



微生物生产海藻糖及其应用前景

罗 明 典

(中国科学院微生物研究所, 北京 100080)

在自然界有些生物能够在脱水情况下连续数年保持生命状态, 一旦遇水又重新恢复生机, 其重要原因在于这些生物细胞含有大量海藻糖之故, 这类糖由两个葡萄糖分子聚合组成的双糖, 分子式为 $C_{12}H_{22}O_{11} \cdot 2H_2O$, 分子量 378.33u。在缺水情况下它能保护蛋白质, 使其结构不受破坏^[1]。被列入蓝细菌类的念珠藻属的地木耳 (*Nostoc commune*), 耐旱能力特强, 用它制成标本, 保存 85 年, 只要给它一定水分仍能复活, 这是该生物细胞表面结构含有胶质层(或粘液层), 其中多糖物质起重要作用。现代研究结果表明, 不仅仅干燥 80 多年的原核生物在适宜条件下能复活; 而且一些真核生物如面包酵母、轮虫和线虫等在完全干燥失水后亦能复活, 人们把这种在干燥失水状况下具有复活能力的生物称为隐生生物, 即它的生命代谢活力潜伏在机体之内而暂不表现。其重要之点在于该生物富含稳定的海藻糖而起作用, 使显然已经“死亡”(停止代谢活力状态)的这些生物得以复活。由此可见, 研究及生产这种奇妙的海藻糖有着非常重要的价值。它不仅能使一些停止代谢活动的生物恢复生机, 而且在许多方面有着广阔的应用潜力。

由于这类双糖具有耐干燥、耐冷冻、保湿、低热值和防止虫牙等效应, 又广泛存在于植物、昆虫和酵母以及其他微生物之中, 借助微生物技术及生物技术开发海藻糖有其独特的优越性。近些年来, 微生物发酵生产海藻糖及生物技术应用与海藻糖的开发取得一些进展。日本一家味之素公司首先利用一种氨基酸生产菌于体外培养条件下大量生产海藻糖, 进入实用化, 实现工业化生产, 生产成本已突破每公斤 3000 日元, 为扩大需求, 正在研究把成本降到每公斤

1000 日元的目标^[2]; 出售样品时曾以每公斤 3 万日元的高价, 后来降到每公斤 2 万日元。在美国, 从酵母中提取的海藻糖, 每公斤 200 美元^[2], 看来, 降低生产成本仍需更大的努力。提高“种子”活力和产率, 多途径开发海藻糖生产源是一个重要方面, 文献中报道: 日本用 *Catellatospora ferruginea* 生产海藻糖, 其产率达 70%^[3]; 捷克用面包酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 生产结晶 α -海藻糖, 先用乙醇提取, 去固体物, 使海藻糖浓缩到 20%~30%, 再用超滤等方法提纯, 浓缩到 40%~85%^[4], 再进行结晶, 收获较高产量。除了上面提到的微生物生产海藻糖之外, 某些食用真菌或药用真菌包括其突变株和经遗传改造的菌株均有生产海藻糖的巨大潜力。据报道有记载的真菌有 20 几个属 33 个种^[5], 如奇果菌 (*Grifola*)、侧耳 (*Pleurotus*)、离褶伞 (*Lyophyllum*)、香菇 (*Lentinus*)、蘑菇 (*Agaricus*)、异栓菌 (*Corirolellus*)、栓菌 (*Trametes*)、革柄菌 (*Lenzites*)、裂褶菌 (*Schizophyllum*)、革耳 (*Panus*)、靴耳 (*Crepidotus*)、灼孔菌 (*Laetiporus*)、拟多孔菌 (*Polyporellus*)、梭孔菌 (*Favolus*)、*Trichaptum*、小奥德蘑 (*Oudemansiella*)、沿丝伞 (*Naematoloma*)、赤褶菇 (*Rhodophyllum*)、粘褶菌 (*Gloeophyllum*)、层孔菌 (*Fomes*)、*Canoderma*、扁芝 (*Elfvigia*)、拟层孔菌 (*Fomitopsis*)、假蜜环菌 (*Armillariella*)、*Camptromyces*、鳞伞 (*Pholiota*)、口蘑 (*Tricholoma* spp.) 等均是开发海藻糖的菌物种子源^[6]。这里特别值得注意的是某些蘑菇, 所含海藻糖占其干重的 11%~15%, 有人称这

1995-09-29 收稿

种双糖为蘑菇糖。国内外把目光注视栗蘑* 的开发,它又称灰树花(*Grifola frondosa*),日本称它舞茸(*Maitake*),美国称林鸡(*Hen of the woods*),我国四川把它叫佛菌,福建称它为重菇,也有叫莲花菇;北京延庆称它甜瓜板或叶奇果菌,河北省称栗子蘑或栗蘑。其价值在于含有多糖、双糖、多种维生素、微量元素及其它有效活性成分,海藻糖的含量比香菇、金针菇都要高。看来,从蘑菇类中开发双糖、多糖乃是医药界的一个重要课题。

还有一些细菌也具有产生海藻糖的能力,如革兰氏阴性菌的微球菌(*Micrococcus*)变种 No39 和 *Deinococcus proteolyticus* IFO15345 能制造海藻糖^[7],棒杆菌(*Corynebacterium melassecola* 285)以糖蜜、尿素等组成培养基,于 pH7.3、好气振荡培养 30h,可生产海藻糖 0.5g/dL,而对照只有 0.1g/dL^[8];也有某些细菌产生的酶得到利用,如根瘤菌、节杆菌、短杆菌及微球菌产生一种分子量为 57000~68000u 的酶,以淀粉为底物生产海藻糖,这些均有利于工业化制造海藻糖,而这种糖很容易组入到所需研制的产品中。因此,把它作为一种保存剂、干燥剂和稳定剂用于食品、化妆品及医药产品生产^[9,10]是有潜力的。

生物工程技术为研制海藻糖开辟一条新途径。美国 Calgene 公司用“工程大肠杆菌”开发海藻糖;芬兰 Alko 公司获得酵母海藻糖合成基因的专利;这样用“工程生物”生产海藻糖将展现新的前景。美国该公司打算与英国合作开发用“工程微生物”生产海藻糖的技术,预计这项技术会有较大发展。尽管其海藻糖发酵产品在日本已进入商业化生产^[11],但降低生产成本仍然是今后攻克的目标。除了“工程微生物”生产海藻糖外,构建“转基因植物”用于海藻糖的开发在国外颇为活跃。美国 Calgene 公司研究人员将葡萄糖转化为海藻糖的基因通过一种细菌导入植物,构建的重组植物具有生产海藻糖能力,并认为葡萄糖转为海藻糖时完全受有关酶基因的控制。荷兰植物生物技术公司等单位利用重组植物生产这种具有稳定物质特性的海

藻糖,该植物就是甜菜和马铃薯,它们能大量生产较为廉价的海藻糖,将于 1999 年该公司将含植物海藻糖的产品推向市场。另外,该公司还与美国一家公司合作,同样用大肠杆菌的海藻糖合成酶基因导入甜菜、马铃薯中,以增加海藻糖的含量,目的在于使这些植物增强抗旱性和耐寒性。荷兰一所大学研究人员用枯草杆菌编码果聚糖的基因(*sacB*)导入烟草植物,构建的这种转基因烟草植株在干旱条件下的生长速率比对照组植株快 50%,在此逆境下它倒是生长旺盛的,贮存较多果聚糖,这表明果聚糖亦具抗旱作用;可是在正常情况下,此糖并不改变植株生长速度和产量,由此果聚糖的抗旱性也得以证实。因此,植物特别是粮食作物、经济植物体内富含海藻糖或果聚糖的话,不仅具有增强抗旱能力,而且还具耐寒能力。

海藻糖(trehalose)不论其来源如何,但其实用性已展现出很好的发展前景。

1. 食品工业的应用:海藻糖用作食品添加剂或食品甜味剂,可使某些干燥食品在重新得水后仍保持其原有性状,如炒鸡蛋及果泥干燥后重新润湿,在味、香、质地与新鲜食物一样;还有一些食品如肉类、水果等在脱水前添加这种海藻糖就能使这些食品在货架上长期存放。当这些食品再水化时,恢复其原来的颜色、味道和组织,甚至维生素类在脱水期间也能保留。这样,完全有可能使水果如柠檬、草莓等和蔬菜存放的寿命无限,使之持久保持新鲜,真不愧是一种很好的食用干燥剂或保鲜剂。

2. 医药工业的应用:有些疫苗如小儿麻痹症疫苗,藏于常规条件下很娇弱,易导致失活,

* 此蘑菇学名在文献中也有叫 *Polyporus frondosus* (树花多孔菌),含还原糖 47.02% (干重);戊聚糖 2.72%,甘露醇 7.48%,Vtc(还原型)12mg/100g(干品),VtD225mg/100g,烟酸 9.1mg/100g,其含多糖(grifolan)以葡聚糖为主,其中带 6 条链的 $\beta(1,3)$ 葡聚糖占相当大比重;主要微量元素有钙、铁、锌、硒、铜、铬等,其含量均高于其它食用菌,必需氨基酸中的异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸均高于其它食用菌,所含多糖的抗癌能力优于香菇多糖(lentinan)及云芝多糖等^[5]。

用海藻糖来干燥此种活疫苗,易于保藏,说得上是一种很好的医用干燥剂,重新得水后使用极为方便有效。WHO 很重视这种保护剂,它为发展中国家解决口服这种疫苗问题带来方便。这种疫苗的诞生,证明它与海藻糖溶液一起干燥,重新得水后保持原活性,45℃时,其稳定性相当于液态4℃以下保存。使可能到公元2千年消灭小儿麻痹症的目标得以实现。另外,海藻糖不仅可用于疫苗保存,而且还可使激素、血液及其成分稳定化。其实用性还在于对生物高技术产品的保存起重要作用,如基因工程所用的DNA限制内切酶,常规条件下不稳定,易失活;单克隆抗体(Mabs)以及其它“工程产品”如重组人蛋白,因子Ⅷ、人生长激素等均可用海藻糖保存为最佳,像DNA限制内切酶于70℃保存35d仍具活性,这样就不用担心新产品的贮存、运输和产品活性问题。不过在研制病毒疫苗产品过程中仍存在相当量的病毒失活问题。

3. 农业方面的应用前景:前面已提及通过生物技术完全有可能构建含海藻糖的转基因植物,这样,为培育抗旱转基因植物开辟新途径,随着研究的深入,基因工程技术的发展,构建抗旱农作物新品种将大有希望。其实,含海藻糖的转基因植物的建成,不仅仅是提高作物的抗旱能力,而且能使作物在收获加工后显得新鲜、更具有浓浓的风味如甜味水果、蔬菜及其他产

品。此外,高含量海藻糖的作物与其具有较好耐冻性有密切关系。由此看来,抗旱植物的建成及其发展将有可能为抵抗旱灾、冻灾以及改造沙漠、绿化荒旱地做出重要贡献。

总之,多功能、多用途的海藻糖通过微生物发酵途径大量生产有潜在的优势,它不仅在食品、医药工业方面作贡献;而且更有效发挥“抗旱转基因植物”和“工程微生物”的特定功能,将进一步促进“抗旱农业”的发展。对于海藻糖为什么有如此奇妙的作用,也就是说其作用机制如何,尚需进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Anon. Biotechnol, 1994, 12(13): 1328~1329.
- [2] Anon. Nikkei Biotechnol, 1994, June, 20, p.7.
- [3] Kyowa-Hakko. Derwent Biotechnol Abst, 1995, 14(2): 07216.
- [4] Bleha M, Prchlik J, Janousek V, *et al.* Derwent Biotechnol Abst, 1995, 14(12): 07223.
- [5] 谢开云主编,燕山片麻岩山区农业综合开发,北京:中国农业科技出版社,1995,80~104.
- [6] Takahashi E, Saitoh E, Wada T, *et al.* DBA, 1995, 14(24): 14806.
- [7] Myagawa K, Kanegae K, Kizawa H, *et al.* Chem Abst, 1995, 122(9): 104062a.
- [8] Shibuya J, *et al.* JP 06,311,891, 1994, November, 8.
- [9] Maruta K, *et al.* EP 628, 630, 1994, December, 14.
- [10] Salek A T, Arnold W M. Chem Abst, 1995, 123(17): 225975e.
- [11] Anon. Nikkei Biotechnol, 1994, July, 4, p.9~10.