

K⁺/Na⁺浓度比对罗汉果悬浮细胞生长和甜苷V合成的影响

陈雨霞¹, 王泽建¹, 肖慈英¹, 庄英萍^{1,2}, 宋云飞³, 郭美锦^{1,2,*}

¹华东理工大学生物反应器工程国家重点实验室, 上海200237

²上海生物制造技术协同创新中心, 上海200237

³桂林莱茵生物科技股份有限公司, 广西桂林541199

摘要: 本文研究了不同K⁺/Na⁺浓度比对罗汉果悬浮细胞生长和甜苷V合成的影响。结果表明, 合适的K⁺/Na⁺浓度比促进细胞生长和甜苷V生物合成。当K⁺/Na⁺最佳浓度比为15:1时, 罗汉果悬浮细胞内K⁺浓度、K⁺/Na⁺、S_(K, Na)值均为最大, 此时细胞利用K⁺效率最高, 细胞生长速率最快。此外, 胞外有机酸和胞内氨基酸的变化表明此浓度比例下, 细胞可能通过降低TCA循环代谢强度, 以及增强EMP途径和MVA途径代谢强度, 从而促进萜类化合物前体乙酰CoA向罗汉果甜苷V合成。

关键词: 罗汉果; 悬浮培养; K⁺/Na⁺浓度比; 甜苷V生物合成

广西著名特产罗汉果(*Siraitia grosvenorii*)是葫芦科罗汉果属植物的成熟果实。罗汉果甜苷V(mogrosides V)是罗汉果的主要甜味成分, 它是一种低卡路里的理想天然甜味剂, 其甜度是蔗糖的350倍。由于植株的生长受到季节、地理环境条件的限制, 影响其天然产物的稳定生产。而植物细胞悬浮培养技术具有生长周期短、繁殖系数大、便于工厂化生产等特点, 是植物细胞扩大培养的有效手段之一; 添加诱导子作为一种能高效便捷地刺激次生代谢产物积累的方法, 被广泛应用于产物的大量合成。

目前, 植物细胞扩大培养和天然产物合成的研究报道较多, 主要包括: (1)培养环境条件。如pH对罗汉果细胞的生长有明显影响, pH为5.0时细胞的增殖和活力均为最高, 但高于或低于该pH条件下细胞的生长受到抑制(李佳瑞2017)。(2)营养碳氮源。曾建红等(2012)发现碳源对*S. grosvenorii*悬浮细胞的生长有明显影响, 4%的蔗糖浓度对于细胞生长最为有利; 培养初期NH₄NO₃浓度在30~100 mg·L⁻¹之间时, 细胞生长较好且甜苷V含量较高。(3)前体物质。植物细胞培养过程中前体物的添加也是影响次级代谢物产量的重要条件, 如加入诱导剂50 μmol·L⁻¹茉莉酸甲酯(methyl jasmonate, MeJA)后, 甜苷V的合成量达到最大值, 但不利于细胞的生长(李佳瑞2017)。

合适的盐浓度能有效地提高植物细胞生长量和目的产物的合成(倪建伟等2015; 管兰芳和徐茂军2009)。而培养液中盐浓度过高则会对细胞造成胁迫, 从而显著影响细胞生长和代谢。在适应盐

胁迫过程中细胞对K⁺-Na⁺产生选择性吸收/外排(白文波和李品芳2005)、Na⁺区室化等现象(闫道良等2014), 从而导致细胞内超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化物酶(peroxidase, POD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)活性明显升高, 活性氧(reactive oxygen species, ROS)浓度降低等细胞生理活性响应(刘爱荣和赵可夫2005; 王东明等2009)。另外, 细胞适应盐胁迫时, 脯氨酸合成代谢显著增加, 起到逆境中渗透保护剂作用(刘爱荣和赵可夫2005)。

目前, 罗汉果细胞培养研究主要涉及化学成分、生药学、药理学、分离纯化等方面, 但涉及到K⁺/Na⁺浓度比对罗汉果悬浮细胞生长和甜苷V合成的影响方面的研究仍未有报道。为此, 本文较系统研究了初始培养基中K⁺/Na⁺浓度比对罗汉果悬浮细胞培养过程中生理代谢特性的影响, 发现了促进罗汉果愈伤组织细胞悬浮培养生长和产物罗汉果甜苷V的生物合成的盐浓度条件。

1 材料与方法

1.1 细胞系、培养基和培养方法

罗汉果[*Siraitia grosvenorii* (Swingle) C. Jeffrey ex A. M. Lu et Z. Y. Zhang]种子由广西桂林莱茵生物科技股份有限公司提供; 罗汉果胚性愈伤组织由本实验室诱导筛选。

收稿 2018-03-01 修定 2018-04-28

资助 国家科技重大专项(2017ZX07402003)。

* 通讯作者(guo_mj@ecust.edu.cn)。

细胞悬浮培养基: B₅培养基+6-苄氨基嘌呤(6-BA) 1.0 mg·L⁻¹+萘乙酸(NAA) 0.5 mg·L⁻¹+蔗糖30.0 g·L⁻¹+肌醇100.0 mg·L⁻¹+聚乙烯吡咯烷酮2.0 g·L⁻¹, pH为5.9~6.0, 于121°C蒸汽灭菌30 min。

细胞悬浮培养方法: 愈伤组织继代10次后, 选择生长旺盛、结构较松散的愈伤组织, 按鲜重50 g·L⁻¹转接到装有100 mL培养基的250 mL三角瓶, 每瓶接种量为5.0 g鲜细胞, 置于旋转摇床(110 r·min⁻¹和25°C下)进行暗培养。以初代罗汉果悬浮细胞体系培养成熟罗汉果悬浮细胞过程中保持K⁺含量不变(25 mmol·L⁻¹), 培养初期加入硫酸钠, 使初始培养基中K⁺:Na⁺分别控制5:1、10:1、15:1、20:1、25:1的钾钠离子浓度比。

1.2 分析测定方法

1.2.1 细胞干重(dry cell weight, DCW)的测定

将培养液摇匀后倒入布氏漏斗中进行真空抽滤, 用超纯水冲洗细胞3次, 至滤纸不再滴水为止。收集抽滤后的细胞, 称量其鲜重, 于60°C烘至恒重, 称其干重。

1.2.2 罗汉果甜苷V含量的测定

将悬浮培养细胞用去离子水冲洗3次, 放在60°C烘干, 碾钵将其捣碎后先用1:10甲醇(色谱纯)浸提, 放于110 r·min⁻¹摇床上振荡3 h, 之后超声提取30 min后, 取上清浓缩至1 mL, 0.22 μm滤膜过滤后, 用高效液相色谱进行检测。高效液相色谱条件: 流速1.0 mL·min⁻¹、流动相0.03%磷酸二氢钾水溶液:乙腈=77:23, 柱温30°C、检测波长203 nm。

1.2.3 细胞含水量、渗透压的测定

细胞含水量(tissue water content): 将培养液摇匀后倒入布氏漏斗中进行真空抽滤, 用超纯水冲洗细胞3次, 至滤纸不再滴水为止。收集抽滤后的细胞, 称其鲜重, 于60°C烘干, 称其干重, 细胞含水量(%)=(鲜重-干重)/鲜重×100。

培养液的渗透压(osmolality)采用FM-8P全自动冰点渗透压仪进行测定(王涛2016)。

1.2.4 细胞中脯氨酸含量的测定

脯氨酸含量的测定采用酸性茚三酮法(李合生2000)。

1.2.5 金属离子浓度测定

将培养液离心保留上清备用。利用等离子体发射光谱仪(型号: 177~785 nm/Vaan 710, Varian, 美国)测定胞内和胞外的K⁺、Na⁺含量(刘爱荣等

2013), 计算K⁺、Na⁺和离子吸收选择性系数。

$$S_{K,Na(\text{吸收})} = \frac{K_{\text{细胞}}^+/Na_{\text{细胞}}^+}{K_{\text{培养基}}^+/Na_{\text{培养基}}^+}$$

$K_{\text{细胞}}^+$ ——单位干细胞中K⁺含量, mg·kg⁻¹ (DCW)

$Na_{\text{细胞}}^+$ ——单位干细胞中Na⁺含量, mg·kg⁻¹ (DCW)

$K_{\text{培养基}}^+$ ——单位发酵液中K⁺含量, mg·kg⁻¹ (broth)

$Na_{\text{培养基}}^+$ ——单位发酵液中Na⁺含量, mg·kg⁻¹ (broth)

1.2.6 胞外有机酸浓度测定

将发酵液离心保留上清后, 采用高效液相色谱法测定上清中不同有机酸的浓度(张建文2016), 即胞外有机酸浓度。

1.2.7 胞内氨基酸浓度测定

称取干细胞粉末并参照王涛(2016)方法处理得待测液, 利用气相色谱-质谱联用(GC-MS)的方法测定待测液中氨基酸的浓度, 即胞内氨基酸浓度。

2 实验结果

2.1 K⁺/Na⁺浓度比对罗汉果悬浮细胞生长和罗汉果甜苷V合成的影响

初始培养基中K⁺/Na⁺浓度比对于罗汉果悬浮细胞生长和生产影响显著。细胞培养前6 d, 由于细胞处于延滞期, 其生长和代谢缓慢, 因此各处理间差别不明显。当细胞培养第6天进入指数生长期后, 细胞生长(图1-A)和甜苷V的合成(图1-B)迅速增加, 残糖含量(图1-C)迅速降低。培养至第15天时, 15:1处理的细胞干重为11.67 g·L⁻¹, 同时甜苷V含量为0.42 mg·g⁻¹ (DCW), 均为最高水平。比生长速率(图1-D)、产物合成速率(图1-E)和蔗糖消耗速率(图1-F)分别反映其生长、甜苷V合成和耗糖的状态, 即10:1和15:1时比生长速率总体呈现上升的趋势, 15:1时增加速率快于其他组别, 此时细胞的最大比生长速率(μ)达到0.22 d⁻¹; 而产物合成速率(q_p)在第12天之前均为增加趋势, 之后开始下降, 且15:1时的下降趋势较缓。而K⁺/Na⁺浓度比超过15:1时, 细胞的比生长速率、产物的合成速率和蔗糖的代谢速率均呈现显著下降的趋势, 细胞生长和甜苷V合成相对较慢。因此, 初始培养基中K⁺/Na⁺浓度比15:1对细胞生长和产物甜苷V合成均最好。

2.2 K⁺/Na⁺浓度比对罗汉果悬浮细胞钾钠离子吸收与运输的影响

如表1所示, 在K⁺浓度一致条件下, 通过调节

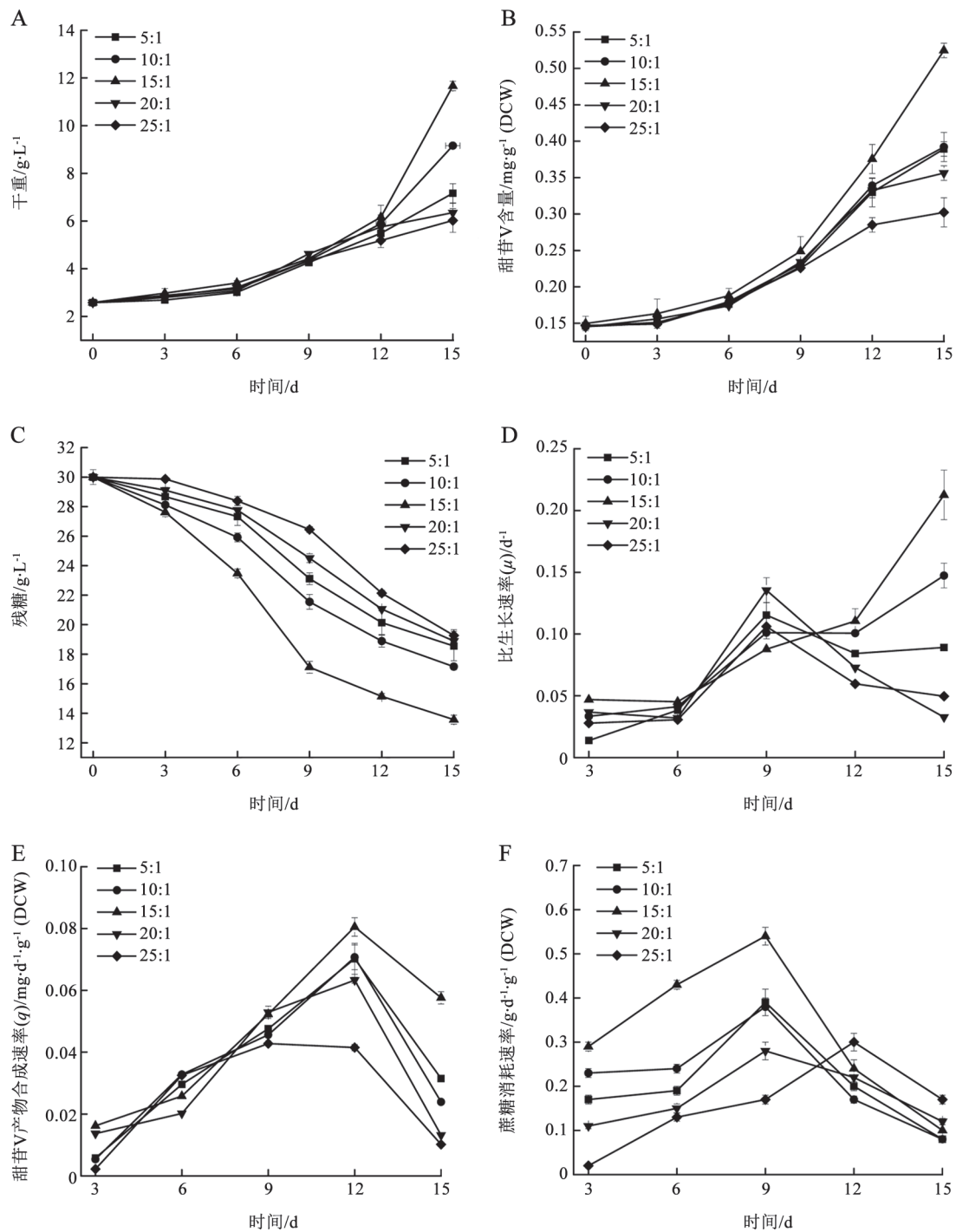


图1 K^+/Na^+ 浓度比对罗汉果悬浮细胞生长和甜苷V合成的影响

Fig.1 Effect of K^+/Na^+ ratios on the growth and mogrosides V production in suspension culture of *S. grosvenorii*

培养液中的 K^+/Na^+ 浓度比发现, 随着初始培养基中 K^+/Na^+ 浓度比的增加, 胞内 Na^+ 浓度一直下降, 而胞内的 K^+ 含量先增加后降低。当 K^+/Na^+ 比为15:1时胞内 K^+ 含量最高, 为 $660 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (DCW); 离子选择性吸收系数 $S_{(K, Na)}$ 随着初始培养基中 K^+/Na^+ 浓度比

的变化而变化, 与胞内 K^+ 浓度趋势一致, 在 K^+/Na^+ 比例为15:1时 $S_{(K, Na)}$ 值达最高, 为0.20。由上述结果推测, K^+/Na^+ 浓度比为15:1时, 细胞吸收利用的 K^+ 含量最高, 离子选择性吸收系数 $S_{(K, Na)}$ 最大, 更有利于罗汉果悬浮细胞生长。

表1 K^+/Na^+ 浓度比对罗汉果悬浮细胞钾钠离子吸收与运输的影响Table 1 Effect of K^+/Na^+ ratios on absorption and transportation of K^+ and Na^+ in suspension culture of *S. grosvenorii*

K^+/Na^+ 浓度比	K^+ 发酵液/ $mg \cdot kg^{-1}$ (broth)	Na^+ 发酵液/ $mg \cdot kg^{-1}$ (broth)	K^+ 细胞/ $mg \cdot kg^{-1}$ (DCW)	Na^+ 细胞/ $mg \cdot kg^{-1}$ (DCW)	$S_{(K, Na)}$
5:1	720	88	580	633	0.11
10:1	700	60	630	304	0.18
15:1	670	40	660	198	0.20
20:1	800	15	500	167	0.06
25:1	840	15	460	125	0.07

2.3 K^+/Na^+ 浓度比对罗汉果悬浮细胞培养过程中胞外有机酸和胞内氨基酸代谢的影响

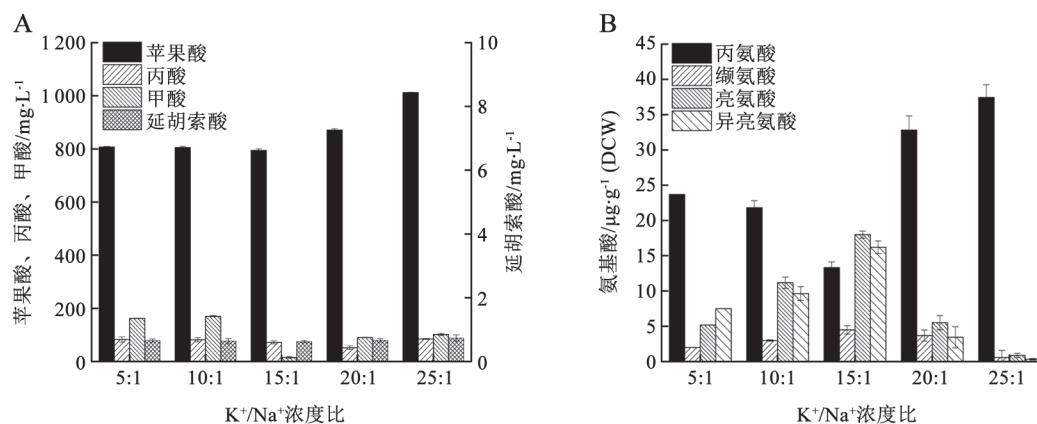
为进一步考察不同 K^+/Na^+ 浓度比对细胞代谢的影响,测定了悬浮培养过程中细胞代谢中间物有机酸和氨基酸的变化。胞外有机酸可检测的主要有苹果酸、延胡索酸、丙酸和甲酸(图2-A),其中延胡索酸和丙酸浓度在不同 K^+/Na^+ 浓度比条件下未有显著变化,而苹果酸和甲酸变化较为明显。苹果酸浓度在5:1~15:1处理条件下变化不大,但之后呈现显著上升趋势。而甲酸随 K^+/Na^+ 浓度比增加呈现先降低后增加的趋势,且15:1时为最低。胞内氨基酸的测定结果(图2-B)显示, K^+/Na^+ 比例为15:1时,胞内丙氨酸含量明显低于其他组别,而支链氨基酸如亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸的浓度显著高于其他 K^+/Na^+ 比例实验组。这些结果表明 K^+/Na^+ 浓度比为15:1时,罗汉果悬浮细胞生长在渗透胁迫下会积累有机酸、氨基酸等渗透调节物质,这些代谢中间物浓度的改变,也反映了不同盐浓度条件下的代谢途径变化。

2.4 K^+/Na^+ 浓度比对罗汉果悬浮细胞中脯氨酸、细胞含水量和培养基渗透压影响

初始培养基中 K^+/Na^+ 浓度比为15:1时,脯氨酸的浓度(图3-A)明显增加,且增加幅度大于25:1处理,与此相对应胞外渗透压则逐渐降低(图3-B),而25:1组别时变化不显著;同时,发现15:1处理时细胞吸水能力比25:1处理的强,使得细胞含水量(图3-C)保持在一定的水平,未大幅度变化。由此推测, K^+/Na^+ 浓度比为15:1时能产生较多的脯氨酸,而脯氨酸可作为细胞的有效渗透调节物质,能够增强吸收,缓和脱水,维持细胞的正常生长。

3 讨论

盐胁迫对于植物细胞来说是一种常见的逆境因子,生物量往往是植物细胞响应盐胁迫的综合表现。本试验中, K^+/Na^+ 浓度比为15:1时,罗汉果悬浮细胞生长量最高,生长速率最快,但比例太高或者太低均不利促进细胞生长(图1-A),这表明最佳的细胞生长状态需要适当的盐分刺激。这与彩

图2 K^+/Na^+ 浓度比对罗汉果悬浮细胞培养过程中胞外有机酸和胞内氨基酸代谢的影响Fig. 2 Effect of K^+/Na^+ ratios on extracellular organic acids and intracellular amino acids in suspension culture of *S. grosvenorii*

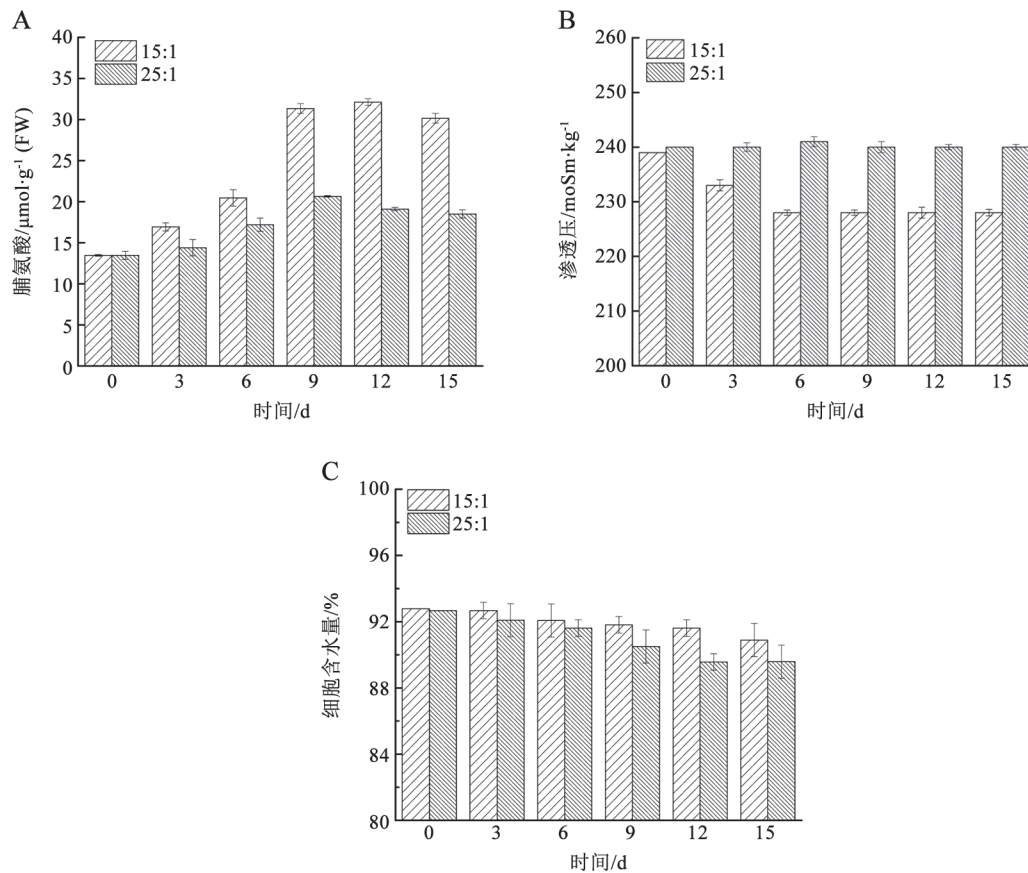


图3 K^+/Na^+ 浓度比对罗汉果悬浮细胞内脯氨酸、细胞含水量和胞外渗透压的影响

Fig.3 Effect of K^+/Na^+ ratios on the proline content, tissue water content and osmolarity in suspension culture of *S. grosvenorii*

叶草(刘爱荣等2013)、唐古特白刺悬浮细胞(倪建伟等2015)、马藜(白文波和李品芳2005)等在盐胁迫的生长状态相似。对于大多数植物来说,在含有盐分的介质中,植物正常生长必需满足两个条件。(1)生长及功能代谢所必需的矿质元素。 Na^+ 是造成植物盐害的重要离子,而 K^+ 是植物生长发育所必需的大量元素和重要的渗透调节组分(白文波和李品芳2005),故盐胁迫下植物细胞的生长与体内离子代谢,特别是 K^+ 和 Na^+ 代谢,是影响细胞生长的主要问题之一。本研究中发现 K^+/Na^+ 浓度比为15:1时 $S_{(\text{K}, \text{Na})}$ 值最大,胞内 K^+ 含量最高,细胞生长量最高,这也一定程度上表明 K^+ 作为必需元素能够促进罗汉果细胞的生长(表1)。(2)渗透的适应性。在有机渗透调节物质中,随着初期培养基中 K^+/Na^+ 浓度比的增加,游离脯氨酸含量呈上升趋势(图3-A),苹果酸、甲酸、延胡索酸和丙酸呈现出一定的变化(图2-A)。有报道称,低浓度盐溶液中,盐生植物有机酸含量很低,而高浓度盐溶液则

大量积累有机酸,因此推测有机酸是在植物平衡无机阳离子和控制细胞pH值中起着重要作用(Parida和Das 2004)。胞内 Na^+ 升高造成的胁迫会引起脯氨酸的积累,而脯氨酸作为一种渗透保护物质(Parida和Jha 2013),能够增强吸收、缓和脱水胁迫、保持膨压,从而改善细胞水分状态,使细胞能够维持一个稳定的渗透环境,保证细胞的正常生长。

在本试验中随着 K^+/Na^+ 浓度比的增加,胞外苹果酸浓度呈现上升趋势,但其在5:1~15:1区间变化不大;而甲酸浓度则是先降低后增加,且15:1时为最低(图2-A)。根据罗汉果甜苷V的合成代谢途径(赵欢等2015)可知,罗汉果甜苷V属于葫芦烷型四环三萜类物质,其生物合成的前体物质是异戊烯二磷酸(isopentenyl diphosphate, IPP)和3,3-二甲基烯丙基焦磷酸(dimethylallyl diphosphate, DMAPP),两者是通过甲羟戊酸(mevalonate pathway, MVA)和甲基赤藓糖醇磷酸化(deoxyxylulose

phosphate pathway, MEP)两条途径形成, MVA途径发生在胞质中, MEP途径发生在质体中(赵欢等2015)。苹果酸和甲酸的变化也在一定程度上表明, 随着 K^+/Na^+ 浓度比增加, 胞内代谢流向TCA循环和氨基酸代谢方向的乙酰辅酶A通量的减少, 往合成甜苷V方向的MVA途径中乙酰辅酶A通量增加。另外, 从中间代谢产物氨基酸的结果来看, K^+/Na^+ 浓度比为15:1时亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸的含量均显著增加, 这主要与辅酶A的合成速率提高有关, 而丙氨酸含量下降, 主要与参与转氨作用的丙酮酸减少有关, 氨基酸的共同作用可能导致乙酰辅酶A含量增加, 从而促进代谢往MVA途径迁移。因此, 通过对代谢物的测定分析, 初始培养基中 K^+/Na^+ 浓度比为15:1时, 能够呈现出TCA循环弱化, 以及EMP途径和MVA途径代谢强化的表现, 促进乙酰CoA往萜类化合物合成方向转化。

综上所述, 初始培养基中 K^+/Na^+ 浓度比对罗汉果细胞的生长和甜苷V生物合成有重要的影响。当初始培养基中 K^+/Na^+ 浓度比为15:1时, 罗汉果悬浮细胞生物量最大, 甜苷V产量最高, 底物蔗糖的代谢速率最快。这可能是因为一定程度盐胁迫条件下金属离子、游离氨基酸、游离有机酸等的共同作用的结果。盐胁迫会使代谢通路发生改变, 当初始培养基中 K^+/Na^+ 浓度比为15:1时, 有机酸和氨基酸的共同作用使得TCA循环代谢强度减弱, 但可增强EMP途径和MVA途径代谢, 从而促进乙酰CoA往萜类化合物合成方向转化。

参考文献(References)

- Bai WB, Li PF (2005). Effects of salt stress on growth of and absorption and transportation of K^+ and Na^+ in *I. lactea* var. *chinensis*. *Soils*, 37 (4): 415–420 (in Chinese with English abstract) [白文波, 李品芳(2005). 盐胁迫对马蔺生长及 K^+ 、 Na^+ 吸收与运输的影响. *土壤*, 37 (4): 415–420]
- Guan LF, Xu MJ (2009). Effects of salt stress on the growth of *Carduus crispus* L. suspension cells and production of flavonoids. *J Anhui Agric Sci*, 37 (28): 13597–13599 (in Chinese with English abstract) [管兰芳, 徐茂军(2009). 盐胁迫对飞廉悬浮细胞的生长及黄酮类物质合成的影响. *安徽农业科学*, 37 (28): 13597–13599]
- Li HS (2000). *Principle and Technology of Plant Physiological and Biochemical Experiments*. Beijing: Higher Education Press, 258–260 (in Chinese) [李合生(2000). *植物生理生化实验原理和技术*. 北京: 高等教育出版社, 258–260]
- Li JR (2017). The development of *Siraitia grosvenorii* cell suspension culture system and its cropreservation method (dissertation). Shanghai: East China University of Science and Technology (in Chinese with English abstract) [李佳瑞(2017). 罗汉果细胞液体悬浮培养体系的建立及细胞超低温保藏方法优化(学位论文). 上海: 华东理工大学]
- Liu AR, Zhang YB, Zhong ZH, et al (2013). Effects of salt stress on the growth and osmotica accumulation of *Coleus blumei*. *Acta Pratacult Sin*, 22 (2): 211–218 (in Chinese with English abstract) [刘爱荣, 张远兵, 钟泽华等(2013). 盐胁迫对彩叶草生长和渗透调节物质积累的影响. *草业学报*, 22 (2): 211–218]
- Liu AR, Zhao KF (2005). Osmotica accumulation and its role in osmotic adjustment in *Thellungiella halophila* under salt stress. *J Plant Physiol Mol Biol*, 31 (4): 389–395 (in Chinese with English abstract) [刘爱荣, 赵可夫(2005). 盐胁迫下盐芥渗透调节物质的积累及其渗透调节作用. *植物生理与分子生物学学报*, 31 (4): 389–395]
- Ni JW, Yang XY, Zhang HX, et al (2015). Growth and physiological response of *Nitraria tangutorum* to salt stress. *Fore Res*, 28 (2): 194–201 (in Chinese with English abstract) [倪建伟, 杨秀艳, 张华新等(2015). 唐古特白刺悬浮细胞对盐胁迫的生长与生理响应. *林业科学研究*, 28 (2): 194–201]
- Parida AK, Das AB (2004). Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicol Environ Saf*, 60: 324–349
- Parida AK, Jha B (2013). Inductive responses of some organic metabolites for osmotic homeostasis in peanut (*Arachis hypogaea* L.) seedlings during salt stress. *Acta Physiol Plant*, 35: 2821–2832
- Wang DM, Jia Y, Huo JZ (2009). Advances in research on effects of salt stress on plant an adaptive mechanism of the plant to salinity. *Chin Agric Bull*, 25 (4): 124–128 (in Chinese with English abstract) [王东明, 贾媛, 霍继哲(2009). 盐胁迫对植物的影响及植物盐适应性研究进展. *中国农学通报*, 25 (4): 124–128]
- Wang T (2016). Specie screening/heterotrophic culture optimization of *Chlorella protothecoides* and research on mechanisms of lipid accumulation under salt (dissertation). Shanghai: East China University of Science and Technology (in Chinese with English abstract) [王涛(2016). 原壳小壳藻筛选/异养培养优化及盐胁迫下油脂积累机理研究(学位论文). 上海: 华东理工大学]
- Yan DL, Zhu XL, Yang QL, et al (2014). Effect of salt stress on the clonal growth and accumulation of Na^+ , K^+ in *Hydrocotyle vulgaris*. *J Zhejiang Fore Sci Tech*, 34 (2): 1–4 (in Chinese with English abstract) [闫道良, 朱祥龙, 杨巧玲等(2014). 盐胁迫对香菇草克隆生长及其钠、钾离子平衡的影响. *浙江林业科技*, 34 (2): 1–4]
- Zeng JH, Song B, Dai P, et al (2012). Establishment and optimization of cell suspension culture system in *Siraitia*

- grosvenorii*. Chin J Exp Tradit Med Form, 18 (2): 124–127 (in Chinese with English abstract) [曾建红, 宋波, 戴平等(2012). 罗汉果细胞悬浮培养体系的建立与优化. 中国实验方剂学杂志, 18 (2): 124–127]
- Zhang JW (2016). *Carthamus tinctorius* cell suspension culture and research of bioreactor scale up (dissertation). Shanghai: East China University of Science and Technology (in Chinese with English abstract) [张建文(2016). 红花细胞悬浮培养及生物反应器放大原理探究(学位论文). 上海: 华东理工大学]
- Zhao H, Mo CM, Tang Q, et al (2015). Cloning, bioinformatics analysis and prokaryotic expression of *SgHMGR* in *Siraitia grosvenorii*. Guihaia, 35 (6): 796–801 (in Chinese with English abstract) [赵欢, 莫长明, 唐其等(2015). 罗汉果*SgHMGR*基因的克隆、分析及原核表达. 广西植物, 35 (6): 796–801]

Physiologically affects of ratio of K^+ to Na^+ on cell growth and mogrosides V biosynthesis in *Siraitia grosvenorii* cells cultivated in suspension culture

CHEN Yu-Xia¹, WANG Ze-Jian¹, XIAO Ci-Ying¹, ZHUANG Ying-Ping^{1,2}, SONG Yun-Fei³, GUO Mei-Jin^{1,2,*}

¹State Key Laboratory of Bioreactor Engineering, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China

²Shanghai Biological Manufacturing Technology Innovation Center, Shanghai 200237, China

³Guilin Layn Biotechnology Company, Guilin, Guangxi 541199, China

Abstract: The effect of K^+/Na^+ ratios on the cell growth and mogrosides V production in suspended *Siraitia grosvenorii* cells culture were investigated in this paper. The results showed that an appropriate ratio of K^+ to Na^+ could significantly improve the cell growth as well as mogrosides V biosynthesis. Under the optimal condition of at 15:1, the intracellular K_{cell}^+ , K^+/Na^+ ratio and $S_{(K,Na)}$ were observed at their maximum values, simultaneously, the highest K^+ uptaken rate and cell growth rate were also obtained. Moreover, through the extracellular organic acid and amino acid profiles it was inferred that at the level of K^+/Na^+ ratio of 15:1, the decrease of TCA metabolic flux as well as the increases of EMP metabolic flux and MVA metabolic flux could lead to the precursor acetyl CoA utilization for mogrosides V production.

Key words: *Siraitia grosvenorii*; suspension culture; K^+/Na^+ concentration ratio; mogrosides V biosynthesis

Received 2018-03-01 Accepted 2018-04-28

This work was supported by the National Science and Technology Major Project (2017ZX07402003).

*Corresponding author (guo_mj@ecust.edu.cn).