

科技动态

苏联工业微生物学研究与开发现状

吴明

(中国科学院微生物研究所,北京)

最近几年,苏联在工业微生物学研究与开发过程中获得了一些可喜的成就,工业规模生产了一些医药用的新产品,例如反转录酶、干扰素,还有用于遗传工程操作试验的多种酶制剂等。随着苏联微生物工业部和卫生部两个中央部级机构的日益频繁的业务交往,进行跨学科、跨部际的交流,导致大规模生产重组型胰岛素和人生长激素。自从这两个部于1985年合并成医药和微生物工业部以来,已与丹麦 Novo 公司谈判商业开发胰岛素,与美国 Monsanto 公司谈判,在苏联几家医疗中心临床试验该公司生产的促生长素。最近苏联又对工业规模生产诸如白细胞介素1和2,以及肿瘤坏死因子发生了兴趣,并且也已进入临床试验阶段^[1-3]。

本文仅就苏联最近在工业微生物学研究与开发的现状作一简介。

(一) 固定化酶在医学、食品和生物传感器方面的应用

苏联科学家历来重视酶学研究,他们在这一领域里的研究水平颇高。最能说明问题的是,为数众多的酶种全都实现了固定化,酶的支持物也实现了多样化,例如微胶囊、膜、由纤维素和葡聚糖或聚乙烯醇组合的凝胶皆可用作酶的载体。

在苏联,酶工程的研究成果优先考虑应用于医疗领域。从1986年起,列宁格勒市的几家主要医院率先采用了体外提纯、精制技术,把具有抗癌活性的进行了固定化处理的L-天冬氨酸酶用来治疗白血病。将固定化酶系应用于某些疾病的疗程也都显示出了效果。例如使用固定化尿激酶和链激酶以治疗血栓;用固定化的诸如胰蛋白酶或胰凝乳蛋白酶之类的蛋白酶去除坏死组织、促进纤维蛋白溶解;使用固定化胃蛋白酶医治消化紊乱症等。

苏联塔林大学的科学家使用固定化 β -半乳糖苷酶分解牛奶中的乳糖是酶工程应用于食品工业的典型例子。 β -半乳糖苷酶经过固定化操作后装配成一种新型的酶反应器,为此,列宁格勒的A. I. Kestner获得了1984年的国家奖。Shemyakin生物有机化学研究所利用固定化酶澄清果汁、葡萄酒之类的饮料,水解蛋白质和果胶;苏联科学家还将此项技术应用于处理农业废弃物,也颇见成效。

苏联科学家在生物传感器领域内虽不及日本那么先进,但却也占据了一个颇为重要的位置。巴库生物化学研究所所长I. V. Berezin将葡萄糖氧化酶固定化在坚硬的支持物和人工膜上装配成功的酶电极能够

氧化葡萄糖、用氢化酶作元件装配成的酶电极能够氧化氢、用乳糖酶作元件装配成的酶电极能够氧化半乳糖。这几种酶皆已组装成有各自特性的生物传感器。

参与生物传感器研制的还有莫斯科电化研究所、艾尔文物理学研究所。后者已成功地组装出葡萄糖氧化酶传感器和尿酶传感器,用它们测定低浓度葡萄糖和尿酸只需数秒钟即可获得应答。克拉斯诺亚尔斯克生物物理学研究所和萨马尔罕医学研究所也分别研究制造成功荧光素酶传感器和免疫传感器。

酶联免疫分析技术主要是根据多克隆抗体原理。这项技术在苏联的发展非常迅速。将它应用于农业部门,可以检测杆状病毒和逆转录病毒;将它应用于人体保健方面,可以诊断甲型和乙型肝炎、SIDA、自我免疫疾病以及检测细菌毒素;将它应用于环境保护方面,可以测量污染率。可以说,现时其它国家使用的几个主要酶系,苏联科学家的实验室都已使用上了。而在酶联免疫分析技术中使用抗生物素蛋白-生物素系统仍处在计划阶段^[4]。

(二) 氨基酸

运用生物工程学手段工业规模生产生物活性物质,特别是生产氨基酸类物质,在苏联首推莫斯科工业微生物遗传与育种研究所。该所在V. D. Debadov领导下将黄色短杆菌(*Brevibacterium flavum*)和谷氨酸棒杆菌(*Corynebacterium glutamicum*)的细胞原生质体进行融合,获得了重组型赖氨酸高产菌株。该菌株还能同时产生亮氨酸和苏氨酸。该所的科学家们还运用遗传工程原理,将合成苏氨酸的基因A.B.C克隆入大肠杆菌pBR322质粒里。转化了的菌株每个细胞能够携带40-50个质粒拷贝,每升发酵液可含有55克L-苏氨酸。此重组型菌株还同时生产高丝氨酸,产量颇高。然而,该项工艺尚不足以放大到工业化规模生产阶段。他们已申请到两项专利,因为此项发明可能适用于生产其它的氨基酸类物质。目前该研究组正从事内容涉及到许多种氨基酸类物质的研究。他们使谷氨酸棒杆菌和各种短杆菌的原生质体进行融合,从中既获得了亮氨酸、异亮氨酸、丝氨酸的高产菌株,也获得了谷氨酸的超产菌株。苏联科学家们还用枯草杆菌(*Bacillus subtilis*)生产色氨酸,已达到工业规模的生产水平;用弗氏柠檬酸菌(*Citrobacterium freundii*)生产酪氨酸,每升发酵液达到45克。

苏联氨基酸的产量尚不能满足本国的需求,所以,这个国家的氨基酸工业的研究与开发策略有二: 潜心

研究微生物的生长;研制适合其生长的设备装置^[4,5]。

(三) 维生素

20 余年来,苏联科学家们一直是采用微生物学方法生产饲料添加剂用的各类维生素。从 1970 年起,基辅微生物学和病毒学研究所就先后获得了硫胺素、生物素、烟酸及维生素 B₆。

核黄素生产已发展到采用遗传工程途径用以提高产率的程度,例如莫斯科工业微生物遗传和育种研究所从 1981 年起在 V. G. Zhdanov 和 A. G. Stepanov 领导的研究组研制成功枯草杆菌工程菌,它所携带的操纵子含有 6 个基因,这些基因都是专异编码核黄素合成酶的。他们从 1984 年起就运用此工程菌发酵生产核黄素,每升发酵液可达 4 克,发酵周期为 35 小时^[4]。

(四) 抗生素

1980 年苏联饲料添加剂用的抗生素,100% 是靠微生物学方法生产提供的,苏联单是生产金霉素的工厂就有 6 家。寻找新抗和提高现有抗生素品种的产率看来只有借助遗传工程的途径了,这也是苏联微生物学家们优先考虑的项目。莫斯科工业微生物遗传和育种研究所 N. Lomovskaya 领导的放线菌及其噬菌体实验室多年来就已注意研究链霉菌的专异性噬菌体 ϕ C31, 据信这个噬菌体可能是一种生产抗生素的潜在性克隆载体。这个研究室的科学家们目前已能在这种噬菌体内克隆染色体 DNA 片段,然后再将此片段整合到细菌染色体内,可标记频度为 40%。这项研究虽然是在莫斯科进行的,但它是与英国著名放线菌专家 K. F. Chater 的合作项目^[6]。

运用遗传工程途径构建抗生素超产菌株还有下列几个研究所在积极进行研究:莫斯科抗生素研究所运用 DNA 片段扩增技术使得每个基因能扩增到 500 个复制子;基辅微生物学和病毒学研究所运用原生质体融合法或借助脂质体将 DNA 片段引入到原生质体内。苏联科学家运用固定化酶工艺迅速发展起来了 β -内酰胺类抗生物质的生产,并已进入到工业规模生产阶段。青霉素类有二甲氧苄青霉素、青霉素 P-12、二氯青霉素 P-12 以及 α -氨基苄青霉素(羧苄青霉素)等都是借助固定化青霉素酰胺酶或苄基青霉素酰基转移酶半合成方法生产的,在里加是从 1975 年开始生产的,在沙浪斯克是从 1976 年开始生产的。苏联里加市的抗生素生产工厂规模最大,他们采用的这类现代生物工程新手段生产抗生素,其效率比化学法高。

苏联抗生素工业界还注意研究其他很有希望的 β -内酰胺类抗生素,例如头孢菌素、尤其是氨基苯乙酰去乙酸头孢菌素格外受到注意。固定化酶工艺应用于生产半合成抗生素取得丰硕成果。原经互会成员国曾就这一课题进行过专门的讨论,并拟就了一项专门的合作计划,由莫斯科市的抗生素主要研究机构牵头。现在经互会解散,这项计划的命运尚不得而知^[7,8]。

(五) 单细胞蛋白

苏联畜牧业不景气,关键问题是饲料蛋白奇缺。最近 30 年来,苏联发展了微生物学方法生产单细胞蛋白,以缓解国内饲料蛋白不足的状况。一个国家的资源蕴藏情况在很大程度上影响着这个国家对生产工艺的选择。苏联的烃类物质、石油、天然气、泥煤、林产品、农业废弃物下脚料等资源贮量十分丰富,还有苏联工业微生物学水平在世界上所占据的位置,这些都有利于苏联选择以工业微生物学的生产方法,来解决这个国家长期来蛋白质不足的问题。除去上述的资源外,苏联国内还有为数众多的造纸厂排出的亚硫酸废液、木质纤维素废料、农业秸秆、淀粉、马铃薯等废弃物。从粗油提炼后的液态烃(正-烷烃)、天然气、泥煤、氢等底物皆可用来生产单细胞蛋白。发展单细胞蛋白工业首先面临一个最实际的问题,亦即产品的无菌保存。目前他们注重生产耐热的酵母,这些酵母能够在较高温度条件下利用正-链烷。环境污染问题也是苏联发酵工程师们比较头痛的问题,这是由于生产这类单细胞蛋白的工艺系统内的废弃物缺少净化系统之故。

苏联微生物学家们在经过多年的实验之后认为,烷烃还不是生产单细胞蛋白的理想原料。他们现在考虑利用天然气作为原料,并且已购置安装年产 300 吨至 50 万吨不等的单细胞蛋白工厂。跟英国帝国化学工业公司进行了旷日持久的谈判,引进了生产商品名为“Pruteen”的单细胞蛋白生产技术,利用由天然气转化过来的甲醇为底物生产单细胞蛋白。英国提供技术及装置,苏联则用甲醇偿还所需费用,已于 1987 年最终签订了合同。此外,苏联还考虑建立一座利用乙醇为底物,年产 10 万吨的单细胞蛋白工厂^[9]。

苏联微生物学家们新开发的技术是产氢单胞菌(*Hydrogenomonas*) 的利用,因为海水提炼和煤的精炼都会产生大量的氢。产氢单胞菌菌体的蛋白质含量最高可达 70%,而用其它的底物生产的菌体却只有 55% 的蛋白含量。苏联普希金诺生物物理研究所建立了第一座生产这种菌体蛋白的工厂,已于 1975 年投入运营。苏联随后又建立了一些其他的工厂,位于格罗得诺的工厂也已于 1987 年进入工业规模的生产阶段。

类似青贮饲料、生物能源之类的应用微生物学的研究与开发在苏联也有其特色,例如把木质素和农业废弃物转化成为甲烷、乙醇及其它烃类物质的技术等。莫斯科“巴廖研究所”的科学家们还运用固定化酶的转化工艺生产单细胞蛋白,或从棉花植物的废弃物中生产葡萄糖。酶源为长分支木霉、绿色木霉(*Trichoderma viride*)、白地霉(*Geotrichum candidum*),但工业规模的开发迟迟不前。

当一些国家放弃单细胞蛋白工业之际,苏联却不停地发展这一领域的研究。且从 1960 年以来,产量不

断上升,到1980年已占全世界单细胞蛋白产量的首位。在1986—1990年新的五年计划期间,已从1986年的270万吨上升到1990年的300万吨的规模。现在他们正在从泥煤以及豆科植物获得蛋白质^(4,9)。

(六) 细菌冶金

苏联在这一领域内的科研水平一向是举世瞩目的。微生物学研究所利用微生物学方法提取贵金属以及从贫矿浸提镍或钴,从此开拓出了细菌冶金的新领域。1987年在列宁格勒市还召开了“生物学途径从矿石中提取金属”的讨论会,会间乌兹别克斯坦生物有机化学研究所的科研人员介绍了三座冶炼厂生物法分离贵金属的情况。俗称“金蛋鸡”的金矿石中含有两种细菌,即氧化亚铁硫杆菌(*Thiobacillus ferroxydans*)和巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*),是它们完成了从砷-金浓缩物中提取金的全过程。

苏联科学家们还运用酵母和真菌从矿石溶液中提取钨等稀有金属,其效率高于离子交换树脂法。钨和钼是伴生矿,苏联黑海铁矾土厂运用微生物学工艺回收金属钨。中亚细亚的一家工厂正试验用生物学方法提取钨,用包括细菌、真菌、酵母在内的20株混合菌群从矿石溶液中吸附金属钨。其中以少根根霉(*Rhizopus arrhizus*)的吸附率为最高,暗色假丝酵母(*Candida scottii*)次之,黑曲霉(*Aspergillus niger*)也具有显著的吸附金属的特性。其中少根根霉把高效率吸附金属的性能和对金属的高亲和力集于一身,每克菌体量差不多能浸提170毫克钨。

微生物细胞主要是吸附钨的半聚合物,该工艺适合工业开发;另外,还有从金属钨中分离钨。由于金属钨是稀有金属,酵母细胞浸提钨有特殊的本领,经过4次反复吸附后,提取率可达98.8%,很有开发价值⁽¹⁰⁾。

(七) 菌肥

苏联拥有广阔的沼泽地,由于沼泽地含水量高,排泄不出去,中间含有大量未分解有机物。按一公顷计算,深20公分的泥炭层,其含氮量达数千公斤,其它元素如磷、钾、钠及其它营养物质共达数百公斤。但它们都是以化合物形式存在在有机物中,有96%是植物所不能利用的。苏联微生物学家在沼泽地上施加石灰、矿物肥料及其它微量元素,每公顷再施加10公斤蛋白

质饲料酵母,这样就加速沼泽地有机物分解、生成可被植物利用、吸收的矿化物,当年就可以获得好的收成,蔬菜产量比对照提高4—5倍;马铃薯每公顷可收获9.12吨,植株平均高度增加一倍多;粮食作物成活率高,抗霜冻能力强,耐涝,不易倒伏,使农业成本降低80%⁽¹¹⁾。

苏联西伯利亚康斯克-阿钦斯克地区蕴藏着丰富的劣质煤,约有7亿吨。它们虽然热效率差,但却含有60%的腐植酸。苏联科学家设计出了一套细菌转化发酵装置,将这些劣质煤转化成腐植质。该装置是使用生活垃圾和工业废水净化后所获得的活性污泥所含的细菌,使用时煤粉填入此装置内,加水,经6—8小时,装置中的细菌使这类的劣质煤转化成为悬浮液腐植质,而对照组要完成此转化过程却需要10年之久。细菌产生的这种腐植质含有丰富的碳水化合物,酯类和各类氨基酸,无毒,成本低,作为肥料施于大田,使用方便。成本只及化学法的50%,而黄瓜产量高出63%⁽¹²⁾。

如上所述,苏联工业微生物学已取得值得注意的进展,而实际上其成果能见之于市场上的产品并不多。

参 考 文 献

1. Munishkin A V et al.: Nature, 333(6172): 473, 1987.
2. Voloshin C N et al.: Nature, 333(6172): 475, 1987.
3. Rich V: Nature, 328(6130): 467, 1987.
4. Graf H et al.: Biofutur, 75: 16, 1989.
5. McGraw-Hill's Biotechnology Newswatch, 3(10): 3, 1983.
6. McGraw-Hill's Biotechnology Newswatch, 7(20): 1, 1987.
7. McGraw-Hill's Biotechnology Newswatch, 5(20): 5, 1985.
8. Industrial & International Biotechnology, 7—8: 12, 1987.
9. Carter G B: New Scientist, 90(1250): 216, 1981.
10. McGraw-Hill's Biotechnology Newswatch, 10(15): 5, 1990.
11. The Latest Science & Technology New Digest, 2(4): 29, 1989.
12. The Latest Science & Technology New Digest, 2(4): 29, 1990.