

文章编号: 1001— 411X (2000) 02— 0042— 04

培养条件对烟草细胞生长和 CoQ₁₀ 含量的影响

叶国洪¹, 穆 虹², 徐凤彩²

(1 华南 农业 大学 成人 教育 学院, 广东 广 州, 510642; 2 华南 农业 大学 生 物 技 术 学 院, 广 东 广 州 510642)

摘要: 以红花大金元品种的烟草为材料, 采用细胞悬浮培养方法, 对影响烟草生长和 CoQ₁₀ 含量的细胞培养条件: pH、温度、接种量、摇床转速及装液量等进行了研究. 结果表明: 烟草细胞在培养基原始 pH 4.0~8.0 下均能生长, 但在 pH 6.0 时细胞生长最好, CoQ₁₀ 含量最高; 接种量仅能影响细胞培养周期, 而不影响 CoQ₁₀ 含量, 接种量增加可缩短细胞生长的迟滞期; 在 16~32℃ 间, 温度升高有利于 CoQ₁₀ 的形成, 但超过 28℃ 则不利于烟草细胞的生长, CoQ₁₀ 总量并不增加; 摇床转速和装液量对细胞生长和 CoQ₁₀ 形成的影响主要是其造成的剪切力和溶氧量的变化, 摇床转速在 100~150 r/min 范围内有利于烟草细胞生长和 CoQ₁₀ 形成. 在 100 r/min 转速下, 细胞干质量和 CoQ₁₀ 含量最高, 此时(装液量为 100 mL 瓶的 1/4)的 K_d 值为 1.74 $\mu\text{mol}(\text{mL} \cdot \text{min} \cdot \text{Pa})^{-1}$.

关键词: 悬浮培养; 细胞生长; CoQ₁₀ 含量
中图分类号: Q 552 文献标识码: A

辅酶 CoQ₁₀ (Coenzyme Q₁₀, CoQ₁₀) 广泛存在于动物、植物、微生物体中, 故又称泛醌. 它是 2, 3—二甲基—1, 4—二苯醌的衍生物, 其侧链含有 10 个类异戊烯基. 易被氧化还原, 是生物体内呼吸链的重要组成部分, 起着传递电子或氢的重要作用. 因此, 在医药上有着重要的用途, 目前已广泛用于治疗心脏病和细菌、病毒感染的疾病, 以及用于癌症病人的综合治疗, 以改善机体的免疫功能. CoQ₁₀ 的生产主要用化学合成法或微生物发酵法^[1], Ikeda^[2] 等人从烟草组培细胞中提取得到了 CoQ₁₀ 结晶, 并进一步对影响 CoQ₁₀ 形成的条件进行了研究^[3~5].

我们在前人工作的基础上, 以红花大金元的烟草品种为材料, 采用细胞悬浮培养的方法, 对影响烟草细胞生长及 CoQ₁₀ 含量的培养条件: 温度、pH、接种量、溶氧量等进行了初步的研究.

1 材料和方法

1.1 材料和主要试剂

- 1.1.1 供试材料 烟草 (*Nicotiana tobaccum*. L) 品种为红花大金元 (HHDJY), 广东省农科院经济作物研究所烟草室提供, 网室栽培.
- 1.1.2 主要试剂 酵母膏 (北京市海淀区微生物培养基制品厂), 盐酸硫胺素 (上海试剂厂), 6—糠基氨

基嘌呤 (6—Furfuryl aminopurine KT, 上海生物化学研究所), 硼氢化钠 (Sigma 公司), 其余试剂为市售分析纯或生化试剂.

- (1) 诱导培养基: Ms + BA 1.5 mg/L + NAA 1.0 mg/L
- (2) 继代培养基: Ls + BA 0.05 mg/L + 2, 4—D 1.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L

将继代培养产生的疏松的愈伤组织, 转入液体培养基 (见表 1): 100 mL 三角瓶中加入 25 mL 培养基, 在摇床转速为 100 r/min, 28±1℃ 暗中培养 7~8 d 后, 用吸管吸取培养基中上部烟草细胞、过滤, 并以此作为悬浮培养试验的种子细胞.

表 1 悬浮培养基成分

Tab. 1 Contents of medium

组成成分	悬浮培养基(6#)
Compositions	Suspension culture medium
无机营养	Ls(无机)
ρ (KT)/(mg, L ⁻¹)	0.02
ρ (2, 4—D)/(mg, L ⁻¹)	2.00
ρ (肌醇)/(mg, L ⁻¹)	100.00
ρ (盐酸硫胺素)/(mg, L ⁻¹)	4.00
ρ (酵母膏)/(g, L ⁻¹)	0.15
ρ (蔗糖)/(g, L ⁻¹)	30.00
ρ (甲硫氨酸)/(mg, L ⁻¹)	20.00

收稿日期: 1999— 05— 06 作者简介: 叶国洪(1970~), 男, 助研, 硕士.

基金项目: 广东省自然科学基金资助项目(960452)

1.2 实验方法

1.2.1 pH 值对烟草细胞生长和 CoQ₁₀形成的影响
以 6 号培养基为基本培养基, 接种量为 4.0 g, 配制不同 pH 的培养基 (pH: 4.0、5.0、6.0、7.0、8.0), 分别测定灭菌后和培养 8 d 后培养基的 pH 值、细胞干质量和 CoQ₁₀的含量。

1.2.2 接种量对烟草细胞生长和 CoQ₁₀形成的影响
以 6 号培养基为基本培养基, 在 pH 6.0 下, 接种量 1、2、3、4、5 g/瓶, 28℃培养 8 d 后, 分别测定不同接种量的细胞干、鲜质量及 CoQ₁₀含量。

1.2.3 温度对烟草细胞生长和 CoQ₁₀形成的影响
以 6 号培养基为基本培养基, 在 pH 6.0 下, 接种量为每瓶 4.0 g 的条件下, 分别在 16、20、24、28、32℃下培养 8 d 后, 分别测定细胞的干质量和 CoQ₁₀含量。

1.2.4 摇床转速试验 采用 6 号培养基、在 pH 6.0、θ 为 28℃, 接种量为 4.0 g, 摇床转速为: 50、100、150、200、250 r/min 条件下培养 8 d 后, 分别测定细胞干、鲜质量和 CoQ₁₀含量。

1.2.5 溶解氧试验 采用 6 号培养基, pH 值为 6.0, 温度为 28℃, 接种量 16%, 转速为 100 r/min, 装液量为 20、25、30、40、50 mL 条件下培养一段时期后, 分别测定细胞的干鲜质量、CoQ₁₀含量, 同时用化学法^[6]测定上述各不同装液量时瓶中的 K_d(溶氧系数)值。

1.2.6 CoQ₁₀的抽提与测定 (1)CoQ₁₀的抽提 参考 Bart 等^[7]的方法并加以修改, 用丙酮作抽提剂, 将烟草细胞与丙酮按 1:2 (m/v), 混合、研磨、过滤, 滤渣再重复抽提 2 次, 合并滤液, 然后用 0.5 倍石油醚(沸点为 30~60℃)萃取 3 次, 得到 CoQ₁₀的石油醚抽提液。(2)CoQ₁₀的测定按高向阳等^[8]的方法测定。

1.2.7 细胞干、鲜质量的测定 按常规法。

1.2.8 本文中所有多重比较均用华南农业大农学系区靖祥副教授的统计软件(dt)进行分析。

2 结果与分析

2.1 细胞培养过程中培养基的 pH 值变化

本试验测定了各种 pH 的培养基对 HHDJY 烟草细胞生长和 CoQ₁₀形成的影响。结果(表 2)表明培养基 pH 为 6.0 时, 细胞干质量为最高(20.48 g/L); 其次为 pH 7.0 时, 两者之间无显著差异。且 pH 为 6.0 时, 细胞 CoQ₁₀含量最高, 达 405.9 μg/g, CoQ₁₀的总量达 8 316 μg/L, 与其他 pH 下的 CoQ₁₀含量、总量相比, 差异均为显著。因此适于 HHDJY 烟草细胞生长和 CoQ₁₀形成的培养基 pH 为 6.0。

2.2 接种量对烟草细胞生长和 CoQ₁₀形成的影响

在培养基 pH 6.0 时, 接种量为 1、2、3、4、5 g/瓶

时, 分别测定细胞生长动力学曲线(如图 1、2)。接种量小于 4.0 g 时, 该细胞的迟滞期为 6 d 或 6 d 以上, 培养周期达 12 d 和 18 d; 接种量达到 4.0 g 的, 迟滞期仅为 4 d, 培养周期为 8 d 对各种接种量下的相对生长速率和对数生长期比生长速率、细胞倍增时间进行了比较(见表 3)。相对生长速率定义为:

$$N=\frac{\Delta C_x}{C_{x0}\times t}$$

式中的 ΔC_x 为细胞生物量的增加值, C_{x0}为接种量, t 为收获时间。

表 2 pH 值对烟草细胞干质量和 CoQ₁₀含量、总量的影响¹⁾
Tab. 2 Effect of pH on cell biomass and CoQ₁₀

content in HHDJY by suspension culture			
pH 值	ρ(细胞 cell)	w(CoQ ₁₀)	ρ(CoQ ₁₀)
pH values	/(g·L ⁻¹)	/(μg·g ⁻¹)	/(μg·L ⁻¹)
4.0	18.8b	376.8b	7 076b
5.0	19.16b	383.5b	7 344b
6.0	20.48a	405.9a	8 316a
7.0	20.16a	361.7b	7 288b
8.0	19.28b	385.2b	7 428b

1) 表中同列具有相同字母标记表示差异不显著。P=0.05;
2) 以细胞干质量表示

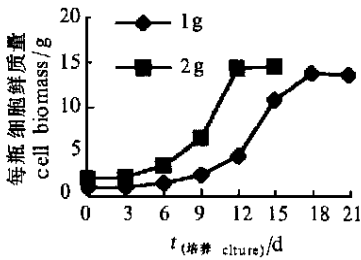


图 1 接种量为 1 和 2 g 时烟草细胞的生长曲线

Fig. 1 Time-course of HHDJY cell by suspension culture when inoculum were 1 and 2 gram

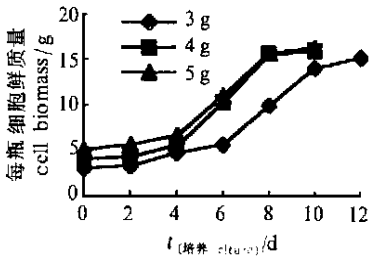


图 2 接种量为 3、4、5 g 时烟草细胞的生长曲线

Fig. 2 Time-course of HHDJY cell by suspension culture when inoculum amounts were 1 and 2 gram

由表 3 可见, 随着接种量的增加, 细胞相对增长速率逐渐下降, 细胞倍增时间亦随着接种量增加而降低。当接种量为 4.0 g 时, 细胞对数生长期比生

速率最大, 为 0.34 d^{-1} , 细胞倍增时间短, 为 48.9 h .
测定不同接种量下, 细胞的最大生物量, 结果(表 3)表明, 接种量对 CoQ_{10} 含量的影响差异不显著.
接种量为 4 g 和 5 g 时, 细胞干质量最高; 同时 CoQ_{10} 总量最高, 但二者之间差异亦不显著.
综合上述实验结果, 选择接种量为 4 g 较为理想.

表 3 不同接种量下的相对生长速率、对数生长期的比生长速率及细胞倍增时间¹⁾

Tab. 3 Effect of inoculum amounts on cell growth circle and biomass and CoQ_{10} contents by suspension culture

接种量 inoculum amounts	相对生长速率 relative growth ratio	比生长速率 specific growth ratio	t(细胞倍增) cell double times	ρ (细胞 cell) ²⁾ /($\text{g}^{\circ}\text{L}^{-1}$)	w(CoQ_{10}) /($\mu\text{g}^{\circ}\text{g}^{-1}$)	ρ (CoQ_{10}) /($\mu\text{g}^{\circ}\text{L}^{-1}$)
/g	/ d^{-1}	/ d^{-1}	/h			
1.0	0.72	0.26	64.0	16.84	405.0a	6 824d
2.0	0.52	0.19	87.5	17.60	407.0a	7 164c
3.0	0.34	0.20	83.2	18.40	408.0a	7 508b
4.0	0.36	0.34	48.9	19.76	404.0a	8 808a
5.0	0.27	0.33	50.4	19.96	410.2a	8 192a

1) 表中同列具有相同字母标记表示差异不显著. $P=0.05$; 2) 以细胞干质量表示

2.3 培养温度对烟草细胞生长和 CoQ_{10} 形成的影响

在 $16, 20, 24, 28, 32^{\circ}\text{C}$ 条件下分别培养细胞 8 d , 测定各温度下培养的烟草细胞干质量、 CoQ_{10} 含量、 CoQ_{10} 总量, 结果(表 4)表明, 在 $16\sim 28^{\circ}\text{C}$ 培养时, 随着温度的升高, 细胞干质量逐渐增加. 在 28°C 时细胞干质量最高, 但 32°C 培养时反而下降; CoQ_{10} 含量随温度的升高而增加, 但 28°C 时的 CoQ_{10} 总量最高, 差异显著, 故培养温度选择 28°C 较为适合.

表 4 温度对烟草细胞干质量和 CoQ_{10} 含量、总量的影响 1)

Tab. 4 Effect of temperature on cell biomass and CoQ_{10} content by suspension culture

θ (temperature)	ρ (细胞 cell) ²⁾	w(CoQ_{10})	ρ (CoQ_{10})
/ $^{\circ}\text{C}$	/($\text{g}^{\circ}\text{L}^{-1}$)	/($\mu\text{g}^{\circ}\text{g}^{-1}$)	/($\mu\text{g}^{\circ}\text{L}^{-1}$)
16	13.08d	356.5e	4 664e
20	16.72c	378.0d	6 316d
24	18.88b	396.2c	7 488c
28	20.60a	411.1b	8 472a
32	18.52b	433.7a	8 032b

1) 表中同列具有相同字母标记表示差异不显著. $P=0.05$; 2) 以细胞干质量表示

2.4 摇床转速对烟草细胞生长和 CoQ_{10} 形成的影响

在摇床转速为 $50, 100, 150, 200, 250\text{ r/min}$ 时, 培养 8 d 后分别测定细胞干质量、 CoQ_{10} 含量及 CoQ_{10} 总量, 结果(表 5)表明, 当摇床转速为 $100\sim 150\text{ r/min}$ 时, 培养细胞的干质量、 CoQ_{10} 含量及总量均为最高, 此时转速的影响差异不显著, 低于 100 r/min 时, 可能由于培养基的溶解氧少, 营养物质分散不均匀及细胞易成团等原因, 影响了细胞生长和 CoQ_{10} 形成; 转速超过 150 r/min 时, 可能由于高转速产生高剪切力, 使部分细胞受到伤害或产生溶解, 因而细胞干质

量和 CoQ_{10} 含量下降.

表 5 转速对烟草细胞干质量和 CoQ_{10} 含量、总量的影响¹⁾

Tab. 5 Effect of shaking speeds on cell biomass and CoQ_{10} content by suspension culture

转速 shaking speeds	ρ (细胞 cell) ²⁾	w(CoQ_{10})	ρ (CoQ_{10})
/($\text{r}^{\circ}\text{min}^{-1}$)	/($\text{g}^{\circ}\text{L}^{-1}$)	/($\mu\text{g}^{\circ}\text{g}^{-1}$)	/($\mu\text{g}^{\circ}\text{L}^{-1}$)
50	16.92b	390.5b	6 612b
100	20.36a	408.7a	8 312a
150	19.68a	401.8a	7 904a
200	16.92b	378.7c	6 412b
250	25.32c	365.1d	5 596c

1) 表中同列具有相同字母标记表示差异不显著. $P=0.05$; 2) 以细胞干质量表示

2.5 溶氧量对烟草细胞生长和 CoQ_{10} 形成的影响

溶氧量与培养细胞时三角瓶内的装液量直接相关, 装液量减少, 溶氧量增加, 反之亦然. 100 mL 三角瓶中当装液量为 $20, 25, 30, 40, 50\text{ mL/瓶}$ 时, 分别测定各装液量时的细胞干质量、 CoQ_{10} 含量、总量, 结果(表 6)表明, 随着装液量增加, 细胞干质量、 CoQ_{10} 含量、总量降低, 且细胞培养周期增加. 装液量为 $20\sim 25\text{ mL/瓶}$ 时, 细胞干质量、 CoQ_{10} 含量、总量达到最高. 两处理之间差异不显著, 而此时细胞培养周期短, 为 8 d . 由表 6 还可看出, K_d 值超过 $1.74\text{ pmol}(\text{mL}^{\circ}\text{min}^{\circ}\text{Pa})^{-1}$ 时, 对细胞生长的影响不显著. 因此适于烟草细胞生长的 K_d 值为 $1.74\text{ pmol}(\text{mL}^{\circ}\text{min}^{\circ}\text{Pa})^{-1}$.

3 讨论

细胞悬培养时 pH、温度、接种量、溶解氧及摇床转速等培养条件, 都影响细胞生长和产物的形成、积累. 有研究表明 pH 值的变化主要影响到细胞质膜

电位, 从而影响细胞质膜透性, 使细胞内外物质的交流发生变化, 特别是在 pH 值 4 ~ 6 之间时更加明显^[9]. Smith^[10] 对烟草细胞的同类研究表明, 当环境 pH 值在 5 ~ 7 范围内, 细胞对物质的吸收随 pH 的上

升而剧增, pH 值达到 7 以上时则剧降. 我们实验表明, 当培养基原始 pH 为 6.0 时 CoQ₁₀含量最高. pH 值对 CoQ₁₀含量的影响可能是由于 pH 的变化, 导致细胞内呼吸强度和呼吸途径的改变.

表 6 装液量对烟草细胞生长和 CoQ₁₀含量、CoQ₁₀总量的影响¹⁾

Tab. 6 Effect of *K_d* on cell biomass and content by suspension culture

装液量 medium volumes	ρ (细胞 cell)	w (CoQ ₁₀)	ρ (CoQ ₁₀)	细胞培养周期	<i>K_d</i>
/ mL	/(g·L ⁻¹)	/(μg·g ⁻¹)	/(μg°L ⁻¹)	cell growth cycle/ d	/[pmol (mL·min·Pa) ⁻¹]
20	20. 70a	411. 4a	8530a	8	2. 16
25	20. 30a	408. 7a	8 312a	8	1. 76
30	17. 70b	404. 5a	7 140b	10	1. 51
40	16. 40c	363. 8b	5 950c	16	1. 23
50	16. 20c	354. 2c	5 724d	16	1. 02

1) 表中同列具有相同字母标记表示 差异不显著. *P*=0. 05; 2) 以细胞干质量表示

影响细胞生长迟滞期的主要因素是接种细胞的年龄和细胞接种量^[11]. 我们采用悬浮培养 7 ~ 8 d 的烟草细胞作为种子细胞, 此时的细胞正处于对数生长期. 比较不同接种量时细胞生长的迟滞期、培养周期、对数生长期的比生长速率, 相对生长速率、最终获得的细胞生物量、CoQ₁₀产量, 发现当接种量为 4 g时, 烟草细胞的迟滞期短, 比生长速率大, 细胞生物量和 CoQ₁₀含量高. 说明该接种量对烟草细胞生长和 CoQ₁₀形成是适合的. 这一结果与董教望等^[12]、钟建江^[13] 的研究结果相似.

温度对植物细胞生长的影响是多方面的、复杂的. 我们比较了几种温度对烟草细胞生长和 CoQ₁₀含量的影响, 发现细胞生物量在 28℃时最高. 低于 28℃时, 随温度的降低, 细胞生物量减少; 高于 28℃时, 随温度升高, 细胞生物量下降. 这与 Matsumoto^[14] 对 BY-2 细胞株系的研究结果一致. 而 CoQ₁₀含量随着温度的升高而增加, 当温度为 32℃时, CoQ₁₀含量高, 但由于细胞干质量下降, 因而导致 CoQ₁₀总量下降.

由于植物细胞比细菌或真菌细胞大 10 ~ 100 倍. 而且在培养中易形成大小不一的细胞团, 因而, 一方面摇床转速过高易造成对细胞伤害的剪切力; 另一方面转速过低, 不但细胞易成团, 且细胞堆积, 造成营养“死”角, 细胞得不到充足的营养, 易衰老死亡, 且转速低使瓶内溶氧量减少, 不利于细胞生长和 CoQ₁₀形成. 我们实验表明摇床转速在 100 ~ 150 r/min 时对细胞生长和 CoQ₁₀形成有利, 溶氧量还与培养细胞时的装液量相关, 装液量多则溶氧量减少, 因此适当的装液量才能满足细胞生长需要. 我们实验表明 1/4 的装液量较能满足烟草细胞生长和 CoQ₁₀形成的

需要, 此时测得的溶氧系数 (*K_d* 值) 为 1. 74 pmol (mL·min·Pa)⁻¹.

参考文献:

[1] 古练权, 徐建兴. 泛醌类化合物研究进展[J]. 有机化学, 1984 6: 413 ~ 422.

[2] IKEDA T, MATSUMOTO T, KATO K, et al. Isolation and identification of ubiquinone Q₁₀ from cultured cells of tobacco [J]. Agr Biol Chem, 1974 38(11): 2 297 ~ 2 298.

[3] IKEDA T, MATSUMOTO T, NOGUCHI M. Fomation of ubiquinone by tobacco plant cells in suspension culture[J]. Phytochem, 1976 15: 568 ~ 569.

[4] IKEDA T, MATSUMOTO T, NOGUCHI M. Effect of nutritional factors on fomation of ubiquinone by tobacco plant cells in suspension culture[J]. Biol Chem, 1976b, 40(9): 1 765 ~ 1 770.

[5] IKEDA T, MATSUMOTO T, NOGUCHI M. Effect of inorganic nitrogen source and physical factors on the fomation of ubiquinone by tobacco plant cells in suspension culture[J]. Biol Chem, 1977, 41(7): 1 197 ~ 1 201.

[6] 华南理工大学等. 发酵工程与设备[M]. 北京: 轻工出版社 1986 256 ~ 263

[7] BARR R, FREDERICK L. The isolation and characterization of coenzyme Q₁₀ and related compounds[A]. CHICHEST L G. Coenzyme Q biochemistry, bioenergetics and clinical application ubiquinone[C]. New York: Oxford Univ Pr, 1985. 42 ~ 44.

[8] 高向阳, 康起亮, 穆虹, 等. 几种有机物质对烟草细胞 CoQ₁₀形成的影响[J]. 华南农业大学学报, 1999, 20(1): 51 ~ 56

[9] ULLRICH W R. Nitrate-dependent membrane potential changes and their induction in lemna gibba[J]. Plant Sci Lett, 1981, 22: 211 ~ 217.

(下转第 53 页)

Studies on Preparation of Chitosan Microspheres
and Immobilization of Papain on Them

LI Hong , WANG Wei-jun, XU Feng-cai
(College of Biotechnology, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642 China)

Abstract: Using chitosan as a source, the chitosan microspheres were prepared by suspension-crosslinking technique. Their properties were determined and analysed. The results indicated that they complexed functions of chitosan with those of macromolecule microspheres. Then as the carrier, the chitosan microspheres were used to immobilize papain by absorption-crosslinking method. The optimum conditions for immobilization were studied. The results were as follows: the optimum load of enzyme was 1.92 mg enzyme/g carrier, the absorbing time was 12 h and the temperature 4~8 ℃; then interacted for 3 h at 4~8 ℃with 0.5% glutaraldehyde. The activity and the activity recovery of the immobilized papain were 38.49 U/g carrier and 66.60% respectively.

Key words: chitosan microspheres; papain; immobilization

【责任编辑 李 玲】

(上接第 45 页)

[10]

SMITH I. K. Characterization of sulfate transport in culture tobacco cells[J]. Plant Physiol. 58: 358~362.

[11]

陈因良, 陈志宏. 细胞培养工程[M]. 上海: 华东化工学院出版社 1992 49: 265~267.

[12]

董教望, 叶和春. 新疆紫草细胞悬浮培养和发酵培养的研究[J]. 植物学报, 1993 95(1): 57~61.

[13]

钟建江. 生物学因子对紫苏悬浮培养细胞生长和花色素形成的影响[J]. 植物工程学报, 1995, 11(2): 153~156

[14]

MATSUMOTO T, OKUNISICAL K. Effects of physical factors and antibiotics on the growth of higher plant cells in suspension culture[J]. Agri. Biol. Chem. 1972 36: 2 177

Effects of Suspension-Culture Conditions on Tobacco Cell
Growth and CoQ₁₀ Production

YE Guo-hong¹, MU Hong², XU Feng-cai²
(1. Adult Educational College, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642 China;
2. Department of Biotech, South China Agri. Univ., Guangzhou 510642, China)

Abstract: The culture conditions affecting HHDJY tobacco cell growth and the formation of CoQ₁₀ were studied. The results showed that tobacco cell could grow in the pH range from 4.0~8.0(before autoclaving). The optimal pH for the cell growth and the formation of CoQ₁₀ was 6.0. The inoculum amounts affected the whole cell growth circle but not affected the formation of CoQ₁₀. The cell growth lag phase was shortened when the inoculum amounts increased. Between 16~32 ℃, the formation of CoQ₁₀ was enhanced with the temperature increased, but the biomass of tobacco cell decreased when the culture temperature was higher than 28 ℃. The effects of shaking speeds on the formation of CoQ₁₀ and cell growth were due to the shearing stress and concentration of dissolved O₂. When the shaking speeds were 100~150r/min, the tobacco cell grew well and the contents of CoQ₁₀ were highest. The optimal Kd value for the growth of tobacco cell was 1.74 pmol (mL. min. Pa) — 1

Key words: Suspension culture; cell growth; content of CoQ₁₀

【责任编辑 李 玲】