

WEISHENGWU 微生物
资源开发利用
Z LIYUAN KAIFA LIYONG

姜成林 徐丽华

主编



中国轻工业出版社

ZHONGGUO QINGGONGYE CHUBANSHE

微生物资源 开发利用

姜成林
刁虎欣
徐亲民
崔晓龙

徐丽华
李铭刚
诸葛健
彭 谦

主编
徐丽华
姜成林
葛 诚

编著

 中国轻工业出版社

图书在版编目(CIP)数据

微生物资源开发利用/姜成林,徐丽华主编. —北京:
中国轻工业出版社,2001.4

ISBN 7-5019-3086-4

I. 微… II. ①姜…②徐… III. ①微生物-生物
资源-资源开发②微生物-生物资源-资源利用
IV. Q939.9

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2001)第 05436 号

责任编辑:李 菁 责任终审:滕炎福 封面设计:崔 云
版式设计:丁 夕 责任校对:燕 杰 责任监印:胡 兵

*

出版发行:中国轻工业出版社(北京东长安街6号,邮编:100740)

网 址: <http://www.chlip.com.cn>

联系电话:010—65241695

印 刷:中国人民警官大学印刷厂

经 销:各地新华书店

版 次:2001年4月第1版 2001年4月第1次印刷

开 本:787×1092 1/16 印张:14.25

字 数:329千字 印数:1—3000

书 号:ISBN 7-5019-3086-4/Q·010 定价:30.00元

·如发现图书残缺请直接与我社发行部联系调换·

谨以此书献给 21 世纪

前 言

微生物资源学是研究微生物资源及其合理开发利用和保护的科学,它是微生物学、生物化学、分子生物学、医学、农学、化学、工程学等学科的边缘科学。尽管微生物资源的开发利用取得了极为丰硕的成果,对国民经济的贡献很大,但是微生物资源学作为一个学科仍然很年轻。本书从实用的角度出发,对微生物资源开发利用的各个领域进行探讨,重点讨论微生物这一重要的资源,它与人类的关系,开发利用的新成就,新技术及存在问题,开发利用的战略和策略,值得重点投入的领域及展望。希望本书的出版对微生物资源的合理开发利用和保护有所帮助,对有关的研究人员、工程技术人员、管理人员、教师、研究生有所裨益。

本书由教育部微生物资源开放研究重点实验室开放基金资助。

本书第一章由徐丽华、崔晓龙撰写,第二章由徐亲民撰写,第三章由李铭刚、彭谦撰写,第四章由诸葛健撰写,第五章由葛诚撰写,第六章由李铭刚撰写,第七章由刁虎欣撰写。中国轻工业出版社的李菁同志从本书的选题到出版都费了许多心力,出版社的其他同志也为本书的出版付出了辛勤的劳动,在此一并谢忱。

教育部微生物资源重点实验室

姜成林

于昆明

目 录

第一章 微生物资源	1
第一节 微生物资源的特殊性	1
第二节 微生物资源开发利用	3
一、总体设计	3
二、找到目的菌	4
三、申请专利	5
四、菌种改良及基因工程	6
五、微生物资源开发利用的重大课题	6
第三节 微生物资源的保护	7
一、保护微生物资源的必要性	7
二、保护微生物资源的措施	10
参考文献	11
第二章 药用微生物	13
第一节 药用微生物资源开发利用的历史	13
一、微生物之间的拮抗现象	13
二、第一个实用抗生素青霉素的发现	13
三、链霉素的发现与新抗生素开发的活跃期	14
四、半合成抗生素的发展	14
五、微生物药物应用范围的扩大	15
六、药用微生物研究发展的趋势	16
第二节 药用微生物的来源和分离方法	18
一、药用微生物的来源	18
二、具有医药品生产价值的微生物	20
三、药用微生物的分离	22
第三节 微生物药物的研究与开发	26
一、微生物药物研究开发的一般程序	26
二、微生物药物的筛选方法	28
三、微生物药物的安全性与有效性评价	39
第四节 临床上应用或正在开发的主要微生物药物及其衍生物	41
一、抗感染微生物药物	41
二、抗癌微生物药物及免疫调节剂	45
三、微生物产生的降血脂和降血糖物质	47
四、微生物产生的其他药理活性物质	48
五、用重组微生物生产的活性蛋白质类药物	48

第五节 微生物药物的生产	49
一、微生物药物生产的工艺流程	49
二、微生物药物生产的工艺特点	51
三、微生物药物生产的质量控制	52
第三章 微生物酶	54
第一节 概述	54
第二节 微生物酶的开发	54
一、应用微生物来开发酶的优点	54
二、微生物酶开发的一般程序	54
三、实验室操作与工业化生产之间的差别	62
第三节 微生物酶的应用	63
一、蛋白酶	63
二、芳基乙醚酶	63
三、纤维素酶	63
四、脂肪酶	64
五、青霉素酰化酶	64
六、半乳糖苷酶	64
七、特殊的治疗用酶	64
八、其他微生物酶的应用	65
第四节 未来展望——极端环境微生物酶的开发	65
一、简述	65
二、极端环境微生物酶	65
参考文献	67
第四章 产生有机酸和醇类的微生物	68
第一节 乙酸	69
一、性质	69
二、用途	69
三、产生乙酸的微生物	71
第二节 柠檬酸	74
一、性质	74
二、用途	74
三、产生的菌类	75
第三节 乳酸	76
一、性质	76
二、用途	76
三、分离乳酸菌的材料	77
四、产生乳酸的主要菌类	78
五、乳酸发酵的前景	78
第四节 丙酮酸	79

一、性质	79
二、用途	79
三、微生物发酵法生产丙酮酸	80
四、发酵生产丙酮酸的微生物	80
第五节 苹果酸	81
一、性质	81
二、用途	81
三、用微生物技术生产苹果酸	82
第六节 衣康酸	82
一、性质	83
二、用途	83
三、衣康酸的发酵法生产	84
四、产生衣康酸的菌种	84
第七节 γ -亚麻酸、二十碳五烯酸(EPA)和二十二碳六烯酸(DHA)	85
一、性质	85
二、生理功用	85
三、微生物发酵法的生产	86
四、产生 EPA、DHA 和 GLA 的微生物	86
第八节 乙醇	87
一、性质	87
二、用途	87
三、微生物发酵法生产乙醇	88
四、生产乙醇的菌类	88
第九节 丙三醇	89
一、性质	89
二、用途	90
三、产生丙三醇的菌类	92
四、微生物丙三醇的研究进展	94
第十节 丁醇类	95
一、性质	95
二、用途	95
三、分离丁醇类菌类的试料	95
四、分离丁醇类菌的热处理法	96
五、产生丁醇类产物的微生物	97
第十一节 赤藓糖醇	98
一、性质	98
二、用途	99
三、赤藓糖醇生产和研究	100
四、产生赤藓糖醇的微生物	101

参考文献	102
第五章 微生物肥料的生产应用及其资源利用	103
第一节 微生物肥料概述、背景及意义	103
第二节 微生物肥料的定义	104
第三节 微生物肥料的作用	105
一、增进土壤肥力	106
二、制造和协助农作物吸收营养	106
三、增强植物抗病(虫)和抗旱能力	106
四、减少化肥的使用量和提高作物品质	107
五、目前正在研究开发的微生物肥料的作用	107
第四节 微生物肥料的种类	108
一、固氮菌肥料类	108
二、根瘤菌肥料类	108
三、解磷微生物肥料	108
四、硅酸盐细菌肥料	109
五、光合细菌肥料	109
六、芽孢杆菌制剂	109
七、分解作物秸秆制剂	109
八、微生物生长调节剂类	109
九、复合微生物肥料类	110
十、与 PGPR 类联合使用的制剂	110
十一、其他微生物肥料	110
第五节 微生物肥料各论	110
一、固氮菌肥料	110
二、根瘤菌类肥料及其农业应用	115
三、解磷微生物肥料的资源及其利用	124
四、硅酸盐细菌肥料	127
五、光合细菌肥料	127
六、芽孢杆菌制剂	128
七、分解作物秸秆制剂	130
八、复合微生物肥料类	130
九、PGPR 类制剂	131
十、其他微生物肥料	136
第六节 微生物肥料的现状、需求和发展趋势	137
一、我国微生物肥料研究和开发的现状	137
二、微生物肥料的应用前景	138
三、国内外微生物肥料的发展趋势	139
第七节 我国微生物肥料生产应用的误区和问题	142
一、如何正确认识和评价微生物肥料的作用?	143

二、如何认识固氮微生物肥料与固氮酶活性?	145
三、其他认识上的误区	145
第八节 我国微生物肥料产业化的若干问题	149
一、产品的定位问题	149
二、产品商品化问题	149
三、产品生产标准化	149
四、企业高新技术化	150
五、其他方面的问题	150
参考文献	150
第六章 微生物湿法冶金	152
第一节 概述	152
一、国外状况	152
二、国内情况	152
第二节 与微生物冶金有关菌类的开发	153
一、与微生物冶金有关的菌类	153
二、浸矿用菌的开发途径	155
第三节 适用于细菌法进行预氧化处理的矿石	160
一、细菌氧化法处理目的矿物的流程	160
二、细菌氧化分类	160
三、可用细菌法来处理的矿石类型	161
第四节 菌体浸出反应的内在机制——指导浸矿工作的根本	163
一、菌体和矿物表面的接触	163
二、菌体的生长特征	164
三、混合培养	164
四、菌体内酶的作用	165
第五节 浸矿微生物的分析监测	166
一、生物量的测定	166
二、分析蛋白质	166
三、游离细胞与附着细胞,活细胞与死细胞的区分	166
第六节 未来展望	167
一、微生物湿法冶金的价值	167
二、微生物湿法冶金中的微生物资源保护	167
参考文献	167
第七章 微生物采油技术	169
第一节 油藏与石油开采	169
一、石油与贮油岩层	169
二、注水驱油与三次采油	170
第二节 微生物采油技术	173
一、地上微生物采油技术	173

二、地下微生物采油技术·····	175
第三节 新型微生物多糖——黄原胶·····	175
一、野油菜黄单胞菌主要生物学特性·····	176
二、黄原胶的生物合成·····	176
三、黄原胶生物合成多水平调控·····	178
四、黄原胶发酵工程与控制·····	181
五、黄原胶的分子结构和性能·····	182
第四节 黄原胶在采油工业中的广泛应用·····	185
一、黄原胶在三次采油中的应用·····	186
二、黄原胶在油田钻井泥浆中的广泛应用·····	188
第五节 微生物表面活性剂及在采油中的应用·····	189
一、微生物表面活性剂的研究历史和现状·····	189
二、微生物表面活性剂及乳化剂的来源与分类·····	189
三、微生物表面活性剂的生物合成与控制·····	191
四、微生物表面活性剂生物合成基因调控·····	193
五、微生物表面活性剂的发酵生产过程·····	194
六、微生物表面活性剂的结构和理化性能·····	194
七、微生物表面活性剂在三次采油中的应用·····	197
第六节 地下微生物采油技术总论·····	198
一、地下微生物采油技术发展概况·····	199
二、地下微生物采油技术现场应用方法与分类·····	199
三、贮油层极端生态环境·····	200
四、采油微生物必须具备的生物学特性·····	201
五、适于微生物采油的油藏标准·····	202
第七节 重要的地下微生物采油技术——微生物驱油·····	202
一、微生物驱替原油的机理·····	203
二、微生物驱油菌种及营养物·····	203
三、微生物驱油菌种筛选与评价方法步骤·····	204
四、地下微生物驱油现场施工工程·····	205
第八节 地下微生物采油技术——周期性微生物采油·····	207
第九节 其他地下微生物采油技术·····	209
一、微生物选择性封堵油层技术·····	209
二、微生物清蜡和降低重油粘度·····	210
三、微生物压裂液压裂地层·····	210
四、激活油藏内微生物群落的 MEOR 技术·····	211
第十节 采油微生物研究进展·····	211
一、采油微生物概述·····	212
二、采油微生物研究进展·····	213
参考文献·····	215

第一章 微生物资源

第一节 微生物资源的特殊性

本书是一本关于微生物资源及其开发利用的著作。这里的微生物系指古细菌、真细菌、放线菌、酵母菌、丝状真菌及大型真菌。

动物、植物是资源,这是小学生都知道的事。自从有了人类,就天天跟动植物打交道,利用动植物作为食物的主要来源。现代工业、现代农业更是大规模开发利用动植物资源为人类造福。但是,由于过度开发或不合理开发,环境恶化,沙漠化加剧,动植物资源急剧减少,造成了长期的、甚至是难以弥补的损失。这已经成为国际性的问题,引起了各国政府的高度重视,认为这是关系到人类生存的大事,提出了只有一个地球的口号,《生物多样性公约》就是全世界近200个签字国保护生物多样性最高意志的集中体现。许多国家都把可持续发展战略作为基本国策,制定了保护生物多样性,保护珍稀动物、濒危植物的法规,并采取了相关的措施。

微生物是一类天然资源的公众意识远远没有建立。

第一,自从有了人类,也就天天跟微生物打交道,但人类发现微生物却很晚,仅300多年而已。微生物的发现与显微镜的发明密切相关。进入17世纪时,荷兰玻璃透镜磨制者做成了第一批望远镜和显微镜。今天已经难于考证第一台显微镜的制造者,比较大的可能是1590年由Johannes和Jessen制成的。以后,马尔皮基(Malpighi)(1628—1694)、列文虎克(Leeuwenhoek)(1632—1723)、胡克(Hooke)(1635—1703)和斯瓦姆默丹(Swammerdam)(1637—1680)对显微镜技术进行了改进。特别值得提及的是列文虎克,他虽然是一个杂货店老板,没有受到过自然科学教育,但他用自制的当时最好的显微镜第一次撞击了微观世界的大门,他观察到了“大量难以置信的形态各不相同的dierken(活泼的物体)”,他称之为animalcula(微动物),这就是今天我们说的微生物。这个科学的门外汉很快受到了英国皇家学会的重视和支持,被选为皇家学会的会员,从此才开辟了研究微生物的时代。相比之下,人类利用动植物资源的历史则长得多。

人类发现微生物不但很晚,而且最初发现的微生物还都是引起疾病的病原微生物。所以可以说,人类一认识微生物就把它当作敌人。1683年列文虎克就是从牙垢中第一次发现细菌的。自那以后很长时间内,微生物研究的历史实际上是一部与病原体作斗争的历史。1796年詹纳(Jenner)研究天花免疫。1847年塞麦尔维斯(Semmelweiss)发现产褥热的病因,同时创制了防腐剂。1880年巴斯德(Pasteur)研究了炭疽病免疫、狂犬病免疫。1882年科赫(Koch)发现结核杆菌,1883年发现霍乱弧菌,1896年研究考察鼠疫、麻疯、疟疾等。这都是人类与疾病斗争的重要事件。所以,在很长的时期内,人们都把微生物同疾病联系在一起,认为它对人类有害无益,而对微生物有益性的理性认识则晚得多。

第二,微生物的形体极小,代谢类型极其多样化,生长繁殖速度惊人。在最适条件下,有的细菌20min就能繁殖一代。在动植物不可能生长的地方都有微生物分布。作为一类资

源,它既可能提供极为多样化的产品,又适于在人工控制条件下进行大规模生产,而不受气候等因素的影响。

第三,微生物的变异性大。比较高等动植物而言,微生物的变异性要大得多。尽管变异也包含退化在内,但更主要的是,这就为人类改造它们提供了更大的可能性。从分子生物学观点看,微生物的基因组较小,调控系统相对简单,进行基因操作比动植物要容易得多。例如最初从微生物找到青霉素时,其产率不到 0.01%,经过人们的改造,今天达到了 5% 以上,产率提高 500 多倍。经验告诉我们,要在短期内提高某种微生物 10 倍的生产能力并非难事。

第四,种源丰富,未知者众。动植物有珍稀、濒危之说。稀者必珍。国家对珍稀濒危动植物已有一些保护措施及有关的法规。而微生物并没有珍稀濒危之说,目前也很难用多少属、多少种、“特有种”、“蕴藏量”来估价微生物的资源量。现在人们还不知道微生物的种类究竟有多少。有人认为,全世界被描述的微生物种类不到实有数的 2%;根据 Omura 的估计,目前所知道的放线菌(约 3000 种)仅占实有数的 10%~20%。表 1-1 是已知和未知生物资源的大体情况。细菌可能有 4 万种,已知种仅占 12%,真菌可能有 150 万种,已知种仅约 7 万种。相对而言,已知的高等动植物所占的比例要大得多。下面简要介绍 Rheim 等关于未知放线菌的工作^[1]:

表 1-1 生物资源的种类

类 群	已知种	估计种	已知种占的比例/%	类 群	已知种	估计种	已知种占的比例/%
病毒	5 000	130 000	4	甲壳虫	38 000		
细菌	4 760	40 000	12	昆虫	800 000	1 000 000	8
真菌	69 000	1 500 000	5	其他节枝动物	132 460		
藻类	40 000	60 000	67	软体动物	50 000		
Pryophytes	17 000	25 000	68	棘皮动物	6 100		
裸子植物	750			两栖动物	4 184		
被子植物	250 000	270 000	93	爬行动物	6 380		
原生动物	30 800	100 000	31	鱼类	19 000	21 000	90
多孔动物	5 000			鸟类	9 198	10 000	~100
腔肠动物	9 000			哺乳动物	4 170	4 300	~100
线虫	15 000	500 000	3				

第一步,从天然环境采集样品(如土壤),直接提取 DNA。

第二步,用以下细菌 16S rDNA 的 Primers 作 PCR。

27f	GAG TTT GAT CCT GGC TCA G
1385r	CGG TGT GT(A/G) CAA GGC CC
519r	G(T/A)A TTA CCG CGG C(T/G)G CTG
M13(-20)	GTA AAA CGA CGG CCA GT
M13rev	GGA AAC AGC TAT GAC CAT G
Gram positive	TCA TCA TGC CCC TTA TG
mycoides	TAA TAT TTT GAA CTG CAT AG
TH3	CAG CTC GCT GGG ACG

第三步,建立 16S rDNA 文库(DNA library),进行 16S rDNA 序列分析、分子杂交等。

第四步,系统发育分析(Phylogenetic analysis)。

分析结果发现,已知的放线菌只占 10% 左右。

值得说明的是,未知菌的具体比例不可能准确,由于研究的地域,使用的 Primer,研究人员的兴趣而各不相同,但是尚有大部分微生物种类我们不知道却是事实。

微生物是种类繁多的可再生资源,是最丰富的遗传基因库。对微生物资源的开发,不存在“过度”问题,也不会因开发造成原产地微生物资源减少或绝灭的问题。

第五,对微生物资源的研究与开发比动植物晚许多,但取得了极其辉煌的成就,本书充分证明了这一点。同时我还要说微生物资源的开发潜力大,前景广阔。既然未知者甚多,已开发利用的还比较少,那么,开发利用的潜力就更大。

人类分离、鉴定微生物的历史大约只有 100 年。只是到近些年来,人们才明确认识到,与动物、植物一样,微生物也是一类重要的自然资源。

1992 年联合国环发大会通过了《生物多样性公约》(Convention on Biological Diversity)。这是人类对保护生物多样性及其永续利用的共同纲领。我国是该公约的缔约国之一。1993 年我国成立了中国环境与发展国际合作委员会生物多样性工作组,负责生物多样性的协调工作。《生物多样性公约》明确指出:“生物资源是指对人类具有实际或潜在用途或价值的遗传资源、生物体或其部分、生物群体或生态系统中任何其他生物组成部分。最好在遗传资源、国家建立和维持移地保护及研究植物、动物和微生物的设施”。这是对微生物资源及其保护最具权威性的表述。

最后,根据公约的定义,我们可以从以下几方面认识微生物这一类资源。

从维持生态平衡而言,微生物起的作用是巨大的,是其他生物不可取代的。很难想象,如果没有微生物,地球会变成什么样子。从“有实际或潜在用途或价值”的观点看,除了传统的酿酒工业、面包工业、奶酪工业、酱菜工业所利用的微生物以外,现代发酵工业生产的药物、氨基酸、有机酸、维生素、酶、醇、微生物肥料、微生物农药等以及石化工业、冶金工业使用的微生物,其“价值”是难以估量的。仅全世界抗生素的年产值就达 300 亿美元之巨。抗生素对人类医疗保健事业的贡献无论怎样估计都不为过。杂草对农作物是有害植物,苍蝇、老鼠传染疾病,是有害动物。微生物中也有病原菌,它们是有害微生物。本书涉及的是“具有实际或潜在用途或价值”的微生物。诚然,有的致病菌也有实际用途,如引起水稻恶苗病的赤霉菌就可以用来生产赤霉素。所以,有益和有害也是相对的。

生物资源三支柱,即动物、植物、微生物,其中微生物是一类与动、植物资源不同、生产性能优越、开发前景广阔的生物资源。

第二节 微生物资源开发利用

微生物资源开发利用涉及农业、轻工、环保、矿冶、医药等国民经济各部门。由于开发目的的不同,工作基础的差别,开发利用的战略和策略会有很大的差别。这里将对微生物资源开发利用的总体思路进行讨论。

微生物资源开发利用程序通常由总体设计、找到目的菌、效果试验、申请专利、菌种改良及发酵工艺研究、报批、生产、市场等相互关联的过程所组成。现就部分要点作一般介绍。

一、总体设计

总体设计是微生物资源开发利用的首要任务,核心是市场。而市场又是活的,既要考虑

现有市场,也要分析潜在市场,更要分析竞争对手和自己的市场开拓能力。总体设计还包括开发的策略,自己的工作基础,已具备的条件,自己的优势和劣势,合作伙伴的力量及诚信度,投资大小、投资周期及风险等。值得一提的是微生物资源开发往往需要合作伙伴,如果有力量互补、诚信度高的国内外合作伙伴参与,必然对开发大有益处。为了使合作更富成效,订立一项分工明确、成果分享公道的协议是完全必要的。

创新是微生物资源开发的灵魂。微生物资源开发的真正兴起不过 50 年,开发潜力还大得很。一方面社会的新需求日益增加,新领域不断出现,随着科学技术的不断进步,开发资源的能力也增加。另一方面,开发的难度也大大增加,20 世纪 50 年代从 1000 株菌就可能找到一种新抗生素,现在却要从 10 000 个新化合物中才有可能开发成功一个有临床价值的药物,可见难度和风险之大。与此相关,如果你的开发目标跟别人相重,而且别人占了上风(如在你之先申请了专利),你就不得不及时改变战略,力争别处领先。所以,一套好的总体设计往往有几套方案,根据情况变化而随机应变。

总体设计一旦确定,明确开发意图并贯彻始终,是微生物资源开发最基本、时刻不离的原则,核心问题就是千方百计尽早找到所需的目菌。这是开发成败的关键,所有的策略、路线、方法都要为这个中心服务,而不要有所偏离。

二、找到目的菌

1. 菌种来源及菌种分离

世界微生物资料中心(World Data Center for Microorganisms)的资料显示,目前至少有 58 个国家共建立了 484 个菌种保藏中心,已保藏菌种 80 多万株,很多是典型菌株。这可以作为菌种的重要来源。

如果自己分离菌种,就要根据开发目标,选择取样地域、取样环境。例如,开发处理硫化铁型金矿的微生物,就可从这类老金矿井取样,找到目的菌的可能性更大。

土壤是微生物种类最丰富的场所,是取之不尽的微生物产地。

海洋微生物是特别值得开发的资源。21 世纪可能是海洋世纪。随着大陆开发潜力的缩小,人们必然把精力投向海洋。海洋生物无穷,未知的、未开发的简直无法估量;海洋可以说是一个特殊的环境,不同深度有不同的光照和温度,分布不同的动植物,就会有不同的微生物;深海是一个更为特殊的环境,那里的土著微生物必然能适应高压。这些不同的微生物,必然有特殊的、多样化的功能和产物。在某种意义上讲,海洋微生物还可以算是处女地,是大有开发潜力的微生物资源。

同样,地球上广泛分布着所谓“极端环境”,如高温温泉、盐湖、盐碱地、雪山、冰川及南北极、火山口、荒漠、放射性地区等等。那里的微生物种类可能不一定很多,但必定很特殊,代谢类型必定多样化,其产物也会多样化。极端环境微生物也是重要的微生物资源。

前面谈到,我们所知道的微生物不到 10%,而利用的不到 1%!这 90%以上未知微生物大体上都可以叫做“新种”。新种就意味着存在新的基因,有新基因就有新的产物,有新产物就可能有新用途。因此,未知微生物是最值得开发的资源。同时必须强调,菌种分离,尤其是未知菌的分离本身就是微生物资源开发利用的重大课题。

关于混合菌:在微生物学发展的历程中,分离纯培养曾经是一个巨大的进步,现代工业微生物发酵几乎都是用纯种。但是这并不能束缚我们的手脚。在一些情况下,分离资源微

生物不一定需要纯培养。我们举一个例子来说明这个观点。例如,要分离能对难选冶含硫砷金矿进行氧化预处理的微生物,目的是寻找氧化活性高、对砷等有毒元素抗性强、适应温度宽的菌种。一种办法是用各种培养基分离铁硫杆菌、硫硫杆菌的纯培养,然后分别测定它们的氧化活性,再进行混合培养。我们可以完全不用这套程序,首先从这类老金矿井采集样品,并马上将样品与高浓度矿粉(浆)在不同温度下振荡培养,并测定混合物的氧化活性。这种办法得到的肯定不是单一菌种,而是一组混合菌。其配合的理想程度应该比得到纯培养以后,再人工配制的混合菌优越。首先,天然混合菌一开始就与要被氧化的矿物接触,能很好地适应这种矿物。其次,纯培养起的作用在混合培养时变化极大,决不是一加一等于二的关系;为了研究这些关系本身就是耗时费劲的事。一上来就着眼于混合菌可以节省大量人力物力。从纯培养开始,一旦跟矿物接触,很多菌都不适应。这是资源微生物开发独特的思想艺术,它不能按一般程序办事,这个例子可以说明一些问题。近些年来,越来越多的事实表明,一些微生物的生长繁殖需要另一种微生物的参与,它们存在依存关系。这就是所谓益生菌、互营菌(混合菌)。益生菌作为一类发酵工艺又开始受到重视。

2. 模型设计

微生物资源开发的目千差万别,但都必须建立准确、微量、快速、简便的筛选模型,尽早淘汰非目的菌,加速筛选进程。模型设计可根据作用机制、代谢途径的靶位、酶反应机制、基因操作过程的各种调控因子、目的化合物的类型等来设计初选模型。在开发微生物新农药时,许多单位用活体作为筛选模型,这在筛选杀虫剂时特别直接有效。模型设计是微生物开发最活跃的领域。有的公司甚至花上亿资金开发新模型,可见模型的重要性。

3. 一菌多筛

尤其对于生物活性物质(微生物药)的开发,有时候我们还不很清楚我们要找的究竟是哪类微生物,而开发意图在分离菌种时无法贯彻,我们常常要分离很多(甚至数以万计的)菌种。这时如果只用一个或少数模型过筛,往往找不到目的菌,造成大量浪费。我们的经验是一菌多筛。这不但增加了菌种的利用率和入选率,更重要的是有可能找到用途更大的非目的菌,比如具有某种活性的菌等。这就需要开发人员全局在胸,看得深远,通晓相关领域的动态。同时还需要制定几套筛选方案。

4. 高通量筛选(High throughput screening)和组合生化(Combinatorial Biochemistry)相结合

在进行生物活性物质筛选时,国外一些大公司已广泛使用高通量筛选设备。它是将许多模型固定在各自不同的载体上,用机器人加样、培养后,用计算机记录结果,并进行分析,使筛选从繁重的劳动中解脱出来,实现了快速、准确、微量,一个星期可以筛选十几个、几十个模型,成千上万个样品。组合生化是用已知有用化合物或已知骨架的化合物分别与不同的微生物共培养,然后分析不同培养时间化合物的结构及其活性的变化(发生修饰或转化),从而极大地增加了化合物的多样性,相应增加了获得理想化合物的可能性。如果把组合生化与高通量筛选结合起来,筛选的效能将大大提高,找到优越化合物的可能性剧增。

三、申请专利

专利是一个国家科技发展水平的重要标志之一,也是一个单位无形资产的重要组成部分。微生物资源开发包含重大的经济利益,同时也包含重大的投入和风险。资源开发又是

竞争很激烈的领域,开发者的意图、思路、策略和工作进展都是严格保密的东西。为了保护你的劳动成果,保护知识产权,及时申请专利是绝对必要的。专利是国家保护知识产权的主要法律手段,微生物资源开发工作者必须运用好这个法律手段,以促进微生物资源开发工作的健康发展。

第一、申请专利的时机一般应在确定某种新活性、新用途或新化合物时立即申请。新菌种也可以申请专利,但不同国家有不同的规定,美国规定在新菌种公开发表后就不能再申请专利,而西欧国家则规定发表一年内可以申请专利。所以在新菌种被接受可以发表时(到发表还有约3个月到半年时间)立即申请专利最为合适。

第二、什么情况可不必申请专利?可能有各种情况,但应把握分寸,“如果别人仿制了你的技术,而你又无法弄到明确的证据”,这时主要靠保密手段来保护知识产权。

第三、研究人员往往对法律程序不熟悉,而又无法去“精通”它,最好的办法是聘请法律顾问或专利申请代理人。

四、菌种改良及基因工程

微生物资源开发利用在某种意义上讲是微生物天然功能在人工控制条件下,按照人的意志的重演和高效表达。通常获得的菌株目的物的产率会比较低,或者菌株的工艺性状有缺陷,如生长慢、斜面菌种的孢子化程度低等等。这就需要进行菌种的改良。一是用所谓传统的理化诱变技术,使菌种发生突变,存优去劣。这是目前普遍采用的方法,容易施行,易见成效。另一条途径是研究目的物的基因结构及基因调控、表达的方式,进行基因重组、转殖,使之高效表达。基因工程技术将变成常规技术,它将成为微生物资源开发利用的强大武器。

五、微生物资源开发利用的重大课题

人类大规模开发利用微生物资源不过50年的历史,已取得了极其辉煌的成果。但是,微生物资源开发利用的潜力仍然大得很,前景十分宽广,任务也十分艰巨。

(1) 微生物资源的种类究竟有多少?如何检测、分离未知微生物?极端环境存在什么样的微生物?它们有何开发利用价值?这是微生物资源开发利用的重要前提和基础。这个重大问题目前还未引起足够的重视,在技术上也没有重大突破。这是很值得投入的重要领域。

(2) 化肥、农药曾经而且正在为农业增产做出巨大贡献,但是也带来严重的环境问题。提供无公害肥源的希望在于微生物。生物固氮,尤其是非豆科粮食作物的固氮是最值得研究的重大课题。与此相关,从微生物着手开发无公害农药也值得重点投入。

(3) 许多发达国家的政府和民间投入在研发方面的费用,大部分用于“保健”,其中医药是研发费用投入的重点。微生物药物(抗生素等)的年销售额约300亿美元,为人类的保健事业做出了不可磨灭的贡献。但是仍然有大量“不治之症”,心血管病、艾滋病等病毒病、肿瘤仍在蔓延,许多常见多发疾病也无良药。从微生物开发药物仍然是当今的重大任务。

随着开发进程的不断深入,开发领域的不断扩大,随着新技术的发展和渗透,微生物资源开发利用将会日新月异,新思维、新产品、新用途、新领域将层出不穷。我们相信,微生物资源将更好地为人类造福。