维普资讯 http://www.cqvip.com

综 述

文章编号:1001-8689(2007)05-0257-06

抗生素糖基转移酶研究进展

代焕琴[1,2,3] 王浩鑫[1,2] 沈月毛[1,*]

(1 中国科学院昆明植物研究所 植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室, 昆明 650204;
2 中国科学院研究生院, 北京 100039;
3 中国科学院微生物研究所, 北京 100080)

摘要: 糖苷类抗生素是临床上广泛应用的抗菌和抗肿瘤化合物。该类化合物在体内由糖基转移酶催化,糖基化反应通常在抗生素生物合成的最后发生,糖基的位置、类型和数量对糖苷类抗生素的活性有很大的影响。本文综述了糖基转移酶的种类、功能、特性及其在组合生物合成中的应用与研究前景。

关键词: 抗生素的糖基转移酶; 抗生素糖苷; 糖基化

中图分类号: R978.1 **文献标识码:** A

Recent advances in antibiotic glycosyltransferases

Dai Huan-qin[1,2,3], Wang Hao-xin[1,2] and Shen Yue-mao[1]

(1 The State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204;
2 Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039;
3 Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080)

ABSTRACT Glycoside antibiotics, a category of compounds widely used clinically for anti-bacterial and anti-cancer, are catalyzed by antibiotic glycosyltransferases (Gtfs) *in vivo*. The sugar moieties are transferred to the corresponding aglycon by Gtfs, often work at very late stages of biosynthesis of antibiotics. The position, type and number of sugar moieties incorporated to the antibiotics have great impact on its bioactivity. This article provides an overview of the categories, functions, characteristics of Gtfs, their applications in combinatorial biosynthesis, and the prospects for research.

KEY WORDS Antibiotic glycosyltransferase; Glycoside antibiotics; Glycosylation

抗生素糖苷在临床上主要用于抗菌和抗肿瘤,在抗生素生物合成基因簇中已经发现了很多编码糖基转移酶的基因[1],但人们对抗生素糖基转移酶(antibiotic glycosyltransferases,Gtfs)的特异性和催化机制了解不多。糖基与不同配基的结合能大大增加天然产物的结构多样性,在功能上,这些糖组分通常参与目的细胞的分子识别,影响化合物的生物活性[2]。目前,随着抗生素的广泛使用,耐药菌也在逐年增加,迫切需要寻找新的抗生素来与之抗衡。通过糖基化增加抗生素种类和改变抗生素活性是一条很有前景的途径,探讨糖苷类抗生素的产生机制和糖基转移酶的催化特征,有望为发现和改造新活性的抗生素奠定基础。

1 糖苷类抗生素

很多糖苷类抗生素在生物合成中经过了立体和区域选择性的糖基化,在这一生物反应中,糖基转移酶催化其结构中的糖基以单糖、双糖和寡糖链的形式结合到配基上从而形成特定的 C-、N-和 O-苷(Fig. 1)。糖苷类抗生素的生物合成途径中,糖基化通常是后修饰的最后一步,如万古霉素(vancomycin)、替考拉宁(teicoplanin)的糖链都是在生物合成的最后引入的[3]。

收稿日期:2006-10-31

作者简介:代焕琴,女,生于 1976 年,博士。研究方向:微生物次生代谢。 * 通讯作者,E-mail: yshen@mail.kib.ac.cn

维普资讯 http://www.cqvip.com

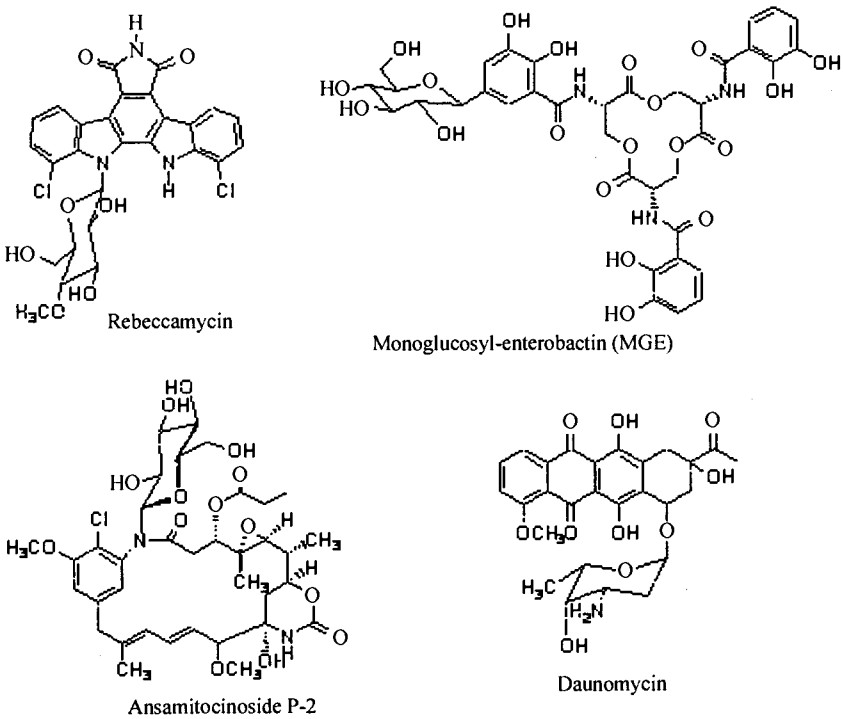

Fig. 1　The C-, N- and O-glycoside antibiotics

糖苷类抗生素的作用机制主要有两类，一类是通过抑制革兰阳性菌肽聚糖的合成，如雷莫拉宁(ramoplanin)[4]；另一类是抑制 DNA 促旋酶的活性，如新生霉素(novobiocin)[5]。

2　糖苷类抗生素中糖基的主要作用

糖基化的作用和意义主要体现在以下三个方面：第一，增加化合物的水溶性。已糖衍生物结合到抗生素糖苷配基上，增加了抗生素的亲水性利于药效的发挥，典型的有替考拉宁环七肽上的 N-乙酰葡萄糖胺(N-acetyl-glucosamine，GlcNAc)和雷莫拉宁骨架上的甘露糖链；第二，利于分泌。A40926 生物合成途径中的甘露糖基转移酶(mannosyltransferase)特异识别 mannosyl-PP-C_{55}作为糖供体，使糖基化的抗生素利于分泌[6]。第三，糖基化是产生菌的一种自我保护机制。在竹桃霉素(oleandomycin)的产生过程中，糖基转移酶 OleD 使中间态抗生素糖基化，造成其在胞内短暂失活，抗生素分泌后，再由糖苷酶水解去除糖基，使其恢复活性[7]。该机制在大环内酯类抗生素中比较常见，类似功能的酶还有 MgtA[8]。

3　糖基转移酶

糖基转移酶在生物体内催化活化的糖连接到不同的受体分子，如蛋白、核酸、寡糖、脂和小分子上，糖基化的产物具有很多生物学功能。在不同的 Gtfs 家族中存在一类与抗生素生物合成相关的 Gtfs，它的功能是在抗生素生物合成的后期使其糖基化，通过糖的位置、类型和数量的改变对抗生素的活性进行调节。

随着对抗生素生物合成基因簇的深入研究，从放线菌中已经分离了 100 多个抗生素生物合成相关的糖基转移酶基因，序列分析表明这些基因编码的蛋白都属于糖基转移酶家族。大多数糖基转移酶基因都具有靠近 C 端的富含甘氨酸(glycine-rich)的保守区，该保守区也存在于 UDP-糖基和 UDP-葡糖醛酸基转移酶中。选择 GenBank 中注册的有代表性 119 条糖基转移酶序列，用 PAUP 4.0 软件进行系统分析，以近邻法构建系统进化树(Fig. 2)。进化树的分析结果表明，糖基转移酶基因之间亲缘关系的远近，并不能很准确的推断其生物学功能[9]，例如，EryC Ⅲ和 MegC Ⅲ，在氨基酸水平上具有 83.4%的一致性，能识别同样的配基，UrdGT1b 和 UrdGT1c 表现出了很高的同源性(具有 91%一致的氨基酸和仅在 31 个氨基酸区域内有几个不同的氨基酸)，但是它们却转运不同的己糖，UrdGT1c 转移 L-夹竹桃糖(L-rhodinose)，UrdGT1b 转移 D-橄榄糖(D-olivose)[10]。催化 C-C、C-N 与 C-O 糖苷键形成的糖基转移酶，在基因的序列和氨基酸水平上并没有明显的差异，如 Asm25(安丝菌素酰胺糖苷生物合成途径中催化 C-N 糖苷形成的 Gtfs)[9,11]、UrdGT2(乌达霉素生物合成途径中催化 C-C 糖苷形成的 Gtfs)[12]、GtfB(万古霉素生物合成后修饰中催化 C-O 糖苷形成的 Gtfs)[13]。

在万古霉素的后修饰过程中，糖基转移酶 GtfB 的

维普资讯 http://www.cqvip.com

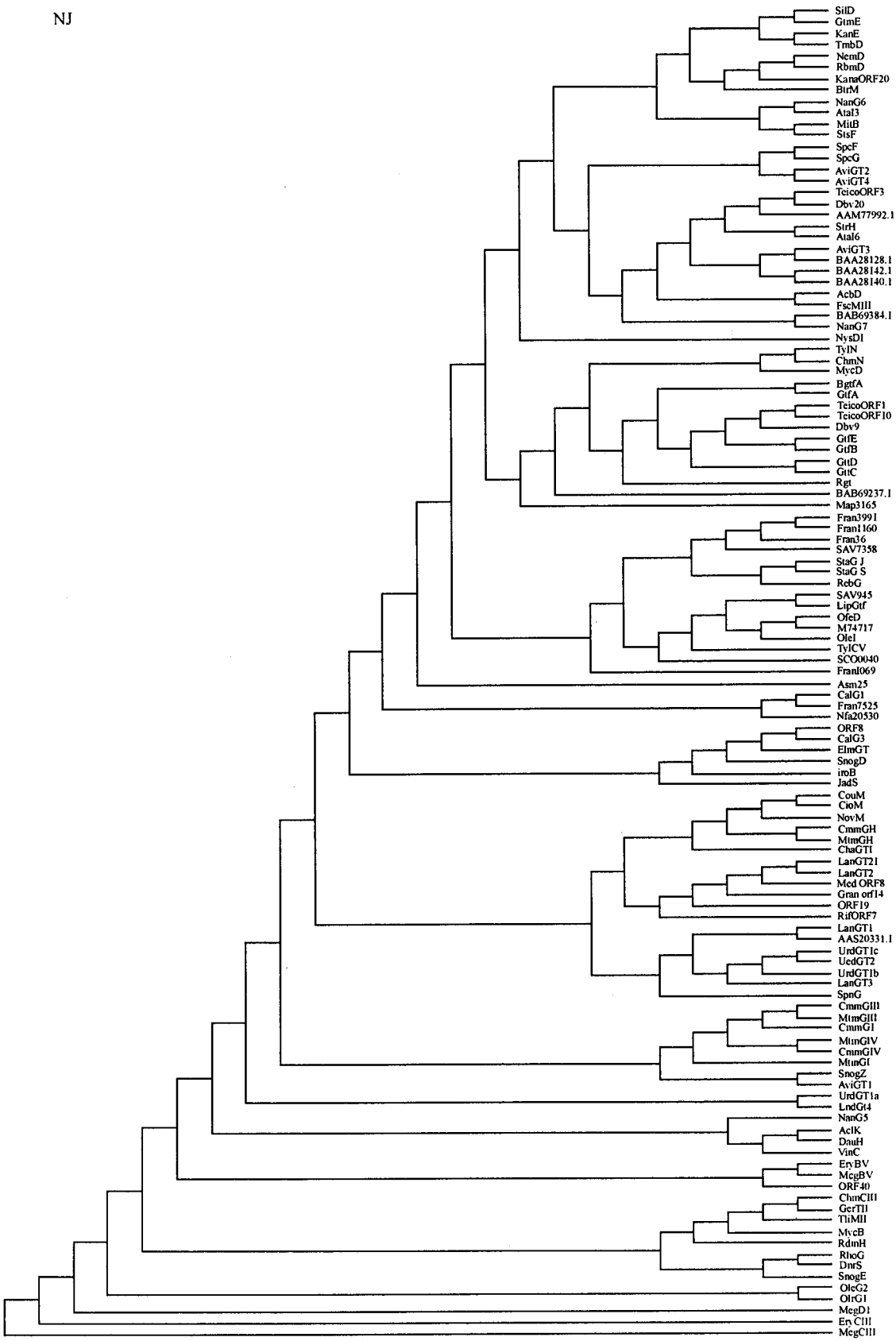

Fig. 2 A dendrogram of different antibiotic glycosyltransferases

维普资讯 http://www.cqvip.com

功能是将 UDP-葡萄糖中的葡萄糖基转移到万古霉素的骨架上，对其晶体结构的研究表明，该酶具有两个结构域，存在于中间区域的沟可能包含 UDP-葡萄糖的结合区域[13]。糖基转移酶的结构测定将有助于我们深入研究其催化特异性。

Gtfs 的两个显著特征是：第一，在抗生素生物合成过程最后起作用，这一点使其在组合生物合成中能得到灵活的应用，其底物结构特异性的阐明可以为新结构和新功能化合物的发现奠定基础。Gtfs 催化的糖基转移反应中，己糖的 C1 通过三磷酸核苷的去磷酸来激活，从而在亲电子的 C1 位置上捕获糖基底物，然后经亲核攻击，与糖苷配基的羟基结合。第二，大部分的糖基转移酶可以催化活化的己糖结合到糖苷配基底物的羟基上，形成 C-O 糖苷，仅少数例外，如在 rebeccamycin[14]和 urdamycin[13]的衍生物中存在糖基通过 C-N 和 C-C 键与糖苷配基结合的化合物。安丝菌素的 YMG 平板培养发酵物分离得到了安丝菌素酰胺 N 糖苷类化合物，其结构中的糖基通过酰胺键上的 N 与糖苷配基骨架相连[11]。在 urdamycin 的生物合成中，可能是由于亲核的 C 原子和酚类的羟基处于邻位导致 C-C 糖苷键的形成[12]，但是催化 C-N 和 C-C 形成的糖基转移酶其特异性还没有得到深入的研究。

3.1 Gtfs 的应用研究

(1)生物体内的研究　Gtfs 的体内研究主要采用遗传学方法进行，一种方法是通过质粒介导的基因替代宿主菌自身的 TDP-去氧己糖合成酶基因，筛选到的突变体作细胞工厂用于抗生素的改造。这些研究包括工程化的 daunomycin(道诺霉素)[15]途径用于苦霉素(pikromycin)产生菌 *S. venezuleae* 和urdamycin的产生菌 *S. fradiae* 中生产 4′-差向异构的糖基和具有不同糖单元的蒽环类抗生素[16,17]。

另外一种方法是在不同的宿主中异位表达 Gtfs，这方面的例子包括在宿主 *S. erythraea* 中表达 *oleGII* 基因产生 3-O-rhamnosyl-6-DEB、表达 *tylM2* 基因产生 5-O-desosaminyl(tylactone)[18]。

研究表明 Gtfs 对不同的糖分子具有底物适应性，Salas 的研究组创造出了共表达系统，该系统把来源于 elloramycin 生物合成基因簇中的糖基合成基因盒(Cassette)和糖基转移酶基因 *elMGT* 在一起成功地表达[19]。尽管很多糖基转移酶的底物广谱性已得到了证明，但仍有很多文献还是报道了特异性的糖基转移酶基因的存在，例如，*C. cyanogenus* 中的 UrdGT2[20]和来自 *S. spheroid* NCIMB11891 的 NovM[21]。勿庸置疑，随着更多 Gtfs 编码基因被发现以及作用机制的深入研究，在生物体内进行抗生素糖基化修饰的策略和模式也会增加。因此，建立多样化的微生物工厂来生产不同糖基修饰的天然产物，如表达糖基化修饰的聚酮(PK)，非核糖体肽(NRP)和杂合的 PK/NRP 类抗生素，可以为筛选新活性化合物提供可能。

(2)Gtfs 的体外研究　Gtfs 的体外研究依赖有活性的 Gtfs、多样化的糖苷配基和糖基供体。由于抗生素糖基转移酶在体内含量很低，异源表达操作相对简便，所以研究者多以异源表达方式在微生物如 *E. coli* 或者 *S. lividans* 中进行异源表达获得[22]。已经有几个成功的例子，如 NovM 首次在 *S. spheroides* 中发现并克隆，并以活性形式在 *E. coli* 中表达和纯化[21]。通过化学合成和生物酶催化的方法来产生 TDP-D-葡萄糖都是可能的[23]。比较而言糖苷配基最容易得到，可以通过母体抗生素的降解控制其产生，如相应糖苷配基很容易从万古霉素和替考拉宁分别获得，novobiocic acid 可以从酸催化新生霉素的反应中获得。除此之外，不同的配基还可以通过全合成或部分修饰来得到。如化学合成 daunomycin、carminomycin(洋红霉素)和博来霉素(bleomycin)的衍生物[23~25]。

4　糖基转移酶在组合生物合成的应用

应用遗传学方法生产新型聚酮和多肽类化合物日益得到人们的重视，表面上看重组生物合成糖基化的化合物和聚酮、多肽一样复杂，但是和聚酮、多肽合成酶的复杂性相比，由于催化去氧糖产生的酶及其反应机制比较保守，因此重组合成糖基化的化合物更有实践意义[25]。

西班牙的 Salas 研究组已经建立了成功的基因克隆和表达系统用来生产活化的去氧糖，目的基因处于操纵子的下游，通过启动子的控制可以在链霉菌中表达。在链霉菌 *Streptomyces albus* 中整合糖基转移酶基因 *oleGII*，导入合成 L-夹竹桃糖(L-oleandrose)的质粒后，合成红霉素内酯 B(erythronolide B)，而整合糖基转移酶基因 *elmGT* 后再导入生物合成 L-橄榄糖(L-olivose)的质粒 pOLV 可以成功生产特曲霉素(tetracenomycin C)[26,27]。

Staurosporine(十字孢碱)类化合物的结构是由一个糖分子和一个杂环的吲哚卡唑单元组成，通过化学手段较难得到，通过在一个生物体内共表达 rebeccamycin 和其它 staurosporine 类化合物生物合成基因，分离鉴定了大约产生了 30 种 staurosporine 类衍生物[28]。通过遗传学方法改变 Gtfs 的特异性有一定难度，Salas 研究组通过共表达糖基生物合成基因盒、Gtfs 基因(*staN* 和 *staG*)和 staurosporine 的生物合成

维普资讯 http://www.cqvip.com

基因成功地替代了天然附加在吲哚卡唑基团上的糖基，为糖基转移酶在重组生物合成中的应用奠定了基础，证明重组生物合成在生产新的糖基化产物中较药用化学更有利[16]。

4.1 使用产生菌作为细胞工厂

用产生糖苷化合物的微生物作为细胞工厂，在基因的编码区通过插入抗生素抗性标记或删除部分基因进行敲除产生突变体，引入外源糖基转移酶基因，使其利用细胞内活化的糖分子和微生物次生代谢的中间体合成新的抗生素。这种方法已经在很多生产菌株如红霉素(erythromycin)[29]、普卡霉素(plicamycin)、urdamycin、酒霉素(methymycin)[29]和苦霉素(pikromycin)上得到应用[30]。

另外一种促使不同糖单元结合到配基上的策略是在产生类似生物活性化合物的有机体上异源表达 Gtfs，宿主作为细胞工厂提供核苷激活的糖源。配基骨架可以由宿主合成，也可以通过控制宿主的染色体基因和外源基因来合成，或者用化合物进行饲喂。通过把来源于万古霉素产生菌 *A. orientalis* 的基因 *gtrE* 在不产生糖基多肽 A47934 的链霉菌 *S. toyocaensis* 中进行表达，形成了新的糖基 A47934 衍生物[17]。

Gtfs 转运不同的糖到配基骨架的特定 C 原子上，而用基因工程的方法改变糖在骨架上的位置更有意义，这一设想成功产生了杂合的 urdamycin 和普卡霉素抗肿瘤药物[30]。

4.2 使用非产生菌作为细胞工厂

在重组菌株的转化实验中，由于宿主不产生配基骨架，需要整合一个具有配基骨架生物合成基因的质粒到宿主上或者把配基添加到培养基中，通过生物转化进行修饰。糖分子则是通过转移一个或多个含有必须基因的质粒来提供，现在一些可以合成不同去氧己糖的质粒已经作为一种重要的工具被开发出来[31]。

5 糖基转移酶的研究前景

最近，在糖肽的生物合成系统中得到了 Gtfs 的晶体，结构测定表明这类 Gtfs 家族有两个共同的结构域。NDP-糖结合到 C-端，糖苷配基结合到 N-端(AGV/GtfB，DVV/GtfA)[13]。这个两裂的结构仅仅由两个肽连接到一起，提示混合和匹配各自的结构域是可以实现的[32,33]。因此，DNA shuffling 或相关酶定向进化可以构建看似荒诞的 Gtfs，改变其对己糖单元和配基的底物特异性，大大提高糖苷类化合物的结构多样性，为筛选到新活性糖苷类抗生素奠定基础。

总之，在生物合成中研究糖基化模式的多样性需要满足三个要求。

(1)建立糖基转移酶库　通过重组生物合成生产新的抗生素糖苷，必须建立糖基转移酶的基因库，才能使之在工业上得到深入应用。随着更多基因簇的序列测定，Gtfs 的数目也会逐年增加，发现具有混合和匹配的 N-或 C-端的 Gtfs 区域用于构建杂合催化体系，改变配基和去氧糖的识别，可以为特定的去氧糖单元寻找新结合位点[34]。

(2)建立配基的化合物库　这些化合物包括简单的氨基香豆素类骨架(aminocoumarin scaffolds)、非核糖体肽(NRP)以及芳香化的聚酮配基[25]。但是，由相似酶催化进行 C-N，C-C 糖基化还有待于进一步的研究。

(3)建立糖供体的化合物库　糖供体要包括很多 UDP 或 TDP 活化的糖和去氧糖。天然去氧糖附加到配基上以后，赋予了配基新的活性。去氧糖的氨甲酰化在很多类型的化合物如聚酮(新生霉素)、非核糖体肽(如替考拉宁)等抗生素中都存在，因此所有 TDP-D-和 TDP-L-去氧己糖衍生物在库中都值得准备[32,33]。

6 总结

迄今为止已经发现了很多与抗生素生物合成相关的糖基转移酶，但现有的研究还不深入，对糖基化生物学意义、糖基转移酶结构和功能关系、催化机制、糖苷的活化形式以及组合生物合成的应用等有待进一步探讨。沈月毛研究组发现糖苷化与微生物的生长条件有关，同一个菌株在平板培养时产生的糖基化产物在液体培养时却检测不到。催化三种不同类型糖苷形成的糖基转移酶之间在其作用机制及底物选择性方面到底存在那些异同，都有赖于不同类型糖基转移酶高级结构的阐明，离实用化、产业化还有很长的一段路要走。

参 考 文 献

[1] Thoroson J S, Hoster T J, Jiang J, *et al*. Nature's carbohydrate chemists: the enzymatic glycosylation of bioactive bacterial metabolites [J]. *Curr Org Chem*, 2001, 5(2): 139

[2] Weymouth-Wilson A C. The role of carbohydrates in biologically active natural products [J]. *Nat Prod Rep*, 1997, 14(2): 99

[3] Losey H C, Peczuh M W, Chen Z, *et al*. Tandem action of glycosyltransferases in the maturation of vancomycin and teicoplanin aglycones: novel glycopeptides [J]. *Biochemistry*, 2001, 40(15): 4745

[4] Cudic P, Kranz J K, Behenna D C, *et al*. Complexation of peptidoglycan intermediates by the lipoglycodepsipeptide antibiotic ramoplanin: minimal structural requirements for intermolecular complexation and fibril formation [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2002, 99(11): 7384

维普资讯 http://www.cqvip.com

[5] Gellert M, O'Dea M H, Itoh T, *et al*. Novobiocin and coumermycin inhibit DNA supercoiling catalyzed by DNA gyrase [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 1976, 73(12): 4474

[6] Sosio M, Stinchi S, Beltrametti F, *et al*. The gene cluster for the biosynthesis of the glycopeptide antibiotic A40926 by nonomuraea species [J]. *Chem Biol*, 2003, 10(6): 541

[7] Quiros L M, Aguirrezabalaga I, Olano C, *et al*. Two glycosyltransferases and a glycosidase are involved in oleandomycin modification during its biosynthesis by *Streptomyces antibioticus* [J]. *Mol Microbiol*, 1998, 28(6): 1177

[8] Gourmelen A, Blondelet-Rouault M H, Pernodet J L. Characterization of a glycosyl transferase inactivating macrolides, encoded by *gimA* from *Streptomyces ambofaciens* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1998, 42(10): 2612

[9] 代焕琴. 安丝菌素生物合成的后修饰研究[D]. 中国科学院博士学位论文, 2006: 40

[10] Walsh C T, Losey H C, Freel C L. Antibiotic glycosyltransferases [J]. *Biochem Soc Trans*, 2003, 31(Pt3): 487

[11] Lu C, Bai L, Shen Y. A novel amide N-glycoside of ansamitocins from *Actinosynnema pretiosum* [J]. *J Antibiot*, 2004, 57(5): 348

[12] Hoffmeister D, Ichinose K, Bechthold A. Two sequence elements of glycosyltransferases involved in urdamycin biosynthesis are responsible for substrate specificity and enzymatic activity [J]. *Chem Biol*, 2001, 8(16): 557

[13] Mulichak A M, Losey H C, Walsh C T, *et al*. Structure of the UDP-glucosyltransferase GtfB that modifies the heptapeptide aglycone in the biosynthesis of vancomycin group antibiotics [J]. *Structure*, 2001, 9(7): 547

[14] Sanchez C, ButovichI A, Brana A F, *et al*. The biosynthetic gene cluster for the antitumor rebeccamycin: characterization and generation of indolocarbazole derivatives [J]. *Chem Biol*, 2002, 9(4): 519

[15] Otten S L, Liu X, Ferguson J, *et al*. Cloning and characterization of the *Streptomyces peucetius dnrQS* genes encoding a daunosamine biosynthesis enzyme and a glycosyltransferase involved in daunorubicin biosynthesis [J]. *J Bacteriol*, 1995, 177(22): 6688

[16] Zhao Y, Ahlert J, Xue Y, *et al*. Engineering a methymycin/pikromycin-calicheamicin hybrid: construction of two new macrolides carrying a designed sugar moiety [J]. *J Am Chem Soc*, 1999, 121(42): 9881

[17] Hoffmeister D, Ichinose K, Domann S, *et al*. The NDP-sugar co-substrate concentration and the enzyme expression level influence the substrate specificity of glycosyltransferases: cloning and characterization of deoxysugar biosynthetic genes of the urdamycin biosynthetic gene cluster [J]. *Chem Biol*, 2000, 7(11): 821

[18] Walsh C, Freel C L, Losey H C. Antibiotic glycosyltransferases: antibiotic maturation and prospects for reprogramming [J]. *J Med Chem*, 2003, 46(16): 3425

[19] Blanco G, Patallo E P, Brana A F, *et al*. Identification of a sugar flexible glycosyltransferase from *Streptomyces olivaceus*: the producer of the antitumor polyketide elloramycin [J]. *Chem Biol*, 2001, 8(3): 253

[20] Dürr C, Hoffmeister D, Wohlert S E, *et al*. The glycosyltransferase UrdGT2 establishes both C- and O-glycosidic bonds [J]. *Angewandte*, 2004, 43(22): 2962

[21] Freel C L, Anderson J W, Kahne D, *et al*. Initial characterization of novobiocic acid noviosyl transferase activity of NovM in biosynthesis of the antibiotic novobiocin [J]. *Biochemistry*, 2002, 42(14): 4179

[22] Mendez C, Salas J A. Altering the glycosylation pattern of bioactive compounds [J]. *Trends Biotechnol*, 2001, 19(11): 449

[23] He X, M Liu, H W. Formation of unusual sugars: mechanistic studies and biosynthetic applications [J]. *Annu Rev Biochem*, 2002, 71: 701

[24] Oberthur M, Leimkuhler C, Kruger R G, *et al*. A systematic investigation of the synthetic utility of glycopeptide glycosyltransferases [J]. *J Am Chem Soc*, 2005, 127(30): 10747

[25] Wohlert S E, Blanco G, Lombo F, *et al*. Novel hybrid tetracenomycins through combinatorial biosynthesis using a glycosyltransferase encoded by *elm* genes in cosmid 16F4 and which shows a broad sugar substrate specificity [J]. *J Am Chem Soc*, 1998, 120(41): 10596

[26] Salas J A, Mendez C. Biosynthesis pathways for deoxysugars in antibiotic-producing actinomycetes: isolation, characterization and generation of novel glycosylated derivatives [J]. *J Mol Microbiol Biotechnol*, 2005, 9(2): 77

[27] Sanchez C, Zhu L, Brana A F, *et al*. Combinatorial biosynthesis of antitumor indolocarbazole compounds [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2005, 102(2): 461

[28] Salas A P, Zhu L, Sanchez C, *et al*. Deciphering the late steps in the biosynthesis of the anti-tumour indolocarbazole staurosporine: sugar donor substrate flexibility of the StaG glycosyltransferase [J]. *Mol Microbiol*, 2005, 58(1): 17

[29] Doumith M, Legrand R, Lang C, *et al*. Interspecies complementation in *Saccharopolyspora erythraea*: elucidation of the function of *oleP1*, *oleG1* and *oleG2* from the oleandomycin biosynthetic gene cluster of *Streptomyces antibioticus* and generation of new ery-

(下转第 290 页)

维普资讯 http://www.cqvip.com

表 4　　混合醇萃取实验结果比较

体积比	分离工艺	林可霉素效价(u/ml)			两相分配比	乳化层(mm)	萃取液	一次萃取率(%)
		料液	萃取液	萃余液				
1∶3	原工艺	3938	9660	525	18.4	6	浅红色	86.6
	磁场强化 UF-NF	4862	11942	425	28.1	1	淡红色	90.3
	增率	+23.5%	+23.6%	—	+10.3	−5		+3.7
1∶1	原工艺	3938	3740	198	18.9	6	浅红色	95.0
	磁场强化 UF-NF	4862	4697	165	28.5	1	淡红色	96.6
	增率	+23.5%	+25.6%	—	+6.5	−5		+1.6

醇的提取能力，还减轻了萃取后活性炭的脱色负担。原因可能是料液中的大部分蛋白大分子和一些灰份等小分子杂质在提纯和浓缩过程被去除，减少了两相间乳化的发生，促进了产品在萃取相的富集。在生产上将加快萃取至饱和的进程，即减少多级萃取次数，同时萃取剂的用量也将因纳滤后料液体积的缩小而相应减少。

3　结论

实验结果表明磁场强化膜分离技术可用于林可霉素提炼工艺，在磁场作用下，超滤、纳率膜通量均较使用磁场前明显增加。

磁场强化改善了膜分离效果，在超滤工艺中林可霉素收率、蛋白和 COD 去除率分别增加了 1.6%、10.4%和 6.5%，1h 时初始通量和 6h 时稳定通量比无磁场作用时分别增加了 36.2%和 28.6%；在纳滤工艺中林可霉素收率(截留率)、蛋白和 COD 去除率较无磁场作用时分别增加了 0.9%、4.8%和 2.5%，1h 时初始通量和 6h 时稳定通量呈上升趋势，增率分别为 21.2%和 48.5%。

引入磁场强化膜分离工艺不仅可增强混合醇的提取能力，还将减轻萃取后活性炭的脱色负担。

参 考 文 献

[1] 朱安娜，祝万鹏，王晓琳. 磁场对静态纳滤过程的膜通量及 $CaCO_3$ 结晶的影响[J]. 环境科学，25(5)：70

[2] 李雁，郭祀远. 电磁作用改善酶膜反应分离过程的探讨[J]. 食品与发酵工业，1996(5)：66

[3] Brunnwe G, Okoro E. Reduction of membrane fouling by means of an electric field during ultrafiltration of protein solution [J]. *BerBunsen-Gesphys Chem*, 1989, 93(9): 1026

[4] Pupuat L, Rios G M, Joulie R, *et al*. Electronanofiltration: A new process for ionseparation [J]. *Sep Sci Technol*, 1998, 33(1): 67

[5] 赵宗艾，钟富优，王书伟，等. 电场作用下的十字流膜滤初探[J]. 过滤与分离，1995，4：14

[6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(二部)[S]. 北京：化学工业出版社，2005：附录 38

[7] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding [J]. *Anal Biochem*, 1976, 72: 248

[8] 国家环保局. 水和废水监测分析方法(第三版)[M]. 北京：科学出版社，1999

[9] 李杰妹，周培艳，王亚卿，等. 应用膜分离技术改进林可霉素提炼工艺[J]. 化工学报，2005，56(4)：738

(上接第 262 页)

thromycin derivatives [J]. *Mol Microbiol*, 1999, 34(5): 1039

[30] Solenberg P J, Matsushima P, Stack D R, *et al*. Production of hybrid glycopeptide antibiotics *in vitro* and in *Streptomyces toyocaensis* [J]. *Chem Biol*, 1997, 4(3): 195

[31] Losey H C, Jiang J, Biggins J B, *et al*. Incorporation of glucose analogs by GtfE and GtfD from the vancomycin biosynthetic pathway to generate variant glycopeptides [J]. *Chem Biol*, 2002, 9(12): 1305

[32] Lombo F, Gibson M, Greenwell L, *et al*. Engineering biosynthetic pathways for deoxysugars: branched-chain sugar pathways and derivatives from the antitumor tetracenomycin [J]. *Chem Biol*, 2004, 11(12): 1709

[33] Luzhetskyy A, Bechthold A. Combinatorial biosynthesis for generating novel glycosylated compounds [J]. *Mol Microbiol*, 2005, 58(1): 3

[34] Freel C L, Oberthur M, Heide L, *et al*. Assembly of dimeric variants of coumermycins by tandem action of the four biosynthetic enzymes CouL, CouM, CouP, and NovN [J]. *Biochemistry*, 2004, 43(47): 15022