

## 中文摘要

馬兜鈴 (*Aristolochia debilis* SIEB. et ZUCC.) 為馬兜鈴科 (Aristolochiaceae) 馬兜鈴屬 (*Aristolochia*) 之多年生蔓性草本藥用植物，宋初開寶本草始著錄，歷代諸家本草均有記載。自古以來即為中醫常用之藥材，主治肺氣上逆、咳嗽喘促、肺熱咳血等症。經鑑定馬兜鈴含有 aristolochic acid、aristolochine 及 magnoflorine 等成分，尤以 aristolochic acid 近年來文獻指其具抗癌作用，頗具研究價值。

利用植物組織培養技術，可短時間內獲得大量繁殖的植株，是取代傳統育種的好方法。本研究以馬兜鈴種子為供試驗材料，探討癒合組織之誘導及繼代培養，進而建立馬兜鈴細胞懸浮培養，並藉由細胞培養生產馬兜鈴二次代謝產物 aristolochic acid，以提高產率、產品品質及降低生產成本。茲將試驗結果摘錄如下：

1. 將馬兜鈴種子培養於 MS 基本鹽類培養基中，經發芽形成植株，再分別切取根、莖及葉培養於含 2 mg/l NAA、0.5 mg/l BA 之 MS 基本鹽類培養基中，可產生大量的癒合組織供試驗之用。
2. MS 基本鹽類添加 10% 椰子汁、0.5 mg/l IBA、0.5 mg/l TDZ、3% sucrose、0.5% Difco agar 及 0.125% gelrite，pH 值約  $5.7 \pm 0.1$  之固體培養基，於 1000 lux 光照及  $25 \pm 1$  之恆溫下，是馬兜鈴癒合組織生長的最佳條件。
3. 含 2 mg/l NAA、0.5 mg/l BA 之 MS 基本鹽類培養基，暗培養下的癒合組織可生合成 aristolochic acid，光培養下可生合成 aristolochic acid。
4. 於 2 mg/l NAA 之 MS 基本鹽類培養基中分別添加 1 mg/l BA、1 mg/l kinetin 或 1 mg/l zeatin，光培養下可使馬兜鈴癒合組織產生 aristolochic acid。
5. 添加 (1,2,3,4 g/l) peptone 的培養基有助於馬兜鈴癒合組織之生長；而過高濃度之水解酪蛋白 (750 mg/l, 1000 mg/l) 則不利於馬兜鈴癒合組織之生長。
6. 添加 10% 椰子汁有預防馬兜鈴癒合組織褐化之效果；而培養於含 gelrite 培養基的癒合組織，則有水晶狀透明化現象。

7. 以 MS 基本鹽類添加 0.5 mg/l 2,4-D、3% sucrose 及 pH = 5.2 ± 0.1 之液體培養基，於光強 200 lux、120 rpm 轉速之條件下培養，可得一分散均勻、生長良好之馬兜鈴懸浮細胞。
8. 在液體培養基中添加 1 mg/l NAA 可使馬兜鈴懸浮細胞產生 aristolochic acid 。
9. 懸浮細胞的初體積影響細胞生長速率，以 0.5ml PCV/20ml medium 之初體積，生長最為良好，於長期繼代培養時可減少更換培養液次數。大於 1ml PCV/20ml medium 之初體積則生長過速，必須短時間內即繼代，以避免懸浮細胞迅速老化。
10. 懸浮細胞以 0.5ml PCV/20ml medium 之初體積培養，於第 4 天開始生長，第 10 天懸浮細胞進入快速生長期，培養後第 30 天可達 PCV 最大值。繼代培養時間則以三週為宜。
11. 以光照 2000 lux 培養懸浮細胞，其生長緩慢期較早發生，且懸浮細胞較早呈暗褐色；黑暗培養雖也有相同現象，但較不嚴重。而弱光下( 200 lux ) 培養之懸浮細胞生長良好且褐化最晚。
12. 懸浮細胞以 80 rpm 轉速培養於添加 0.5 mg/l 2,4-D 之 MS 培養基，所得懸浮細胞顆粒較大；而以 100 及 120 rpm 轉速處理之懸浮細胞，顆粒較小，且分散均勻。