

聚羟基脂肪酸酯生物合成的研究进展

李爱萍, 李光吉*

(华南理工大学高分子材料科学与工程系, 广州 510640)

摘要:聚羟基脂肪酸酯(PHA)是原核微生物在碳、氮营养失衡的情况下,作为碳源和能源贮存而合成的一类热塑性聚酯。它除了具有与化学合成高分子相似的性质外,还具有一般化学合成高分子没有的性质,如生物可降解性、生物相容性、压电性、光学活性等特殊性质,因而具有广阔的应用前景。国内外已对 PHA 进行了大量的研究。本文主要综述了近二、三年来国内外对 PHA 生物合成的研究进展。

关键词:聚羟基脂肪酸酯(PHA);聚羟基丁酸酯(PHB);生物合成;克隆;组织工程学

聚羟基脂肪酸酯(PHA)是原核微生物在碳、氮营养失衡的情况下,作为碳源和能源贮存而合成的一类热塑性聚酯。目前已经发现 PHA 至少有 125 种不同的单体结构,并且还在不断地发掘出新的单体^[1]。根据单体结构或含量的不同,PHA 有较宽的性能谱,如可呈现从坚硬到柔软到弹性的一系列变化。其中,聚羟基丁酸酯(PHB)是 PHA 中发现最早,研究最透彻的一种。

PHA 不仅具有与化学合成高分子材料相似的性质,而且还有一般化学合成高分子材料没有的性质,如生物可降解性、生物相容性、压电性、光学活性等特殊性质。因此,PHA 的应用范围很广,可用作各种绿色包装材料与容器,生物可降解薄膜,污水处理用细菌床,电信器件外壳等。PHA 具有生物可降解性,能在人体内自然降解;它的最终降解产物 3-羟基脂肪酸是人体血液中的一种普通的代谢物,不会给人体带来任何毒副作用。另外,PHA 具有一定的力学性能,可用作骨移植的支架。因此,近年来,越来越多的学者注重于研究 PHA 在医药及组织工程等方面的应用。

目前,ICI 公司已经生产出了 3-羟基丁酸和 3-羟基戊酸的共聚物 P(3HB-co-3HV),其商品名为“Biopol”^[2]。但是,PHA 的大规模工业化生产还未能实现,其原因在于用生物法合成 PHA 的生产成本比用化学法合成高分子材料要高得多。PHA 的生物合成是一个受多种酶催化、由不同的代谢途径控制的复杂过程。因此,近年来对 PHA 的研究工作主要集中在如何降低其生产成本上,大致可分为以下几个方面:(1)发掘具有高合成效率的新菌种;(2)利用基因工程技术获取重组菌株,以提高 PHA 的产率,研究其结构控制技术;(3)使用低成本碳源,如富含有机物质的工业废水;(4)开发合适的提取工艺,使提取成本降至最低。本文主要介绍近二、三年来国内外对 PHA 生物合成方面的研究进展。

1 合成 PHA 的微生物

能合成 PHA 的微生物分布极广,包括光能和化能、自养和异养菌共计 65 个属中的许多种。这些微生物能利用不同的碳源合成 PHA。价格便宜、成分复杂的甜菜和甘蔗榨汁废水、植物油及其脂肪酸、糖类、碳氢化合物,甚至二氧化碳和氢气的混合气体都可作为碳源^[3]。

作者简介:李爱萍(1972-),女,硕士,研究方向为生物技术在高分子合成及改性中的应用。

* 通讯联系人, E-mail: guangjili@hotmail.com

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

真养产碱杆菌 *R. eutropha* 在众多的细菌中被研究得最多,因为它在一定条件下积累的 PHB 可达细胞干重的 80% 以上。它的 PHA 合成酶只接受 3~5 个碳原子数的单体,合成短链 PHA (scl-PHA)^[4]。

含 6~14 个碳原子的中等链长的 PHA (mcl-PHA) 是结晶度很低的弹性体,在药物释放及组织工程等方面具有很广阔的应用前景。假单胞菌属 *Pseudomonads* 因为能合成 mcl-PHA, 所以近年来对它的研究^[5~7] 越来越多。嗜水性气单胞菌 *A. hydrophila* 能合成组织工程支架材料 3-羟基丁酸和 3-羟基己酸的共聚物(PHBHHk), 因此也得到了关注^[8]。PHBHHk 占细胞干重最高可达 52%, 其中 3-羟基己酸的最高含量可达 17.3%。

藻青菌 *Synechocystis* sp. PCC6803 是具有光合作用的微生物,只能合成 PHB。在它的野生菌种中,积聚的 PHB 占细胞干重 < 10% (wt)。然而,因为它和植物相似,具有光合作用,故弄清 PHB 在其中的积聚原理,对研究 PHA 在携带 PHA 合成酶基因的转基因植物中的积聚具有重大的指导意义^[9]。

除了以上的几种菌之外,还有甲基营养菌 (*Methylotrophs*)、固氮菌属 (*Azotobacter*)、红螺菌属 (*Rhodospirillum*) 等几类菌种研究得较多。

总之,能合成 PHA 的菌株是非常多的。不同的菌属对底物的要求、所合成 PHA 的结构、产率甚至合成机制均有很大差别。今后的工作主要致力于研究能利用廉价碳源、或能按设计要求“定向”地合成出特定结构 PHA 的菌株内的合成过程,从而为利用基因工程技术,开发出能高效合成一定结构的 PHA 的工程菌,实现分子裁剪奠定基础。

2 与 PHA 相关的蛋白质

微生物合成的 PHA 以粒状包涵体形式存在于细胞质中^[10]。在有机体内,PHA 包涵体的表面存在着许多蛋白质,参与生物合成、降解和移动。参与生物合成途径的基因有 *phaA*、*phaB*、*PhaC*、*phaE*、*phaG*、*phaJ*。其中, *phaC* 基因编码的酶 PHA 合成酶 (*PhaC*) 被研究得最多。到目前为止,被克隆和鉴定的 PHA 合成酶已经超过 54 种^[11,12]。PHA 合成酶按其结构和底物专一性的不同可分为三类: I 型 PHA 合成酶以真养产碱菌 *R. eutropha* 合成酶为代表,合成 scl-PHA; II 型 PHA 合成酶主要存在于假单胞菌中,以绿脓杆菌 *P. aeruginosa* 合成酶为代表,合成 mcl-PHA; III 型 PHA 合成酶以 *Allochrochromatium vinosum* 合成酶为代表,主要合成 scl-PHA,也有一些合成 mcl-PHA^[11,12]。

PHA 合成酶与基因库中其它的蛋白质没有明显的同源性,不过根据它们的一级结构和底物特异性,PHA 合成酶组成了一类高度同源的蛋白酶。

Rehm 等^[12] 运用位点专一突变和随机突变,对来自 *R. eutropha* 的 I 型 PHA 合成酶 (*PhaC_{Re}*) 进行突变分析,发现 *PhaC_{Re}* 和脂肪酶有相似之处,都是含有 α/β -水解酶折叠和中心结构的蛋白质家族的一员。所有 PHA 合成酶都含有一个假定的“脂肪酶盒子 (lipase box)” (G-X-[S/C]-X-G), 在这个盒子中,脂肪酶的重要活性位点丝氨酸被 PHA 合成酶中的半胱氨酸所代替,而该结构是脂肪酶中的催化基本结构。

石竹伯克霍尔德氏菌 *B. caryophylli* AS 1.2741 的 PHA 合成酶 *phaC_{1Bc}* 和 *phaC_{2Bc}* 基因和假单胞菌中的 PHA 合成酶相似性很高,在大肠埃希氏杆菌 *E. coli* 中只能合成 mcl-PHA, 是 II 型 PHA 合成酶^[13]。丘远征等^[15] 利用 PCR 克隆技术,将一株假单胞菌和一株石竹伯克霍尔德氏菌中的 PHA 合成酶基因克隆,并将克隆得到的基因所编码的氨基酸序列和其它六株已知 PHA 合成酶基因的假单

胞菌的相应序列进行比较。他们认为在假单胞菌中所有的 PHA 合成酶均具有相同的祖先。进而推论 I 型合成酶基因是由共同祖先直接进化而来的; II 型合成酶基因是共同祖先发生了加倍的事件形成的; III 型合成酶基因是由共同祖先发生不对等加倍或分裂而形成的。

(R)-专一的烯酰辅酶 A 水合酶(PhaJ)能通过脂肪酸的 β -氧化而提供合成 PHA 的前体,它的使用为脂肪酸在重组菌株中合成 PHA 提供了有力的工具。Tsuge 等^[14]研究了四种 phaJ 基因(phaJ1~phaJ4),发现它们均可提供 PHA 合成前体,但其底物专一性各有不同。如果将 PhaJ 的底物专一性和 PHA 合成酶的底物专一性结合起来,则可进行分子剪裁,得到预计分子组成和功能的 PHA。

另外,对 PHB 降解酶(PhaZ)^[15]和 PHB 低聚物水解酶^[16]的特性也有相关的研究和报道。

3 基因工程技术在 PHA 合成中的应用

克隆技术的发展使得基因在不同生物体中表达成为可能。许多和 PHA 生物合成相关的基因已经通过这种方法被鉴定和表征。E. coli 一般被用作基因异体表达的主体。因为它的底物专一性广,PHA 从中提纯的费用低,而且 E. coli 中不含有细胞内 PHA 降解酶,在其中合成的 PHA 不会被降解,有利于 PHA 产率的提高。

Ramachander 等^[10]克隆了金霉素链霉菌 *S. aureofaciens* NRRL 2209 中的一个 Sau3 A I DNA 片段,并将这一片段在 E. coli 中表达,研究该重组菌株产 PHA 的情况。研究发现,该重组菌株聚积的 PHB 是分子量为 2.85×10^5 的全同立构均聚物,具有高结晶度,其最大热降解温度在 $250 \sim 340^\circ\text{C}$ 之间;当以 1% 丙三醇做唯一碳源时,PHB 的产率可高达 $60\% \sim 66\%$,是该菌野生菌株 PHB 产量的 25~28 倍。

类产碱假单胞菌 *P. pseudoalcaligenes* YS1 是一种能聚积 PHB 和 mc1-PHA 共混物的菌株。为研究在该菌株中 PHA 的合成途径,Chen 等^[17]将这一菌株中的两种 PHA 合成酶基因 phaC1_p 和 phaC2_p 克隆,并在已除去脂肪酸降解基因 fadB 的 E. coli 中表达,从而研究在该重组菌株中合成 PHA 的类型。研究发现,phaC1_p 和 phaC2_p 只能合成 mc1-PHA,PHB 的合成由另外的合成基因控制。这就证明了在 *P. pseudoalcaligenes* YS1 中至少有两条 PHA 的合成途径。

在生物体内通过 β -氧化方式合成 PHA 中间体的过程中,3-酮酰基辅酶 A 被认为是一种可传的 PHA 前体,它在 3-酮酰基辅酶 A 还原酶作用下转化成(R)-3-羟酰基辅酶 A^[18]。在探讨 PHA 生物合成途径的过程中,由单体合成 PHA 前体也是非常关键的一步。南韩的 Lee 等^[18]曾将两种不同的 3-酮酰基辅酶 A 还原酶基因 fabG_{Ec} 和 rh1G_{Pa} 表达在 E. coli 中,研究这两种基因通过 β -氧化提供 mc1-PHA 前体的能力。研究发现,fabG_{Ec} 和 rh1G_{Pa} 均可通过 β -氧化来提供 mc1-PHA 前体,但这两种基因的底物专一性和活性是不相同的。

研究已经发现,含有比 3-羟基戊酸酯更长的 3-羟基脂肪酸酯的 PHA 具有低熔点、低玻璃化转变温度和低的结晶度^[19,20]。3-羟基丁酸酯和 3-羟基己酸酯的无规共聚物 PHBHHx 则具有和低密度聚乙烯相似的性能^[21]。豚鼠气单胞菌 *A. caviae* 是第一个通过脂肪酸的 β -氧化途径合成 PHBHHx 的细菌。为了提高 PHBHHx 的合成能力,Chen 等^[22]将酰基辅酶 A 脱氢酶基因(yafH)与来自 *A. caviae* 的 PHA 合成酶 PhaC_{Ac} 和(R)-烯酰辅酶 A 水合酶 PhaJ_{Ac} 在 E. coli 中共同表达,从而研究 yafH 在 E. coli 中的表达是否会增加(R)-烯酰辅酶 A 的供给,以改善重组菌株中 PHA 的合成。研究发现,yafH 在 E. coli 中的表达可提高 PHA 前体的供给。在这三种基因共同作用下,PHBHHx 的产量是只含 PhaC_{Ac} 和 PhaJ_{Ac} 两种基因的菌株中 PHBHHx 的产量的四倍多,这是由于 yafH 增强了(R)-烯酰辅

酶 A 底物供给的结果。

另一方面,为了进一步降低成本,人们利用具有光合作用的微生物作为 PHA 合成载体,以最终开发携带细菌的 PHA 生物合成基因的转基因植物来合成 PHA。Doi 等^[9]将 *R. eutropha* 的 PHA 合成酶基因在藻青菌 *Synechocystis* sp. PCC6803 中表达,研究 PHA 在重组菌株中的合成情况。研究发现,与野生的菌株相比,重组菌株中聚积的 PHA 量只略微增加。这说明 PHA 合成酶不是藻青菌中 PHA 合成的限制因素。关于 PHA 在转基因植物中的合成另有综述^[23]。

4 工作菌株和底物对 PHA 合成效率及组成结构的影响

利用工业废水^[24]和城市废水^[25]中丰富的有机物质作碳源生产 PHA,可降低原料费用。但是,其合成效率不高的缺点也是显而易见的。最新的研究结果表明,有机酸或有机酸盐的加入可以提高 PHA 的产率,并且改变其组成结构,如表 1 所示。

在 PHA 合成中,乙酸作为一种共底物,其作用越来越受到人们的关注。

乙酸本身不能单独作为底物合成 PHA,它主要用于细胞质的合成和能量供给。当乙酸作为共底物加入时,可以使得底物用于细胞生长的消耗减少,从而提高了 PHA 的产率。例如,乙酸作为共底物加入到壬酸或辛酸中,可提高 PHA 的产量,以及 3-羟基壬酸或 3-羟基辛酸单体单元的在 PHA 大分子链上的含量^[6]。丙酸可通过 β -氧化进行缩合反应,形成 PHA 中 3-羟基戊酸单元;当乙酸和丙酸共同作为底物时,它们之间可以缩合成 3-羟基戊酸,从而使得 3-羟基戊酸在 PHA 中的含量由 40%(wt)提高到 80%(wt)。乙酸的价格远低于其它有机酸,因而乙酸的利用对降低 PHA 的成本,同时提高其产量,均有着十分积极意义^[26]。

表 1 工作细菌及底物对 PHA 产率及组成结构的影响			
Table 1 The dependence of the yield and composition of PHA on the bacteria and substrates			
菌种	碳源	PHA 含量%(wt)	组成
Azotobacter chroococcum H23 ^[24]	60%橄榄油生产废水 alpechin ¹	87.6	PHB 100%
	60%Alpechin 和 40mM 戊酸盐	88.6	HV 24%
	60%Alpechin 和 50mM 戊酸盐	84.4	HV 25%
活性污泥 ^[25]	城市废水	21	—
	城市废水和乙酸盐	31	—
Pseudomonas oleovorans ATCC 29347 ^[6]	壬酸	33.7	C9 67.3% C7 32.7%
	壬酸和乙酸(体积比 1:1)	29.5	C9 75.1% C7 24.9%
Pseudomonas stutzeri 1317 ^[7]	葡萄糖、琥珀酸、柠檬酸、乳酸等 非相关碳源	—	C8 18.4%~19.4% C10 63.1%~68.5% C12 11.6%~16.1%
	碳原子数为 2~16 的正烷基 酸盐相关碳源	—	主要单体单元为碳原子数 7~10 的羟基脂肪酸
	葡萄糖	PHBHHx 1.74±0.01	HHx %17.3±0.5
Aeromonas hydrophila 4AK4 ^[8]	豆油	PHBHHx 8.6±1.7	HHx %15.3±0.6
	月桂酸	PHBHHx 52±1.6	HHx %12.3±0.4
	混合碳源 ²	PHBHHx 48±1.5	HHx %13.6±0.3

¹橄榄油生产废水 alpechin 的平均组成:水 83.4%,有机物质 14.8%,多酶 1%~1.5%,矿物质 1.8%。

²混合碳源:豆油 10g/L 和月桂酸 10g/L。

施氏假单胞菌 *P. stutzeri* 1317 可以利用不同碳源,合成含不同共聚单体单元的 mcl-PHA。PHA

的组成从根本上取决于前体生成和聚合路径酶的选择性之比。对不同碳源,PHA 前体的生成途径不同,使得到的 mcl-PHA 组成也不同(见表 1)。这就为利用该菌株实现分子裁剪,调控 PHA 组成和性能提供了基础。例如,改变碳源辛酸钠/庚酸钠的摩尔比,所得的 PHA 中羟基辛酸和羟基庚酸的摩尔比也相应变化,且存在很好的线性关系^[7]。

嗜水性单孢菌 *A. hydrophila* 4AK4 是仅有的几种能够以高浓度和高产率来生产 PHA 的细菌中的一种,可以利用多种碳源。以月桂酸为碳源时,PHA 合成产量高,但成本增加;以豆油为碳源时,其 PHA 合成效率低,最终产量只有 10.8g/L;而以豆油和月桂酸作为混合碳源,PHA 的产量达到 16.8g/L,降低了成本,并且解决了月桂酸发酵的起泡和产品难分离提取的问题。发酵条件易于控制,结果稳定,可应用于工业化生产^[8]。

5 PHA 的提取

尽管有报道说由广泛产碱菌 *A. latus* 合成的 PHA 可占细胞干重的 88%^[27],PHA 生物合成的生产费用仍然很高,无法与石油化工塑料相抗衡,一直不能得到大规模的工业应用。在 PHA 生产费用中,含碳原料费用>40%,PHA 从细胞中提取费用>26%^[28]。由于 PHB 以颗粒状态存在于细胞中,分离提取比较困难,因而 PHA 的提取是降低 PHA 生产成本的关键技术。

目前,在 PHA 提取的研究中,PHB 的提取方法研究得最多,其他种类 PHA 的提取未见公开报道。PHB 的提取方法主要有有机溶剂法、次氯酸钠法、酶法、表面活性剂-次氯酸钠法。近年来一些新的、改良的 PHB 提取方法陆续有报道,如氨水法^[31]、氨水-溶剂法^[32]和表面活性剂-络合剂法^[33]等。

这些方法提取 PHB 的基本原理为:一是利用提取液中的化学物质对 PHB 和细胞物质不同的溶解性,将 PHB 和其他细胞物质分离;二是破坏细胞膜的稳定性,让胞内物质容易释放出来。

PHB 的提取技术主要涉及两个问题,一是方法的合理性,主要表现在提取率、纯度、提取过程是否对 PHB 的结构产生影响、从实验室到工业生产放大的可行性、操作是否方便,预处理及后处理是否复杂、环境污染程度等;二是过程的经济性,表现在提取所用材料的费用、能量消耗以及设备投资等。

以上提到的 PHB 提取方法各有优劣,为了便于比较,将它们归纳到表 2 中。

表 2 各种 PHB 提取方法的比较
Table 2 Comparison of the methods of PHB recovery

提取方法	提取温度/℃	提取时间/h	纯度/%	提取率/%	M
氯仿 ^[29]	25	24	98	36	402 000
氯仿 ^[29]	61.5	2	97	62	327 000
丙酮预处理/氯仿 ^[29]	61.5	2	98	72	326 000
次氯酸钠 ^[29]	30	1.5	90	88	216 000
次氯酸钠/氯仿 ^[29]	30	1.5	97	82	310 000
酶法/表面活性剂 ^[30]	55/100	3	96	—	—
氨水 ^{*[31]}	40—50	0.5	86~91	—	—
氨水 ^{**[32]}	45	1	79.70	67.00	—
氨水/氯仿 ^{**[32]}	45	1	95.59	63.65	—
表面活性剂/络合剂 ^[33]	50	1/6	98.7	93.3	316 000

* 菌种为重组大肠杆菌; ** 菌种为活性污泥

由表2可以看出,氯仿法、次氯酸钠/氯仿法、氨水/氯仿法以及表面活性剂/络合剂法提取出的PHB纯度高,其中表面活性剂/络合剂法的提取率也很高,达到93.3%^[33],并且提取过程中产生的废水可以循环利用^[34],降低了成本 and 环境污染,是目前最好的方法之一。此外,多种方法的结合处理,可以有效地提高PHB的纯度、提取率和分子量,例如丙酮对冷冻干燥过的菌体进行预处理有利于有机溶剂对胞内物质的提取,提取率得到了提高;氨水法和氯仿法的结合也使得PHB的提取率得到了很大的提高^[32]。

除了利用化学物质的各种性能之外,在PHB的提取过程中还可以考虑使用一些物理方法。将发酵体系加热沸腾后,马上转移到-5℃的冰箱里进行冷冻,可以增加细胞的脆性^[32]。在用氯仿提取*Synechocystis*中的PHB之前,可用多珠摇床(multi-beads shocker)进行预处理,使细胞膜容易破裂^[9]。

处理程序多固然可以提高PHB的纯度,但同时也增加了处理的复杂程度和费用,如何将两者有机地结合,既提高纯度、提取率,又使得费用增加较少,对环境的污染较少,还有待进一步地研究解决。

6 小结和展望

自上个世纪初,在*A. chroococcum*中发现一种可溶于氯仿、亲苯偶氮间苯二酚的脂状包涵体以来,对PHA的研究已经经历了PHB的鉴定、其它PHA的鉴定、PHA生物合成基因的克隆这三个研究阶段。到目前为止,研究者们已经成功地克隆了PHA合成酶基因,确定与PHA合成相关的有机体内代谢路径,在基因重组的菌株中合成出PHA,继而在转基因植物中合成出PHA,并且实现了PHA小规模工业化生产。

尽管PHA的高生产成本限制了它在工业上的应用,近年来PHA在组织工程、引导组织再生等方面广阔的应用前景仍引起了研究者们广泛的关注。

组织工程学是近十年发展起来的一门新兴交叉科学,其主要目的是研制仿生人体组织或器官代用品,以恢复人体缺失的组织或器官的功能^[35]。

PHB和PHBV作为具有一定机械强度的可生物降解材料,能与多种生物细胞相容,已被用于组织工程中。但也有报道指出,PHB和PHBV会引起被移植体的急性或慢性感染反应,并且其机械性能较差,这限制了它们作为某些组织工程材料的使用。最新研究结果表明,PHBHHx具有一定的弹性,与PHB共混,可改善PHB的机械性能;并且其生物相容性比PHB的要好,用PHBHHx含量为60%(wt)的PHBHHx/PHB制成的支架材料具有较强的骨细胞生长增殖能力,是一种很有发展前途的组织工程材料^[36~39]。

除了可用于组织工程材料外,PHA的一定机械性能、生物相容性和可生物降解性还可用于引导组织再生。在组织修复过程中,由于各种组织细胞向创口内生长速度不同,为使所需要的组织细胞长入某些区域,可通过放置生物膜,利用生物膜具有的保护、阻隔和引导作用,阻止结缔组织、上皮组织等长入,为所需要的组织细胞提供生长空间,从而达到完全的组织再生和重建。将PHB膜用于家犬的骨缺损修复^[40]、牙窝修复^[41],结果表明PHB膜具有满意的机械强度,良好的组织相容性,在体内可缓慢降解,有可能成为一种较理想的引导组织再生的天然膜材料。

到了二十一世纪初,对PHA的研究已经明显处于第四个阶段。研究者们兴趣集中在确定PHA合成酶的三级和四级结构上,这有助于理解PHA合成酶的催化机制和底物专一性等性质。如何有效地利用与PHA合成相关的酶进行分子剪裁,以合成所需的环境友好的高分子材料成为今后

对 PHA 研究的发展趋势之一。

参考文献:

- [1] Chen G Q, Wu Q, Zhao K, et al. Chinese J Polym Sci, 2000, 18, 389~396.
- [2] Byrom D. TIBTECH, 1987, 5, 246~.
- [3] Sudesh K, Abe H, Doi Y. Process in Polymer Science, 2000, 25, 1503~1555.
- [4] Lee S Y. Biotechnol Bioeng, 1996, 49, 1~14.
- [5] 丘远征, 张广, 季星来, 等. 无锡轻工大学学报, 2002, 21, 549~553.
- [6] Du G C, Yu J. Proc Biochem, 2002, 38, 325~332.
- [7] 徐 军, 贺文楠, 郭宝华, 等. 高等学校化学学报, 2002, 23, 71~74.
- [8] 张 瑾, 吴 琼, 张广, 等. 食品与生物技术, 2002, 21, 76~79.
- [9] Sudesh K, Taguchi K, Doi Y. Int J Biolo Macromol, 2002, 30, 97~104.
- [10] Ramachander T V N, Rohini D, Belhekar A, et al. Int J Biol Macromol, 2002, 31, 63~69.
- [11] Hezayen F F, Steinbüchel A, Rehm B H A. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2002, 403, 284~291.
- [12] Rehm B H A, Antonio R V, Spiekermann P, et al. Biochimica et Biophysica Acta, 2002, 1594, 178~190.
- [13] Hang X M, Zhang G, Wang G L, et al. FEMS Microbiol Lett, 2002, 210, 49~54.
- [14] Tsuge T, Taguchi K, Seiichi, et al. Int J Biolo Macromol, 2003, 31, 195~205.
- [15] Braaz R, Handrick R, Jendrosseck D. FEMS Microbiol Lett, 2003, 224, 107~112.
- [16] Ueda S, Sano K, Gao D, et al. FEMS Microbiol Lett, 2002, 206, 179~184.
- [17] Hang X M, Lin Z X, Chen J Y, et al. FEMS Microbiol Lett, 2002, 212, 71~75.
- [18] Park S J, Park J P, Lee S Y. FEMS Microbiol Lett, 2002, 214, 217~222.
- [19] Nakamura S, Kunioka M, Doi Y. Macromol Rep A, 1991, 28, 15~24.
- [20] Holmes P A. Phys Technol, 1985, 16, 32~36.
- [21] Doi Y, Kitamura S, Abe H. Macromolecules, 1995, 28, 4822~4828.
- [22] Lu X Y, Zhang J Y, Wu Q, et al. FEMS Microbiol Lett, 2003, 221, 97~101.
- [23] Snell K D, Peoples O P. Metabol Eng, 2002, 4, 29~40.
- [24] Pozo C, Martinez-Toledo M V, Rodelas B, et al. J Biotechnol, 2002, 97, 125~131.
- [25] Chua A S M, Takabatake H, Satoh H, et al. Water Research, 2003, 37, 3602~3611.
- [26] Yu J, Si Y T, Wong W K R. Proc Biochem, 2002, 37, 731~738.
- [27] Wang F, Lee S Y. Appl Environ Microbiol, 1997, 63, 3703~3706.
- [28] Choi J, Lee S Y. Bioproc Eng, 1997, 17, 335~342.
- [29] 陈银广, 陈坚, 堵国成, 等. 无锡轻工业大学学报, 1998, 17, 5~9.
- [30] Holmes P A, Lim G B. EP, 145233, 1985.
- [31] 尹进, 沈忠耀. 第七届全国生物化工学术会议论文集, 北京: 化学工业出版社, 1996, 406.
- [32] 林东恩, 高振忠, 张逸伟, 等. 华南农业大学学报(自然科学版), 2003, 24, 93~94.
- [33] Chen Y, Chen J, Yu C, et al. Proc Biochem, 1999, 34, 153~157.
- [34] Chen Y, Yang H, Zhou Q, et al. Proc Biochem, 2001, 36, 501~506.
- [35] 陈国强, 赵锴. 中国生物工程杂志, 2002, 22, 1~8.
- [36] Zhao K, Deng Y, Chen J C, et al. Biomaterials, 2003, 24, 1041~1045.
- [37] Yang X S, Zhao K, Chen G Q. Biomaterials, 2002, 23, 1391~1397.
- [38] Deng Y, Zhao K, Zhang X F, et al. Biomaterials, 2002, 23, 4049~4056.
- [39] Deng Y, Lin X S, Zheng Z, et al. Biomaterial, 2003, 24, 4273~4281.
- [40] 包崇云, 陈治清, 欧国敏, 等. 华西口腔医学杂志, 2002, 20, 107~109.
- [41] 田卫东, 包崇云, 刘磊, 等. 华西口腔医学杂志, 2002, 20, 289~292.

Progress in Biosynthesis and Properties of Polyhydroxyalkanoates

LI Ai-ping, LI Guang-ji

(*Department of Polymer Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China*)

Abstract: Polyhydroxyalkanoates (PHA) are a class of thermoplastic polyesters formed as carbon and energy reserve materials by various bacteria under nutrient-limited conditions in the presence of excess carbon source. PHA possess not only mechanical properties similar to synthetic polymers, but some features such as biodegradability, biocompatibility, piezoelectricity and optical activity, leading to its great potential for applications in many fields. Numerous studies have been done on PHA. This paper mainly reviews the progress in biosynthesis of PHA in recent years.

Key words: Polyhydroxyalkanoates (PHA); Polyhydroxybutyrate (PHB); Biosynthesis; Clone; Tissue engineering

(上接第 9 页)

Advances of Glass Bead Filled Polymer Composites

YANG Wei¹, SHI Wei¹, XIE Bang-hu¹, LI Zhong-ming¹, YANG Ming-bo¹, HUANG Shi-rong²

(1. *College of Polymer Science and Engineering, Sichuan University, State Key Laboratory of Polymer Materials Engineering, Chengdu 610065, China;*

2. *Tianxingjian Nano Glass Bead LTD, Chengdu 610081, China*)

Abstract: As a newly developed Rigid Inorganic Filler (RIF), except for the effect of reinforcement and toughening for polymer materials, many other excellent properties of glass bead and glass bead filled polymer materials have attracted much interests. From the toughening effect of glass bead, the tensile properties, the dynamic mechanical properties, the rheological properties, the interface and other properties of glass bead filled polymer materials, recent advances were reviewed in detail.

Key words: Glass bead; Polymer materials; Composites; Advances