

文章编号 :1009-038X(2001)04-0436-04

微生物生物工程的 3 个基本观点

张星元

(无锡轻工大学 生物工程学院,江苏 无锡 214036)

摘 要 :工业发酵是微生物群体活动的动态过程.此过程靠如下 3 种流动来维系:伴随能量形式的转换而发生的电子流动;伴随异化和同化作用而发生的物质流动;伴随不同水平上的代谢调节而发生的信息流动.在分析以上 3 种流动的运行规律,以及归纳工业发酵和生物制药的大量信息的基础上,提出了关于微生物生物工程的三个基本观点:生物能支撑观点;代谢网络观点;细胞经济观点.这些观点揭示了工业发酵的生物学属性,工业发酵的能力和潜力,以及工业发酵的行为规范.

关键词 :生物能支撑;代谢网络;细胞经济;工业发酵;代谢工程;生物制药

中图分类号 :Q815

文献标识码 :A

Three Basic Viewpoint of Biotechnology of Microbiology

ZHANG Xing-yuan

(School of Biotechnology, Wuxi University of Light Industry, Wuxi 214036, China)

Abstract : Fermentation is the processes in which microbial population functions. Those processes are supported and maintained by the three kinds of flows: the electron flows which operate along with energy-form transformation, the metabolite flows which operate along with dissimilation and assimilation, the information flows which operate along with the metabolic regulations in different levels. On the basis of the analysis of the operation rules of above three kinds of flows and the generalization of a great deal of information of industrial fermentation and bio-pharmaceutics, the three basic viewpoints of industrial fermentation are put forward: the viewpoint of bioenergy support, the viewpoint of metabolic network, the viewpoint of cell economy. Those viewpoints may reveal the biological attribution, the power and potentiality of industrial fermentation, as well as the law of the unity of opposites in the field of industrial fermentation.

Key words : bioenergy support; metabolic network; cell economy; fermentation principles; metabolic engineering; bio-pharmaceutics

随着生物化学、细胞生物学、应用分子生物学、遗传工程和代谢工程的发展,工业发酵正在经历一

个从技艺到科学的重大变化,正在向微生物生物工程过渡.在生物工程受到广泛重视的今天,有必要

收稿日期 2000-11-07; 修订日期 2001-03-16.

作者简介:张星元(1944-),男,江苏苏州人,工学硕士,教授.

万方数据

把微生物(菌种选育)、微生物学过程(发酵工艺)和微生物学体系(生物反应器)作为一个整体,在科学的水平上对工业发酵进行重新审视^[1]。

1 工业发酵的3个基本观点

从工业发酵的现状出发,主要根据对碳元素代谢及其控制,菌种是化能异养型微生物,产物是微生物细胞排出细胞的代谢中间产物的工业发酵,提出3个基本观点。

1.1 生物能支撑观点

微生物细胞是工业发酵产物的生产者,微生物细胞的生长和维持需要由其自身的能量转换机构或从其他形式的能量转化形成的生物能来支撑。因此,工业发酵具有生物学属性^[2]。

1.2 代谢网络观点

由生化反应网络和跨膜的输送步骤组成的代谢网络^[3]既没有绝对的起点,也没有绝对的终点。代谢网络中任何一种中间产物(或可借助生物学、化学方法与代谢网络联网的任何一种化合物)都可能被开发成为工业发酵的目的产物^[2]或原料。

1.3 细胞经济观点

微生物细胞的经济性^[4]是在自然选择的过程中逐渐形成的。野生的(未经人工变异的)微生物细胞在自然选择的过程中逐渐形成竞争型的细胞经济。而工业发酵往往要以目的产物的生产为主导,调整代谢网络中的代谢流,构建一种导向型细胞经济。从竞争型细胞经济到导向型经济的转变取决于遗传和环境因素的信息导向,这种导向必须遵循细胞经济的基本运行规律。

2 工业发酵的21条基本概念

以上3个基本观点从电子流、物质流和信息流3个不同侧面反映工业发酵的运动本质;对应于微生物生物工程的三个重要学说,即细胞能学(2.1~2.4)、第二解剖学(2.5~2.15)和细胞经济学(2.16~2.21),提出21条基本概念^[1]。

2.1 微生物细胞能为其自身提供生物能

微生物细胞的生存方式与动物、植物等高等生物细胞不同,微生物细胞能独立存在,自主生活。因此每个微生物细胞都具有能量转换机构,这种机构可把其它形式的能量转换成能被其自身直接使用的能量(如ATP、GTP和储存在膜上的 ΔP ,暂且把这种形式存在的能量称为生物能)。在生物能的直

接支撑下,活细胞才能维持其高度有序的状态^[5]。

2.2 细胞能量转换机构的组成

微生物细胞的能量转换机构包括:需要生物能来激活的有关的酶和这些酶的辅酶、原核微生物的细胞质膜和真核微生物线粒体的内膜,以及这些膜上的电子传递链和ATP酶,还有在能量代谢和主动输送中起辅助作用的有关载体。

2.3 微生物代谢中的电子流和电子回路

工业发酵普遍使用的化能异养型微生物靠生物氧化把化学能转化为可被微生物直接利用的生物能。微生物细胞的生物氧化过程必须借助于辅酶,并且其生物氧化过程和跨膜的主动输送过程伴随着电子(或质子)的流动,形成微生物代谢的跨膜的质子回路。

2.4 生物氧化和辅酶的再生

在微生物活细胞中,参与生物氧化反应的脱氢酶的辅酶在有关的细胞空间内必须被再生和回用。还原型辅酶把电子释放给电子受体而得到再生,根据最终电子受体的类型,可把生物氧化分成有氧呼吸、无氧呼吸和发酵3种类型。

2.5 生化反应途径和代谢途径

一系列按序进行的生物化学反应构成生化反应途径;若这条途径在活细胞里运行,则为代谢途径。

2.6 生化反应网络和代谢网络

生化反应途径按生物化学规律汇成生化反应网络,代谢途径与跨膜输送步骤按代谢规律汇成(物质)代谢网络。

2.7 代谢网络的联网问题

代谢中间化合物都在代谢网络上,有些有机化合物虽然不在网上但仍有可能与代谢网络联网。所谓“联网”就是用化学或生物化学反应把指定的化合物连接到代谢网络上去,从而使它与微生物的代谢建立联系。联网可以用化学或生物学方法(含DNA重组技术)来实现。广义的联网包含生命有机体之间接力赛式的代谢联系。已在网上或者可以联网的化合物都可能被开发为工业发酵的产物或原料。

2.8 代谢流和碳架物质流

代谢物在代谢途径中流动形成代谢流。在代谢工程领域,代谢流往往是指碳架物质流。

2.9 代谢主流

在一定的培养条件下,代谢物在代谢网络中流动,流量相对集中的代谢流叫做该培养条件下的代谢主流。代谢主流的流量测定是代谢工程的重要组

成部分.

2.10 载流途径

代谢主流流经的代谢途径为主要载流途径,简称载流途径.

2.11 代谢主流的变动性和选择性

微生物的代谢主流处于不断变化之中,其方向、流量甚至代谢主流的载流途径都可能发生变化.这就是微生物代谢主流的变动性和代谢主流对代谢网络途径的选择性.这种变动和选择的根据在于微生物细胞的遗传物质,选择的原因是微生物所处的环境条件的变化.

2.12 理想载流途径

为了提高产物对原料的转化率,就要求代谢主流(根据代谢分析的结果)从设定的途径流过,使它成为载流途径.因为这样的载流途径是带有主观导向性的虚拟的载流途径,所以把它称为理想载流途径.

2.13 微生物生物工程的难题

既然代谢主流对网络中的途径有选择性,而工业发酵的目标又是要让微生物的代谢主流流经理想载流途径,因此就有必要去解决理想载流途径的设计问题和代谢主流的导向问题.

2.14 理想载流途径的五段式

通常在发酵生产中培养微生物的时候,胞外营养物质跨膜进入细胞,经三段连续的代谢途径,一般是“注入途径”、“中心途径”和“发散途径”,生成目的产物,最后,在胞内形成的目的产物经过膜排出细胞.因此典型的理想载流途径应该由以上五段承担不同代谢分工的依次衔接的代谢途径组成.这就是理想载流途径的“五段式”^[4,6].

2.15 设计育种和发酵工艺控制的五字策略

在理想载流途径的“五段式”和“代谢主流”等概念的基础上,从不同的视角出发,提出能作为一个整体用于设计育种以及发酵工艺控制的“进、通、节、堵、出”的“五字策略”^[4,6]:进,促进细胞对碳源等营养物质的吸收;通,使来自上游和各个注入分支的碳架物质能畅通地流向目的产物;节,阻塞与目的产物的形成无关或关系不大的代谢支流,使碳架物质相对集中地流向目的产物;堵,消除或削弱目的产物进一步代谢的途径;出,促进目的产物向胞外空间分泌.

2.16 代谢网络的节点及其刚性

微生物代谢网络中的途径的交叉点(代谢流的集散处)称作节点,微生物自动抵制节点处代谢物流量分配比率的变化特性称作节点的刚性^[3].节

点的刚性取决于微生物代谢的自动调节机制.因此在应用“五字策略”制订育种方案时,必须设法绕过强刚性节点,否则育种计划将难以兑现.

2.17 代谢网络的刚性

微生物自动抵制代谢网络中代谢物流量分布的改变的特性叫做代谢网络的刚性^[3].代谢网络的刚性与主要刚性节点的刚性大小、分布及数量密切相关.

2.18 细胞和细胞经济

微生物活细胞是个远离平衡状态的开放体系,从微生物细胞对能量和化学物质的内外交换、增收节支、协调自强的规律的客观存在出发,把微生物细胞作为按特殊的经济规律运行的经济实体看待,并且把这种按特殊的经济规律运行的有利于生存竞争的新陈代谢特性叫做细胞经济性.微生物细胞的生命过程就是细胞经济运行的过程.细胞经济性可以以生成细胞的质量与消耗基质的质量之比值——细胞经济系数衡量^[6].

2.19 正常代谢和竞争型细胞经济

微生物在生存竞争中进化的方向是发展其自身的适应能力和提高细胞运行的经济系数.经生存竞争而幸存下来的野生型微生物在其所处的环境中是富有竞争能力的,并且它们的代谢流量在网络中的分布及细胞经济运行状况有利于细胞生长、繁殖和在竞争中获胜.在上述条件下,细胞处于正常代谢状态,细胞经济体系呈现竞争型经济的特色.

2.20 异常代谢和导向型细胞经济

如果生产上要求微生物在胞外累积某种代谢中间产物,则须对微生物的代谢流进行导向.根据已获得的代谢分析的信息,应用“五字策略”就有可能设计理想的载流途径和配套的发酵培养工艺条件,进而改造菌种、调整工艺,将代谢主流导向理想载流途径.在导向成功的前提下,细胞处于异常代谢状态,细胞经济体系呈现导向型经济的特色.

2.21 细胞经济受到严格的制约

工业发酵要靠细胞群体的代谢获得产品,导向型细胞经济固然有利于特定的代谢产物的生产,但竞争型细胞经济向导向型经济的转化受到能量代谢、还原力的平衡等的严格制约,表现出代谢网络的刚性.若细胞经济实体的运行状态过度偏离竞争型运行状态,活细胞的高度有序状态将受到严重冲击,最终导致细胞经济的崩溃.

2.22 信息流指导下的工业发酵

微生物细胞在工业发酵生产中可以看作是生物机器,它们进行能量代谢和物质代谢,同时又可

以把它们看作是信息处理器 ,它们复制和传递自己的生物信息 ,接收细胞内外的物理、化学甚至生物信息 ,并在对这些信息流进行综合处理的基础上 ,发出代谢调控的指令 ,控制微生物细胞自身的生命活动^[5]。

2.23 限制性遗传信息之谜

可以推测在每个微生物细胞的遗传物质中必有其限制性的生死攸关的遗传信息 ,它们规定微生物细胞生命活动的基本的代谢网络及其调节机制。这些遗传信息是微生物细胞能够自主生活和独立

存在的依据 ,也是微生物对环境适应的局限性 ,以及设计育种的计划往往不能完全兑现的内在原因。

3 结 语

30 多年来的国内外在微生物生理、代谢控制发酵、设计育种、代谢工程方面的许多研究和阐述^[7~20] ,已为上述 3 个基本观点提供了充足的论据。本文提出基本理论框架 ,期望通过争鸣逐步完善微生物生物工程(工业发酵)的理论。

参考文献：

[1] ZHANG Xing-yuan. Three basic viewpoint of industrial fermentation. In : China Light Industry Press. Food of 21st Century [C]. 北京 :中国轻工业出版社 ,2000. 95~100.

[2] 张星元 ,冯品如. 工业发酵的生物学属性对发酵最优控制的制约与对策 [J]. 食品与发酵工业 ,1998 ,24(4) :74~77.

[3] 张星元 ,潘中明 ,牟奕等. 代谢网络刚性与代谢工程 [J]. 生物工程进展 ,1999 ,19(6) :38~42.

[4] 张星元. 发酵工程专业课程设置的思考和实践 [J]. 微生物学通报 ,1999 ,26(2) :147~149.

[5] THOMAS D BROCK ,MICHAEL T MADIGAN. Biology of Microorganisms(6th ed) [M]. New Jersey :Prentice Hall ,Englewood Cliffs ,1991. 2~8.

[6] 陶文沂 ,张星元 ,周婉冰等. 工业微生物生理与遗传育种学 [M]. 北京 :中国轻工业出版社 ,1997. 214~244.

[7] 张星元 ,王琴. 阿舒假囊酵母过量合成核黄素性能的改良 [J]. 无锡轻工大学学报 ,1997 ,16(3) :14~19.

[8] 张星元 ,王琴. 代谢调节理论指导下的核黄素发酵条件 [J]. 无锡轻工大学学报 ,1997 ,16(4) :1~6.

[9] 张星元 ,范铭琦 ,赵敏等. 庆大霉素 C_{1a} 高产菌株的推理育种的研究 [J]. 中国抗生素杂志 ,1998 ,23(6) :410~414.

[10] ALBERT G MOAT ,JOHN W FOSTER. Microbial Physiology(3rd ed) [M]. New York :John Wiley & Sons ,1995.

[11] RUTH BERNSTEIN ,STEPHEN BERNSTEIN. Biology [M]. Oxford ,England :WCB Publishers ,1996.

[12] GREGORY N STEPHANOPOULOS ,ARISTOS A ARISTIDOU ,JENS NIELSEN. Metabolic Engineering [M]. New York :Academic Press ,1998.

[13] HARVEY LODISH ,ARNOLD BERK ,LAWRENCE ZIPURSKY *et al.* Molecular Cell Biology(4th ed) [M]. New York :W H Freeman and Company ,2000.

[14] 赫胥黎[英]. 进化论与伦理学(旧译《天演论》) [M]. 北京 :科学出版社 ,1971.

[15] 方宗熙. 生物的进化 [M]. 北京 :科学出版社 ,1973.

[16] 李如生. 非平衡态热力学和耗散结构 [M]. 北京 :清华大学出版社 ,1986.

[17] 伊·普里戈金著. 从混沌到有序 [M]. 曾庆宏译. 上海 :上海译文出版社 ,1987.

[18] H·哈肯著. 协同学 [M]. 戴鸣钟译. 上海 :上海科学普及出版社 ,1988.

[19] 俞俊棠 ,唐孝宣 ,李友荣等. 生物工艺学 [M]. 上海 :华东化工学院出版社 ,1991.

[20] 张星元. 氨基酸高产菌株的选育及其机理研究的新进展 [J]. 无锡轻工业学院学报 ,1987 (4) :1.

(责任编辑 :秦和平)