tc 产量显著提高。培养到第 21 天, Tc 产量达 477.4 mg/L, 为对照的 6.3 倍, 为只加 MJA 的 1.9 倍, 其中 94% 的 Tc 被树脂吸附。实验结果表明, 在 MJA 诱导高表达的过程中, 吸附剂 XAD-7 的加入使细胞内代谢产物外泌, 浓度降低, 减轻产物反馈抑制现象, 从而大幅度提高代谢物产量, 有较好的生产前景。

**关键词:** 中国红豆杉, 细胞悬浮培养, 茉莉酸甲酯, XAD-7, 云南紫杉烷 c

## Enhanced production of taxuyunnanine c in cell suspension cultures of *Taxus chinensis* by methyl jasmonate elicitation and *in situ* absorption

Mingbo Gao<sup>1,2,3</sup>, Wei Zhang<sup>1,4</sup>, and Xingju Yu<sup>1</sup>

1 Marine Bioproducts Engineering Group, Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Dalian 116023, China

2 Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

3 College of Life Science, Dalian Nationalities University, Dalian 116600, China

4 Molecular Bioprocessing and Bioproducts Laboratory, Department of Medical Biotechnology, School of Medicine, Flinders University, Adelaide, SA 5042, Australia

**Abstract:** A bioprocess intensification strategy that combines both elicitation and *in situ* absorption was developed to improve the production of taxuyunnanine c (Tc) in cell suspension cultures of *Taxus chinensis*. When 100  $\mu\text{mol/L}$  methyl jasmonate was added as an elicitor on Day 7, the Tc content and yield increased 3.6 and 3.3 times respectively, however the cell growth was reduced by 10%–30%. Significant improvement in Tc yield was observed when an absorbent XAD-7 was added on different time of the culture

Received: September 29, 2009; Accepted: December 24, 2009

Corresponding author: Wei Zhang. Tel/Fax: +86-411-84379069; E-mail: wei.zhang@flinders.edu.au

period. The optimum Tc yield was achieved when 100 g/L XAD-7 was added simultaneously with 100  $\mu\text{mol/L}$  methyl jasmonate on Day 7. The maximum Tc yield of 477.4 mg/L was obtained on Day 21 of the culture, being 6.3-fold of the control and 1.9-fold of the 100  $\mu\text{mol/L}$  methyl jasmonate treatment alone. In the combined treatment, 94% of the Tc produced was secreted outside of the cells and absorbed on XAD-7 absorbents. The results demonstrated that the process strategy combining elicitation and *in situ* absorption was effective to intensify the Tc biosynthesis *via* elicitation with the removal of product feedback inhibition *via* absorption, presenting a great potential in commercial applications.

**Keywords:** *Taxus chinensis*, cell suspension culture, methyl jasmonate, XAD-7, taxuyunnanine c

植物细胞培养是生产有价值次生代谢产物的一条有效途径,但商业化成功的例子只有紫草细胞生产紫草素<sup>[1]</sup>、人参细胞生产人参皂甙<sup>[2]</sup>等有限几个体系,其主要原因是植物细胞次生代谢物产率和产量均太低,远远达不到工业化生产的要求<sup>[3-4]</sup>。因此,采用各种调控手段提高次生代谢物的生产一直是植物细胞研究领域的一个热点<sup>[5]</sup>。

紫杉醇作为治疗晚期卵巢癌、乳腺癌的一线用药,是迄今为止少数几个最具抗癌活性的天然化合物之一<sup>[6]</sup>。紫杉醇的发现激励科学家投身到紫杉烷类化合物的研究中,期望找到抗癌活性更好的紫杉烷类化合物<sup>[7]</sup>。已经有几百种紫杉烷从紫杉原植物或细胞培养液中被分离出来<sup>[8]</sup>。例如在中国红豆杉细胞培养中可大量生产云南紫杉烷 c (Tc), Tc 是一种具有类神经生长因子活性的新化合物<sup>[9]</sup>。为提高紫杉醇和紫杉烷类化合物的产量,目前在摇瓶或生物反应器水平已经开发出很多提高目标代谢物产量的技术<sup>[10-14]</sup>。

诱导子的筛选和使用是应用最广泛并取得显著效果的一个策略。在众多诱导子中,茉莉酸 (JA) 及其甲酯 (MJA) 作为一种植物体内防御体系的信号转导子,在提高各种紫杉细胞株紫杉醇及紫杉烷产量上被证明为一个效果显著的诱导子<sup>[15-16]</sup>。研究认为,紫杉醇和紫杉烷贮存于胞内,可能在细胞壁上<sup>[17-18]</sup>。使用吸附剂原位吸附技术如能促进胞内代谢物外泌,将因吸附产物解除产物的反馈抑制而有利于提高产量;同时也可使目标代谢产物纯化,便于分离。Kwon等报道过在紫杉细胞培养第16天加入非离子交换树脂Amberlite XAD-4会使紫杉醇产量提高40%~70%<sup>[19]</sup>。Komaraiah在*Plumbago rosea* (白丹花) 细胞固定化培养生产plumbagin (蓝雪甙) 时联合使用壳聚糖和XAD-7取得了理想的效果<sup>[20]</sup>。

Choi 在高山唐松草细胞培养中,使用膜包裹的XAD-7选择性吸附黄连素,使之与多巴胺分离<sup>[21]</sup>。但因为XAD在添加和培养后与细胞分离方面遇到的困难,有关这项技术的报道很少<sup>[5]</sup>。

本实验选用有效提高植物次生代谢产物生产的MJA作为诱导子,以非离子交换树脂XAD-7为吸附剂,考察两种策略联合使用对中国红豆杉细胞Tc生产的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 诱导子和吸附剂

MJA 购自 Sigma Aldrich; Amberlite XAD-7 购自北京慧德易科技有限责任公司。

### 1.2 细胞株和传代培养条件

细胞株由华东理工大学钟建江教授提供,在本实验室传代培养1年。该细胞系由中国红豆杉*Taxus chinensis* 幼茎诱导的愈伤组织悬浮培养而来,已经培养了10余年。该细胞系的传代培养基为:MS基础培养基,附加0.5 mg/L 6-BA、0.2 mg/L 2,4-D、0.5 mg/L NAA、100 mg/L Vc 和 30 g/L 蔗糖。高压灭菌前 pH 调至 5.8。115 $^{\circ}\text{C}$  灭菌 15 min。传代细胞每2周传1次,在500 mL 三角瓶中装100 mL 培养基,传代时将种子细胞经50  $\mu\text{m}$  筛网过滤,细胞接种密度100 g/L。三角瓶以双层铝箔纸封口,置于100 r/min 摇床上,(25 $\pm$ 1) $^{\circ}\text{C}$  暗培养。

### 1.3 MJA 的添加

有文献报道,MJA 在细胞培养的第7天以100  $\mu\text{mol/L}$  的浓度加入对紫杉细胞紫杉烷的生产最有利,因此本实验选择在第7天以100  $\mu\text{mol/L}$  的浓度加入MJA,考察中国红豆杉细胞对其响应情况。在生物安全柜内,取培养14 d 的中国红豆杉种子细胞,经50  $\mu\text{m}$  筛网过滤,精密称取2 g 过滤后的湿

细胞接种至盛装 20 mL 上述传代培养基的 100 mL 三角瓶中, 100 r/min 摇床上, (25±1)°C 暗培养。培养至第 7 天, 向培养基中添加 MJA。事先以无水乙醇为溶剂配好的 100 mmol/L MJA 经 0.22 μm PVDF 膜过滤除菌, 按照 1 μL 诱导子/mL 培养基的量加入到培养基中, MJA 在培养基中的浓度为 100 μmol/L。对照组加入等量的无水乙醇。培养后第 21 天取样分析。

#### 1.4 XAD-7 的预处理

非离子交换树脂 Amberlite XAD-7 在使用前以分析纯甲醇浸泡 24 h, 中间更换 2 次甲醇, 然后真空抽滤, 以重蒸水冲洗多次, 115°C 高压灭菌 15 min, 备用。

#### 1.5 XAD-7 在不同培养时间添加

文献中 XAD-7 通常的使用量为 50~100 g/L, 本实验采用 100 g/L。取培养 14 d 的中国红豆杉种子细胞, 接种方法和培养条件同上。分别向培养 0 d、7 d 和 12 d 的细胞中加入 100 g/L XAD-7。细胞培养的第 7 天加入 MJA, 使其浓度为 100 μmol/L, 方法同上, 对照加入对应体积的无水乙醇。培养后第 21 天取样分析。

#### 1.6 生物量测定

将取样细胞悬浮培养液真空抽滤, 用重蒸水冲洗 3 次, 洗去细胞上残留的培养基, 称重得细胞鲜重, 以 FCW (Fresh cell weight) (单位: g/L) 表示。鲜细胞在 50°C 烘箱中烘 48 h 至恒重, 称量可得细胞干重, 以 DCW (Dry cell weight) (单位: g/L) 表示。生物量取样时间为第 7、12、15 和 21 天。

#### 1.7 XAD-7 和细胞的分离

加入 XAD-7 培养的细胞, 取样时先让三角瓶静置片刻, 由于密度差, 细胞和 XAD-7 会自然分层, 细胞在上层。另取干净三角瓶, 小心将细胞倒出。分至细胞和树脂界面时停止, 加入少量重蒸水, 使细胞和树脂重新分层, 如此重复多次, 即可使细胞和树脂完全分开。

#### 1.8 Tc 的提取和分析

Tc 的提取和分析方法参考 Qian 等<sup>[22]</sup>的方法。

##### 1.8.1 Tc 的提取

取 100 mg 细胞干粉 (或 250 mg XAD-7) 加入 20 倍体积分析纯甲醇, 室温静置提取 48 h, 超声 2 次, 每次 40 min。提取液经 4000 r/min 离心 10 min,

上清液转入另一干净离心管内。残渣以 20 倍体积分析纯甲醇再提取 1 次。将 2 次提取液的上清合并, 25°C 减压旋转蒸发。干粉加入 2 mL 二氯甲烷和 2 mL 重蒸水, 充分混匀, 4000 r/min 离心 10 min, 上层为水层, 以吸管吸净弃掉。下层为二氯甲烷层, 25°C 减压旋转蒸发。干粉溶于 1 mL 色谱纯甲醇, 经 0.22 μm 有机滤膜过滤, 用于 HPLC 分析。

##### 1.8.2 Tc 的分析

HPLC 分析系统为 Agilent 1100 系列, 色谱柱为 Alkyl Phenyl 5 μm (4.6 mm×250 mm) (中国科学院大连化学物理研究所 103 组)。检测波长 227 nm, 柱温 25°C, 进样量 10 μL, 流动相为: 58% 乙腈: 42% 水 (V/V), 流速 1.0 mL/min。

##### 1.8.3 Tc 含量、吸附率和产量的计算

Tc 含量以单位干细胞的 Tc 量计 (单位: mg/g 细胞), Tc 吸附率以单位树脂内吸附的 Tc 量计 (单位: mg/g 树脂); Tc 产量以单位干细胞 Tc 含量乘以细胞干重计 (单位: mg/L)。

## 2 结果和分析

### 2.1 MJA 为诱导子对细胞生长和 Tc 生产动力学的影响

如图 1 所示, MJA 的加入对中国红豆杉细胞的生物量有显著的影响, 在整个细胞生长周期内细胞鲜重和干重均有一定幅度的下降, 下降幅度在 10%~30% 左右。

实验中测定了培养基中 Tc 的含量, 含量甚微, 未计在内。虽然 MJA 的加入减少了中国红豆杉细胞生物量的积累, 但是却大大提高了单位干细胞内的 Tc 含量 (图 2A)。在培养的第 21 天, 单位干细胞 Tc 含量达到 25.2 mg/g DCW, 为对照的 3.6 倍。这样就弥补了 MJA 加入后细胞生物量的下降对 Tc 产量的负影响。Tc 产量在细胞培养的第 21 天达到 249 mg/L, 为对照的 3.3 倍 (图 2B)。

### 2.2 XAD-7 在不同时间加入的影响

第 7 天加入浓度为 100 μmol/L 的 MJA 对中国红豆杉细胞 Tc 的含量和产量均有显著的促进作用, 后面的实验除对照外, 均在第 7 天加入 MJA, 使其在培养液中的浓度为 100 μmol/L。

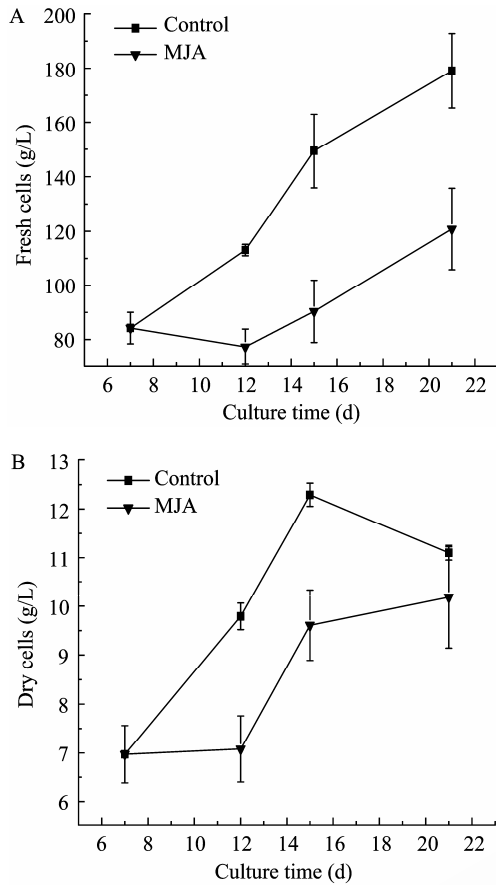


图 1 MJA 对中国红豆杉细胞鲜重 (A) 和细胞干重 (B) 的影响

Fig. 1 Effects of MJA on fresh cell weight (A) and dry cell weight (B) in the suspension cultures of *Taxus chinensis*.

MJA 和不同时间加入的 XAD-7 联合使用对中国红豆杉细胞生长的影响如图 3 所示。在第 7 天加入 MJA 的同时若加入浓度为 100 g/L 的 XAD-7, 中国红豆杉细胞的鲜重和干重不仅没有被抑制, 反而有一定程度的提高。第 0 天加入 XAD-7 会严重抑制细胞的生长, 生物量在加入树脂后的 2 周内基本没有增加。第 12 天加入 XAD-7 也会使细胞生物量受到抑制, 细胞鲜重和干重下降幅度在 40%~50%。

图 4 为 XAD-7 在不同时间加入后, 在培养的第 21 天, 单位干细胞内 Tc 含量 (图 4A) 及 XAD-7 Tc 吸附率 (图 4B) 的情况。可以看出加入 XAD-7 后, 单位细胞内 Tc 含量均明显下降; XAD-7 Tc 吸附率以第 7 天加入时最高。到第 21 天, 单位体积培养液内的树脂吸附的 Tc 已达到 448.1 mg/L, 如图 5 所示。

不同时间加入 XAD-7 后, Tc 总产量的变化情况 & 胞内外分配情况见图 5。第 7 天加入 100 g/L XAD-7

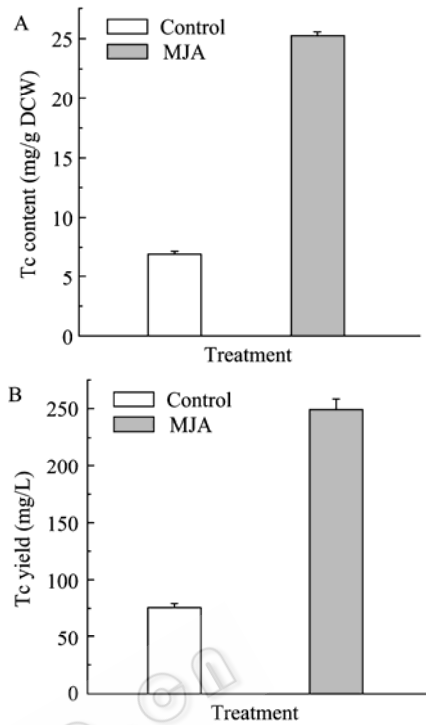


图 2 MJA 对中国红豆杉细胞中 Tc 含量 (A) 和 Tc 产量 (B) 的影响

Fig. 2 Effects of MJA on Tc content (A) and Tc yield (B) in the suspension cultures of *Taxus chinensis*.

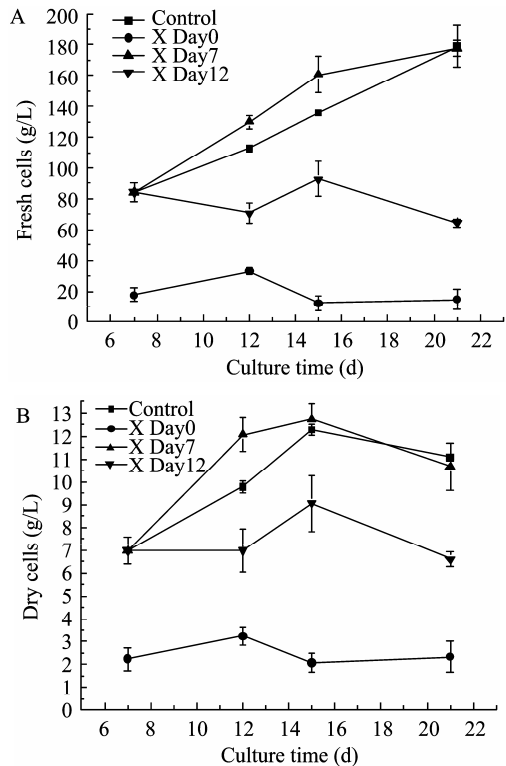


图 3 MJA 和不同时间添加的 XAD-7 对中国红豆杉细胞生长的影响: (A) 细胞鲜重和 (B) 细胞干重

Fig. 3 Effects of MJA and XAD-7 on fresh cell weight (A) and dry cell weight (B) in the suspension cultures of *Taxus chinensis*.

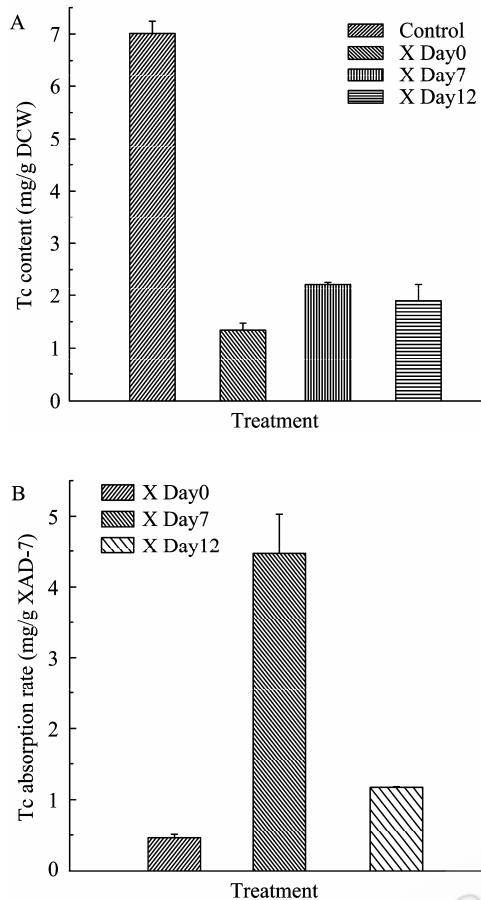


图4 MJA 和不同时间添加的 XAD-7 对中国红豆杉细胞 (A) 单位干细胞 Tc 含量和 (B) XAD-7 Tc 吸附率的影响  
Fig. 4 Effects of MJA and XAD-7 on Tc content (A) and Tc absorption rate (B) in the suspension cultures of *Taxus chinensis*.

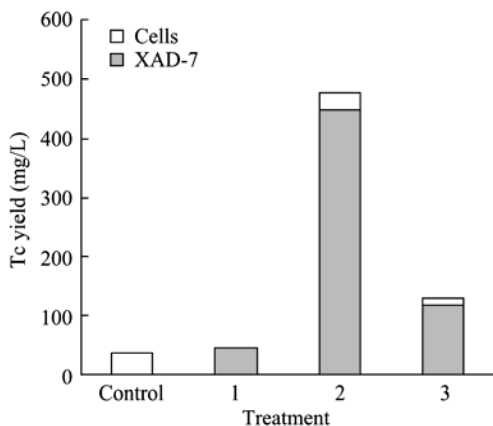


图5 MJA 和不同时间添加的 XAD-7 对中国红豆杉细胞 Tc 产量及胞内外分配的影响  
Fig. 5 Effects of MJA and XAD-7 on Tc production and distribution in the suspension cultures of *Taxus chinensis*. 1: XAD-7 added on Day0; 2: XAD-7 added on Day7; 3: XAD-7 added on Day12.

和 MJA 的联合作用最为显著, 使 Tc 产量第 21 天达到 477.4 mg/L, 为对照的 6.3 倍, 为只加 MJA 的 1.9 倍。其中 94% Tc 被吸附到树脂中。由图 3 和图 5 可见, 细胞培养第 0 天加入 XAD-7, 细胞生长和生产都处于停滞状态, 说明 XAD-7 对静止期的细胞有很强的毒害作用。而在细胞指数生长初期 (第 7 天) 加入的 XAD-7 可非常有效地将原胞内的 Tc 吸附出来, 从而大大解除产物的反馈抑制, 提高 Tc 的产量。在细胞代谢高峰期 (第 12 天) 加入 XAD-7, 产物抑制并未解除, 后期虽然解除抑制, 效果已不突出, 从而使 Tc 产量虽然也有提高, 但幅度不大。

### 3 讨论

产量低是植物细胞培养生产次生代谢物难以实现工业化的主要障碍之一, 因此寻求提高植物细胞培养中次生代谢物产量的技术一直是倍受关注的焦点, 也开发出了很多有效的技术<sup>[23]</sup>。但最初筛选得到的细胞株生产水平通常都很低, 要想使目标代谢物产量达到工业化水平, 只靠一种提高产量的策略难以实现几个数量级的飞跃。2 种或 2 种以上增产策略的联合使用被证明可以协同地获得目标代谢物的高水平<sup>[5,24-25]</sup>。Zhang 等<sup>[26]</sup>同时使用 3 种诱导子, Zhong 实验室使用条件培养基和诱导子联合作用<sup>[27]</sup>, 诱导子和蔗糖饲喂联合作用<sup>[28]</sup>, 诱导子、蔗糖饲喂和乙烯利联合作用<sup>[29]</sup>, Mei 实验室有机溶剂萃取和蔗糖饲喂联合作用<sup>[30]</sup>在提高紫杉醇或紫杉烷产量上都取得了显著效果。

本研究考察了在提高植物细胞次生代谢物产量上具有良好效用的诱导子 MJA 和固体吸附剂非离子交换树脂 XAD-7 联合使用对中国红豆杉细胞液体悬浮系生长和主要产物 Tc 产量的影响。实验结果发现, 中国红豆杉细胞悬浮系在第 7 天加入浓度为 100  $\mu\text{mol/L}$  的 MJA 时, 细胞生物量会下降 10%~30%左右, 但单位细胞内 Tc 含量和 Tc 产量均有显著提高。XAD-7 加入时间的实验均是和第 7 天加入浓度为 100  $\mu\text{mol/L}$  的 MJA 联合进行的。实验结果表明, 第 7 天同时加入浓度为 100  $\mu\text{mol/L}$  的 MJA 和 100 g/L 的 XAD-7 对中国红豆杉细胞的生长和 Tc 的

生产最为有利。培养的第 21 天, 该处理的 Tc 产量为 477.4 mg/L, 为对照的 6.3 倍, 为只加 MJA 的 1.9 倍, 其中 94% 的 Tc 被树脂吸附。本实验说明, 在中国红豆杉悬浮培养细胞指数生长初期加入适当浓度的 MJA 和 XAD-7, 可以显著提高 Tc 的产量。Tc 产量提高的原因一方面因为诱导子激发的信号传导作用, 另一方面是树脂的吸附避免了产物被降解, 同时解除了产物的反馈抑制。另外, 因为 90% 以上 Tc 被吸附到树脂中, 也很好地解除了 Tc 在胞内时对细胞生长的抑制, 细胞生物量反而有所增长。

## REFERENCES

- [1] Curtin ME. Harvesting profitable products from plant tissue culture. *Biol Technol*, 1983, **1**: 649–657.
- [2] Hara Y. Research on the production of useful compounds by plant cell cultures in Japan//Di Cosmo F, Misawa M, ed. *Plant Cell Culture Secondary Metabolism-toward Industrial Application*. Boca Raton: CRC Press, 1996: 187–202.
- [3] Zhang W, Furusaki S. Production of anthocyanins by plant cell cultures. *Biotechnol Bioprocess Eng*, 1999, **4**: 231–252.
- [4] Verpoorte R, van der Heijden R, ten Hoopen HJG, et al. Metabolic engineering of plant secondary metabolite pathways for the production of fine chemicals. *Biotechnol Lett*, 1999, **21**: 467–479.
- [5] Zhong JJ. Plant cell culture for production of paclitaxel and other taxanes. *J Biosci Bioeng*, 2002, **94**(6): 591–599.
- [6] Kingston DGI. Taxol, a molecule for all seasons. *Chem Commun*, 2001, 867–880. Doi: 10.1039/b100070p.
- [7] Tabata H. Paclitaxel production by plant-cell culture technology. *Adv Biochem Engin/Biotechnol*, 2004, **7**: 1–23.
- [8] Baloglu E, Kingston DGI. The taxane diterpenoids. *J Nat Prod*, 1999, **62**: 1448–1472.
- [9] Zhao ZJ, Xu YF, Qian ZG, et al. Novel fluoro- and hydroxyl-containing jasmonate derivatives as highly efficient elicitors in suspension cultures of *Taxus chinensis*. *Bioorg Med Chem Lett*, 2004, **14**: 4755–4758.
- [10] Naill MC, Roberts SC. Flow cytometric identification of paclitaxel-accumulating subpopulations. *Biotechnol Prog*, 2005, **21**(3): 978–983.
- [11] Choi HK, Kim SI, Son JS, et al. Enhancement of paclitaxel production by temperature shift in suspension culture of *Taxus chinensis*. *Enzyme Microb Technol*, 2000, **27**: 593–598.
- [12] Wang HQ, Yu JT, Zhong JJ. Significant improvement of taxane production in suspension cultures of *Taxus chinensis* by sucrose feeding strategy. *Process Biochem*, 2000, **35**: 479–483.
- [13] Yu LJ, Lan WZ, Qin WM, et al. Oxidative stress and taxol production induced by fungal elicitor in cell suspension cultures of *Taxus chinensis*. *Biol Plant (Prague)*, 2002, **45**: 459–461.
- [14] Wu J, Wang C, Mei XG. Stimulation of taxol production and excretion in *Taxus* spp. cell cultures by rare earth chemical lanthanum. *J Biotechnol*, 2001, **85**: 67–73.
- [15] Yukimune Y, Tabata H, Higashi Y, et al. Methyl jasmonate-induced overproduction of paclitaxel and baccatin III in *Taxus* cell suspension cultures. *Nat Biotechnol*, 1996, **14**: 1129–1132.
- [16] Baebler S, Camloh M, Kovac M, et al. Jasmonic acid stimulates taxane production in cell suspension culture of yew (*Taxus × media*). *Planta Med*, 2002, **68**: 475–476.
- [17] Naill MC, Roberts SC. Preparation of single cells from aggregated *Taxus* suspension cultures for population analysis. *Biotechnol Bioeng*, 2004, **86**(7): 817–826.
- [18] Choi HK, Kim SI, Song JY, et al. Localization of paclitaxel in suspension culture of *Taxus chinensis*. *J Microbiol Biotechnol*, 2001, **11**: 458–462.
- [19] Kwon IC, Yoo YJ, Lee JH, et al. Enhancement of taxol production by *in situ* recovery of product. *Process Biochem*, 1998, **33**(7): 701–707.
- [20] Komaraiah P, Ramakrishna SV, Reddanna P, et al. Enhanced production of plumbagin in immobilized cells of *Plumbago rosea* by elicitation and *in situ* adsorption. *J Biotechnol*, 2003, **101**: 181–187.
- [21] Choi JW, Yoo DI, Lee WH, et al. Selective adsorption of plant metabolite on encapsulated adsorbent: local thermodynamic equilibrium model. *J Ferment Bioeng*, 1996, **81**(1): 47–54.
- [22] Qian ZG, Zhao ZJ, Tian WH, et al. Novel synthetic jasmonates as highly efficient elicitors for taxoid production by suspension cultures of *Taxus chinensis*. *Biotechnol Bioeng*, 2004, **86**(5): 595–599.
- [23] Cui TB, Guo Y, Lin WT. The ways to enhance the production of secondary metabolites by plant cell culture. *Plant Physiol Commun*, 2001, **37**(5): 479–482.  
崔堂兵, 郭勇, 林炜铁. 提高植物细胞培养法生产次级代谢物产量的方法. *植物生理学通讯*, 2001, **37**(5): 479–482.
- [24] Choi JW, Cho GH, Byun SY, et al. Integrated bioprocessing for plant cell cultures. *Adv Biochem Eng*

*Biotechnol*, 2001, **72**: 63–102.

[25] Zhou ZQ, Mei XG, Wu QJ. Regulation of taxol production in cell suspension cultures of *Taxus chinensis* by elicitors, precursors and inhibitors. *Natl Prod Res Dev*, 2002, **14**(2): 19–21.  
周忠强, 梅兴国, 吴奇君. 前体、诱导子及抑制剂对细胞培养生产紫杉醇的调节作用. *天然产物研究与开发*, 2002, **14**(2): 19–21.

[26] Zhang CH, Mei XG, Liu L, *et al*. Enhanced paclitaxel production induced by the combination of elicitors in cell suspension cultures of *Taxus chinensis*. *Biotechnol Lett*, 2000, **22**: 1561–1564.

[27] Wang ZY, Zhong JJ. Combination of conditioned medium and elicitation enhances taxoid production in bioreactor cultures of *Taxus chinensis* cells. *Chem Eng J*, 2002, **12**: 93–97.

[28] Dong HD, Zhong JJ. Significant improvement of taxane production in suspension cultures of *Taxus chinensis* by combining elicitation with sucrose feed. *Chem Eng J*, 2001, **8**: 145–150.

[29] Dong HD, Zhong JJ. Enhanced taxane productivity in bioreactor cultivation of *Taxus chinensis* cells by combining elicitation, sucrose feeding and ethylene incorporation. *Enzyme Microb Technol*, 2002, **31**: 116–121.

[30] Wang CG, Wu JY, Mei XG. Enhanced taxol production and release in *Taxus chinensis* cell suspension cultures with selected organic solvents and sucrose feeding. *Biotechnol Prog*, 2001, **17**(1): 89–94.

### 2010 年中国微生物学会及各专业委员会学术活动计划表

序号	会议名称	主办单位	时间	人数	地点	联系人
1	第三届生物资源与环境调控学术研讨会	中国微生物学会农业微生物专业委员会	5~6 月	120	安徽合肥	李峰 010-82109561
2	曲霉和曲霉病研讨会	中国微生物学会真菌学专业委员会	5 月 15~16 日	150	天津	刘伟 010-83573056
3	第八届中日病毒学会议	中国微生物学会病毒学专业委员会	7 月 4~7 日	100	黑龙江哈尔滨	张凤民 0451-86669576 钟照华 0451-86685122
4	第八届全国微生物学青年学者学术研讨会	中国微生物学会基础微生物学专业委员会	7 月 21~24 日	150	云南昆明	李文均 0871-5033335
5	第三届全国农业微生物研究及产业化研讨会	中国微生物学会农业专业委员会	8 月	120	新疆阿拉尔	张利莉 agmicrob@mail.hzau.edu.cn
6	第二届微生物资源学术研讨会	中国微生物学会微生物资源专业委员会	8 月	150	黑龙江大庆	阮志勇 13301101231
7	第十一届全国土壤微生物学学术讨论会暨第四届全国微生物肥料生产技术研讨会	中国微生物学会农业微生物专业委员会	9~10 月	150	湖南长沙	李俊 010-68975891
8	合成生物学学术研讨会	中国微生物学会分子微生物学与生物工程专业委员会	9~10 月	80	上海	朱春宝 021-62896804
9	2010 年全国微生物毒素与创伤感染学术会议	中国微生物学会微生物毒素专业委员会	9 月 17~20 日	250	重庆	梁华平 023-68757404
10	第 11 届中日韩国国际酶工程学术研讨会	中国微生物学会酶工程专业委员会	10 月	150	四川成都	金城 010-64807425
11	病原进化与致病机制国际研讨会	中国微生物学会分析微生物学专业委员会	10 月 22~25 日	150	江苏镇江	倪斌
12	第十三次全国环境微生物学学术研讨会	中国微生物学会环境微生物学专业委员会	10 月	500	江苏南京	蒋建东 025-84395326
13	2010 年中国微生物学会学术年会	中国微生物学会	10 月	500	安徽	王旭 010-64807200
14	首届全国芽胞杆菌研究及产业化研讨会	中国微生物学会基础、农业微生物学专业委员会	10 月	140	湖北武汉	翁锦周 bacillus@mail.hzau.edu.cn
15	第三届全国微生物基因组学学术研讨会	中国微生物学会基础、农业微生物学专业委员会	11 月	150	福建厦门	邵宗泽 micgeno@mail.hzau.edu.cn
16	第一届中国临床微生物学大会	中国微生物学会临床微生物学专业委员会	11 月	500	贵州遵义	李宣霖 13976609892