

# 海藻糖在生物组织器官保护方面的新应用

齐向辉<sup>1,2,3</sup>, 陈华友<sup>1\*</sup>, 蒙健宗<sup>3</sup>, 侯守海<sup>4</sup>, 梁淑华<sup>4</sup>, 徐虹<sup>2</sup>, 黄日波<sup>3\*\*</sup>

(1. 江苏大学食品与生物工程学院, 江苏镇江 212013; 2. 南京工业大学食品与轻工学院, 江苏南京 210009; 3. 广西亚热带生物资源保护利用国家重点实验室, 广西南宁 530005; 4. 南宁中诺生物工程有限公司, 广西南宁 530005)

**摘要** 海藻糖是具有独特生物学功能的二糖,它在生物活性材料的保护保存等方面起着不可估量的作用,是一种非常优良的生物活性保护剂。综述了海藻糖在血液、脂质体、气管、肝、肺、肾、胚胎等器官保护中的应用情况及新的发展动态。

**关键词** 海藻糖;组织;器官;保护;应用

**中图分类号** Q946.3 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2009)33-16729-04

## Novel Application of Trehalose in the Bioprotection of Biological Tissue and Organ

QI Xiang-hui et al (School of Food and Biotechnology Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang, Jiangsu 212013)

**Abstract** Trehalose is a disaccharide with important biological functional. It shows an immensurable effect on the protection and preservation of biomaterials and it is a kind of excellent bio-activity protective agent. The applications of trehalose in the protection of organs such as blood, liposome, trachea, liver, lung, kidney and embryo and new development status were summarized.

**Key words** Trehalose; Tissue; Organ; Protection; Application

海藻糖是由2个葡萄糖分子以 $\alpha, \alpha$ -1,1-糖苷键构成的非还原性双糖,它无毒性,自身的化学性质非常稳定,近年来的研究表明,海藻糖对生物体具有神奇的保护作用。在许多生物体内,海藻糖可以以游离糖的形式存在,也可以作为各种糖脂的组成部分,表现出不同的生物学功能。研究发现,许多生物在不良环境(如干燥、高温、冷冻、高渗状态等)条件下,可以通过调节体内合成海藻糖来抵御外界的影响。在恶劣环境条件下,海藻糖能在细胞表面或生物大分子表面形成独特的保护膜,有效地保护生物大分子不变性失活,从而维持生命体的生命过程和生物特征。因此,海藻糖是一种因环境变化形成的对应激状态具有高抗性的物质,也是生物体内一种典型的应激代谢物<sup>[1]</sup>。外源性的海藻糖对生物体和生物膜、蛋白质和核酸等生物大分子在脱水、干旱、高温、冷冻、高渗透压及有毒试剂等不良环境条件下同样具有良好的非特异性保护作用,而自然界中蔗糖、葡萄糖等其他糖类,均不具备这一功能,使海藻糖作为一种天然的非特异性生物保护物质而倍受关注。正是由于海藻糖对生命保护的特殊意义,因此在科学界素有“生命之糖”的美誉。《Nature》杂志曾发表一篇对海藻糖进行评价的专文,指出“对许多生命体而言,海藻糖的有与无,意味着生命或者死亡”<sup>[2]</sup>。

组织、器官等的保存是当今医疗界一个亟待解决的重要课题,而组织、器官主要是由生物大分子组成的,虽然关于海藻糖对生物分子的保护作用机制尚不完全清楚,但海藻糖具有的独特生物学功能,使许多研究人员在已有的理论上,将其应用在组织、器官等方面作为生物活性保护剂,并且取得了非常显著的效果。

### 1 海藻糖在细胞及血液保存方面的作用

细胞培养和保存是当今医学界的一个热门话题,二者都

离不开低温技术,使用海藻糖作保护剂的研究也比较多。在糖尿病的治疗中,前期捐献的胰岛的有效保存是非常重要的,Beattie等发现了一种可以使低温保存的胰岛的内分泌细胞得到高效恢复的方法,他们使用海藻糖(300 mmol/L)和二甲基亚砜(DMSO)作为低温保护剂来保存人胰岛细胞,通过比较发现这种方法比单纯使用DMSO的保存方法要优越得多,细胞的恢复率从58%明显提高到了92%,并且在体外,恢复后细胞的分泌素与新鲜胰岛的没有什么区别;使用海藻糖保存的胰岛移植后,胰岛素含量比没有使用海藻糖保存要高出14倍;人类胎儿胰岛样细胞簇(ICCs)使用含有海藻糖的保护剂低温保存后,其细胞恢复率为94%,而没有添加海藻糖时恢复率仅有42%,额外添加海藻糖的冷冻保存策略使胰腺内分泌组织的保存取得了意想不到的良好效果<sup>[3]</sup>。另外,来自于人胎儿胰脏的胰岛内分泌细胞能在体外的细胞外周质增生扩散,但却没有激素的生成,并且细胞再分化需要从基质中除去那些扩散增生的细胞,并使内分泌细胞重新形成集合体,而在这个操作和培养过程中,会使大量的细胞死亡。Beattie等研究了不同试验条件下细胞的死亡机制,以便找到高效的提高细胞生存能力的方法,结果发现运输过程中,在基质中加入海藻糖后可以使细胞坏死率降低17倍,细胞凋亡抑制剂Z-VAD增加了1.8倍;同时他们还研究了它的保护机制,发现海藻糖的保护作用是通过抑制细胞坏死和凋亡实现的<sup>[4]</sup>。

骨髓血细胞和胚胎干细胞是人类两大造血干细胞,良好的保存条件及策略是保存这些组织细胞的重点,在造成细胞冷冻损伤的众多因子中,膜渗漏和氧自由基的产生会加速损伤的过程<sup>[5]</sup>。Limaye等<sup>[6]</sup>、Wu等<sup>[7]</sup>、Minlittoli等<sup>[8]</sup>研究了一些特定的添加剂,如细胞膜稳定剂、生物抗氧化剂,对常规冷冻介质中细胞的生存能力、核细胞的恢复以及一些遗传因子的影响。结果显示,海藻糖作为一种细胞膜稳定剂,当和浓度10%的DMSO一起作为冷冻保护剂时,菌落的形成效果明显比仅用浓度10%的DMSO好得多,并且可以保存1.5年以上;这种增强的保护作用在-196℃和-80℃的低温条件下表现得尤为突出;另外,试验测试了抗坏血酸、 $\alpha$ -醋酸维生素

**基金项目** 国家“863”资助项目(2006AA03Z0453);国家自然科学基金项目(20674038);江苏省博士后科研资助项目(0901012B);江苏大学高级专业人才科研资助项目(08JDC009)。

**作者简介** 齐向辉(1976-),男,河北石家庄人,博士,讲师,从事分子酶工程研究。\*与第一作者同等贡献。\*\*通讯作者,博士,博士生导师,E-mail:micro\_bio@163.com。

**收稿日期** 2009-10-19

E、过氧化氢酶 3 种生物抗氧化剂的效果,发现过氧化氢酶在  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$  和  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  的低温条件均显示了最好的冷冻保护效果。由于过氧化氢酶和海藻糖的冷冻保护作用方式完全不同, Limaye 等将这 2 种成分与浓度 10% 的 DMSO 一起混合后再作为保护剂,结果显示:混合后的保护剂在  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$  条件下的保护效果非常明显地优于单独成分的保护效果;然而在  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  条件下,混合后的保护效果虽然比单独使用浓度 10% 的 DMSO 要好,但却差于 2 种成分的单一添加效果。以上结果说明,当常规冷冻剂中加入膜保护剂(如海藻糖)和生物抗氧化剂时有助于冷冻的造血细胞的迅速恢复。

人类肝细胞移植中的一些限制因素可以通过高效的冷冻保存技术以及适当的细胞存储方法来解决。Katenz 等研究了海藻糖对人类肝脏细胞的冷冻保藏的影响,试验中将在含有浓度 10% 的 DMSO 和不同浓度的海藻糖培养基中的肝细胞冷冻,分析了快速解冻时间、生存能力、塔板率、总蛋白、细胞增殖、酶泄漏、清蛋白和脉的生成等情况,分析显示当海藻糖浓度为  $0.2\text{ mol/L}$  时整体效果最好;与单独使用 DMSO 相比,添加海藻糖后可以使解冻后生存能力  $[(62 \pm 13)\% \text{ 对 } (46.9 \pm 11)\%]$  和塔板率  $[(41.5 \pm 18)\% \text{ 对 } (17.6 \pm 13)\%]$  均有所增加;使用海藻糖作为添加剂冷冻保存人类肝细胞后,导致附属细胞中的总蛋白量明显增加,解冻后,清蛋白的分泌量比较高,天冬氨酸转氨酶水平明显减少<sup>[9]</sup>。总之,作为冷冻保护剂的海藻糖可以明显地提高人类肝细胞的冷冻保存效果。

分析认为海藻糖是一种不能穿透细胞膜的保护剂,在低温中可以与细胞膜的磷脂结合,通过替代水分子保护细胞膜;同时,海藻糖和 DMSO 联合使用可以收到更好的效果,因为 DMSO 是一种可以穿透细胞膜进入细胞内的低温保护剂,能够防止细胞内水分流失,两者具有协同效应。

## 2 海藻糖在胚胎保存方面的作用

国外使用含有海藻糖的溶液保存胚胎的研究较多且较早,并且取得了不错的效果<sup>[10]</sup>。Honadel 等首先利用不同浓度的海藻糖( $0.04, 0.10, 0.25\text{ mol/L}$ )混合不同浓度的甘油( $1.0, 1.5, 2.0\text{ mol/L}$ )作为冷冻保护剂保存鼠类胚胎,将胚胎转移至含有甘油的磷酸缓冲液和浓度 10% 的胎牛血清(PBS + FCS)中,PBS + FCS 中的甘油浓度逐渐递增,最后达到甘油终浓度( $2.0\text{ mol/L}$ ),然后再随机地转移至不同浓度的海藻糖液中,再将共 506 个桑椹胚装入塑胶管中,然后从常温开始冷却( $-1.0\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ),当在  $-7\text{ }^{\circ}\text{C}$  时胚胎形成晶粒,再按  $-0.3\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$  冷冻至  $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,随后置入液氮中。冻融后,用甘油进行一步法稀释,胚胎再经 48 h 培养,通过检测囊胚腔的形成来确定胚胎的生存能力。结果发现,使用浓度  $1.50\text{ mol/L}$  的甘油和浓度  $0.10\text{ mol/L}$  的海藻糖冷冻后的胚胎具有非常高的存活能力(70% 以上),比单纯用甘油时胚胎的存活能力明显提高了近 40%,取得了较好的保存效果<sup>[11]</sup>。Wang 等在对海藻糖在家蝇胚的低温保存效果的研究中得到了相似结论<sup>[12]</sup>。另外,Isachenko 等在山羊胚胎保存中使用了含海藻糖的玻璃化液体,保存后在体内和体外都使胚胎生存率明显提高<sup>[13]</sup>。从以上研究中不难发现,在胚胎的保存过程中,海藻糖作为一种保护剂,无论单独使用还是和其他成分

(如 DMSO、甘油等)混合使用均可以起到非常好的保存效果。

## 3 海藻糖在肺的保存方面的作用

国外用海藻糖溶液对肺的保存进行了很多实践研究,并对保存后不同时间的效果进行了探讨。Wada 等<sup>[14]</sup>、Zhao 等<sup>[15]</sup>分别使用含有海藻糖的保护液对犬离体肺保存 12、20 或 30 h 等时间后进行同种异体移植,发现含有海藻糖的保护液对离体肺在各个保存时间内均具有比较明显的保护作用。Fukuse 等使用 ET-K 溶液(含海藻糖)、EC 和 UW 溶液保存大鼠肺 17 h 后进行再灌注,通过肺功能测定,发现 ET-K 溶液明显优于 EC 和 UW 溶液<sup>[16]</sup>。Chen 等研究了海藻糖对人离体肺的保护,发现效果显著<sup>[17]</sup>;在临床的人肺移植中 Omasa 等首先做了大胆尝试,使用 ET-Kyoto 溶液(含有海藻糖)对移植肺进行灌注和保存并获得了成功<sup>[18]</sup>。

## 4 海藻糖在气管保存方面的作用

Yokomise 等利用海藻糖和 DMSO 作低温保护剂在气管保存方面做了许多开创性的工作。首先将犬的 5 环气管移植段保存于含海藻糖的保存液中,在  $-85\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存 1 个月后再行移植,结果发现,移植后的动物存活时间均超过了 6 个月;随后他们又将 6~10 环气管段冷冻保存 285 d,同种异体移植后,除 1 只动物死亡外,全部存活超过 2 个月,气管未出现狭窄和软化现象,并且经海藻糖处理后再进行气管同种异体移植可以省去使用免疫抑制剂的麻烦<sup>[19]</sup>。国内的齐战等<sup>[20]</sup>、Chen 等<sup>[21]</sup>也研究了海藻糖在气管低温保存中的保护作用 and 机制,并得出推论,在气管低温保存中海藻糖的保护作用主要是通过对抗软骨细胞的保护实现的,抑制软骨细胞 *Bax* 基因的表达是其中的保护机制之一,海藻糖和 DMSO 合用保护作用更好。

## 5 海藻糖在皮肤保存方面的作用

皮肤是人体最大最重要的器官之一,当因烧伤、外伤或因局部感染引起的大面积皮肤缺损时,必须进行植皮手术来覆盖创面,但当皮肤缺损超过总体表面积的 30% 时,必须依靠低温存储的异体来覆盖裸露的创面。皮肤在低温储存过程中,储存的温度越低,其活力保持的时间越长。如果在  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$  的环境下,细胞、生物组织处于所谓的“生命悬持状态”,在理论上几乎可以无限期地储存。但是,皮肤组织在降温 and 复温过程中的损伤不可避免,结果必然影响保存皮肤的活力。

为了尽可能地减少细胞在冷冻储存过程中的损伤,提高皮肤储存后的活力,研究者们提出了各种有效的抗冷冻保护方法,其中比较有效且常用的就是使用冷冻保护性药物,即抗冻剂,抗冻剂可分为穿透性冷冻保护剂(分子量较低,可以渗入细胞内与水结合)和非穿透性抗冻剂(分子量大于或等于蔗糖的分子量,可以形成细胞外高渗,使细胞脱水)。而海藻糖是一种非穿透性冷冻保护药物。很多学者用海藻糖作保护剂对皮肤低温保存进行了研究,并取得了较好的应用效果。Kitahara 等<sup>[22]</sup>、Jia 等<sup>[23]</sup>研制出了一种廉价方便的保存液,这种改良的保存液添加了浓度 7% 的海藻糖,可以保存外伤切除组织,如鼻尖、耳朵、头皮,至少 48 h 之久。为了验证这种保存液的效果,他们将 60 个兔的离体皮肤在 EC 溶液和

用浓度 7% 的海藻糖替换甘油的 EC 溶液中 (EC + 7% T) 4 °C 下保存 24、48 和 72 h, 然后用显微移植技术将这些保存后的皮肤移植到其他耳朵上, 7 d 后观察发现, 分别用 2 种溶液保存 24 h 后的皮肤的存活率为 100%; 其他较长时间保存的皮肤, 使用 EC 溶液保存的存活率为 60%, 而使用 EC + 7% T 保存的存活率为 90%, 72 h 保存后的移植效果亦同样较前者好的多。Erdag 等使用海藻糖和 DMSO 低温保存胎儿皮肤, 结果显示胞膜完整的细胞数量达到 65%, 比用甘油 (23%) 和 DMSO (44%) 作保护剂时明显提高, 移植效果也非常好<sup>[24]</sup>。这些结果表明皮肤使用常规应用保护剂时可以在渗透性保护剂中加入海藻糖之类的药物以增加保护效果, 说明海藻糖在保存组织皮肤等方面是一种非常好的保护剂。

## 6 海藻糖在肌肉保存方面的作用

Zhan 等<sup>[25]</sup>、Davies 等<sup>[26]</sup>研究了海藻糖在鼠肌薄肌保存中的作用, 他们利用含有海藻糖的 EC 液于 4 °C 保存大鼠股薄肌, 6 ~ 96 h 后通过显微外科手术移植给原动物, 发现用含有海藻糖的 EC 溶液保存后移植的肌肉中具有较多的 ATP 和磷酸肌酸, 移植后的存活率也大大提高; 并且在 24 ~ 48 h 时间段较单纯 EC 液明显提高了肌肉对缺血的耐受力, 这些结果均显示海藻糖对肌肉具有非常好的保存效果。

## 7 海藻糖在肾脏保存方面的作用

肾移植是目前临床上比较成熟的移植技术之一, 有些学者在利用海藻糖保存肾脏方面也做了一些大胆尝试。研究显示 EC 溶液在肾脏的短期保存及长期保存中具有很好的效果, 而 UW 溶液亦可以延长肺和肾脏的保存期, 这 2 种保存液均具有 ICF 型的电解质, 而所添加的糖是不一样的。EC 溶液用的是葡萄糖, 而 UW 溶液用的是棉子糖。糖如葡萄糖、棉子糖、甘露糖、胶质等在保护液中起到关键的作用, 但是并没有关于哪种糖的效果比较好的详细报告。Masaki 等首先在 EC 液中加入单糖 (葡萄糖)、二糖 (海藻糖)、三糖 (棉籽糖) 等, 研究它们对肾脏保存的影响, 结果发现二糖、三糖优于单糖<sup>[27]</sup>。Yoshida 等使用 ET-K (含海藻糖)、EC、UW 3 种溶液 4 °C 保存离体肾 24 h 后再灌注 120 min, 检测肾功能指标, 发现 ET-K (含海藻糖) 保存效果不错, 可以替代其他保存液<sup>[28]</sup>。由此可见, 海藻糖的保护效果要优于其他糖类。

## 8 海藻糖对动物生殖细胞的保护作用

随着海藻糖研究的深入, 研究人员发现它也可以对生殖细胞起到保护作用, 并且有关这方面的报道也越来越多<sup>[29]</sup>。McGinnis 等用含海藻糖的基质非冷冻 (4 °C 和 22 °C) 干燥保存小鼠精子, 精子水化后进行体外受精, 与不含海藻糖的基质相比, 前者保存的精子的胚胎发育率明显增高, 并认为在非冻结状态下, 海藻糖是一种鼠精子的非常高效的保护剂<sup>[30]</sup>。随后 Li 等研究了海藻糖对鼠精子氮气不完全蒸发干燥后的保护效果, 首次发现经海藻糖溶液处理后的不完全蒸发干燥的鼠精子可以在 -20 °C 和 -80 °C 下保存很长时间, 并且受精率及胚泡形成率均比较高<sup>[31]</sup>。Berlinguer 等也发现使用海藻糖液保存可以增加欧洲盘羊精子的生存能力、体外受精率, 并可以增加胚泡的形成率<sup>[32]</sup>。Eroglu 等将人体外受精过程中遗弃的人卵母细胞分成 3 组, 第 1 组不做任何处理, 第 2 组放入浓度 0.5 mol/L 的海藻糖溶液中, 第 3 组先向

细胞内注射浓度 0.15 mol/L 的海藻糖溶液, 再放入浓度 0.5 mol/L 的海藻糖溶液中。处理后的卵母细胞分别经 -15、-30、-60 °C 处理, 结果表明, 细胞内注射海藻糖的卵母细胞经 3 种温度处理后的存活率分别为 63%、53% 和 66%; 在 -15 °C 环境中冷冻保存后, 对照组及外加海藻糖组卵母细胞存活率分别仅为 13%、22%<sup>[33]</sup>。也即在 -15 °C 环境中冷冻保存后, 3 组卵母细胞的存活率分别为 13%、22% 和 63%, 表明海藻糖是一种有效的冷冻保存人类卵母细胞的胞内保护剂。

## 9 海藻糖对脂质体的保护作用

脂质体是由脂质双分子层组成的内部为水相的闭合囊泡, 具有生物膜的功能和特性。自 20 世纪 60 年代中期被命名以来, 在推动生物膜的研究进展中, 起着非常重要的作用。进入 20 世纪 70 年代, 它开始作为药物等多种分子的载体, 尝试用于临床诊断、治疗的研究。80 年代, 它进入了新型的生物工程领域, 给市场提供了实用的脂质体产品。近 20 年, 对载药脂质体在药物传递系统中的研究有了较迅速的发展, 已将脂质体用作抗癌药物的靶向载体、皮肤局部给药的载体以及用作化妆品的添加剂。由于脂质体是一种热力学不稳定体系, 在储存过程中易于发生降解、聚集和融合并导致内含物的漏出。因此在临床应用之前需要解决其稳定性问题。

很多研究表明海藻糖能稳定脂质体, 同时可促使它在干燥状态下保持结构的完整性<sup>[34-35]</sup>, 据此将有利于脂质体在医药工业中的应用。李唐棣等采用乙醇注入法结合反复冻融技术制备重组人生长激素脂质体, 考察影响包封率的主要原因, 并对冻干制品的外观、复溶速度、粒径及分布进行综合评分, 优选冻干保护剂, 结果显示海藻糖在脂质体冷冻干燥过程中具有最好的保护作用<sup>[36]</sup>。

## 10 小结

总之, 海藻糖是生物大分子等活性的非特异性天然保护剂, 目前国内外已将其广泛应用于生物活性保护研究领域, 随着对海藻糖研究的逐步深入及进一步开发, 其必将在诸多领域展现出更为广阔的应用前景。

## 参考文献

- [1] ELBEIN A D, PAN Y T, PASTUSZAK I, et al. New insights on trehalose: a multifunctional molecule [J]. *Glycobiology*, 2003, 13: 17-27.
- [2] BALL P. Philip ball finds out how a kind of sugar might help preserve things as diverse as fruit and frozen human tissue [EB/OL]. <http://www.nature.com/news/2000/000726/full/news00727-7.html>.
- [3] BEATTIE G M, CROWE J H, LOPEZ A D, et al. Trehalose: a cryoprotectant that enhances recovery and preserves function of human pancreatic islets after long-term storage [J]. *Diabetes*, 1997, 46: 519-523.
- [4] BEATTIE G M, LEIBOWITZ G, LOPEZ A D, et al. Protection from cell death in cultured human fetal pancreatic cells [J]. *Cell Transplant*, 2000, 9: 431-438.
- [5] RODRIGUES J P, PARAGUASSU-BRAGA F H, CARVALHO L, et al. Evaluation of trehalose and sucrose as cryoprotectants for hematopoietic stem cells of umbilical cord blood [J]. *Cryobiology*, 2008, 56: 144-151.
- [6] LIMAYE L S, KALE V P. Cryopreservation of human hematopoietic cells with membrane stabilizers and bioantioxidants as additives in the conventional freezing medium [J]. *J Hematother Stem Cell Res*, 2001, 10: 709-718.
- [7] WU C F, TSUNG H C, ZHANG W J, et al. Improved cryopreservation of human embryonic stem cells with trehalose [J]. *Reprod Biomed Online*, 2005, 11: 733-739.
- [8] MINUTOLI L, ALTAVILLA D, BITTO A, et al. Trehalose: a biophysics approach to modulate the inflammatory response during endotoxic shock [J]. *Eur J Pharmacol*, 2008, 589: 272-280.

- [9] KATENZ E, VONDRAN F W, SCHWARTLANDER R, et al. Cryopreservation of primary human hepatocytes: the benefit of trehalose as an additional cryoprotective agent [J]. *Liver Transpl*, 2007, 13: 38-45.
- [10] HENGHERR S, HEYER A G, KOHLER H R, et al. Trehalose and anhydrobiosis in tardigrades - evidence for divergence in responses to dehydration [J]. *Febs J*, 2008, 275: 281-288.
- [11] HONADEL T E, KILLIAN G J. Cryopreservation of murine embryos with trehalose and glycerol [J]. *Cryobiology*, 1988, 25: 331-337.
- [12] WANG W B, LEOPOLD R A, NELSON D R, et al. Cryopreservation of *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) embryos [J]. *Cryobiology*, 2000, 41: 153-166.
- [13] ISACHENKO V, ALABART J L, DATTENA M, et al. New technology for vitrification and field (microscope-free) warming and transfer of small ruminant embryos [J]. *Theriogenology*, 2003, 59: 1209-1218.
- [14] WADA H, LIU C J, HIRATA T, et al. Effective 30-hour preservation of canine lungs with modified ET-Kyoto solution [J]. *Ann Thorac Surg*, 1996, 61: 1099-1105.
- [15] ZHAO X, KOSHIBA T, NAKAMURA T, et al. ET-Kyoto solution plus dibutyl cyclic adenosine monophosphate is superior to University of Wisconsin solution in rat liver preservation [J]. *Cell Transplant*, 2008, 17: 99-109.
- [16] FUKUSE T, HIRATA T, UEDA M, et al. Effects of Euro-Collins, University of Wisconsin, and new extracellular-type trehalase-containing Kyoto solutions in an ex vivo rat lung preservation model [J]. *Transplantation*, 1996, 62: 1212-1217.
- [17] CHEN F, FUKUSE T, HASEGAWA S, et al. Effective application of ET-Kyoto solution for clinical lung transplantation [J]. *Transplant Proc*, 2004, 36: 2812-2815.
- [18] OMASA M, HASEGAWA S, BANDO T, et al. Application of ET-Kyoto solution in clinical lung transplantation [J]. *Ann Thorac Surg*, 2004, 77: 338-339.
- [19] YOKOMISE H, INUI K, WADA H, HASEGAWA S, et al. Reliable cryopreservation of trachea for one month in a new trehalose solution [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1995, 110: 382-385.
- [20] 齐战, 王勇杰, 王善政, 等. 海藻糖在气管低温保存中的保护机制 [J]. *中国海洋药物*, 2005, 24(1): 17-21.
- [21] CHEN F, NAKAMURA T, WADA H. Development of new organ preservation solutions in Kyoto University [J]. *Yonsei Med J*, 2004, 45: 1107-1114.
- [22] KITAHARA A K, SUZUKI Y, ZHAN C W, et al. Evaluation of new improved solution containing trehalose in free skin flap storage [J]. *Br J Plast Surg*, 1998, 51: 118-121.
- [23] JIA X, YU Y, LI D. Investigation on the effect of trehalose on alpha-actinin in cryopreserved human skin [J]. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*, 2008, 22: 446-449.
- [24] ERDAG G, EROGLU A, MORGAN J, et al. Cryopreservation of fetal skin is improved by extracellular trehalose [J]. *Cryobiology*, 2002, 44: 218-228.
- [25] ZHAN C W, SUZUKI Y, KITAHARA A K, et al. Prolongation of ischaemic tolerance of rat skeletal muscle by trehalose [J]. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg*, 1997, 31: 197-201.
- [26] DAVIES J E, SARKAR S, RUBINSZTEIN D C. Trehalose reduces aggregate formation and delays pathology in a transgenic mouse model of oculopharyngeal muscular dystrophy [J]. *Hum Mol Genet*, 2006, 15: 23-31.
- [27] MASAKI Y, TAMURA A, ENDO T, et al. Effect on rat kidney preservation in the cold of various sugars added to Euro-Collins solution to adjust osmolarity [J]. *Transplant Proc*, 2000, 32: 1623-1625.
- [28] YOSHIDA H, OKUNO H, KAMOTO T, et al. Comparison of the effectiveness of ET-Kyoto with Euro-Collins and University of Wisconsin solutions in cold renal storage [J]. *Transplantation*, 2002, 74: 1231-1236.
- [29] HU J H, LI Q W, LI G, et al. The cryoprotective effect of trehalose supplementation on boar spermatozoa quality [J]. *Anim Reprod Sci*, 2009, 44(4): 571-575.
- [30] MCGINNIS L K, ZHU L, LAWITTS J A, et al. Mouse sperm desiccated and stored in trehalose medium without freezing [J]. *Biol Reprod*, 2005, 73: 627-633.
- [31] LI M W, BIGGERS, J D, ELMOAZZEN H Y, et al. Long-term storage of mouse spermatozoa after evaporative drying [J]. *Reproduction*, 2007, 133: 919-929.
- [32] BERLINGUER F, LEONI G G, SUCCU S, et al. Cryopreservation of European Mouflon (*Ovis Gmelini Musimon*) semen during the non-breeding season is enhanced by the use of trehalose [J]. *Reprod Domest Anim*, 2007, 42: 202-207.
- [33] EROGLU A, TONER M, TOTH T L. Beneficial effect of microinjected trehalose on the cryosurvival of human oocytes [J]. *Fertil Steril*, 2002, 77: 152-158.
- [34] ASO Y, YOSHIOKA S. Effect of freezing rate on physical stability of lyophilized cationic liposomes [J]. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 2005, 53: 301-304.
- [35] YADAVA P, GIBBS M, CASTRO C, et al. Effect of lyophilization and freeze-thawing on the stability of siRNA-liposome complexes [J]. *AAPS Pharm Sci Tech*, 2008, 9: 335-341.
- [36] 李唐棣, 梅兴国, 赵应征, 等. 重组人生长激素脂质体的制备及载药研究 [J]. *中国生化药物杂志*, 2006, 27(3): 133-136.

(上接第 16728 页)

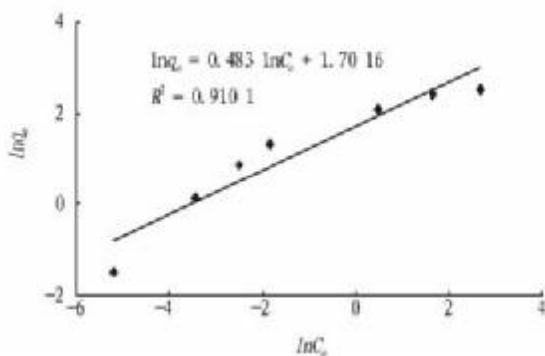


图5 Freundlich 方程模拟结果

Fig. 5 The simulated results of Freundlich equation

Langmuir 和 Freundlich 方程来描述。其中, Langmuir 方程拟合效果更佳,  $Hg^{2+}$  的最大吸附量为 9.29 mg/g。

#### 参考文献

- [1] 刘刚, 李清彪. 重金属生物吸附的基础和过程研究 [J]. *水处理技术*, 2002, 28(1): 17-21.
- [2] 朱一民, 周东琴, 魏德州. 啤酒酵母菌对汞离子(II)的生物吸附 [J]. *东北大学学报: 自然科学版*, 2004, 25(1): 89-91.
- [3] FIGUEIRA M M, VOLESKY B, CIMINELLI V S T. Biosorption of metals in brown seaweed biomass [J]. *Water Research*, 2000, 34(1): 196-204.
- [4] LEE H S, VOLESKY B. Evaluation of aluminum and copper biosorption in a two-metal system using algal biosorbent [J]. *Environment Science*, 1999, 2(2): 149-158.
- [5] TSEZOS M. Biosorption of metals: the experience accumulated and the outlook for technology development [J]. *Hydrometallurgy*, 2001, 59(2/3): 241-243.
- [6] 刘瑞霞, 潘建华, 汤鸿青.  $Cu(II)$  离子在 *Micrococcus luteus* 细菌上的吸附机理 [J]. *环境化学*, 2002, 21(1): 50-55.
- [7] 曹德菊, 程培. 3种微生物对  $Cu$   $Cd$  生物吸附效应的研究 [J]. *农业环境科学学报*, 2004, 23(3): 471-474.
- [8] 张玉梅. 含镉废水处理的试验研究 [J]. *环境工程*, 1995, 13(1): 15-20.
- [9] 夏星辉, 陈静生. 土壤重金属污染治理方法研究进展 [J]. *环境科学*, 1997, 18(3): 72-75.
- [10] 杨晶. 柠檬酸杆菌吸附重金属镉的研究 [J]. *水处理技术*, 2009, 35(5): 64-66.
- [11] 王建龙, 文湘华. 现代环境生物技术 [M]. 北京: 清华大学出版社, 2001: 306-312.
- [12] 周立祥, 王良梅. 污水污泥中重金属的细菌淋滤效果研究 [J]. *环境科学学报*, 2001, 21(4): 504-506.
- [13] 姚宏伟, 李思敏, 许吉现. 阳极溶出伏安法测定水中微量汞 [J]. *中国给水排水*, 2001, 17(8): 56-57.
- [14] 郜瑞莹, 王建龙.  $Ni^{2+}$  生物吸附动力学及吸附平衡研究 [J]. *环境科学*, 2007, 28(10): 2315-2319.
- [15] 陈灿, 王建龙. 酿酒酵母吸附  $Zn^{2+}$ 、 $Pb^{2+}$ 、 $Ag^+$ 、 $Cu^{2+}$  的动力学特性研究 [J]. *环境科学学报*, 2007, 27(4): 544-553.
- [16] 宋慧平, 李鑫钢, 孙津生, 等. 趋磁细菌对金属离子的吸附特性研究 [J]. *化学反应工程与工艺*, 2006, 22(6): 486-491.