

## 基质穿膜传递过程和 Monod 方程的耦合模型

王志龙

(上海交通大学生命科学技术学院 上海 200240)

**摘 要** 在分析基质进入细胞穿膜传质机理的基础上,提出了相应的简单传质模型。以此讨论了传递过程对 Monod 方程的影响,得出了传递过程不影响 Monod 方程的形式,但影响其动力学参数的结论。这和文献结果和实验数据一致。

**关键词** 传递过程, Monod 方程, 动力学参数, 模型

中图分类号 TQ920.1 文献标识码 A 文章编号 1000-3061(2000)05-0636-05

微生物生长动力学一直是发酵工程领域的重要研究课题。自 1942 年提出 Monod 方程以来,由于它的许多优点,一直被广泛应用。在应用过程中也发现了许多不足,出现了许多修正、推广模型<sup>[1]</sup>。研究表明微生物生长是由细胞内基质浓度而非细胞外基质浓度控制<sup>[2]</sup>,但 Monod 方程及其推广形成都是以细胞外基质浓度表示的。细胞内基质浓度不易测定,本文的目的是以基质穿膜传质的理论为基础,提出相应的简单传质模型,建立以细胞外基质浓度表示的细胞内基质浓度,并与 Monod 方程耦合得到以细胞内基质浓度表示的 Monod 方程,进一步分析传递过程对 Monod 方程的影响。

### 1 基本假设

细胞膜是具有流动性的双分子层脂膜,其间镶嵌着蛋白质大分子。按基质进入细胞的浓度梯度方式分为主动运输和被动扩散,其中被动扩散按是否需要载体蛋白又分为自由扩散和协助扩散。自由扩散与基质在脂膜中的溶解性有关,协助扩散与基质在脂膜中的溶解性无关,但需要载体蛋白。主动运输可反浓度梯度进行,需要载体蛋白的协助,是一种复杂而精巧的穿膜传质方式。葡萄糖分子和其它营养成分利用  $\text{Na}^+$  浓度梯度进入细胞的方式如图 1 所示<sup>[3]</sup>,通过  $\text{Na}^+$  与载体蛋白的结合与分离改变蛋白质的构象,从而调节葡萄糖与载体蛋白的吸附活性。

为了讨论的方便起见,作如下假设:

(1) 细胞处于稳定的生长代谢阶段,细胞内、外

基质浓度不随时间变化。

(2) 基质进入细胞的阻力主要集中在膜相,基质从细胞外达到细胞膜外表面的阻力和在细胞内的扩散阻力可忽略不计<sup>[4]</sup>。

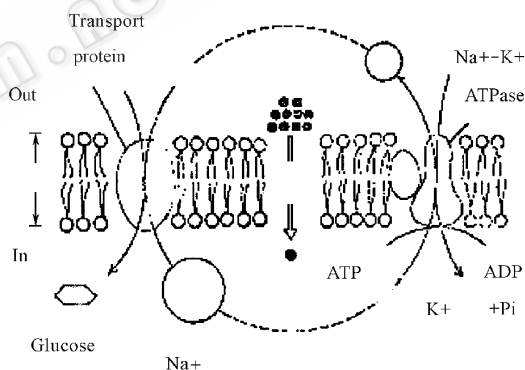


图 1 葡萄糖分子主动运输进入细胞的机制

Fig.1 Schematic representation of the active transport for glucose uptake

(3) 自由扩散过程中,基质在膜脂相的浓度和在细胞内、外水相的浓度处于相平衡。为简单起见,假定细胞膜内外的分配相平衡常数相等。

(4) 协助扩散和主动运输过程中,基质需结合载体蛋白才能进行穿膜传递。基质与载体蛋白的结合是极性分子间的作用力,假设符合 Langmuir 单分子吸附平衡理论,且是快速平衡过程。但假定在协助扩散过程中,载体蛋白构象不受细胞内、外环境的影响,其吸附平衡常数相等;而在主动运输过程中,细胞内、外环境的变化使载体蛋白的构象发生变化而影响它的吸附活性,其吸附活性是由细胞内外环境

决定的。

(5) 微生物生长与细胞内基质浓度的关系满足 Monod 方程, 且菌体得率为常数。

## 2 穿膜传质模型

根据假设 1、2、3、4, 对于被动扩散过程, 有如图 2 所示的浓度分布图。图中  $S_o$ 、 $S_i$  为限制性基质在细胞外侧、内侧水相的浓度,  $S_a$ 、 $S_b$  为限制性基质在膜脂相外侧、内侧的浓度。

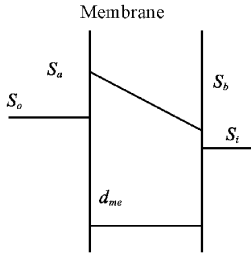


图 2 被动扩散模式图

Fig. 2 Schematic representation of passive diffusion

膜脂相的扩散过程符合 Fick 定律

$$J = \frac{D_{me}}{d_{me}}(S_a - S_b) \quad (1)$$

式中  $J$  为扩散通量,  $D_{me}$  为基质在膜脂相的扩散系数,  $d_{me}$  为膜厚度。

对于自由扩散过程 根据假设 3 有

$$K_{par} = \frac{S_o}{S_a} = \frac{S_i}{S_b} \quad (2)$$

联立(1)(2)有

$$J = P(S_o - S_i) \quad (3)$$

其中

$$P = \frac{D_{me}}{d_{me}} K_{par} \quad (4)$$

为穿膜系数, 是与分子大小、相平衡常数等基质性质有关的物理量, 非极性小分子易通过扩散进入细胞<sup>[5]</sup>。

对于协助扩散过程 根据假设 4 有

$$S_a = S_{max} \frac{S_o}{S_o + K_{ab}} \quad (5)$$

$$S_b = S_{max} \frac{S_i}{S_i + K_{ab}} \quad (6)$$

式中  $S_{max}$  为最大吸附量,  $K_{ab}$  为吸附平衡常数。

联立式(1、5、6)有

$$J = \frac{D_{me} S_{max}}{d_{me}} \left( \frac{S_o}{S_o + K_{ab}} - \frac{S_i}{S_i + K_{ab}} \right) \quad (7)$$

当  $S_o \ll K_{ab}$ ,  $S_i \ll K_{ab}$  时 式(7)为

$$J = \frac{D_{me} S_{max}}{d_{me} K_{ab}} (S_o - S_i) \quad (8)$$

当  $S_i \ll K_{ab}$ , 而  $S_o \gg K_{ab}$  时, 式(7)为

$$J = \frac{D_{me} S_{max}}{d_{me}} \quad (9)$$

当  $S_i \gg K_{ab}$ ,  $S_o \gg K_{ab}$  时  $J = 0$

式(8)表明协助扩散过程通量在一定浓度范围内与浓度梯度成正比, 式(9)表明细胞内基质浓度较小时, 细胞外基质浓度超出载体蛋白的最大吸附量时, 通量将不再提高。而当细胞内基质浓度较大达到饱和时将没有扩散。由于吸附作用, 使基质在膜脂相浓度提高, 吸附通量增大。这和文献[3]的结果一致。

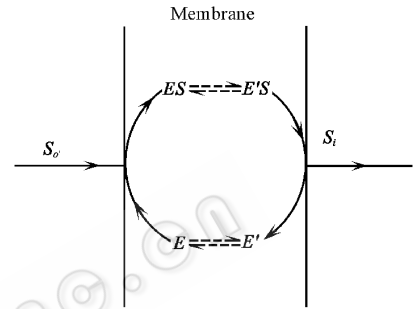


图 3 主动运输模式图

Fig. 3 Schematic representation of active transport

根据假设 1、2、4, 对于主动运输过程, 有如图 3 所示的穿膜示意图。图中  $E$  为高吸附活性的载体蛋白,  $E'$  为低吸附活性的载体蛋白,  $ES$  为吸附了基质的高活性载体蛋白,  $E'S$  为吸附了基质的低活性载体蛋白。由图 1 可知, 对于稳定生长的细胞, 细胞内外环境条件是一定的(如细胞内外  $Na^+$  浓度是一定的), 使得膜内高活性载体蛋白和低活性载体蛋白的量是一定的。即

$$[E]_0 = \psi [E']_0 \quad (10)$$

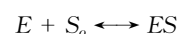
式中  $[E]$  表示浓度,  $[E']_0$  表示总浓度,  $\psi$  为比率系数。

由假设 4 知:  $ES$  向  $E'S$  转化是主动运输的控制步骤, 受细胞的生理状况决定。对于一定环境条件的稳定生长的细胞, 它们应处于稳定的平衡状态。即

$$[E'S] = k [ES]$$

式中  $k$  为平衡常数。受细胞内外基质浓度、细胞的生理状况影响。如图 1 中, 细胞内外  $Na^+$  浓度差和基质浓度的变化都将打破平衡。

根据假设 4, 由图 3 知, 在膜脂相的外表面有

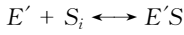


得到

$$[ES] = [E]_0 \frac{S_o}{S_o + K_{ab}} \quad (12)$$

式中  $K_h$  为高活性的载体蛋白的吸附平衡常数。

在膜脂相的内侧有



得到

$$S_i = \frac{K[E'S]}{[E']} \quad (13)$$

式中  $K_l$  为低活性载体蛋白的吸附平衡常数。由于  $E'$  为变相失活后的低吸附活性的载体蛋白  $[E'] \gg [E'S]$ , 满足

$$[E']_0 = [E'] + [E'S] \approx [E'] \quad (14)$$

代入式(13)有

$$S_i = \frac{K[E'S]}{[E']} \quad (15)$$

联立式(10、11、12、15)有

$$S_i = K_l k \psi \frac{S_o}{S_o + K_h} \quad (16)$$

对于处于稳定阶段的细胞,  $k$ 、 $K_l$ 、 $\psi$  都是常数。式(16)和由两组份微生物结构模型导出的细胞内外基质浓度关系的形式一致<sup>[6]</sup>。

式(16)中  $K_l$  很大, 使主动运输可以由低浓度向高浓度扩散。 $k$  的大小受细胞内外基质浓度的调节, 当  $S_i$  很大而  $S_o$  较小时, 由式(12、15、11)可知需要维持较大的  $k$  值以保持细胞内环境的稳定。由式(16)可知,  $\psi$  的变化也可达到同样的目的, 如图1所示, 大的  $\psi$  值要求维持细胞内外高的  $\text{Na}^+$  浓度梯度, 这是以消耗细胞内代谢能量为代价的。式(16)中保持了吸附平衡方程的形式, 表示当细胞外浓度很大时, 主动运输也有载体蛋白的最大吸附量现象。说明式(16)基本上保持了主动运输过程复杂而精巧的特征。

### 3 穿膜传递过程对 Monod 方程的影响

对于被动扩散过程, 根据假设1和5有

$$J_{AX} = \frac{dX/dt}{Y_{x/s}} \quad (17)$$

式中  $X$  为干细胞质量,  $A$  为细胞质量比表面积,  $t$  为时间,  $Y_{x/s}$  为菌体得率。

$$\mu = \frac{1}{X} \frac{dX}{dt} = \mu_{\max} \frac{S_i}{S_i + K_s} \quad (18)$$

式中  $\mu$  为比生长速率,  $\mu_{\max}$  为最大比生长速率,  $K_s$  为饱和常数。

当细胞按球形处理时, 细胞的质量比表面积为

$$A = \frac{6}{d_{\text{cell}} \rho_{\text{cell}} (1 - \omega)} \quad (19)$$

式中  $d_{\text{cell}}$  为细胞直径,  $\rho_{\text{cell}}$  为干细胞密度,  $\omega$  为含水

率。

对于自由扩散过程, 将式(3、18、19)代入式(17)并处理<sup>[1]</sup>得

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S_o}{S_o + K_s + \frac{\mu_{\max} d_{\text{cell}} \rho_{\text{cell}} (1 - \omega)}{6PY_{x/s}}} \quad (20)$$

令表观饱和常数为

$$K_{\text{sap}} = K_s + \frac{\mu_{\max} d_{\text{cell}} \rho_{\text{cell}} (1 - \omega)}{6PY_{x/s}} \quad (21)$$

对于协助扩散过程, 当基质为限制性成分时, 浓度一般很小, 其穿膜传质速率可近似用式(8)表示, 将式(8、18、19)代入式(17)作类似处理可得到相似结果。其中

$$K_{\text{sap}} = K_s + \frac{\mu_{\max} d_{\text{cell}} \rho_{\text{cell}} (1 - \omega)}{6Y_{x/s} \frac{D_{me} S_{\max}}{d_{me} K_{ab}}} \quad (22)$$

对于主动运输过程, 将式(16)代入式(18)有

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S_o}{S_o + \frac{K_s(K_h + S_o)}{K_l \psi k}} \quad (23)$$

令

$$K_{\text{sap}} = \frac{K_s(K_h + S_o)}{K_l \psi k} \quad (24)$$

当  $S_o \gg K_h$  时, 变形式(23)可得到:

$$\mu_{\text{maxap}} = \mu_{\max} \frac{1}{1 + \frac{K_s}{K_l \psi k}} \quad (25)$$

式中  $\mu_{\text{maxap}}$  为表观最大比生长速率。

## 4 结果与讨论

式(20)和(23)表明, 不论是主动运输还是被动扩散, 限制性基质的穿膜传递过程都不影响 Monod 方程的形式。式(20)表明被动扩散过程不影响最大比生长速率  $\mu_{\max}$ , 而式(25)表明, 主动运输过程穿膜传递过程将影响最大比生长速率  $\mu_{\max}$ , 但一般  $K_s$  很小, 而  $K_l \psi k$  很大, 使表观最大比生长速率  $\mu_{\text{maxap}}$  和最大比生长速率  $\mu_{\max}$  基本相等。式(21、22、24)表明基质穿膜传递过程将影响饱和常数。这较好地解释了以细胞外基质浓度表示的 Monod 方程能较好地符合发酵实验数据。且和一般认为最大比生长速率是由微生物种属决定, 而饱和常数是由限制性基质决定一致<sup>[7]</sup>。式(21、22、24)表明基质穿膜传递过程对饱和常数的影响将为: 被动扩散使  $K_{\text{sap}}$  增加, 而主动运输将使  $K_{\text{sap}}$  减小。我们将 *Escherichia* 的几种饱和常数数据<sup>[1,7]</sup>和穿膜方式<sup>[4]</sup>比较如表1。虽然不同基质的理化性质不同, 而且一

般  $K_{sap}$  很小,尤其是在分批培养过程很难准确测定,但对于同一种微生物的表观饱和和常数,主动运输远远小于被动扩散至少在一定程度上体现了模型预期的结果。

表 1 埃希氏菌表观饱和和常数数据

Table 1 The data of apparent saturation constant for *Escherichia*

Substrate	$K_{sap}/10^{-5}\text{mol/L}$	Transport
Tryptophan	$5.4 \times 10^{-3}$	Active transport
	$3.4 \times 10^{-3}$	
Glucose	$3.8 \times 10^{-2}$	Active transport
	1.2~2.2	
Glycerol	2.2	Free diffusion
$\text{PO}_4^{3-}$	1.7	Facilitated diffusion

式(21)表明自由扩散过程中  $K_{sap}$  的影响因素主要有基质、微生物类型及所处环境等。我们很难得到这方面的详细资料。对于同一进行自由扩散的基质,微生物的大小应该是主要影响因素。不同微生物吸收溶氧的表观饱和和常数如表 2 所示<sup>[1]</sup>,以表观饱和和常数对微生物的大小作图如图 4 所示,两者线性关系较好,和模型的预期结果一致。

表 2 微生物对氧吸收的表观饱和和常数数据

Table 2 The data of the Monod apparent Saturation constant for oxygen uptake

Organism	$d_{cell}/\text{micron}$	$K_{sap}/10^{-5}\text{mmol/L}$
<i>Micrococcus candidans</i>	0.5	1.1
<i>Aerobacter aerogenes</i>	0.6	3.1
<i>Escherichia coli</i>	0.6	2.22
<i>Serratia maresscens</i>	0.7	3.6
<i>Azotobacter indicum</i>	1.6	$3.0 \times 10$
<i>Bacillus megatherium</i>	2.0	$5.97 \times 10$
<i>Bacillus megatherium</i> (LiCl)	2.4	$7.07 \times 10$
<i>Acetobacter suboxydans</i>	2.7	$1.57 \times 10^2$
<i>Bacillus megatherium</i> (glycine)	4.0	$3.12 \times 10^2$

#### 符号说明

$A$  细胞质量比表面积( $\text{m}^2/\text{kg}$ )

$d_{me}$  细胞膜厚度(m)

$J$  扩散通量( $\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ )

$K_{ab}$  吸附平衡常数( $\text{mol}/\text{m}^2$ )

$K_1$  低吸附活性的吸附平衡常数( $\text{mol}/\text{m}^2$ )

$K_{par}$  分配平衡常数

$S_i, S_o$  细胞膜内、外相基质浓度( $\text{mol}/\text{m}^3$ )

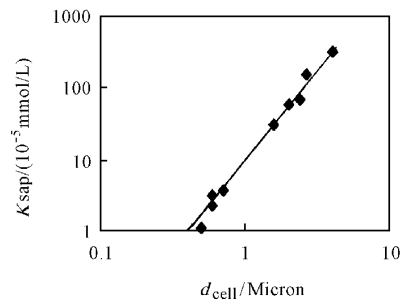


图 4 微生物大小对表观饱和和常数的影响

Fig. 4 The influence of organism size on the apparent Monod saturation

对于主动运输过程,式(24)表明  $K_{sap}$  与限制性基质的浓度有关,不同微生物对葡萄糖主动运输的  $K_{sap}$  如表 3 所示<sup>[7]</sup>,作图 5,可见线性关系较好,说明了模型的正确性。

表 3 微生物对不同浓度葡萄糖的表观饱和和常数数据

Table 3 Data of the apparent saturation constant for several glucose concentrations

Organism	Concentration/(mg/L)	$K_{sap}/(10^{-5}\text{mmol/L})$
<i>Escherichia</i>	$6.8 \times 10^{-2}$	$3.8 \times 10^{-2}$
<i>Escherichia</i>	4.0	2.2
<i>Aspergillus</i>	5.0	2.8
<i>Saccharomyces</i>	$2.5 \times 10$	$1.4 \times 10$

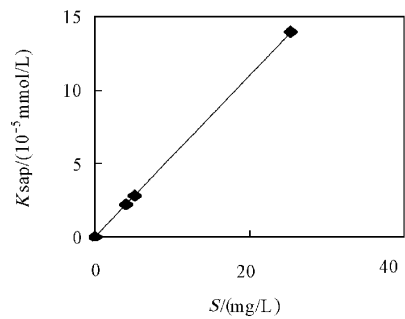


图 5 葡萄糖浓度对表观饱和和常数的影响

Fig. 5 The effect of substrate concentration on the Monod saturation constant for glucose uptake

$S_{max}$  脂膜最大吸附浓度( $\text{mol}/\text{m}^2$ )

$Y_{x/s}$  得率系数( $\text{kg}/\text{mol}$ )

$\mu$  比生长速率( $\text{s}^{-1}$ )

$\mu_{maxap}$  表观最大比生长速率( $\text{s}^{-1}$ )

$D_{me}$  细胞膜扩散系数( $\text{s}^{-1}$ )

$d_{cell}$  细胞直径(m)

$k$  比例系数

$K_1$  高吸附活性的吸附平衡常数( $\text{mol}/\text{m}^2$ )

$K_s$  :饱和常数( mol/m<sup>3</sup> )

$K_{sap}$  :表观饱和常数( mol/m<sup>3</sup> )

$S_b$ 、 $S_a$  :细胞膜脂相内、外相基质浓度( mol/m<sup>3</sup> )

$w$  :细胞体积含水率

$X$  :干细胞质量( kg )

$\psi$  :比例常数

$\mu_{max}$  :最大比生长速率( s<sup>-1</sup> )

$\rho_{cell}$  :干细胞密度( kg/m<sup>3</sup> )

## 参 考 文 献

- [ 1 ] Harvey W B ,Douglas S C. Biochemical Engineering. New York :Marcel Dekler ,Inc. 1996
- [ 2 ] Nyholm N. *Biotechnol Bioeng.* 1977 ,**19** :467~473
- [ 3 ] 韩贻仁. 分子细胞生物学. 北京 :高等教育出版社. 1988
- [ 4 ] Nielsen J ,Villadsan J. Bioreaction Engineering Principles. New York :Plenum Press. 1994
- [ 5 ] Sein W D. An Introduction to Membrane Transports. San Diego :Academic Press. 1990
- [ 6 ] Nielsen J ,Nikolajsen K ,Villadsen J. *Biotechnol Bioeng.* 1991 ,**38** :1~10
- [ 7 ] 山根恒夫著. 周 斌译. 生化反应工程. 西安 :西北大学出版社. 1992

## Coupling Model of the Substrate Premeabling Through the Cytoplasmic Memberane and Monod Kinetics

WANG Zhi-Long

( College of Life Science & Technology ,Shanghai Jiaotong University ,Shanghai 200240 )

**Abstract** Based on the analysis of the substrate permeabling through the cytoplasmic membrane ,the corresponding simple transport models are proposed. By coupling of the model with the Monod kinetics ,it was discovered that form of Monod kinetics doesn 't change ,but the kinetics parameter affected by the transport processes. This result is fit well with the literature conclusion and experimental data.

**Key words** Transport process ,Monod kinetics ,kinetic parameter ,model