

现代生物技术在抗生素生产中的应用

李绪友

(湖北生态工程职业技术学院,湖北 武汉 430200)

摘要:为了提高我国抗生素产品在国际市场的核心竞争力,综述了国内外抗生素生产技术的相关研究成果,分析了各种生物技术的优劣.结果表明,发酵过程控制的优化成为抗生素发酵生产中迫切需要解决的课题;利用酶工程技术生产抗生素虽具有高效能、低消耗、无公害、长寿命、安全、自动化等优点,但将新的生物工程技术全部应用到酶工程上来使之能源源不断地生产出适合人类需要的酶来还需时日;原生质体融合技术和基因工程技术在实验条件下产生了新的抗生素,但在生产中还需解决工程菌的质量和抗生素的基因表达等问题;代谢工程的实质就是基因工程,只是涉及的基因改变的量远比基因工程巨大;以生物整体为研究对象的系统生物学技术、组学技术和重塑生命体的合成生物学技术将为抗生素的生产带来革故鼎新的变化,但也面临很多诸如系统复杂性难以处理、很多元件不相容和线路系统难以预料等技术挑战和合成生命等伦理挑战.

关键词:抗生素;现代生物技术;应用

中图分类号:TB1

文献标识码:A

doi:10.3969/j.issn.1674-2869.2014.01.004

0 引言

抗生素(antibiotics)在医用、农用、畜用、食品保藏、实验试剂中应用非常广泛.随着已知抗生素数量的不断增加,用传统的常规的方法来筛选新抗生素的几率越来越低.为了能够获得更多的新型抗生素和优良的抗生素产生菌,利用现代生物技术可提高抗生素产量,改善抗生素组分,改进抗生素生产工艺.现代生物技术是当今国际上重要的高技术领域,主要范畴有:发酵工程、酶工程、细胞工程、基因工程、系统生物学和组学技术、代谢工程及合成生物学等技术.生物技术产业虽然是近40年兴起的新兴产业,不少生物技术产品尚处于研究试验阶段,商品发展也遇到风险和曲折,但是生物技术产业趋势是不可逆转的,它将逐渐成为世界经济体系的支柱之一^[1].

1 发酵工程在抗生素生产中的应用

20世纪40年代初,随着青霉素的发现,抗生素发酵工业逐渐兴起.抗生素作为医用、农用以及饲料添加剂等,已经发展到近200个品种,其中具有临床效果并已利用发酵法大量生产和广泛应用的多达百余种^[2].

1.1 菌种筛选与改造是提高抗生素产量的主要途径

抗生素的发酵生产离不开生产菌,抗生素生产菌以放线菌和霉菌为主.长期以来,国内各抗生素生产厂家把菌种筛选与改造或者从国外引进菌种作为提高抗生素的产量和品质的主要途径.发酵工程菌种的选育与改造常结合基因工程手段进行,先后呈现出由野生菌向变异菌、由自然选育向代谢控制育种和由诱发基因突变向基因重组定向育种三个阶段.

1.2 优化发酵过程控制是提高抗生素产量的重要途径

微生物发酵法生产抗生素包括两个阶段即菌体生长阶段和抗生素合成阶段,如何提高发酵单位,应从培养条件控制入手:**a.**加糖控制.糖是微生物生长繁殖过程中重要的能源和碳源,不同的抗生素生产菌在不同阶段对各种糖需求的浓度和种类是大不相同的.加糖方式有恒量添加和根据发酵液pH^[3]变化情况进行变量添加,在抗生素发酵生产中,一般都采用后者^[4].**b.**补料及添加前体控制.各抗生素生产厂家普遍采用杯式流加计算机在线控制技术,基本上满足了高精度控制补料速率问题.前体浓度过高一般对菌体有毒,因此采

用微量添加的方式^[5]. **c. pH控制.**pH值影响菌体生长和抗生素稳定,因此在抗生素发酵生产中一般通过添加原料的方式解决,可以实现计算机在线控制^[3]. **d. 温度控制.**菌体生长阶段和抗生素合成阶段所需最适温度是不一样的,通常前高后低^[6]. **e. 溶氧量控制.**抗生素生产菌一般都是好氧菌,提高溶氧量,能提高发酵单位.许多放线菌、细菌、真菌能产生抗生素,它们在发酵生产中,都需要从以上几个方面做好调控,以提高发酵单位^[7].

很多抗生素发酵厂家由于对操作条件变化适应能力较差,就只有借助计算机的精确控制来解决批间操作的不稳定问题,如在发酵罐上配置了电板、溶氧电极,甚至氧和二氧化碳浓度排气测量.发酵过程的优化,需要过程分析理论作指导,用以动力学研究为依据的反应器设计原理来解释测量参数及其变化的意义是有局限性的.发酵工业正经历由通气搅拌发酵阶段向代谢控制发酵阶段的伟大变革.在当前和今后一段时间内,只有把参数检测和代谢控制结合起来提出的发酵过程优化控制理论,才能切实可行地解决抗生素生产中的实际问题^[8].

2 酶工程在抗生素生产中的应用

酶工程产生于上世纪70年代,这一新技术由于具有效能高、消耗低、污染少、自动化、投资小和安全性高等优势,因此在我国和世界少数发达国家被用于生产抗生素、氨基酸和核苷酸等生化产品^[9].我国从上世纪80年代起应用固定青霉素酰化酶和头孢菌素酰化酶等固定化酶技术先后生产出6-氨基青霉烷酸(6-APA),7-氨基头孢烷酸(7-ACA)等抗生素中间体^[10].抗生素药物特别是原料药在我国医药市场上占有重要地位,发展现状日益呈现产业规模创新高、工艺水平大提高和生产经营环境成本高的“三高”特点.随着酶工程由固定化酶和固定化活细胞阶段向用细胞融合术和DNA重组术来改良产酶菌阶段转变,抗生素生产的工艺水平将有更大的突破和提高.但用细胞融合术和DNA重组术来改良产酶菌生产抗生素还处于试验阶段,成功报道的已有许多,若有实用价值还需时日.应用固定化酶和固定化细胞技术生产的抗生素中见表1^[11].

表 1 固定化酶和固定化细胞生产的抗生素

Table 1 Immobilized enzyme and immobilized cells for the production of antibiotics

固定化酶或固定化细胞	底物	产物
青霉素酰化酶	天然苄青霉素	6-APA
<i>E.coli</i>	天然苄青霉素	6-APA
头孢菌素酰化酶	去乙酰氧基头孢菌素	7-ADCA
<i>E.coli</i>	去乙酰头孢菌素	7-ADCA
<i>Pseudomonassp</i>	戊酮-7-ACA	7-ACA
青霉素酰化酶	D-苯甘氨酸甲酯+6-APA	氨苄西林
<i>E.coli</i>	D-苯甘氨酸甲酯+6-APA	氨苄西林
头孢菌素酰化酶	α-噻吩乙酸甲酯+7-ACA	头孢噻吩
头孢菌素酰化酶	D-苯甘氨酸甲酯+7-ADCA	头孢氨苄
无色杆菌	D-苯甘氨酸甲酯+7-ADCA	头孢氨苄

3 细胞工程在抗生素生产中的应用

3.1 利用原生质体融合技术提高抗生素的产量

微生物原生质体融合是使遗传性状不同的两个菌体细胞的原生质体进行融合,从而获得具有两菌体遗传性状的稳定重组子的过程^[12].这一技术实现了远缘菌株的基因重组.不产生有性孢子的丝状真菌具有准性生殖这种特有的遗传现象.准性生殖实质上是丝状真菌体细胞在有丝分裂过

程中实现染色体和基因的重组而产生新的遗传性状的过程.丝状真菌的准性生殖现象实质就是微生物的原生质体融合,通过这种技术筛选高产量的变异菌株已成为育种常规方法之一.如柔红霉素(正定霉素)产生菌与四环素产生菌的种间原生质体融合,由于这两个抗生素的生物合成都是来自聚酮体途径,使柔红霉素的单位产量得到明显提高^[13].再如现临床上使用的高产量的巴龙霉素就是将巴龙霉素产生菌与新霉素产生菌的高产突

变菌株进行种间原生质体融合,从而产生使巴龙霉素单位产量提高5~6倍的重合体.这两个抗生素在化学结构上只有一个羟基和氨基的差别,合成途径也十分相似^[14].

3.2 利用原生质体融合技术产生杂合抗生素

通过原生质体融合形成新化合物的机制有两种可能的解释:一是某一亲株的酶基因引入另一亲株,导致形成新的化合物;二是调节基因得到重组,使得沉默基因得以活化和表达.融合子产生新化合物的报道越来越多,尽管只有少数明确了所产生化合物的化学结构,但这一育种途径值得深入探讨.

4 基因工程在抗生素生产中的应用

4.1 两步重组法改造生物合成肽类抗生素

肽类抗生素可由微生物的非核糖体合成的方式在多肽合成酶系中进行.多肽合成酶系具有酶和模板的功能,又被称为蛋白质模板,对其相应的氨基酸激活功能域进行定向两步重组取代,产生了新的肽类抗生素,如耶尔森氏鼠疫杆菌素的成功合成^[15].

4.2 敲出副产物的酶基因及改造代谢途径

通过定向突变使一些“多余”基因失活,可下调干扰目的抗生素产量的基因表达,使目的抗生素产量提高.如为提高红霉素的产量,可敲除红色糖多孢菌甲基丙二酰辅酶A变位酶基因 *mutB*^[16].再如为提高寡霉素的产量,可失活酞 dF 基因,增加延伸单位丙二酸单酰辅酶A的量^[17].

4.3 人工改造抗生素合成有关基因

提高抗生素的产量和品质是各抗生素生产厂家共同追求的目标,改变抗生素的产量的方法有很多,诸如改造调控基因、改造自身抗性基因以及增加基因簇的拷贝数和异源表达等.如过量表达链霉素调控蛋白家族能增加克拉维酸和柔红霉素等几种抗生素的产量^[18].又如将卡那霉素链霉菌(*S. kanamyceticus*)中编码氨基糖苷 6'-N-乙酰转移酶的自身抗性基因过表达,能够提高产生菌对氨基糖苷类的抗性,增加链霉素产量^[19].再如将克拉维酸链霉菌(*Js. clavuligerus*)中 *cas2* 基因整合进染色体,增加 *cas2* 拷贝数,从而使克拉维酸增产1.6~5倍^[20].

4.4 克隆外源基因以改良原菌种的发酵生理特性

抗生素发酵生产中溶氧量提高,抗生素产量提高^[7],而发酵生产抗生素经常面临溶氧量不足

的问题.如果在菌体内导入与氧有亲合力的血红蛋白,呼吸细胞器就能容易的获得足够的氧,降低细胞对氧的敏感程度,可以利用它来改善发酵过程中溶氧的控制强度.因此,利用重组DNA技术克隆血红蛋白基因到抗生素生产菌中,在细胞中表达血红蛋白,可望从提高细胞自身代谢功能入手解决溶氧供求矛盾,提高氧的利用率,具有良好的应用前景.

5 系统生物学和组学技术在抗生素生产中的应用

系统生物学是把生物体的各种组分整合起来一起研究,这些组分包括基因、各种RNA、蛋白质、代谢物和生物小分子等.它不同于分子生物学只研究一种基因,而是综合研究细胞中这些组分间的相互关系以及生物系统在受到一定外界因素影响下在一定时间内的动力学过程及其规律的一种分析技术^[21-24].因此,系统生物学可以说是一个在充分研究基因及生物大小分子结构和功能基础上的一种由下而上的系统组合^[25-26].人类基因组计划完成之后,生命科学研究的热点便转入了后基因组时代,即组学革命时代(omics revolution).此期的特征就是随着大规模基因组测序的完成,涌现的一些新技术和方法对海量数据进行挖掘和利用^[27].组学技术(omics technology)就是随系统生物学理论的产生而产生的;反过来,组学技术在生物学研究中的广泛应用,又为系统生物学理论提供了大量的科学数据,由此促进了系统生物学理论的发展和完善.组学技术主要包括基因组学、蛋白质组学、转录组学及代谢组学等^[28].系统生物学和组学技术的出现,为抗生素的创新和发展提供了新的途径.

放线菌和真菌是抗生素的主要产生菌,已有很多放线菌和真菌的基因测序已经完成,科学家们应用很多方法来挖掘和利用这些海量数据.

5.1 基因组学技术

从1984年Malpartida等成功克隆到放线紫红素生物合成基因簇^[29],以及随后又克隆出了榴菌素^[30]、红霉素和泰乐菌素^[31]等的生物合成基因,并揭示了微生物次级代谢产物生物合成基因成簇排列的特征,至此,基因组学的研究已进入蓬勃发展时期.已用全面突变基因组的每个基因的方法系统地改变基因结构,产生一个完整的突变株文库,进而用于基因组学研究.哈佛大学的Losick^[32]研究组就首次构建了一个用于天蓝色链霉菌中大规

模的突变株.周敏^[33]通过对天蓝色链霉菌基因组抗生素合成基因簇和左臂非生长必需区域进行连续的缺失,获得了缺失了约1.2 Mb的突变体ZM11.ZM11的生长速度没有明显改变,但是放线紫红素的产量却大幅提高了,更适合抗生素的表达.

5.2 蛋白质组学技术

利用此技术可以比较细胞在不同生理或病理条件下蛋白质表达谱异同,对差异蛋白质进行分类和鉴定;还可对正常个体及病理个体间的蛋白质组比较分析,找到某些“疾病特异性的蛋白质分子”.陈立娟^[34]等利用蛋白质组学技术研究阿霉素(Doxorubicin)对大鼠心脏毒性中发现,阿霉素可能导致大鼠心脏4种蛋白(肌球蛋白重链、Hsc70、cTnT和一个未命名蛋白)表达增强和3种蛋白(白蛋白2个,可能修饰不同,原肌球蛋白 α 链)表达减弱.

5.3 转录组学技术

利用芯片技术可以同时分析数千个转录子从而对转录过程进行系统监控.吴杭^[35]通过基因组芯片技术,分析了井冈霉素产生菌5008在30℃与37℃条件下的转录谱变化,在37℃分别有701个上调和841个下调的差异表达基因.吴杭进一步利用氨基酸分析仪发现井冈霉素产生菌5008胞内谷氨酸浓度在37℃时仅有30℃的十分之一,而谷氨酰胺的浓度较为接近,这暗示谷氨酸作为氮代谢前体在37℃条件下主要用于合成井冈霉素.

5.4 代谢组学技术

该技术是通过分析机体生物体液和组织中代谢产物谱变化,研究机体整体生物学状况和功能调节的一种新的系统方法.陈立娟^[36]等利用代谢组学技术分析不同剂量阿霉素给药后不同时间大鼠尿液代谢谱的改变,研究发现,随着给药剂量的增加、给药时间的延长,鼠尿液的代谢谱发生明显改变,且与动物体重、血液生化指标和组织病理学的改变具有很好的相关性.进一步研究发现尿液中含量明显增加的有尿酸、色氨酸、苯丙氨酸和胆汁酸,含量降低的为马尿酸和葡萄糖醛酸结合物.这些物质的改变与阿霉素毒性损伤有关.

6 代谢工程在抗生素生产中的应用

我国的抗生素产业仍主要以传统的常规育种方式进行维系,缺乏先进的理论和技术支撑,极大地降低了我国在新药高产和创新领域的竞争力.因此,把从自然界微生物中被动筛选抗生素新药

的传统模式,转变为利用基因资源人工设计来主动高产或创新抗生素药物,是我国未来新抗生素发展战略的重要一环.

抗生素代谢工程就是在组学技术发展的基础上,以菌种改良为目的利用抗生素基因簇资源,通过人工设计抗生素生物合成途径来主动实现高产或创新,它是基因工程的延伸.该研究历经近20年,取得了以下重要成果:(1)高慧英等^[37]于2002年首次从吸水链霉菌中分离到井冈霉素生物合成基因簇,并通过基因异源重组将井冈霉素必需生物合成基因浓缩为8个,对3个生物合成基因进行了详细的功能分析并获得了只积累井冈胺的工程菌;(2)邓子新等^[38]于2003年克隆了首例聚醚类抗生素南昌霉素和梅岭霉素等7个聚酮生物合成基因簇,通过竞争性基因簇的缺失使南昌霉素产量显著提高,阐明了聚醚类线性分子释放的独特机制,通过组合生物合成手段获得了脱糖基的南昌霉素新结构衍生物,并证实了糖基对生物活性的重要性;(3)邓子新等^[38]随后又克隆了首例多烯类抗真菌抗生素杀念菌素的生物合成基因簇,阐明了杀念菌素由模块式聚酮合酶组装合成的分子机理,提出了杀念菌素四个同系物的转换模型,对糖基合成基因进行定向失活获得了8个新结构衍生物.代谢工程的实质就是基因工程,只是涉及的基因改变的量远比基因工程巨大.

7 合成生物学在抗生素生产中的应用

合成生物学技术不同于基因工程技术,它是按照人们的预想而设计组装各种生命元件来建立的人工生物体系,并能完成各种生物学功能的技术.应用该技术生产抗生素的过程,就是要对表达宿主菌的基因组进行改造以及抗生素生物合成基因簇进行改造,进而完成生命体重塑的过程.

抗生素耐药性病原体在全球范围内的出现使得目前大多数使用的抗生素失去了原有的治疗效果,解决这一问题迫切需要新的抗生素,应用合成生物学技术设计新抗生素的生产方法引起科学家们的强烈兴趣.合成生物学将在新抗生素的筛选和抗性的治疗方面发挥巨大作用^[39].

羊毛硫抗生素(Lantibiotics)是革兰阳性菌通过核糖体合成机制产生的一类抗菌肽,可抑制微生物尤其是革兰阳性菌株的生长,有望可以代替传统抗生素控制耐药性病原菌^[40].2010年欧盟学者首先从羊毛硫抗生素族中获得精确制定的肽单元,然后将它们重新组合以产生新的抗生素功能;

接着,通过利用随机杂交修饰酶进行修饰,并使修饰途径的组分能够精确调节;通过提供完全的特征化表达元件,在标准组件模式中组装一个对周围环境不敏感的后翻译体系.将上述组装途径植入到一种新的生产用底盘生物肉葡萄球菌(*Staphylococcus carnosus*)中.重组菌株可被用来生产多种新的羊毛硫抗生素,如:尼生素(Nisin).总部在荷兰的DSM是首先使用合成生物学来改良现有的商业化生产头孢霉素IV的工艺的公司之一.以青霉素生产菌为初始菌株,DSM公司向其中导入并优化了两种分别编码酰基转移酶和扩环酶的异源基因,以一步直接发酵 adipoyl-7-ADCA,然后 adipoyl-7-ADCA 经过两步酶学反应转化为头孢霉素IV,取代了原来需要13步化学反应才能完成的过程,因此,显著节省了成本和能源费用.

8 结 语

纵观抗生素生产工艺的发展历程,人们把切入点放在抗生素生产菌的筛选和改造上.生产菌的筛选和改造经历了由传统的常规育种方式到个别基因改良的基因工程,再到基因簇资源利用的代谢工程,发展到以生物整体为研究对象的系统生物学、组学和重塑生命体的合成生物学.可以说,抗生素生产技术的发展迎来了一个蓬勃发展的“大跃进”时期.但是,这些并不意味着抗生素在实际生产中就一帆风顺,还面临很多技术瓶颈问题,如在发酵生产中还迫切需要对发酵过程控制进行优化的问题,基因改造后的工程菌的质量和抗生素的基因表达问题,重塑生命体的合成生物学也面临系统复杂性难以处理、很多元件不相容和线路系统难以预料等^[41]技术挑战和合成生命等伦理挑战.

致 谢

本研究要特别感谢武汉华龙生物制药有限公司的刘慈工程师和武汉海吉力生物科技有限公司的隋霞工程师,以及为本研究提供数据和资料的其他同志们.

参考文献:

- [1] 张俊祥,程家瑜,王革,等.生物技术产业特性和发展战略选择研究[J].中国科技论坛,2011(1):19-23.
ZHANG Jun-xiang, CHENG Jia-yu, WANG Ge, et al. Characteristics of the biotechnological industry and its development strategy [J]. Forum on Science and Technology in China, 2011(1):19-23. (in Chinese)
- [2] 马孟增,甘专,张文娥,等.中国野生毛葡萄叶盘法遗传转化中抗生素种类及体积质量分数的筛选[J].西南大学学报:自然科学版,2013,35(7):11-16.
MA Meng-zeng, GAN Zhuan, ZHANG Wen-e, et al. Selection of antibiotics and their concentrations during genetic transformation via the leaf disc regeneration system in chinese wild grape (*Vitis heyneana*) [J]. Journal of Southwest University: Natural Science, 2013, 35(7):11-16. (in Chinese)
- [3] 李啸,储炬,张嗣良,等.林可霉素发酵过程代谢特性与pH调控的研究[J].中国抗生素杂志,2009,34(4):33-39.
LI Xiao, CHU Ju, ZHANG Si-liang, et al. Study on the metabolic characteristics of streptomycetes lincolnensis and regulation of pH during lincomycin fermentation [J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2009, 34(4):33-39. (in Chinese)
- [4] 高圣君,杭海峰,陈中兵,等.流加葡萄糖策略对盐霉素生物合成调控影响[J].中国抗生素杂志,2013,38(8):42-46.
GAO Sheng-jun, HANG Hai-feng, CHEN Zhong-bing, et al. Effect of Glucose Feeding Strategy on the Salinomycin Biosynthesis in *Streptomyces Albus* [J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2013, 38(8):42-46. (in Chinese)
- [5] 贺晓冉,陈宸,金光石,等.青霉素发酵过程的模型仿真与补料优化[J].化工学报,2012,63(9):13-18.
HE Xiao-ran, CHEN Chen, JIN Guang-shi, et al. Model simulation of fed-batch penicillin fermentation and optimization of substrate feedrate [J]. Ciesc Journal, 2012, 63(9):13-18. (in Chinese)
- [6] 张芙华,华兆哲,陈坚,等.温度两阶段控制策略发酵生产重组角质酶[J].应用与环境生物学报,2009,15(5):9-15.
ZHANG Fu-hua, HUA Zhao-zhe, CHEN Jian, et al. Effect of two-staged temperature strategy on production of cutinase with recombinant bacillus subtilis [J]. Chinese Journal of Applied & Environmental Biology, 2009, 15(5):9-15. (in Chinese)
- [7] 高安秀,刘九羊,黄少萌.溶氧对发酵的影响及控制[J].农家科技:下旬刊,2012(5):13-16.
GAO An-xiu, LIU Jiu-yang, HUANG Shao-meng. Influence of dissolved oxygen on the fermentation and control [J]. Nong Jia Ke Ji, 2012(5):13-16. (in Chinese)
- [8] 扶教龙,储炬,刘玉伟,等.金霉素发酵过程的代谢特性及调控策略[J].中国抗生素杂志,2002,27(3):21-25.

- FU Jiao-long, CHU Ju, LIU Yu-wei, et al. The metabolic characteristics and the regulative strategy of chlortetracycline fermentation process [J]. *Chinese Journal of Antibiotics*, 2002, 27 (3) : 21-25. (in Chinese)
- [9] 郭勇. 酶工程研究进展与发展前景[J]. 华南理工大学学报:自然科学版, 2002, 30(11):5-12.
- GUO Yong. Research Progress and Prospects of Enzyme Engineering [J]. *Jouranl of South China University of Technology: Natural Science Edition*, 2002, 30(11):5-12. (in Chinese)
- [10] 陈红霞. 酶工程与抗生素工业[J]. 国外医药抗生素分册, 2005, 26(6):51-55.
- CHEN Hong-xia. Enzyme Engineering and Antibiotic Industr [J]. *World Notes on Antibiotics*, 2005, 26 (6):51-55. (in Chinese)
- [11] AHARONOWITZ Y, BERGMAYER J, CANTORAL J M, et al. Delta-(Lalpha-aminoadipyl)-L-cysteinyL-D-valine synthetase, the multienzyme integrating the four primary reactions in betalactam biosynthesis, as a model peptide synthetase [J]. *Biotechnology*, 1993(11):76-87.
- [12] FERENCZY L, KEVEI F, ZSOLT J. Fusion of fungal protoplast[J]. *Nature*, 1974, 248(5847):65-79.
- [13] 殷承慧, 胡鹤, 朱春宝, 等. dauW 基因对柔红霉素产量的影响[J]. 中国医药工业杂志, 2009, 40(11):52-57.
- YIN Chen-hui, HU He, ZHU Chun-bao, et al. Influence of dauW gene on daunorubicin production [J]. *Chinse Journal of Pharmaceuticals*, 2009, 40 (11):52-57. (in Chinese)
- [14] 谭周进, 杨海君, 林曙, 等. 利用原生质体融合技术选育微生物菌种[J]. 核农学报, 2005, 19(1):35-38.
- TAN Zhou-jin, YANG Hai-jun, LIN Shu, et al. Protoplast fusion technology and microbiol breeding [J]. *Actaagriculturae Nucleatae*, 2005, 19 (1) : 35-38. (in Chinese)
- [15] 高向阳, 陈念, 林壁润. 基因工程改造生物合成肽类抗生素[J]. 药物生物技术, 2005, 12(4):41-47.
- GAO Xiang-yang, CHEN Nian, LIN Bi-run. Gene Engineered Biosynthesis of Peptide Antibiotics [J]. *Pharmaceutical Biotechnology*, 2005, 12(4):41-47. (in Chinese)
- [16] 吴杰群, 刘文, 张嗣良. 红霉素的生物合成与组合生物合成[J]. 有机化学, 2012, 32(7):64-69.
- WU Jie-qun, LIU Wen, ZHANG Si-liang. Biosynthesis and combinatorial biosynthesis of erythromycin [J]. *Chinese Journal of Organic Chemistry*, 2012, 32(7):64-69. (in Chinese)
- [17] 张晓琳, 陈芝, 赵金雷, 等. 阿维菌素 B 产生菌寡霉素合成阻断株的构建[J]. 科学通报, 2004, 49(1):31-38.
- ZHANG Xiao-lin, CHEN Zhi, ZHAO Jin-lei, et al. Avermectin B producing bacteria oligomycin blocking synthesis of plant construction [J]. *Chinese Science Bulletin*, 2004, 49(1):31-38. (in Chinese)
- [18] 李继安, 邵雷, 陈代杰, 等. 酮基还原酶基因 dnrU 敲除对柔红霉素合成的促进效应[J]. 中国医药工业杂志, 2010, 41(10):22-27.
- LI Ji-an, SHAO Lei, CHEN Dai-jie, et al. Influence of inactivation of dnrU gene on improvement of daunorubicin production [J]. *Chinse Journal of Pharmaceuticals*, 2010, 41(10):22-27. (in Chinese)
- [19] 李天伯, 尚广东, 夏焕章, 等. 链霉菌 *Streptomyces tenebrarius* H6 中与抗生素有关的糖生物合成基因的克隆[J]. 生物工程学报, 2001, 17(3):57-64.
- LI Tian-bo, SHANG Guang-dong, XIA Huan-zhang, et al. Cloning of the sugar related biosynthesis gene cluster from *streptomyces tenebrarius* H6 [J]. *Chinse Journal of Biotechnology*, 2001, 17 (3) : 57-64. (in Chinese)
- [20] 孟勇, 王忠, 官家发. 克拉维酸产生菌的改良[J]. 应用与环境生物学报, 2005, 11(5):23-29.
- MENG Yong, WANG Zhong, GUAN Jia-fa. Improvement of Clavulante Acid-Producing *Streptomyces Clavuligerus* [J]. *Chinse Journal of Applied & Environmental Biology*, 2005, 11(5):23-29. (in Chinese)
- [21] HOOD L. Systems biology: integrating technodgy, biology, and computation [J]. *Mech Ageing Dev*, 2003, 124(1):9-16.
- [22] LDEKER T, GALITSKI T, HOOD L. A new approach to decoding life: systems biology [J]. *Annu Rev Genomies Hum Genet*, 2001, 2:343-372.
- [23] KITANO H. Systems biology: a brief overview [J]. *Science*, 2002, 295(5560):1662-1664.
- [24] 孙兰芳, 姜璐. 系统生物学: 系统科学与生物体系统 [J]. 系统工程理论与实践, 2005, 25(10):129-136.
- SUN Lan-fang, JIANG Lu. Systems biology: systems science and biological systems [J]. *Systems Engineering—Theory & Practice*, 2005, 25 (10) : 129-136. (in Chinese)
- [25] BUTCHER E C, BERG E L, KUNKEL E J. Systems biology in drug discovery [J]. *Nat Biotechnol*, 2004, 22(10):1253-1259.
- [26] 贾伟, 赵立平, 陈竺. 系统生物医学: 中西医结合研究的汇聚 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2007, 9 (2):1-5.
- JIA Wei, ZHAO Li-ping, CHEN Zhu. Systems

- biomedicine -the convergence of western medicine and traditional chinese medicine[J]. World Science and Technology-Modernizatton of Traditional Chinse Medicine, 2007, 9(2): 1-5. (in Chinese)
- [27] 陈献忠, 沈微, 樊游, 等. 后基因组时代的丝状真菌基因组学与代谢工程[J]. 遗传, 2011, 33(10): 1067-1078.
- CHEN Xian-zhong, SHEN Wei, FAN You, et al. Genomics and metabolic engineering of filamentous fungi in the postgenomics era[J]. Hereditas, 2011, 33(10): 1067-1078. (in Chinese)
- [28] 刘良. 充分利用组学技术研究及发展中医药[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2009, 11(2): 211-219.
- LIU Liang. Omics technologies and their applications in chinese medicine research and development [J]. World Science and Technology-Modernizatton of Traditional Chinse Medicine, 2009, 11(2): 211-219. (in Chinese)
- [29] MAIPARTIDA F, HOPWOOD D A. Molecular cloning of the whole biosynthetic pathway of a Streptomyces antibiotic and its expression in a heterologous host[J]. Nature, 1984, 309(5967): 462-464.
- [30] MALPARTIDA F, HALLAM S E, KIESER H M, et al. Homology between Streptomyces genes coding for synthesis of different polyketides used to clone antibiotic biosynthetic genes [J]. Nature, 1987, 325(6107): 818-821.
- [31] Coaes J, Haydoek S F, ROBERTS G A, et al. An unusually large muhifunctional polypeptide in the erythromycin producing polyketide synthase of Saccharopolyspora erythraea [J]. Nature, 1990, 348(6297): 176-178.
- [32] Losick R, Shapiro L. DNA replication. Bringing the mountain to Mohammed (comment) [J]. Science, 1998, 282(5393): 1356-1364.
- [33] 周敏. 天蓝色链霉菌基因组的改造与抗生素的过量表达[D]. 上海: 中国科学院上海生命科学研究院, 2010.
- ZHOU Min. Overexpression of transformation and antibiotic Streptomyces coelicolor genome [D]. Shanghai: Shanghai Institutes for Biological Sciencies, CAS, 2010. (in Chinese)
- [34] 陈立娟, 郭家彬, 彭双清. 阿霉素致大鼠心脏氧化损伤及其机制的研究[J]. 毒理学杂志, 2006, 20(3): 147-154.
- CHEN Li-juan, GUO Jia-bin, PENG Shuang-qing. Experimental study on adriamycin-induced cardiotoxicity in rats [J]. Journal of Toxicology, 2006, 20(3): 147-154. (in Chinese)
- [35] 吴杭. 井冈霉素高产的比较功能基因组研究[D]. 上海: 上海交通大学, 2012.
- WU Hang. Comparative study on functional genomics of validamycin yield [D]. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University, 2012. (in Chinese)
- [36] 陈立娟, 彭双清. 代谢组学技术及其在毒理学研究领域中的应用[J]. 生物技术通讯, 2007, 18(1): 39-44.
- CHEN Li-juan, PENG Shuang-qing. Metabomomics and the Applications on the Toxicity [J]. Letters in Biotechnology, 2007, 18(1): 39-44. (in Chinese)
- [37] 高慧英, 王以光, 高群杰, 等. 吸水链霉菌 Streptomyces hygroscopicus 17997 中噬菌体基因转移系统的建立及其应用[J]. 生物工程学报, 2003, 19(4): 25-29.
- GAO Hui-ying, WANG Yi-guang, GAO Qun-jie, et al. Establishment of Gene Transduction System in Geldanamycin Producer-Streptomyces hygroscopicus 17997 and its Application for Gene Disruption Experiment [J]. Chinse Journal of Biotechnology, 2003, 19(4): 25-29. (in Chinese)
- [38] SUN Y, ZHOU X, TU G, et al. Identification of a gene cluster encoding meilingmycin biosynthesis among multiple polyketide synthase contigs isolated from Streptomyces nanchangensis NS3226 [J]. Arch Microbiol, 2003, 180(2): 101-107.
- [39] 王兆守, 彭江海, 胡译丹, 等. 合成生物学的工业应用[J]. 中国科学, 2011, 41(4): 709-716.
- WANG Zhao-shou, PENG Jiang-hai, HU Yi-dan, et al. Industrial Applications of Synthetic Biology [J]. Chinese Science, 2011, 41(4): 709-716. (in Chinese)
- [40] 孙健, 郑珩, 徐寒梅. 羊毛硫抗生素的研究进展及其应用[J]. 国外医药抗生素分册, 2013, 34(2): 49-59.
- SUN Jian, ZHENG Heng, XU Han-mei. Research Progress and Applications of Lantibiotics [J]. World Notes on Antibiotics, 2013, 34(2): 49-59. (in Chinese)
- [41] KWOK R. Five hard truths for synthetic biology [J]. Nature, 2010, 463(7279): 288-299.

Application of modern biotechnology in antibiotic production

LI Xu-you

(Hubei Vocational College of Ecological Engineering, Wuhan 430200, China)

Abstract: To improve core competitiveness of our antibiotic products in the international market, the relevant research results about production technologies of antibiotics, both at home and abroad, were reviewed in this paper; and the advantages and disadvantages of various biological technologies also were analyzed. The results show that the optimization of fermentation process control has become an urgent issue in the process of antibiotic fermentation. Although enzyme engineering technology has many advantages, such as high efficiency, low energy consumption, pollution-free, long life, safety, automation in the production of antibiotics, it still needs much time to apply these new biological engineering technologies to the enzyme engineering to continuously produce the enzyme that human needed. A new antibiotic has been produced under the experimental conditions via the protoplast fusion and gene engineering technology, however, engineering bacteria quality, antibiotic gene expression etc. remain problems yet to be solved. The essence of metabolic engineering is the gene engineering, but the volume of gene change involved in metabolic engineering is much greater than that in genetic engineering. Systematic biology technology, which takes the research biont as a whole, along with the study of proteomic technologies and reshape life synthetic biology technology, will bring groundbreaking innovation for antibiotic production. Nevertheless, there awaits not only many technological challenges such as system complexity, components compatibility and line system unpredictability, but also the ethical challenge of synthetic life.

Key words: antibiotics; modern biotechnology; application

本文编辑:张 瑞