

文章编号: 1009—4881(2005)03—0027—04

# 小球藻的研究开发进展

胡开辉, 汪世华

(福建农林大学 生命科学学院, 福建 福州 350002)

**摘 要:** 小球藻含有丰富的蛋白质、脂质、多糖、食用纤维、维生素、微量元素和活性代谢产物, 具有很好的保健和药理作用。就小球藻的分子生物学、生长因子、生理作用、应用状况、大规模培养、研究开发前景做了综述。

**关键词:** 小球藻; 保健; 药理

**中图分类号:** Q5

**文献标识码:** B

## 0 引言

小球藻 (*Chlorella*) 为绿藻门普生性单细胞藻类, 是第一种人工培养的微藻。小球藻光合效率高, 含有丰富的蛋白质、氨基酸、不饱和脂肪酸、维生素、矿物质和色素等, 具有极其丰富均衡的营养成分和优良的医疗保健作用, 是一种重要的微藻资源<sup>[1, 2]</sup>。小球藻不仅在光合作用机理、跨膜转运机理等研究方面成为一种良好的模式生物, 而且在污水处理, 以及保健食品、水产养殖饵料、畜牧饲料添加剂的生产等方面被广泛应用, 已经有大量的研究工作被报道<sup>[3, 4]</sup>。

## 1 小球藻的分子生物学

### 1.1 小球藻的核基因组

H Eashyama 等<sup>[5]</sup>研究了小球藻 *C. vulgaris* C-16 的染色体结构, 其基因组共 38.8 Mb 由 16 条染色体组成, 最小的 1 号染色体有 980 Kb, 其 5' 端有 TTTAGGG 构成的重复序列, 重复次数约为 70。这种染色体端粒重复序列的构成与许多高等植物相同。因此这条小染色体可以作为高等植物染色体研究的模型。Noutosh 等<sup>[6]</sup>还构建了 1 号染色体的黏粒文库, 进一步研究了该染色体的着丝粒区域和复制起始位点, 根据结果, 他们尝试将 1 号染色体的结构和功能元件组合到一起, 设计植物人工染色体, 以

期为植物基因工程提供更好的载体。

### 1.2 小球藻的基因工程研究进展

目前小球藻外源基因的转化和表达研究不多, Lac 基因和 GUS 基因曾被以基因转化法和电击转化法导入原生质中<sup>[7, 8]</sup>, Dawson 等<sup>[9]</sup>利用微粒轰击转化的方法将 *C. vulgaris* 的硝酸还原酶基因导入到 *C. sorokiniana* 中, 得到了能够在含有硼酸盐培养基中生长的藻株。Richard 等<sup>[10]</sup>用 PEG 转化法导入到 *C. sorokiniana* ATCC-22521 中, 研究了随机整合与同源重组对外源基因表达的影响, 这是目前关于小球藻中外源基因表达调控的唯一报道。

## 2 小球藻生长因子

小球藻生长因子 (*Chlorella Growth Factor*, CGF) 也叫小球藻精, 是其细胞活性物质, 含有氨基酸、核酸、多糖、多肽、蛋白质、酶、维生素、矿物质等成分, 被称为“类荷尔蒙”<sup>[11, 12]</sup>。国外对其生理功能有较多的研究, 其生理功能主要有激活淋巴细胞, 可增强人体免疫能力, 活化人体细胞, 使儿童生长发育加快, 抵抗外来疾病的入侵, 促进人体受伤组织的修复, 有机物、重金属中毒的人服后能够迅速康复, 还能够防治胃溃疡、高血压和心血管等疾病。因此, 小球藻生长因子的提取技术及其生理活性的研究已经成为英、美、日等国家开发小球藻的热点。

本课题组对小球藻细胞活性物质的提取及其对

收稿日期: 2005—03—28

基金项目: 福建省教育厅基金资助项目 (K04042)。

(作者简介: 胡开辉 (1962—), 男, 福建省莆田市人, 副教授。

啤酒酵母的生理效应进行了详细的研究<sup>[12]</sup>,并将小球藻细胞活性物质应用到酵母工业上。通过对小球藻细胞活性物质对啤酒酵母的生理效应的研究,发现小球藻细胞活性物质可以显著地增加啤酒酵母发酵过程中的酵母菌数,促进啤酒酵母的生长和繁殖,加速酵母发酵进程,增加酵母发酵的泡沫高度、产气量,缩短了酵母菌发酵的延滞期,快速启动发酵,提前到达产气高峰,可提高酵母发酵过程抗杂菌能力,并且细胞活性物质可以使酵母菌的降糖更彻底,对糖的利用率高,同时也发现添加小球藻细胞活性物质可延缓酵母菌的死亡的时间,这对酵母工业、酿酒工业生产具有良好的应用前景。今后还需进一步对小球藻活性成分进行分离鉴定,并进一步探讨其活性成分对酵母菌产生生理效应及其作用机理。

### 3 小球藻的生理作用

#### 3.1 抗肿瘤

小球藻抗肿瘤的机制为抑制致癌物的诱变性和基因毒性;使多形核细胞增生;与宿主或受体一起作用;通过抗原专一性免疫;使T细胞增殖和活化等。研究者发现从普通小球藻 S50 抽提的水溶物质 PCM-4 对移植鼠肿瘤的抗肿瘤活性。经口和腹腔给予 PCM-4 后, S180 和 Meth A 的生长以及腹水肝癌 AH44、AH41 C 的生长均受到抑制。体外实验表明, PCM-4 的抗肿瘤作用是从宿主调节反应系统引出的<sup>[13]</sup>。给接种了肿瘤细胞的 BALB/c 小鼠腹腔注射普通小球藻热水抽提物 (CVE) 后,小鼠的生存时间显著延长。用正常受体检测,发现给予 CVE 后 24 h 腹腔渗出液细胞 (PEC) 含大量多形核细胞 (PMN),具有抗肿瘤作用<sup>[13, 14]</sup>。

#### 3.2 抗微生物作用

研究者发现 CVE 对小鼠宿主调节的抗巨细胞病毒感染的作用。在感染病毒前 3 d 和前 1 d 给予小鼠 CVE 小鼠可在致死性感染中存活下来。CVE 的保护作用表现在给予了 CVE 的小鼠目标器官中感染病毒的复制减少,使目标器官免受巨细胞病毒感染引起的组织病理学损害,使血清干扰素水平合成酶活性升高。腹腔、静脉或皮下给予从普通小球藻水提物中渗析提纯的一种水溶性、高分子量物质,增强了腹腔接种大肠杆菌小鼠的抵抗力,在感染前 1 d、4 d 或 7 d 给予,可增强对脾脏中细菌的清除<sup>[15, 16]</sup>。

#### 3.3 增强免疫

经口给予小鼠, CVE 可加强鼠对腹腔注射李斯

特菌单细胞基因感染的抵抗力。给予 CVE 的小鼠腹腔或脾脏中的细菌数量显著低于对照组。为了进一步探讨 CVE 加强细胞调节的免疫机制,对正常小鼠和单细胞基因感染后经口给予 CVE 的 mRNA 表达细胞因子的研究结果表明: CVE 主要通过激活巨噬细胞和加强宿主对李斯特菌感染的抵抗力来增强对李斯特菌的免疫反应。表明小球藻可能治疗逆转录病毒诱发的免疫缺陷病人的伴发感染有效,另外在防治消化性溃疡、防治缺铁性贫血、抗高脂血症和动脉粥样硬化和抗辐射等方面都有一定的作用<sup>[17, 18]</sup>。

### 4 小球藻的应用状况

#### 4.1 小球藻在食品上的应用

小球藻作为添加剂和健康食品在国外已有 30 多年的历史,被列为 21 世纪人类的绿色营养源健康食品。已经产业化的有小球藻片和胶囊、小球藻面条、小球藻面包、小球藻饼干、小球藻饮料等。日本曾推出了加小球藻提取液酿造的绿酒,在酿造过程中,造酒原料利用率大大提高。另外日本曾研究开发成功蜂蜜绿藻精,它以小球藻的热水浸提物为主,添加蜂蜜和梅汁调配而成。小球藻作为一种添加剂,可以广泛用于食品行业,同时可以利用其生产叶绿素、脯氨酸、油脂等<sup>[19, 20]</sup>。

#### 4.2 小球藻在医药上的应用

1996 年日本小球藻保健品的年销售额约为 600 亿日元,在临床上已用于多种疾病如高血压、糖尿病、婴儿营养不良、动脉粥样硬化和高胆固醇血症等。在我国,50 年代曾有养殖小球藻的历史,但由于多种原因并没有形成产业化。目前我国又有多家研究机构对小球藻的生理生化、基因遗传、藻种筛选、培养条件和工艺、大规模培养以及反应器等许多方面进行研究<sup>[21, 22]</sup>。

#### 4.3 小球藻在废水处理上的应用

小球藻是氧化塘中的主要藻类之一,在氧化塘处理废水的过程中起着重要作用。利用小球藻处理废水,可有效地去除废水中有机物质氮、磷和重金属,并且还可异氧培养,将富含养分的无毒废水进行资源化处理,处理水可用于农田灌溉和工业化生产,这为废水的资源化处理提供了一条新的高效而经济的途径<sup>[23]</sup>。

### 5 小球藻的大规模培养与生产

小球藻大规模培养的方式主要是考虑产品的用

途, 高成本的培养方式和培养基只有用于生产高附加值的医药用品、精细化工用品等产品时, 在经济上才是可行的, 低成本的培养方式, 产品的市场价值也降低了。小球藻大规模培养研究可以分为两个阶段, 20世纪 50年代至 70年代末, 主要进行开放池培养的研究, 20世纪 80年代以后开始密闭和半密闭反应器的研究。

### 5.1 开放池大规模培养

国际上小球藻大规模开放池培养研究, 设计 1 000 ~ 5 000 m<sup>2</sup>, 深 15 ~ 30 cm 的圆形浅水池, 采用螺旋桨搅拌, 平均生长量 16 ~ 22 g × m<sup>2</sup> × d<sup>[124]</sup>。

### 5.2 半密闭和密闭式大规模培养

开放池培养具有设施简易, 投资低, 成本小等特点, 但产量低, 培养面积大, 生长因子难控制, CO<sub>2</sub> 补加困难, 收获成本高, 易被其它生物污染, 产品质量低等因素, 限制了开放池培养的发展。因此, 采用透明容器或玻璃管道设计的半密闭和密闭光合生物反应器培养系统的研究受到重视。与开放池培养比较, 密闭和半密闭光合反应器大规模培养, 藻细胞的密度提高了 6 ~ 12 倍, 总体积相对减少, 分离成本大大降低, 各种生长因子及工艺可以采用自动化、集约化管理, 提高了生产效率和产品质量, 避免受其他生物和非生物物质的污染<sup>[24]</sup>。

## 6 小球藻研究开发的前景和展望

日本、美国、前苏联等国家自 20 世纪 50 年代率先开发小球藻作为单细胞蛋白, 70 年代日本首先开发小球藻作为人类的健康食品, 80 年代又开发出健康和美容系列产品, 包括小球藻食品、小球藻饮料、小球藻绿酒、小球藻化妆品等。我国曾在 20 世纪 60 年代初开展了小球藻的培养与生产试验研究, 未能坚持, 目前尚无工业化生产与研究机构。小球藻是最好的太阳能转换器之一, 是当今人类最感兴趣的能源生物转换系统。当前小球藻年产量约 2 000 t, 国际市场的年需求量约为 8 000 ~ 10 000 t, 因此小球藻的开发和应用前景广阔。随着世界范围人口的不断增加, 耕地面积日益减少, 土壤荒漠化加快。人类赖以生存的粮食等农产品可能面临着不再能满足人类需求的潜在危机。过去的研究表明, 地球表面广泛存在的藻类生物, 含有丰富的营养成分, 且具有优良的医疗保健作用, 被联合国粮农组织确定为二十一世纪绿色健康食品。藻类大规模培养的研究已经给我们展示了一幅诱人的前景, 工厂化生产人类的优质天然绿色食品即将成为现实<sup>[25~27]</sup>。

### 参考文献:

- [1] 王业勤, 李勤生. 小球藻应用研究动态 [J]. 微生物学通报, 1985, 12(6): 275-277.
- [2] Lei A P, Wong Y S, Tam N F. Removal of Pyrene by Different Microalgal Species [J]. Water Sci Technol, 2002, 46: 105-201.
- [3] SHI XianMing, CHEN Feng. Chlorella and Production of Carotenoid [M]. Beijing: Light Industry Press of China, 1999, 55-91.
- [4] Akiba M, Noutoshi Y, Maki S, et al. Molecular Characterization of Chlorella Chromosomes: Screening of Bent DNAs [J]. Nucleic Acids Symp Ser, 1995, 34: 73-74.
- [5] Higashiyama T, Noutoshi Y, Akiba M, et al. Telomere and LNE-like Element at the Termini of the Chlorella Chromosome I [J]. Nucleic Acids Symp Ser, 1995, 34: 71-72.
- [6] Noutoshi Y, Arai R, Fujie M, et al. Designing of Plant Artificial Chromosome (PAC) by Using the Chlorella Smallest Chromosome as a Model System [J]. Nucleic Acids Symp Ser, 1997, 37: 143-144.
- [7] Jarvis E E, Brown L M. Transient Expression of Firefly Luciferase in Protoplast of the Green Alga Chlorella Ellipsoidea [J]. Curr Genet, 1991, 19: 317-321.
- [8] Maruyama M, Horakova J, Honda Hiroyuki. Introduction of Foreign DNA into Chlorella Saccharophila by Electroporation [J]. Biotech Tech, 1994, 8: 821-826.
- [9] Dawson H N, Burlingame R, Cannons A C. Stable Transformation of Chlorella: Rescue of Nitrate Reductase Deficient Mutants with the Nitrate Reductase Gene [J]. Curr Microbiol, 1997, 35(6): 356-362.
- [10] Hawkins R L, Nakamura M. Expression of Human Growth Hormone by the Eukaryotic Alga, Chlorella [J]. Curr Microbiol, 1999, 38(6): 335-342.
- [11] Higashiyama T, Maki S, Yamada T. Molecular Organization of Chlorella Vulgaris Chromosome [J]. Mol Gen Genet, 1995, 246(1): 29-36.
- [12] 胡开辉, 周山勇. 小球藻细胞活性物质的提取及对啤酒酵母的生理效应 [J]. 应用生态

- 学报, 2005, 16(8).
- [13] Higashiyama T, Notohshi Y, Fujie M, et al. A LINE-like Retrotransposon Accumulated in the Chloroplast Telomeric Region [J]. EMBO J 1997, 16(12): 3715-3723.
- [14] Wakasugi T, Nagai T, Kapoor M, et al. Complete Nucleotide Sequence of the Chloroplast Genome from the Green Alga *Chlorella Vulgaris*: the Existence of Genes Possibly Involved in Chloroplast Division [J]. Proc Natl Acad Sci 1997, 94(11): 5967-5972.
- [15] Honph K, Yoshimoto M, Joh T, et al. Isolation and Characterization of Hardening Induced Proteins in *Chlorella Vulgaris* C-27: Identification of Late Embryogenesis Abundant Proteins [J]. Plant Cell Physiol 1995, 36(8): 1421-1430.
- [16] Opekarova M, Caspari T, Tanner W. The HUP1 Gene Product of *Chlorella Kessleri* H<sup>+</sup>/Glucose Symport Studied in Vitro [J]. Biochim Biophys Acta 1994, 1194(1): 149-154.
- [17] Hortensteiner S, Chinner J, Matile P, et al. Chlorophyll Breakdown in *Chlorella Protothecoides*: Characterization of Degreening and Cloning of Degreening-Related Genes [J]. Plant Mol Biol 2000, 42(3): 439-450.
- [18] Miller P W, Dunn W J, Schmidt R R. Alternative Splicing of A Precursor mRNA Encoded by the *Chlorella Sorokiniana* NADP-Specific Glutamate Dehydrogenase Gene Yields mRNAs for Precursor Proteins of Isozyme Subunits with Different Ammonium Affinities [J]. Plant Mol Biol 1998, 37(2): 243-263.
- [19] 李师翁, 李虎乾. 植物单细胞蛋白资源——小球藻开发利用研究的现状 [J]. 生物技术, 1997, 7(3): 45-48.
- [20] 李志勇, 郭祀远, 李琳, 等. 微藻保健食品的开发与利用 [J]. 食品研究与开发, 1997, 18(2): 38-40.
- [21] Pinnan Soong. Production and Development of *Chlorella* and *Spirulina* in Taiwan. Shelef and Soeder CJ. Algae Biomass Production and Use [J]. Amsterdam, 1997, 103, 23-26.
- [22] Liang Shizhong, Liang Weiping, Liu Xiuming. Production of Edible Microalgae by Suspension Culture in Bioreactors. Sino-Japan Symposium on Algae [J]. Genetic Engineering and Bioreactors 1997, 23, 37-38.
- [23] 胡月薇, 邱承光. 小球藻处理废水研究进展 [J]. 环境科学与技术, 2003, 26(4): 48-49.
- [24] 李师翁, 李虎乾, 张建军. 小球藻大规模培养研究的进展 [J]. 植物学通报, 1998, 4, 14-18.
- [25] WANG Yi-Qin, CHEN Ying, BAI Qin-Hua, et al. Study on Defensin Production Using *Chlorella* as Bioreactor [J]. High Technology Letters 2001, 11(9): 1-5.
- [26] Yamaguchi K. Recent Advances in Microalgal Bioscience in Japan [J]. Journal of Applied Phycology 1997, 8, 487-502.
- [27] Ying Chen, Yiqin Wang, Yongru Sun, et al. Highly Efficient Expression of Rabbit Neutrophil Peptide-1 Gene in *Chlorella Ellipsoidea* cells [J]. Curr Genet 2001, 39, 365-370.

## DEVELOPMENT AND PROGRESS OF CHLORELLA VUTGARIS

HU Kai-hui, WANG Shihua

(School of Life Sciences, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

**Abstract** *Chlorella* has good functions in nutrition, health and physiological aspects because it consists of plenty of proteins, vitamins, carbohydrates and trace elements. A survey of molecular biology, growth factor, physiological function, application condition, large scale culture and research prospects of the *Chlorella* is introduced in this paper.

**Key words** *Chlorella*; health protection; Pharmacodynamics