

# 蔗糖诱导细菌固态发酵生产可拉酸及纯化方法

季学猛

(南开大学 医学院, 天津 300071)

**摘要:** 可拉酸是一种胞外多糖, 在肠杆菌中存在, 并具有促进健康和延长秀丽隐杆线虫寿命的作用。可拉酸在真核生物细胞的线粒体调控中也发挥着重要作用。该研究提出了一种使用蔗糖诱导细菌固态发酵生产和纯化可拉酸的方法, 并通过实验验证了其可行性。研究表明, 蔗糖诱导显著提高了可拉酸合成基因的转录水平, 从而显著增加了可拉酸的产量。所获得的固态可拉酸产品纯度达到 99.2%, 超过了传统的液态发酵方法。该创新方法在产量方面以 12.6 g/L 培养基的可拉酸得率表现出了传统方法无法比拟的优势。研究结果有助于探索可拉酸在细菌存活和生长以及真核细胞线粒体调控中的多种应用。此外, 蔗糖诱导发酵方法在可拉酸的大规模生产方面具有潜力, 为其在食品、药品和生物技术等各个行业的商业化铺平了道路。

**关键词:** 可拉酸; 发酵; 蔗糖; 阪崎肠杆菌; 纯化

## Sucrose-Induced Bacterial Solid-State Fermentation Production and Purification of Colonic Acid

Ji Xuemeng

(School of Medicine, Nankai University, Tianjin 300071, China)

**Abstract:** Colonic acid is an extracellular polysaccharide found in *Enterobacteriaceae*, which plays a role in promoting health and extending the lifespan of *Caenorhabditis elegans*. It also serves an important role in mitochondrial regulation in eukaryotic cells. This study proposes a method for sucrose-induced bacterial solid-state fermentation to produce and purify colonic acid, and its feasibility has been experimentally validated. The research results demonstrate that sucrose induction significantly increases the transcription levels of colonic acid synthesis genes, resulting in a remarkable enhancement in Colonic acid yield. The obtained solid-state colonic acid product exhibits a purity of 99.2%, surpassing the conventional liquid fermentation approach. This innovative method achieves a colonic acid yield of 12.6 g/L medium, outperforming traditional methods in terms of productivity. The findings of this study contribute to exploring the diverse applications of colonic acid in bacterial survival, growth, and mitochondrial regulation in eukaryotic cells. Furthermore, the sucrose-induced fermentation approach holds promise for large-scale colonic acid production, paving the way for its commercialization in various industries such as food, pharmaceuticals, and biotechnology.

**Key words:** colonic acid; fermentation; sucrose; Cronobacter sakazakii; purification

微生物胞外多糖是细菌、真菌、蓝藻等微生物在代谢过程中产生的对微生物有保护作用的生物高聚物<sup>[1]</sup>。在自然条件下，多数细菌被多糖包被。包被于细菌表面的多糖对于细菌在竞争环境中的存活和生长都有重要作用。细菌多糖的存在一方面可以提高细菌对抗菌物质的耐受能力，如表面活性剂<sup>[2]</sup>、抗生素<sup>[3]</sup>和吞噬细胞<sup>[4]</sup>等，另一方面，多糖可以提高细菌对不良环境的适应能力<sup>[5]</sup>，如防止细胞失水、防止细胞冻伤等。另外，微生物多糖具有独特的物理和流变特性，在食品工业中被广泛用作稳定剂、增稠剂、凝胶剂和乳化剂<sup>[6-9]</sup>。近年来研究发现细菌多糖在抗肿瘤、抗病毒、免疫刺激、抗炎症活性和抗氧化作用、调节产益生菌群等方面表现出了显著的生物活性<sup>[10]</sup>，因此引起了人们的更多关注。

可拉酸[Colanic acid]是胞外多糖的一种，主要发现存在于肠杆菌中。可拉酸是一种白色纤维状的无定型结构杂多糖，主要由 D-葡萄糖醛酸、D-葡萄糖、D-半乳糖和 L-岩藻糖组成，还包含 O-乙酰和丙酮酸等多种侧链上的化学修饰结构，是一种高分子量的杂多糖<sup>[11]</sup>。可拉酸包裹在细胞表面，能使菌株表现出黏液化现象<sup>[12]</sup>。2017 年在细胞杂志上首次报道了可拉酸使得线粒体片段化且具有延长秀丽隐杆线虫寿命的作用<sup>[13]</sup>。目前主流观点认为真核生物的线粒体来源于变形菌门细菌，而多数变形菌门细菌含有可拉酸合成基因，因此，可拉酸对于真核生物细胞的线粒体具有调控作用是不难理解的。变形菌门细菌在人体肠道中大量存在<sup>[14]</sup>，因此，可以推断可拉酸也是肠道中天然存在的细菌分泌物。

衰老与长寿是人类永久的研究课题，在秀丽线虫上已经证实可拉酸对健康有促进作用，可拉酸的功能与作用机制或许成为未来的研究热点。但是，目前仍然没有商品化的可拉酸提取物，也缺少完善的可拉酸生产与纯化方法，这严重限制了可拉酸的研究。因此亟需可拉酸发酵与纯化方法的研究。目前已报道的利用大肠杆菌生产可拉酸的产量很低，在已有的文献报道中，最高产量在 1.0 g/L<sup>[15]</sup>。提高微生物发酵生产可拉酸的产量是很重要的科学研究。液态发酵为减少后续纯化成本，往往采用基础培养基发酵，导致细菌的生长状态不理想，在已有的文献报道中，可拉酸浓度最高时菌株的 OD<sub>600</sub> 仅为 5.0 左右。而采用 LB 等培养基发酵生产可拉酸，虽然可以获得较高细菌密度，但是也会引入较多杂质，增加了产物纯化难度。

有鉴于此，本实验旨在克服现有技术中的缺陷，提出一种蔗糖诱导细菌固态发酵生产可拉酸及纯化方法。

## 1 实验方法