

航天飞行和模拟微重力下微生物次级代谢研究与太空微生物制药

方庭正, 张学林, 刘长庭

[摘要] 随着人类对宇宙的不断探索,大量研究观察到微生物次级代谢在航天飞行中的变化,为人类利用太空环境进行高产和高质量微生物制药带来了希望。研究者认为,太空环境下微生物生长停滞期缩短,更早进入生长期,更早产生次级代谢产物。由于空间飞行的稀缺性和高昂成本,研究者利用微重力模拟设备进行微生物次级代谢研究。目前,不同的航天飞行和模拟微重力下微生物次级代谢研究并未观察到趋势相对一致的结果,其表型变化背后的分子生物学机制也有待进一步研究。太空微生物制药利用太空诱变筛选具有商业和医学价值的制药微生物菌株,这种航天飞行后地面筛选的模式具有无法控制诱变方向、被动筛选的缺陷,有待相关诱变通路进一步研究后予以改进。

[关键词] 航天飞行;模拟微重力;微生物;次级代谢;微生物制药

[中图分类号] R859 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2095-3097(2020)06-0388-04

doi: 10.3969/j.issn.2095-3097.2020.06.015

Space microbial pharmaceuticals and study of microorganism secondary metabolism in spaceflight and simulated microgravity

FANG Tingzheng¹, ZHANG Xuelin², LIU Changting³

(1. Respiratory Department of Cadre Wards, the Sixth Medical Center, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100048, China; 2. Department of Hyperbaric Oxygen, the First Medical Center, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China; 3. Department of Respiratory, the Second Medical Center, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China)

[Abstract] With the exploration of universe, a large number of studies have observed the changes of microbial secondary metabolism in space flight, which provided hope for high yield and high quality microbial pharmaceuticals in the space environment. The researchers believed that microbes in space had a shorter stasis period, which allowed them to enter earlier the growth phase and produce secondary metabolites. Because of the scarcity and high cost of space flight, researchers have also used microgravity simulations to study microbial secondary metabolism. At present, studies on microbial secondary metabolism under different spaceflight and simulated microgravity have not observed relatively consistent results, and the molecular biological mechanism behind the phenotypic changes also needs to be further studied. Microbial pharmaceutical has screened microbial strains with business and medical value the space mutagenesis effect. However, this model of post-flight ground screening was unable to control the mutagenesis direction, defect of passive screening which needed to be improved after further studies on relevant mutagenesis pathways.

[Key words] Spaceflight; Simulated microgravity; Microorganism; Secondary metabolism; Microbial pharmaceutical

随着 20 世纪 60 年代以来人类对宇宙的不断探索,大量研究显示,太空环境对微生物的形态、生长、

毒力及耐药性等方面具有多种影响^[1],同时也观察到微生物次级代谢在航天飞行中的变化并进行了相关研究^[1-2]。很多微生物代谢产物具有重要的药用价值,利用太空环境对微生物的诱导作用,获得高产量和高质量的制药微生物菌株,制造一些地面上难以生产或价格昂贵的抗生素、疫苗及代谢产物,具有较大的科学意义和商业价值^[3-5]。由于航天飞行具有稀缺性并且成本高昂,而微重力被认为是太空环

[基金项目] 国家自然科学基金青年科学基金项目(81600011);中国博士后科学基金面上项目(2016M592928)

[作者单位] 100048 北京,中国人民解放军总医院第六医学中心干部病房呼吸科(方庭正);100853 北京,中国人民解放军总医院第一医学中心高压氧科(张学林);100853 北京,中国人民解放军总医院第二医学中心呼吸科(刘长庭)

[通讯作者] 刘长庭, E-mail: changtingliu1212@sohu.com

境影响微生物的重要因素,研究者研发了多种微重力模拟设备,在地面进行模拟微重力影响微生物次级代谢的研究^[6]。作者对利用航天飞行和模拟微重力对微生物次级代谢进行的研究和太空微生物制药做一综述。

1 航天飞行对微生物次级代谢的影响

在1996年5月19日发射升空的美国太空运输系统-77的任务中,棕黑腐质霉菌 WC5157 被送入太空进行为期10 d的航天飞行实验^[3]。结果显示,太空环境下棕黑腐质霉菌在2种不同培养基中的代谢产物——单孢菌素产量分别较相应地面对照组高出30%和190%。作者认为微重力条件下培养基中营养成分弥散速度的变化导致了单孢菌素产量的增加。1996年11月19日升空的美国太空运输系统-80任务搭载产出放线菌素D的皱褶链霉菌进行了为期近18 d的航天飞行实验^[4]。结果显示,在固定培养基中航天飞行样本的放线菌素D产量与地面对照组相似;在混合培养基中,航天飞行样本的放线菌素D最大产量比地面对照组高出115%。同时,由于航天飞行组皱褶链霉菌的集落形成单位较地面对照组减少,如果把皱褶链霉菌数量差异因素考虑在内,航天飞行组在固定培养基和混合培养基中的代谢物产量最高分别是相应地面对照样本的296%和577%。作者认为,太空环境对放线菌素D的代谢增强作用与太空环境下微生物生长速度减慢,能够更加充分地释放代谢产物有关。

为了进一步研究改善培养条件及延长航天飞行时间后是否仍能获得较高产量的代谢产物,2002年4月8日亚特兰蒂斯飞船搭载皱褶链霉菌样本升空并到达国际空间站^[5]。这次实验为期长达72 d,采用一种新型的可检测及自动采样型多轨道生物发生器以获得太空环境下的最佳微生物培养条件。结果显示,在实验的第6天和第12天航天飞行样本代谢产物放线菌素D产量较地面对照样本增高。研究者认为,太空环境下微生物生长停滞期缩短,从而更早进入生长期,更早开始产生次级代谢产物。此后航天飞行样本的放线菌素D产量全部被地面对照组超越,并且航天飞行样本的最高产量(第12天)低于地面对照组最高产量(第24天)。

2011年11月1日升空的我国神舟8号飞船搭载天蓝色链霉菌 A3(2)进行了为期16 d的航天飞行实验,在地面同时进行对应的模拟微重力实验^[7]。结果显示,航天飞行样本和地面模拟微重力样本产生的放线菌紫素产量都较地面对照组下降,

而十一烷基灵菌红素则出现产出时间提前、产量较地面对照轻微增加的现象。分子生物学研究显示,与放线菌紫素表达相关的基因簇(Locus tag: SCO5071-5092)和与十一烷基灵菌红素表达相关的基因簇(Locus tag: SCO5877-5898)在转录水平上也出现了与上述改变相一致的变化。

2 模拟微重力对微生物次级代谢的影响

由于航天飞行的稀缺性和高昂成本,多种模拟微重力设备被研发用于微生物次级代谢的研究。Xiao等^[8]利用旋转细胞培养系统(轴向垂直于重力方向的旋转使实验微生物处于矢量方向持续变化的运动中,从而模拟微重力状态)研究了模拟微重力对铜绿微囊藻(蓝藻类)PCC7806及其代谢产物微囊藻毒素的影响。结果显示,模拟微重力抑制了铜绿微囊藻的生长,但对微囊藻毒素的产生却具有增强作用,主要表现为代谢产物出现时间提前和代谢产物在细胞外基质中含量的增加。随着实验时间的延长,模拟微重力的影响却逐渐减弱,到了实验的第6天微囊藻毒素的总浓度已经被正常重力对照样本反超。研究者认为,这种表现是铜绿微囊藻面对模拟微重力作出的适应性改变所导致。

抗磁悬浮技术利用不断发生空间变化的强磁场模拟微重力状态^[9]。Liu等^[10]利用该技术对除虫链霉菌 PE1进行了模拟微重力实验。结果显示,从微重力组样本(处于强磁场中)获得了高产突变株 PE11,其代谢产物阿维霉素产量在经过菌株多次传代后仍然保持稳定。但实验同时表明菌株阿维霉素代谢水平的变化主要与强磁场作用相关,而受重力变化影响较小。

3 空间微生物制药研究

空间微生物制药目前主要采用太空突变育种技术获得具有商业和医学价值的制药微生物菌株。该技术通过可返回卫星或其他太空飞船,将种子或微生物送至距地面200~400 km的太空。在太空环境下的强辐射、高真空、低重力和交变磁场作用下,种子或微生物可能会发生有益的突变。1987年以来,我国已发射数十颗返回式地面卫星和10余次太空飞船,进行了多次微生物太空诱变筛选实验。通过回到地面后的育种,筛选新的品种和遗传品性以选出突变的种子和微生物,从而繁殖高质量和高产量的种群^[1,11]。

2003年11月22日我国发射的第18颗返回式卫星搭载了产出那他霉素的吉氏链球菌 LK-22^[12]。

经过 18 d 在轨飞行后,吉氏链球菌 LK-22 的砂状孢子和斜状孢子的突变率分别高达 67.6% 和 78.3%,而相应的存活率分别为 43.1% 和 3.0%。最终通过斜状孢子繁育筛选获得了产量最高的突变菌株 LK-45,其产物那他霉素产量达到了地面对照组的近 2 倍。

1999 年 11 月起,神舟 1、3、4 号飞船先后多次搭载生产兽用抗生素乐菌素的弗氏链霉菌 9940S⁺ 86 升空,返回地面后筛选得到 48 株效价增加 20% 以上的菌株,其中总效价最高者较出发菌增加 95%^[13]。研究者认为,弗氏链霉菌 9940S⁺ 86 的空间诱变效应受飞行时间影响较大,且多次搭载对抗生素产量变异具有累积效应。最终选定产量较出发菌株提高 18% 的 T1-156-84-23 菌株投入生产。2002 年 3 月 25 日升空的神舟 3 号飞船同时搭载了红曲霉菌(代谢产物洛伐他汀)和地中海诺卡菌 1747-64 孢子(代谢产物康乐霉素 C)进行太空诱变实验,航天飞行历时近 7 d。红曲霉菌经过筛选后从 484 株菌株中获得 233 株洛伐他汀含量高于地面对照的菌株,进一步的重复发酵实验后最终获得了 11 株洛伐他汀高产性状稳定的菌株^[14]。同时搭载的 5 株地中海诺卡菌 1747-64 孢子经过太空诱变、筛选后获得了 1 株康乐霉素 C 高产突变菌株,其产量达到起始菌株的 200%^[15]。2011 年 11 月 1 日神舟 8 号飞船搭载表达重组人干扰素 $\alpha 1b$ 的基因工程细菌进行了近 17 d 的航天飞行,经过系列筛选并与原菌株进行定量对比后,最终获得了 5 例高产菌株^[16]。作者认为,该项实验证明,太空环境对于微生物诱变筛选具有独特作用,能够诱导基因突变,从而获得高表达目标蛋白质的突变菌株。

4 小结

随着人类对太空的探索活动逐渐增多,越来越多的研究证实,微生物能够在太空环境(具有低重力、强辐射等特性)中存活并进行次级代谢。大量航天飞行实验和地面模拟实验显示,航天飞行或者模拟微重力会影响微生物的次级代谢。这些研究中,航天飞行或模拟微重力对微生物次级代谢的作用结果和影响趋势不尽相同,缺乏相对一致的表现。一方面,由于模拟微重力与真正的太空微重力不同,对微生物而言,航天飞行还具有强电离辐射等微重力以外的其他影响因素,这是不同类型实验结果不一致的重要原因。不同的研究选用了不同的微生物菌株,不同菌株的内在生物学特性差异也会导致实验结果出现差异^[17]。另一方面,微重力或模拟微重

力对次级代谢的影响,是通过影响微生物外部微环境流体力学和代谢元素转运间接实现,所以实验采用的培养基必然会影响到实验结果的表现^[4,5]。微重力或模拟微重力引起的微环境改变,还通过一系列信号转导,进一步影响微生物代谢反应基因的转录和表达^[7],而这些信号转导过程在不同菌株或培养条件下也各不相同。总之,不同的航天飞行或模拟微重力条件下微生物次级代谢研究之间的结果差异,可能与实验类型、菌株、培养基、代谢通路的差异有关。

目前,太空微重力和模拟微重力影响微生物次级代谢的作用机制尚不完全清楚,太空微生物育种制药仍处于无法控制诱变方向、“被动”筛选的阶段。今后的研究应注意控制和区分实验当中微生物细胞外环境影响,探索次级代谢表型变化背后的分子生物学机制和太空诱变高产菌株的作用通路,通过高通量平台进行太空制药菌株筛选^[18]。

【参考文献】

- [1] Liu C. The theory and application of space microbiology: China's experiences in space experiments and beyond[J]. Environ Microbiol, 2017, 19(2): 426-433.
- [2] Huang B, Li DG, Huang Y, et al. Effects of spaceflight and simulated microgravity on microbial growth and secondary metabolism[J]. Mil Med Res, 2018, 5(1): 18.
- [3] Lam KS, Mamber SW, Pack EJ, et al. The effects of space flight on the production of monorden by *Humicola fuscoatra* WC5157 in solid-state fermentation[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 1998, 49(5): 579-583.
- [4] Lam KS, Gustavson DR, Pirmik DL, et al. The effect of space flight on the production of actinomycin D by *Streptomyces plicatus* [J]. J Ind Microbiol Biotechnol, 2002, 29(6): 299-302.
- [5] Benoit MR, Li W, Stodieck LS, et al. Microbial antibiotic production aboard the International Space Station[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2006, 70(4): 403-411.
- [6] Herranz R, Anken R, Boonstra J, et al. Ground-based facilities for simulation of microgravity: organism-specific recommendations for their use, and recommended terminology[J]. Astrobiology, 2013, 13(1): 1-17.
- [7] Huang B, Liu N, Rong X, et al. Effects of simulated microgravity and spaceflight on morphological differentiation and secondary metabolism of *Streptomyces coelicolor* A3(2)[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2015 May, 99(10): 4409-4422.

- [8] Xiao Y, Liu Y, Wang G, et al. Simulated microgravity alters growth and microcystin production in *Microcystis aeruginosa* (cyanophyta) [J]. *Toxicon*, 2010, 56(1): 1-7.
- [9] Herranz R, Anken R, Boonstra J, et al. Ground-based facilities for simulation of microgravity: organism-specific recommendations for their use, and recommended terminology [J]. *Astrobiology*, 2013, 13(1): 1-17.
- [10] Liu M, Gao H, Shang P, et al. Magnetic field is the dominant factor to induce the response of *Streptomyces avermitilis* in altered gravity simulated by diamagnetic levitation [J]. *PLoS One*, 2011, 6(10): e24697.
- [11] 张学林, 刘长庭. 空间微生物制药研究进展 [J]. *中国医药导报*, 2015, 12(8): 30-32.
- [12] Liang JL, Lin JP, Xu ZN, et al. Space-flight mutation of *Streptomyces gilvosporeus* for enhancing natamycin production [J]. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 2007, 15(5): 720-724.
- [13] 方晓梅, 赵志甲, 顾海科. 泰乐菌素产生菌的空间诱变育种研究 [J]. *航天医学与医学工程*, 2005, 18(2): 121-125.
- [14] 印红, 谢申义, 章光明, 等. 空间飞行对红曲霉菌产量的影响 [J]. *航天医学与医学工程*, 2003, 16(5): 374-376.
- [15] Zhou J, Sun C, Wang N, et al. Preliminary report on the biological effects of space flight on the producing strain of a new immunosuppressant, kanglemycin C [J]. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 2006, 33(8): 707-712.
- [16] Wang J, Liu C, Liu J, et al. Space mutagenesis of genetically engineered bacteria expressing recombinant human interferon α 1b and screening of higher yielding strains [J]. *World J Microbiol Biotechnol*, 2014, 30(3): 943-949.
- [17] 蒋学兵, 马聪, 陈昌国, 等. 中国东海与黄海海域海洋细菌种类与药物敏感性研究 [J]. *转化医学杂志*, 2012, 1(2): 100-103.
- [18] 赵建卫, 徐水红, 毕建智. 空间环境药物筛选平台测控系统设计 [J]. *科技创新导报*, 2019, 16(11): 17-19.

(收稿日期: 2019-10-17 本文编辑: 宋冬梅)

(上接第 359 页)

- [4] Bi Y, Han Y, Bi H, et al. miR-137 impairs the proliferative and migratory capacity of human non-small cell lung cancer cells by targeting paxillin [J]. *Hum Cell*, 2014, 27(3): 95-102.
- [5] Stenvold H, Donnem T, Andersen S, et al. Stage and tissue-specific prognostic impact of miR-182 in NSCLC [J]. *BMC Cancer*, 2014, 14: 138.
- [6] Garofalo M, Quintavalle C, Romano G, et al. miR221/222 in cancer: their role in tumor progression and response to therapy [J]. *Curr Mol Med*, 2012, 12(1): 27-33.
- [7] Garofalo M, Di Leva G, Romano G, et al. miR-221&222 regulate TRAIL resistance and enhance tumorigenicity through PTEN and TIMP3 downregulation [J]. *Cancer Cell*, 2009, 16(6): 498-509.
- [8] 吕俊杰, 徐磊, 许有涛, 等. 非小细胞肺癌组织 miRNA-221 表达及其与预后的关系研究 [J]. *中国肺癌杂志*, 2014, 17(3): 221-225.
- [9] Yamashita R, Sato M, Kakumu T, et al. Growth inhibitory effects of miR-221 and miR-222 in non-small cell lung cancer cells [J]. *Cancer medicine*, 2015, 4(4): 551-564.
- [10] Rapp UR, Korn C, Ceteci F, et al. MYC is a metastasis gene for non-small-cell lung cancer [J]. *PLoS One*, 2009, 4(6): e6029.
- [11] Liu K, Wang S, Liu Y, et al. Overexpression of MYCN promotes proliferation of non-small cell lung cancer [J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(9): 12855-12866.
- [12] Al Zeyadi M, Dimova I, Ranchich V, et al. Whole genome microarray analysis in non-small cell lung cancer [J]. *Biotechnol Biotechnol Equip*, 2015, 29(1): 111-118.
- [13] 张皓旻, 陈红飞, 杨波, 等. KRAS 突变对人肺腺癌转录组影响的生物信息学分析 [J]. *转化医学杂志*, 2019, 8(2): 75-79.
- [14] 韩泽平, 何金花, 黎毓光, 等. 基于生物信息学方法预测 hsa-miR-221 在肝癌中的分子调控网络 [J]. *生物医学工程与临床*, 2013, 17(6): 601-606.
- [15] 吕燕妮, 钱贻崧, 付龙生. 基于生物信息学方法预测 hsa-miR-181a 在脑卒中发病中的分子调控网络 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2015, 31(8): 1042-1047.
- [16] Marsit CJ, Zheng S, Aldape K, et al. PTEN expression in non-small-cell lung cancer: evaluating its relation to tumor characteristics, allelic loss, and epigenetic alteration [J]. *Hum Pathol*, 2005, 36(7): 768-776.

(收稿日期: 2019-11-13 本文编辑: 张锦前)