

海洋微生物胞外多糖结构与生物活性研究进展*

张姗姗 王长云** 魏晓蕾 李 亮

(中国海洋大学海洋药物研究所海洋药物教育部重点实验室 青岛 266003)

摘要: 海洋微生物胞外多糖结构和功能的特异性源于海洋特殊环境, 对其研究具有重要的理论和应用价值。综述了海洋微生物胞外多糖的结构及其生物活性研究进展, 展望了研究及应用前景。

关键词: 海洋微生物, 胞外多糖, 结构, 生物活性

中图分类号: Q93 **文献标识码:** A **文章编号:** 0252-2654 (2007) 01-0153-04

Progress of the Research on the Structure and Bioactivities of Marine Microbial Exopolysaccharide*

ZHANG Shan-Shan WANG Chang-Yun** WEI Xiao-Lei LI Liang

(Institute of Marine Drugs, Ocean University of China; Key Laboratory of Marine Drugs, Ministry of Education, Qingdao 266003)

Abstract: It is significant for theory and application to study on marine microbial exopolysaccharides with differential structures and activities endowed by the specific marine environment. The recent progress of the research on the structures and bioactivities of marine microbial exopolysaccharides was reviewed, and the prospect of the research and development of the marine microbial exopolysaccharides was also expected.

Key words: Marine microorganism, Exopolysaccharide, Structure, Bioactivity

海洋微生物所处的高盐、高压、低温、寡营养的特殊环境, 赋予其独特的生化结构和生存机制^[1]。海洋微生物胞外多糖正是其在生长代谢过程中分泌到细胞壁外的多糖或多糖复合物, 以适应其生存环境, 维持生命活动^[2]。20 世纪 80 年代以来, 海洋微生物胞外多糖独特的化学结构和生物活性研究在海洋生态学、微生物学特别是药学领域受到广泛关注^[3,4]。近年来, 海洋微生物胞外多糖的结构及生物活性研究取得了显著进展, 本文对此进行了综述, 并展望了其研究及应用前景。

1 海洋微生物胞外多糖结构研究

已有的研究表明, 海洋微生物胞外多糖具有多样性、复杂性和特殊性。这类多糖大多是由多种单糖按照一定比例组成的杂多糖, 其中葡萄糖、半乳糖和甘露糖最为常见; 另外还含有葡萄糖醛

酸、半乳糖醛酸、氨基糖和丙酮酸等。结构的多样化使得海洋微生物胞外多糖具有许多特殊的理化特性, 在医药、化工等领域具有广阔应用前景。

1.1 源于一般海洋环境微生物的胞外多糖 最早对海洋微生物胞外多糖的研究, 主要集中于一般海洋环境的微生物产生的胞外多糖。早在 1983 年, Boyle 等^[5]就对源于两种潮间带细菌的胞外多糖进行了研究, 发现两者均由葡萄糖、半乳糖和甘露糖构成, 后者还含有丙酮酸。源自海洋沉积物的海洋假单胞菌 *Pseudomonas* sp. strain S9 能产生一种由葡萄糖、N-乙酰葡萄糖胺和 N-乙酰半乳糖胺构成的胞外多糖, 可以抑制蛋白质合成和增加黏附能力, 从而保证该菌在恶劣条件下也可以生存。Lee 报道^[6], 从济州岛海洋沉积物中分离到的细菌 *Hahella chejuensis* gen. nov., sp. nov. 产生一种胞外多糖, 分子量大于 2,000 kD, 由半乳糖、葡萄

* 国家自然科学基金资助项目 (No. 30572314)

山东省优秀中青年科学家科研奖励基金 (No. 03BS109)

中国海洋大学留学回国人员基金 (No. 200206)

** 通讯作者 Tel: 0532-82031503, E-mail: changyun@ouc.edu.cn

收稿日期: 2006-03-15, 修回日期: 2006-04-17

糖、木糖和核糖构成,具有良好的乳化性,可用作乳化剂。最近,从中国黄海沉积物中分离到的丝状真菌 *Keissleriella* sp. YS4108 (后更正为 *Phoma herbarum* YS4108^[7]) 获得胞外多糖 EPS2, 平均分子量为 130 kD, 由半乳糖、葡萄糖、鼠李糖、甘露糖和葡萄糖醛酸构成^[8]。作者最近对我国海域微生物进行了筛选,从青岛胶州湾海泥中获得一株海洋真菌 KLA03,从其发酵液中分离鉴定出一种甘露聚糖,由 1→2 键合的甘露糖构成主链(论文在整理中)。

1.2 源于海洋生物共附生微生物的胞外多糖 海洋生物共附生微生物与其宿主(大型生物)具有紧密的共生或附生关系。研究发现,共附生微生物可能参与大型宿主生物的生物合成、代谢及其它生命活动。共附生微生物胞外多糖的特殊结构和功能已引起海洋化学生态学领域的关注。分离自东方牡蛎 *Crassostrea virginica* 的海洋细菌 *Shewanella colwelliana* 可产生一种由甘露糖、葡萄糖、半乳糖和丙酮酸构成的酸性胞外多糖。海洋生物附着弧菌 *Vibrio alginolyticus* 产生的胞外多糖由葡萄糖、氨基阿拉伯糖、氨基核糖和木糖构成,分子量为 6,390 kD,其溶液具有较好的流变性,但对高温和强碱不稳定^[9]。从南海海洋红树林内生真菌菌体中分离得到一种胞外多糖(分子量 34 kD),主要由葡萄糖、半乳糖和少量木糖组成,还含有 35.12% 的葡萄糖醛酸^[10]。近年来,海洋热泉生物共附生微生物胞外多糖的研究已引起特别关注,这对揭示热泉生物生存机制和生命奥秘具有重要意义。

1.3 源于海洋热泉微生物的胞外多糖 20 世纪 90 年代开始,随着深海探测技术的发展,对深海热泉微生物的研究成为可能。Vincent 等发现,分离自东太平洋深海热泉多毛环节动物 *Avinella pompejana* 外皮的可变单胞菌 *Alteromonas* sp. strain HYD1545 能产生一种酸性胞外多糖,由葡萄糖、半乳糖、葡萄糖醛酸、半乳糖醛酸和 4,6-丙酮酸半乳糖构成。Cambon-Bonavita 等^[11]从该热泉动物外皮分离到的另一种可变单胞菌 *A. macleodii* subsp. *fijiensis* HYD657 发酵液中发现了—种分子量为 1,600 kD 的胞外多糖,由葡萄糖、半乳糖、鼠李糖、岩藻糖、甘露糖、葡萄糖醛酸、半乳糖醛酸和 3-乳糖葡萄糖醛酸构成。

Guezennec 研究小组对源于深海热泉的真细菌胞外多糖的化学组成和结构进行了研究,并对其进行了一系列报道。从深海热泉假可变单胞菌属 (*Pseudalteromonas*) 一种细菌获得的胞外多糖 HYD1574 由葡萄糖、半乳糖、甘露糖、鼠李糖和葡萄糖醛酸构成^[12]。1996 年从 North Fiji Basin 深海热泉分离出五株可产生胞外多糖的细菌,其中一株可变单胞菌 *A. macleodii* subsp. *fijiensis* (ST716) 分泌的胞外多糖与黄原胶相似,由葡萄糖、半乳糖、甘露糖、葡萄糖醛酸和半乳糖醛酸 (1.3:1:1.2:1.5:0.7) 构成;两株假可变单胞菌产生了与前者组成相同的多糖 (1.4:1:0.4:0.6:0.5);另一株假可变单胞菌产生多糖除上述单糖外,还含有岩藻糖和核糖;一株弧菌属细菌产生的多糖不同于前者,主要含糖醛酸和己糖胺。后者的结构类似于糖胺聚糖肝素的结构,在制药领域具有应用潜力^[13,14]。1998 年又报道可变单胞菌 *A. macleodii* subsp. *fijiensis* 产生的胞外多糖是由葡萄糖、半乳糖醛酸、半乳糖、葡萄糖醛酸和 4,6-丙酮酸甘露糖构成的支链化六糖重复单元结构^[1]。分离自加利福尼亚深海热泉附近的可变单胞菌 *A. infernus* sp. GY785 产生的两种不同的胞外多糖,其中一种水溶性胞外多糖由葡萄糖、半乳糖、葡萄糖醛酸和半乳糖醛酸构成^[15]。1999 年,报道了两株分离自东太平洋深海热泉细菌产生的胞外多糖,弧菌 *V. diaholicus* 产生的胞外多糖是由 N-乙酰葡萄糖胺、葡萄糖醛酸和 N-乙酰半乳糖胺构成的直链状四糖重复单元结构^[16];而假可变单胞菌 *P. HYD 721* 产生的胞外多糖由葡萄糖、半乳糖、甘露糖、鼠李糖和葡萄糖醛酸 (2:2:2:0.8:1) 组成,且是一个支链化的八糖重复单元结构 (图 1)^[17]。

Dubreucq 等 (1996 年) 也研究了源于东太平洋的深海热泉细菌产生的胞外多糖,发现菌株 *A. sp.* 1644 产生一种含有新的葡萄糖醛酸衍生物 3-O-[(R) -1-乙酰基] -D-葡萄糖醛酸的胞外多糖。Bozzi 等 (1996) 发现此胞外多糖对一价和二价离子具有明显的亲和性,尤其是 Mg^{2+} 。Nicolaus 等^[18]报道深海热泉细菌 *Geobacillus* sp. 可产生 3 种胞外多糖,其中 EPS1 和 EPS2 均由甘露糖、葡萄糖和半乳糖组成,区别在于各单糖的比例不同;EPS3 是由半乳糖、甘露糖、葡萄糖胺和阿拉伯糖

构成的五糖重复单元。Roger等^[4]对深海热泉嗜温菌株 *A. infernus* 产生的胞外多糖进行了结构研究,

此多糖由九糖重复单元构成(图1)。

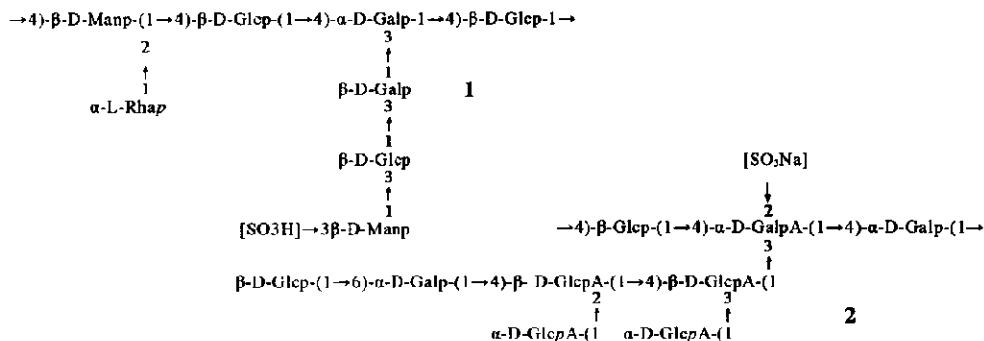


图1 P. HYD 721 胞外多糖(1)和 *A. infernus* 胞外多糖(2)的结构

近年,也有对浅海热泉微生物胞外多糖的研究报道。Maugeri等^[19]报道了分离自浅海热泉的细菌 *Bacillus* 产生的胞外多糖,此多糖是含有吡喃甘露糖苷的四糖重复单元。Nicolaus等^[20,21]报道了分离自意大利 Flegrean Ares 浅海热泉的嗜热海洋细菌产生的胞外多糖,其中,4001-EPS是由甘露糖、葡萄糖为主构成的分子量为380 kD的甘露聚糖,还含有微量的半乳糖和甘露糖胺,其初级结构比较复杂,是一个重复的七糖单元。

2 海洋微生物胞外多糖生物活性研究

2.1 抗肿瘤活性

对海洋微生物胞外多糖的抗肿瘤活性研究较早,也是活性研究的重点之一。Umezawa等(1983年)对源于海水、海泥和海草的167株细菌的胞外多糖进行抗肿瘤活性筛选,发现6%的多糖有明显的抗 S_{180} 活性。分离自 Saga-mi 海湾海藻表面的湿润黄杆菌(*Flavobacterium uliginosum*) MP-55产生的由葡萄糖、甘露糖和岩藻糖(7:2:1)构成的胞外多糖 Marinactan 具有显著的抗肿瘤活性,当以10~50 mg/kg 剂量给药10d时,发现对昆明种小鼠 S_{180} 肉瘤的抑制率为70%~90%,已作为多糖类抗肿瘤新药进入临床研究,开辟了海洋微生物胞外多糖药用的先河。郑忠辉等^[22]和黄耀坚等^[23]从厦门海区潮间带动植物体及底泥分离到177株海洋细菌中筛选出一株高产胞外多糖的土壤杆菌属(*Agrobacterium* sp.)菌株1202,其产生的胞外多糖在体外可显著促进昆明种小鼠脾淋巴细胞增殖和产生IL-2,在体内可提高小鼠脾指数、抗体积数、促进迟发型超敏反应

(DTH)和激活小鼠NK细胞、脾淋巴细胞和巨噬细胞。2006年Arena等^[24]研究了分离自意大利 Vulcano 岛浅海热泉的耐热菌株 *Bacillus licheniformis* 产生的胞外多糖 EPS-1,发现 EPS-1 可以削弱人体外围血液单核细胞(PBMC)中HSV-2的复制,但在WISH细胞中没有此作用。上述对海洋微生物胞外多糖抗肿瘤作用及其机理的探讨,显示了其作为抗肿瘤药物的开发前景。

2.2 免疫增强活性

有报道采自厦门海区潮间带的海洋放线菌中有3株产生的胞外多糖在体内外具有较强的免疫增强活性,其中链霉菌(*Streptomyces* sp.) 2305菌株产生的胞外多糖具有显著的非特异性免疫、细胞免疫及体液免疫增强活性^[25]。从南海海洋红树林内生真菌获得的胞外多糖 W_{21} ,体外显示细胞毒作用,体内与环磷酸胺合用可提高环磷酸胺的抑瘤率,提高机体的免疫能力^[26]。对海洋微生物胞外多糖免疫增强活性的研究为新型免疫调节剂的研究开辟了新的途径。

2.3 清除自由基和抗氧化活性

Sun等^[8]研究了海洋丝状真菌胞外多糖 EPS2 的清除自由基和抗氧化活性。体外试验显示, EPS2 对超氧自由基和羟自由基具有显著的清除活性,对人低密度脂蛋白(LDL)的铜催化氧化反应具有剂量依赖性抑制作用。2005年, Sun等^[27]还报道了 EPS2 在 H_2O_2 中对小鼠嗜铬细胞瘤 PC12 细胞的保护作用。胞外多糖的抗氧化和自由基清除活性,对防治由自由基导致的重要生物分子过氧化而引发的严重疾病,如癌症、动脉粥样硬化和早发性痴呆症,具有重要意义。

2.4 其它活性 据报道,海洋微生物胞外多糖还有其它多种活性和功能。*V. diabolicus* 产生的胞外多糖是有效的骨骼愈合物质,可以保护骨骼的完整性^[3]。海洋热泉嗜温可变单胞菌 *A. infernus* 产生的胞外多糖无抗凝血活性,经化学修饰获得高硫酸化多糖则具有抗凝血活性,而且降解成低分子的硫酸化多糖抗凝血活性增强^[28]。Matou 等^[29]报道,海洋可变单胞菌 *A. infernus* sp. 产生的胞外多糖化学修饰产物高硫酸化胞外多糖(OS-EPS)具有促进血管生成作用,并仅有低的抗凝血活性,这在临床上对于促进伤口愈合和缺血部位的血管生成具有重要的应用价值。

3 展望

海洋微生物胞外多糖已有近 30 年的研究历史。从一般海洋环境微生物,到海洋生物共附生微生物,再到海洋特殊环境微生物,是海洋微生物胞外多糖研究的发展历程和趋势。深海热泉微生物胞外多糖结构与功能的研究是目前也是今后一段时期的热点课题。生活在高温、高压等特殊环境的热泉微生物,具有特殊的生存机制,对其胞外多糖的研究不仅对揭示生命现象本质,同时对新的特异胞外多糖的发现及其应用,具有重大意义。特殊环境微生物的分离培养是本领域需要攻克的难题。特别地,深潜探测技术和深海微生物的培养保存技术是目前特别是我国亟待解决的关键技术。目前为止研究的海洋微生物胞外多糖在抗肿瘤、增强免疫、清除自由基及抗氧化、抗凝血等方面显示了广泛的生物活性。随着化学结构和生物活性的研究不断深入,海洋微生物胞外多糖在医药、食品和化工领域的应用潜力日益受到关注。作为一种天然高分子多糖,海洋微生物胞外多糖在应用中往往受到限制。通过一定的生物、化学等手段进行多糖的化学结构修饰,探讨其构效关系,筛选功效显著、副作用小的胞外多糖衍生物,也将是今后发展的方向。

参考文献

- [1] Rougeaux H, Talaga P, Carlson R W, et al. Carbohydr Res, 1998, 312; 53 ~ 59.
- [2] Chi Z M, Fang Y. J Ocean Uni China, 2005, 4 (1): 67 ~ 74.
- [3] Collic-Jouault S, Zanchetta P, Helley D, et al. Pathol Bio, 2004, 52: 127 ~ 130.
- [4] Roger O, Kervarec N, Ratiskol J, et al. Carbohydr Res, 2004, 339; 2371 ~ 2380.
- [5] Boyle C D, Reade A E. Appl Environ Microbiol, 1983, 46 (2): 392 ~ 399.
- [6] Lee H K, Chun J, Moon E Y, et al. Int J Syst Evol Microbiol, 2001, 51; 661 ~ 666.
- [7] Yang X B, Gao X D, Han F, et al. Biochim Biophys Acta, 2005, 1725; 120 ~ 127.
- [8] Sun C, Wang J W, Fang L, et al. Life Sci, 2004, 75; 1063 ~ 1073.
- [9] Jayarama M, Seetharaman J. Process Biochem, 2003, 38; 841 ~ 847.
- [10] 胡谷平, 余志刚, 吴耀文, 等. 中山大学学报(自然科学版), 2002, 41 (1): 121 ~ 122.
- [11] Cambon-Bonavita M A, Raguene G, Jean J, et al. J Appl Microbiol, 2002, 93; 310 ~ 315.
- [12] Loec M, Olier R, Guezennec J. Carbohydr Polym, 1998, 35; 65 ~ 70.
- [13] Raguene G, Pignet P, Gauthier G, et al. Appl Environ Microbiol, 1996, 62 (1); 67 ~ 73.
- [14] Rougeaux H, Pichon R, Kervarec N, et al. Carbohydr Polym, 1996, 31; 237 ~ 242.
- [15] Raguene G, Peres A, Ruimy P, et al. J Appl Bacteriol, 1997, 82 (4): 422 ~ 430.
- [16] Rougeaux H, Kervarec N, Pichon R, et al. Carbohydr Res, 1999, 322; 40 ~ 45.
- [17] Rougeaux H, Guezennec J, Carlson R W, et al. Carbohydr Res, 1999, 315; 273 ~ 285.
- [18] Nicolaus B, Schiano M V, Lama L, et al. J Ind Microbiol Biotechnol, 2003, 30; 95 ~ 101.
- [19] Maugeri T L, Gugliandolo C, Caccamo D, et al. Biotechnol Lett, 2002, 24 (7): 515 ~ 519.
- [20] Nicolaus B, Lama L, Panico A, et al. System Appl Microbiol, 2002, 25; 319 ~ 325.
- [21] Nicolaus B, Moriello V S, Lama L, et al. Origins Life Evol B, 2004, 34; 159 ~ 169.
- [22] 郑忠辉, 刘三震, 黄益丽, 等. 厦门大学学报(自然科学版), 2003, 42 (5): 661 ~ 664.
- [23] 黄耀坚, 黄益丽, 刘三震, 等. 台湾海峡, 2004, 23 (1): 38 ~ 42.
- [24] Arena A, Maugeri T L, Pavone B, et al. Int Immunopharmacol, 2006, 6 (1): 8 ~ 13.
- [25] 苏文金, 黄益丽, 黄耀坚, 等. 海洋学报, 2001, 23 (6): 114 ~ 119.
- [26] 林永成主编. 海洋微生物及其代谢产物. 北京: 化学工业出版社, 2003. 370 ~ 371.
- [27] Sun C, Shan C Y, Gao X D, et al. J Biotechnol, 2005, 115; 137 ~ 144.
- [28] Jouault S C, Chevolot L, Helley D, et al. Biochim Biophys Acta, 2001, 1528; 141 ~ 151.
- [29] Matou S, Collic-Jouault S, Galy-Fauroux I, et al. Biochem Pharmacol, 2005, 69; 751 ~ 759.