

生物技术在中国药用植物研究中的应用

谭 勇¹, 梁宗锁^{1,2}, 王渭玲²

¹中国科学院水土保持与生态环境研究中心, 陕西杨凌 712100

²西北农林科技大学生命科学院, 陕西杨凌 712100

摘 要: 生物技术运用为中国药用植物的研究和中药现代化发展提供了重要机遇。在此, 综述了近年来生物技术在中国药用植物研究中的应用进展, 包括组织培养技术在药用植物中的应用; 植物组织、细胞培养生产次生代谢产物的研究概况; 基因工程和分子生物学在药用植物天然产物中的应用, 并提出了该研究领域存在的问题和应用前景。

关键词: 生物技术; 药用植物; 组织培养; 中草药鉴定; 基因工程

The Application of Biotechnology in Medical Plants in China

Tan Yong¹, Liang Zongsuo^{1,2}, Wang Weiling²

¹Center of Soil and water Conservation and Ecological Research, China Academy of Science, Yangling Shaanxi 712100;

²College of Life Science, Northwest Sci-tech University of Agriculture and Forest, Yangling Shaanxi 712100

Abstract: Biotechnology providing important opportunity of development for studying for medical plants and traditional Chinese herbs modernization. The paper reviewed application process of biotechnology in medical plants in China, including tissue culture in breeding, plant tissues and cell cultures application in secondary metabolites production of medical plants, genetic engineer and biochemistry application in phytochemicals production, and put forward problem and application prospect biotechnology in medical plants.

Key words: Biotechnology, Medical plants, Tissue culture, Traditional Chinese herbs identification, Genetic engineer

由于化学药物毒副作用的不断出现, 当今世界在“回归自然”思潮的影响下, 寻找天然药物的呼声日渐高涨, 而中药以其丰富的资源、独特的疗效、毒副作用少等特点, 已引起世界各国的普遍关注。目前, 世界 75% 人口依赖从植物中获取的药物, 除化学合成之外, 人类大量依赖植物次生代谢物作为药物^[1]。药用植物是中药的主要来源, 在中国传统医学中具有重要地位。随着中药现代化的快速发展, 对中草药需求量日益增加, 野生资源已远远不能满足需求, 有许多原料性药用植物资源目前已面临资源枯竭的威胁。同时鉴于野生驯化和人工栽培过程中药用植物物种退化和面临濒危灭绝的棘手问题, 长期以来没有得到解决。如何保护濒危和紧缺中药材资源的修复和再生, 防止退化和灭绝, 是保障药用植物资源的可持续利用和中药产业的可持续发展的关键措施。

生物技术是一门应用生物科学研究成果工程手段

增加生物制品数量、提高质量, 从而满足人类日益增长需求的技术, 它的具体内容包括细胞工程、发酵工程、酶和蛋白质工程、基因工程等 4 个方面^[2]。生物工程技术可以研究这些濒危紧缺中草药资源的活性成分、生长规律和生产特征, 再运用生物工程技术对其进行保存的研究, 从而保护濒危紧缺的中药资源。近年来生物技术的飞速发展, 带动了医药生物技术产业的发展, 形成了以基因工程药物为主体的生物技术领域。随着分子生物学的渗透与生物技术的应用, 促进了药用植物基础性研究的发展, 为中国药用植物的研究和发展提供了良机 and 手段, 对实现中药资源保护和可持续利用具有重要意义。近 10 年来, 从天然产物中寻找新的生理活性成分或先导化合物以开发新药已成为全球关注和研究的热点。关于药用植物生物工程项目的研究思路和研究内容非常丰富, 主要涉及化学与现代生物学、生物技术的结合, 如离体培养和试管

基金项目: 陕西省科技攻关 2001K01-G15-03 项目资助。第一作者简介: 谭勇, 男, 1976 年出生, 在读博士, 专业: 生态学, 主要研究药用植物生理化与天然产物开发。E-mail: xjany@yahoo.com.cn。收稿日期: 2005-04-02, 修回日期: 2005-04-08。

繁殖、大规模液体培养生产中药有效成分、毛状根培养和增殖技术、转基因和酶学技术的使用,针对目前濒危、奇缺、珍稀的中药植物资源的保护、可持续利用和活性成分的生物合成调控等领域进行大量研究工作。笔者从以下几个方面阐述生物技术在开发中国药用植物资源方面的应用。

1 组织培养技术在药用植物繁育中的应用

1.1 药用植物种苗的快速繁殖 由于野生药材资源日益枯竭,人工栽培品种品质不稳定,生物技术的兴起对传统药材的生产展示了广泛的应用前景。组织培养是现代最先进的植物繁殖技术,通过利用植物细胞再生能力,培育出完整植株。利用植物组织培养技术进行药用植株无性繁殖,解决药用植物天然资源不足的棘手问题,具有成本低、高效率、生产周期短、无性遗传特性一致的优点。特别是对某些种子繁殖慢、难繁殖的药用植物。组织培养通过选择材料的部位(如根、茎、叶的段、片、块等),运用培养基获得芽体,最后培养成为植株。现在已经在药用植物中广泛应用,已在上百种药用植物上成功完成组织培养。例如组织培养技术已成功运用于石斛、桔梗、丹参、地黄、绞股蓝、半夏、杜仲、怀山药、麻黄、银杏、肉苁蓉、黄芪、红景天、西洋参、雪莲、桔梗、五味子、何首乌、金线莲等药用植物。此外在药用植物育种方面,一些药用植物收种困难或种子的发芽率低,有的栽种时耗种量大而繁殖系数小(例如贝母、番红花),运用组织培养可以短期内繁殖出植株,解决供种不足的问题。在预防病虫害方面,该项技术主要运用在因病毒病害严重影响产量和质量的药用植物、靠有性繁殖提供种子而种子发育不完善或种子成本高的药用植物、依靠无性繁殖提供“种子”而无性繁殖系数低且种子需求量大的药用植物、濒危或有极高药用价值的药用植物的引种驯化。Statish M. Nalawade et al(2003)研究了中国台湾的药用植物和持续利用,成功进行了某些药用植物的组织培养^[3]。

1.2 胚的离体培养获得人工种苗 胚的离体培养可以克服有性杂交中的胚乳败育和珠心胚干扰等获得杂种苗,该项技术已经运用于生产。研究表明红豆杉属植物离体胚的萌发效果与培养基的种类关系很大^[4]。离体条件下红豆杉的成熟胚似乎没有休眠期,只要条件适宜,毋需任何须处理就有很高的萌动率和成苗率。乔传卓等(1989)研究药用植物松蓝同源四倍体的诱发、鉴定、选育的研究,运用0.05%~0.5%浓度的秋水仙碱水溶液处理萌发的种子,或用0.05%~0.3%浓度的此溶液处理幼苗的生长点,均可以获得四倍体植

株^[5]。苏新(1995)研究了浙贝母(*Fritilaria thunbergii*)种胚,经MS+2,4-D 1.0mg/L+6-BA 0.5mg/L+水解酪蛋白300mg/L和MS+IBA 0.5mg/L+6-BA 1.0mg/L等培养基分化和根分化后,形成小鳞茎和正常植株^[6]。

1.3 药用植物新品种的选育和种质资源保存 良种是保证栽培药用植物质量稳定和药农增产增收的重要因素之一。传统的育种方法由于育种周期长、见效慢的缺点,极大限制了药用植物新品种的选育。目前,许多新品种的培育都是采用传统的方法,在原有植物资源基础上通过选择、杂交、回交、诱变等方法培育出来的。许多药材如薄荷、红花、枸杞、地黄、贝母、山药、玉竹、桔梗、松蓝、大麻、银杏、薏苡、石斛、益母草、金银花、杜仲、番红花等已形成地方优良品种^[7]。应用传统手段与现代生物技术手段结合的方式,加强中药材新品种培育,开展珍稀濒危中药资源的替代品研究,确保中药可持续发展。目前“高含量育种”是药用植物育种的主要目的和特色,它促进药用植物种质资源在中药研究中的作用。

1.3.1 单倍体和多倍体培养 由单倍体诱变到多倍体育种是培育药用植物新品种的一种有效手段。将党参种子播种于含一定浓度秋水仙碱培养基中发芽,尔后进行胚轴的组织培养,获得了四倍体变异株,外观形态四倍体党参表现出茎粗、叶色深绿、花大、叶大、花期长、抗逆性强等特点^[8]。李涵等(2004)采集云南野生齿瓣石斛(*Dendrobium devonianum*)果实,在种子无菌萌发和组培快繁的基础上,利用前期研究形成的试管苗,用倍性育种技术,在短期内培育出多倍体植株^[9]。李健等(2001)利用组织培养技术与化学诱变相结合及幼胚培养等育种手段,初步选育出无籽枸杞优良三倍体株系99-3^[10]。红豆杉种子在自然条件下面发甬时较长,且萌发率低,萌发时间不整齐。利用胚的体外培养技术能够显著缩短休眠期从而提前萌发^[11]。此外还有四倍体绞股蓝和中国药科大学利用生物技术培育的多倍体优质丹参新品系61-2-22等新品种。要保障药用植物资源的可持续利用和中药产业的可持续发展,特别要注意对濒危和紧缺中药材资源的修复和再生,防止流失、退化和灭绝。

1.3.2 药用植物离体种质保存 随着开发利用天然药物的趋势日益增强,有限资源大量消耗,而且由于资源的不合理开发利用,致使生态平衡失调,有些药用植物丧失了合适的生存环境,减弱了资源的再生能力,许多种类趋于衰退或濒临灭绝,一些优良种质正在消失或解体,造成资源的下降和枯竭^[12]。一方面是需求量增大,而另一方面是资源量减少。因此,只有对

种质资源进行有效的保护和扩大繁殖,促进其更新,才能保证资源的永续利用。传统的植物种质资源保存是采用原地保存和非原地的野外保存,占用大量场地和浪费了人力、物力和财力。近几年人们利用植物组织细胞离体系统超低温(-196℃)保存药用植物种质资源,超低温保存不仅能长期保存无性繁殖植物的优良品种和育种工作所需要的纯系,还可解决组织和细胞继代培养中的变异问题。

目前超低温保存已在40多种植物中获得成功^[13,14]。例如浙贝母、银杏及杜仲等。该技术包括体细胞胚和花粉胚的超低温保存,悬浮培养细胞和愈伤组织的超低温保存。例如人参和长春花等悬浮培养细胞超低温保存获得成功。试验证明:超低温保存不仅能保存细胞活力,还能保持细胞产生次生代谢产物的能力。苏新等(1991)研究浙贝母愈伤组织的超低温保存中发现,培养30~35d的愈伤组织有较强的抗冻能力。他将浙贝母愈伤组织加入5%DM SO 预培养7d,再加入10%DM SO 和5%甘油混合保护剂,采用分步慢冻法(以1~5℃/min,降温至-18℃,停留1h,再以同样的速度降至-40℃,停留2h)投入液氮保存3d,用40℃水浴解冻。在黑暗条件下培养,细胞存活率达81%,并能分化出完整植株^[15]。植物组织和细胞的超低温保存技术,对保存稀有和濒危的药用植物种质资源和国内外种质交换有重要意义和广阔应用前景。

2 生物技术在药用植物次生代谢产物方面的应用

2.1 植物组织、细胞培养生产次生代谢产物

次生代谢物是药用植物重要有效成分,但由于野生资源日益减少和栽培品种品质退化,给临床使用和质量控制带来许多困扰。利用生物技术生产有效成分,能缓解药用植物资源压力。对于那些生长条件要求严格、生长缓慢、产量小、采集困难、价值贵重的植物药,用这种方法更具有重要意义。利用植物组织、细胞培养生产次生代谢产物能克服以上缺点。例如天然抗癌药物紫杉醇在红豆杉植物中含量很低,即使现在公认含量最高的短叶红豆杉树皮中也仅有0.069%^[16]。通过采用固定化植物细胞培养技术可以克服细胞大量培养中的许多困难,以小规模的培养细胞大量生产胞外目的产物。因为包埋于惰性基质的固定化提供了适于细胞分化的条件,结果提高了次生物质的产量,如熏衣草细胞的固定化培养,辽宁紫草细胞的固定化培养等都取得了很好的效果^[17]。次生化合物的合成需要相当多的代谢酶(包括同工酶)基因参与,这些基因的遗传变异直接影响药材的功效^[18]。目前已有不少调控次生化合物代谢的关键酶基因被研究^[17]。例如,苯丙烷类代谢

酶系是目前了解最清楚的植物次生代谢物合成途径,其中许多酶基因已被克隆。黄酮、水杨酸等的生物合成都由此途径合成,这个途径的关键酶是本丙氨酸解氨酶(PAL)、肉桂酸-4-羟化酶(C4H)和4-香豆酸CoA连接酶(4CL)^[19]。

2.2 发状根培养生产次生代谢产物

传统的中药材含有的有效成分绝大部分是次生代谢产物,它们的合成途径非常复杂,往往有几十个酶参与反应,因此寻找出形成特定产物的关键酶就成为利用基因工程技术生产传统有效成分的关键步骤之一。发根培养技术的应用^[20]利用植物细胞培养技术生产次生代谢物真正实现商品性工业化生产的还为数甚少,其主要原因在于培养的植物细胞生长缓慢,次生代谢物含量太低,以及生产能力不稳定等,因而工业化生产成本太高。台湾M ulabagal Vanistec et al(2004)^[21]通过组织培养从某些药用植物提取重要的次生代谢物。

由发根农杆菌(*Agrobacterium rhizogenes*)感染双子叶植物形成的毛状根,在近十几年来中已发展成继细胞培养后又一新的培养系统。发根(hair root)是整体植株或其某一器官、组织(包括愈伤组织)、单细胞甚至原生质体受发根农杆菌(*Agrobacterium rhizogenes*)的感染所产生的一种病理现象(形成多分枝的不定根)。自从发根技术应用于次生代谢物生产以来,已有不少植物被诱导产生了发根,且次生代谢物的含量也大大提高,如人参(*Panax ginseng*)愈伤组织发根培养生产人参皂苷(Rb和Rg),长春花(*Catharanthus roseus*)发根培养产生长春碱等等。据不完全统计,目前已有400多种植物建立了组织和细胞培养体系,并从中分离出600多种代谢产物。其中代表性的研究成果如:中国科学院植物研究所的紫草细胞大规模培养,华中理工大学的红豆杉细胞大规模培养,上海中医药大学黄芪毛状根大规模培养等^[22]。生物技术的发展给制药业带来了新工艺,例如各种层析技术特别是亲和层析技术,已用于制药生产,并带来了明显的收效。应用细胞工程技术已培养成功了多种菌类中草药,如冬虫夏草、灵芝等,使一些名贵的中草药可以用发酵的方法生产出来^[23]。细胞培养不仅可以保存和繁殖濒临灭绝的野生药用植物资源,还可以大量生产临床上急需的紧缺的中药材,而且还可以改进现有药材的品质。高山林等^[24]研究了培育优质品种的新途径,他们用秋水仙碱诱导出丹参四倍体,经染色体鉴定为同源四倍体,试管苗移栽后,发现其主要化学成分含量大大高于原(二倍体)植株。张荫麟等^[25]用根癌农杆菌感染丹参无菌苗获得冠瘿组织,并发现B5和MS培养基有利于

冠瘿组织的生长,而 6,7-V 和 W P 培养基则有利于丹参酮的合成。Chen (1999) 等用发状农杆菌的 ATTC15834 株系转化丹参胚细胞产生发状根,发状根可产生丹参酮类和酚酸类两类化合物^[26]。

3 基因工程和分子生物学的应用

3.1 转基因药用植物 随着基因重组技术的发展,进入 20 世纪 90 年代后,国内外学者利用基因工程技术向药用植物体内导入同源或异源关键酶基因的研究报道日益增加。生物技术在传统药材生产中也将起到重要作用,用于药材生产的植物细胞经过基因重组、接种、诱导、筛选高产优质的细胞系。运用生物技术一方面对药用植物进行品种进行遗传改造,培育新型的高产优质、多抗性的优良品种,以增加产量和提高质量;另一方面运用基因工程技术培育出抗病毒、抗虫害的新型品种,以减少农药施用,保证中药来源可靠,使用安全。目前植物转基因的方法主要有农杆菌介导的基因转移、种质系统的基因转移和外源基因直接导入。利用酶的特异性表达来生产具有高产量、高纯度、副作用少的有效成分单体,是传统医药发展的方向。此外,药用植物功能基因的克隆近年来呈现快速增长的趋势。截至 2003 年 9 月底,在 32 属 42 种药用植物中共注册基因序列 255 条,长春花、甘草、青蒿及红豆杉是注册基因最多的植物。

由于药用植物次生代谢物产物合成途径涉及的反应步骤多,且次生代谢物在植物组织中含量一般较低,检测难度大,因而对与植物次生代谢有关的转录因子的分离、鉴定困难较大。自 20 世纪 70 年代初以来,基因工程药物发展十分迅速^[27]。目前正在开发转基因植物,即利用植物作为生产基因工程药物的反应器。从而克服了天然蛋白质药物的缺陷,为开发新药开辟了新途径,在医药业领域中具有良好的应用价值和开发前景。王惠中等 (1991)^[28]并进行枸杞基因转移再生成苗的研究,对再生植株的 DNA 分子杂交试验表明,外源基因已整合到掏袍细胞基因组上并能在植株水平表达出相应的性状。例如转录因子的基因工程是植物次生代谢遗传改良的有效途径,利用分子生物学手段将已克隆的代谢关键酶基因导入微生物,从而产生大量的酶,再结合微生物发酵或固定化酶技术,可有效地产生次生产物。随着分子生物学、分子遗传学的发展和分子药理学学科的出现,人们越来越认识到基因的多态性是造成药物反应个体差异的主要原因。利用 DNA 重组定向改造生物,一是有关代谢途径的基因工程研究;二是利用有关转基因植物反应器构建的研究,利用撞击因植物作为反应器生产外源基因

编码的产物。

3.2 DNA 分析技术在中草药鉴定中的应用 中国药用植物种质资源丰富,但对不同品种(种质)遗传多样性和亲缘关系的研究较少。利用分子生物学方法研究种质资源及其相互关系,对药用植物的引种栽培、资源保护和选种育种具有重要意义。通过分子生物学,将生物性状从表征扩展到生物信息大分子,利用 DNA、RNA、蛋白质三级信息物质,反映遗传密码传递顺序,可以进行分子水平上的中药质量控制,也是中草药地道性最有价值的分类鉴定指标。目前 RAPD 技术用于人参、西洋参、细辛、龙胆草、蒲公英、溪黄草等的鉴定已获得成功^[29-32]。DNA 指纹技术也能为寻找新的药用资源提供线索,根据亲组关系相近的植物类群具有相似的化学成分的规律,通过准确确立植物间的亲缘关系,有目的地在某些类群中寻找新成分、新药源。如 20 世纪 90 年代以来一种以药材 DNA 分子标记特征为鉴定指标的新兴技术——药材 DNA 指纹鉴定技术的出现,为中药鉴定学开辟了一条新路^[33,34]。这一技术是直接分析遗传物质本身,排除了环境因素的干扰,比传统方法更准确可靠。通过名优道地药材 DNA 指纹的认定,还能提供划分中药种质档次的分子标记。此外,应用 RAPD 方法^[35]及遗传分化指数(DC)和分化指数比率(PDC)^[36]分析中国人参主产区的几处栽培群体的遗传分化程度、判断彼此的遗传关系和比较它们的遗传多样性,为人参的栽培生产和育种提供理论依据^[37]。rRNA 基因内转录间隔区的碱基序列测定可作为分子水平鉴定植物性中药材的又一有效途径^[38]。可以预测今后 DNA 标记技术将会成为继光谱色谱后在质量标准研究领域又一重要的常规技术方法。

3.2.1 DNA 指纹图谱技术 中药指纹图谱就是利用现代信息采集技术和质量分析手段得到的能够显现中药材或中成药性质的图像、图形、光谱的图谱及其数据。指纹图谱质控技术是控制中药质量的先进技术,促进了中药生产标准化和带动中药工业现代化的关键技术,使中药从以数量为主转变为以质量为主。中药指纹图谱的主要研究内容包括:(1)规范化的中药特征总提取物获取程序的研究及其指纹图谱的建立;(2)中药指纹图谱的解析研究;(3)各指纹图谱的相关性研究;(4)指纹图谱技术在各中药材和复方制剂质量控制中的推广应用^[39]。这些技术包括 RAPD^[40,41], AFLP^[42], PCR-RFLP DNA 探针杂交^[43], 小卫星(m inistatellite)^[44], 微卫星指纹分析^[45]等。DNA 指纹技术的建立是植物资源学研究方法的重大突破,为药用植物种质资源的分类与鉴定开辟了一条新途径。

姬可平等 (2002) 对大黄种子中提取的 DNA 中 rRNA 基因内转录间隔区进行 PCR 扩增, 对于 PCR 扩增, 并对 PCR 扩增产物进行碱基序列测定, rRNA 基因内转录间隔区的碱基序列可作为分子水平鉴定植物中药材的又一有效途径。例如用随机扩增多态性 DNA (RAPD) 技术对石斛属内 26 个种和金石斛属的 1 个种进行了基因组 DNA 多态性分析, 设计成的特异性引物能方便快捷地鉴别出铁皮石斛^[47]。色谱指纹图谱作为质量控制方法则已得到一些国家药监部门的认可。国际上采用指纹图谱对植物药进行质量控制的国家有韩国、日本、德国等。这一方法的建立是植物资源学研究方法的重大突破, 在种质资源品种鉴定和纯度分析上具有广泛的应用前景。指纹图谱鉴定是提高中药质量水平, 适应国际化、现代化要求的必然趋势, 同时有利于中药资源保护和持续利用, 促进中药材种植的规模化、规范化和产业化发展。

3.2.2 生物芯片 DNA 阵列或基因芯片为全面快速检测植物转录因子的表达特性、确定其所控制的下游基因, 并为分析转录因子功能提供了有力的工具, 这一方法已在植物次生代谢物的转录因子功能鉴定中得到应用^[48]。采用基因芯片技术鉴定中药的过程是 (1) 运用分子生物技术找出待鉴定中药的特定寡核苷酸序列。(2) 以此寡核苷酸序列作为探针, 装配到芯片上。(3) 检测样品的准备 (DNA 提取、扩增和荧光标记)。(4) 检测样品与芯片上探针进行杂交。(5) 荧光检测及结果分析^[49]。由基因芯片技术鉴定中药的过程可见, 找出待鉴定中药的特定 DNA 序列是基因芯片技术能否成功应用于中药鉴定的关键。选择适当的方法, 利用 DNA 分子遗传标记技术, 研究 DNA 分子中保守性较低的区段, 找出道地药材的特征 DNA 序列, 可准确区分道地药材与非道地药材。在对川贝母、浙贝母、皖贝母和湖北贝母等四种主要贝母品种 5S rRNA 的序列分析时发现^[50], 川贝母有一特异性的碱基序列 CTTTTGTCA TCA, 以此序列作为探针, 制成芯片, 将待检测样品提取 DNA 并经扩增和荧光标记后与芯片上探针进行杂交, 通过荧光检测即可准确鉴定出川贝母。基因序列分析已成功地用于贝母、黄芩、人参、川芎等鉴别。

4 结语

综上所述, 近代生物技术在传统药用植物研究中的应用, 尽管尚处于实验室阶段, 而且明显地存在着基础理论研究滞后的现象, 但近 20 年来所取得的进展令人鼓舞, 前景诱人。在众多基础理论研究内容中, 尤其重要的是传统药材中活性成分的化学结构、生物合成途径与参与反应的酶系统、离体植物组织与细胞的生

物学特性、药用模式植物基因组与功能基因组学等内容。其中生物制药作为生物工程研究开发和应用中最活跃、进展最快的领域, 被公认为是 21 世纪最有前途的产业之一。与传统生产方式相比较应用生物技术进行传统药材生产有以下几个优点: (1) 药材 (或活性成分) 的生产可以在人为控制条件下进行, 不受季节、气候条件与土壤环境等因素的制约, 可排除病虫害的侵袭与农药残留量的困扰, 使药材质量稳定。(2) 通过特定的生物转化反应, 生产人们需要的活性成分。(3) 通过对活性成分生物合成路线进行遗传操纵, 提高目的产物的产量。(4) 通过加入或删除基因而改变其遗传特性, 达到大幅度提升有效成分产量或合成新的活性产物。

药用植物在中国传统医学中具有重要地位。随着中国实施中药材 GAP 认证, 是国内第一次立法从源头上对中药材生产全过程进行有效的质量控制, 它是保证中药材质量 “安全、有效、稳定、可控” 的方向发展和保障中医临床用药安全有效的重要措施。同时近年来, 生物技术也渗入到了古老的中药研究中, 它丰富了传统药用植物研究内容, 借助生物技术, 可以保存和繁殖那些濒临灭绝的药材资源, 保持自然界生物的多样性, 为解决传统药材的资源与品质提供崭新的途径。而且人们可以利用生物技术将那些数量极少而又极有价值的新类型化合物进行扩增, 满足临床的需求, 带动了传统中药学科的发展并推动中药现代化的进程。目前中国正在加快中药现代化、标准化、国际化的进程, 中药产业正面临着前所未有的机遇和挑战。只有不断探索与深入研究, 应用生物技术将有利于开发传统药材中还蕴藏着人们尚未认识和开发的具有知识产权的新药, 着重对药用植物优良农艺性状基因进行研究, 建立和完善中国药用植物重要功能基因组研究与重要功能基因发现的技术体系, 获得具有中国自主知识产权、功能明确和有应用前景的重要基因, 才能不断完善药用植物生物技术研究体系, 促进中药现代化的发展, 进而带动相关制药产业的发展, 为中国健康事业发展做出贡献。今后从天然药用植物产物中寻找新的生理活性成分或先导化合物以开发新药已成为全球关注和研究的热点。毫无疑问, 今后生物技术在药用植物研究中的应用将具有十分广阔的应用前景。

参考文献

- 1 Ram achandira Rao S, Ravishankar G A. Plant cell cultures: chemical factories of secondary metabolites. *Biotechnology Advances*, 2002, 20: 101~153
- 2 戴均贵, 果德安. 现代中药生物技术研究现状及展望. 2000, 2(5): 27~31

- 3 Stalish M, Nakawade, Abhay P, Sagare et al. Studies on tissue culture of Chinese medical plant resources in Taiwan and their sustainable utilization. *Bot Bull Acad Sin*. 2003, 44:79-98
- 4 Chee P P. In vitro culture zygotic embryos of taxus species. *Hort Science*, 1994, 29:695-697
- 5 乔传卓, 吴美枢, 戴富宝, 等. 菘蓝多倍体育种的研究. *植物学报*, 1989, 31(9):678-683.
- 6 苏新. 浙贝母种胚的离体培养. *中药材*, 1995, 18(2):62-63
- 7 马小军, 肖培根. 种质资源遗传多样性在药用植物开发中的重要意义. *中国中药杂志*, 1998, 23(11):579-581
- 8 陈素萍, 王莉, 宋秀清. 党参多倍体育种的研究. *中草药*, 1991, 22(5):224-227
- 9 李涵, 郑思乡, 李枝林, 等. 齿瓣石斛多倍体育种研究初报. *中国农学通报*, 2004, 20(4):198-199
- 10 李健, 王锦秀, 王立英, 等. 无籽枸杞新品种选育研究. *西北植物学报*, 2001, 21(3):446-450
- 11 李志良. 中国红豆杉和短叶红豆杉的胚胎培养. *植物资源与环境学报*, 2001, 10(1):62-63
- 12 周荣汉. *中药资源学*. 北京: 中国医药科技出版社, 1993. 142
- 13 谢启昆. *药用植物组织培养*. 上海: 上海科技出版社, 1986. 26
- 14 徐刚标. 植物种质资源离体保存研究进展. *中南林学院学报*, 2000, 20(4):81-87
- 15 苏新. 浙贝母花粉超低温保存方法的研究. *中国中药杂志*, 1991, 16(7):399-401
- 16 周忠强, 梅兴国. 红豆杉组织细胞培养生产紫杉醇的研究进展. *中南民族大学学报*, 2004, 23(1):21-25
- 17 李森, 吴新, 等. 药用植物次生代谢物细胞工程的新进展. *西北药学杂志*, 1998, 13(4):173-175
- 18 丘德有. 利用转基因植物生产有用的次生代谢产物. *植物科学导论*. 哈尔滨: 东北林业大学出版社, 1993. 20
- 19 李承森. *植物科学进展* (第一卷). 北京: 高等教育出版社, 1998. 293
- 20 戴均贵, 朱蔚华. 发根培养技术在植物次生代谢物生产中的应用. *植物生理学通讯*, 1999, 35(1):69-76
- 21 Mulabagal Vanisree, Lee C Y, et al. Studies on the production of some important secondary metabolites from medical plants by plant tissue cultures. *Bot Bull Acad Sin*, 2004, 45:1-22
- 22 胡之璧. 生物技术在传统药材中的应用前景. *药学服务与研究*, 2002, 32(1):1-3
- 23 周斌. 21 世纪生物医药的发展. *中国药业*, 2004, 13(6):3-4
- 24 高山林, 徐德然, 蔡朝辉, 等. 丹参同源四倍体新物种的培养. *中国药科大学学报*, 1992, 23(4):224
- 25 张荫麟, 宋经元, 赵保华, 等. 丹参的冠瘿组织培养和丹参酮的产生. *生物工程学报*, 1995, 11(2):150
- 26 Chen H, Chen F, Zhang Y L, et al. Production of Lithospermic Acid B and Rosmarinic Acid in Hair Root Cultures of *Salvia miltiorrhiza*. *J Ind Microbiol Biotech*, 1999, 22:133
- 27 秦惠琪. 基因工程药物. *医药导报*, 2001, 20(3):147-148
- 28 王惠中, 黄发灿, 李安生, 等. 枸杞转基因植株的再生. *生物工程学报*, 1991, 7(3):226-223
- 29 李萍. 21 世纪生物学的研究展. *中国药学杂志*, 1997, 32:513
- 30 曹晖, 刘玉萍. 分子标记技术在人参药材鉴定上的应用. *中药材*, 1997, 20(10):534
- 31 黄璐琦, 王敏, 周长征. RAPD 方法在细辛类药材鉴别研究中的问题及其对策. *药学学报*, 1998, 33(10):778
- 32 陈林娇, 屈良鸽, 施苏华, 等. RAPD 技术在溪黄草类原植物鉴别中的应用. *中国中药杂志*, 1998, 23(6):328
- 33 黄璐琦. 展望分子生物学在生药学中的应用. *中国中药杂志*, 1995, 20(11):643
- 34 马小军. PCR 技术及其应用. *植物杂志*, 1996, (5):30-31
- 35 Williams J G, Kubelik A R, Livak K J, et al. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res*, 1990, 18:6531-6535
- 36 Welsh J, McClelland M. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Res*, 1990, 18:7213-7218
- 37 马小军, 汪小全, 徐昭玺, 等. 人参不同栽培群体遗传关系的 RAPD 分析. *植物学报*, 2000, 42(6):587-590
- 38 姬可平, 李应东, 张西玲. rRNA 基因间隔区碱基测序对当归进行鉴定的研究. *中草药*, 2003, 34(1):66-69
- 39 冯雪松, 董鸿晖. 中药指纹图谱中的数据挖掘技术. *药学进展*, 2002, 26(4):198-201
- 40 Williams J G, Kubelik A R, Livak K J, et al. DNA Polymorphisms Amplified by Arbitrary Primers are Useful as Genetic Markers. *Nucleic Acids Res*, 1990, 18:6531
- 41 Welsh J, McClelland M. Fingerprinting Genomes Using PCR with Arbitrary Primers. *Nucleic Acids Res*, 1990, 18:6531
- 42 Pleter Vos, Irene Hogers, Marj B. Bleker, et al. AFLP: A New Technique For DNA Fingerprinting. *Nucleic Acids Res*, 1995, 23(21):4407
- 43 刘树俊. DNA 指纹技术中所用的探针及其发展. *遗传*, 1993, (1):40
- 44 Kresovich S. Abundance and Characterization of Simple-sequence repeats (SSRs) Isolated from a Size-fractionated Genomic Library of *Brassica napus*. *Theor Appl Genet*, 1995, 91:201
- 45 Gustavo Caetano-Anolles. DNA Amplification Fingerprinting Using Very Short Arbitrary Oligonucleotide Primers. *Bio/Technology*, 1991, 9:553
- 46 姬可平, 李应东, 张西玲. 应用 rRNA 基因间隔区碱基测序对中药(大黄)进行鉴定. *世界科学技术 - 中药现代化*, 2002, 4(4):44-47
- 47 张铭, 黄华荣, 廖苏梅, 等. 石斛属 RAPD 分析及鉴定铁皮石斛的特异性引物设计. *中国中药杂志*, 2002, 26(7):442-448
- 48 Sablowski R W M, Meyerowitz E M. A homologue of NO APICAL MERISTEM is an immediate target of the floral homeotic genes APETALA 3/PISTILLATA. *Cell*, 1998, 93:93-103
- 49 李绍平, 李萍, 董婷霞, 等. 生物芯片技术在中药鉴定研究中的应用与展望. *世界科学技术 - 中药现代化*, 2000, 2(3):15-18
- 50 朝晖, 李萍, 董婷霞, 等. 运用 PCR 揭示贝母属植物 5S-rRNA 基因间区序列的分子多样性. *植物药*, 1999, 65(4):360
- 51 吴梧桐, 王友同, 吴文俊. 21 世纪生物工程药物的发展与展望. *药物生物技术*, 2000, 7(2):65-70