

• 主编导读 •

本期主要选择具有创新性的技术方法和工具、新的研究思路 and 发现、新的生物合成路线相关研究论文以及具有新视角的综述进行导读。

热稳定性高、耐盐性能好、扩增速率高、保真度高的 DNA 聚合酶在 PCR 反应中具有广泛的用途。翁妍等<sup>[1]</sup>从嗜嗜热古菌 (*Thermococcus eurythermalis*) 中克隆了一个 B 家族 DNA 聚合酶, 命名为 Teu-PolB DNA 聚合酶。该 DNA 聚合酶的扩增速率和保真度优于 *Taq* 和 *Pfu* DNA 聚合酶。扩增产量略高于 *Pfu* DNA 聚合酶, 但弱于商品化 *Taq* DNA 聚合酶, 在高保真 DNA 片段扩增中具有一定的应用前景。

泛素化是真核细胞中蛋白质翻译后修饰的重要一环, 但在以往的生物合成研究中, 较少受到关注。李明佳等<sup>[2]</sup>利用荧光双分子互补法在酿酒酵母中建立了泛素化修饰的实时原位检测体系, 利用该体系发现了一种重要的黄酮类化合物——柚皮素生物合成途径中多个关键酶的潜在泛素化位点, 并且发现改变有些关键酶的泛素化修饰程度, 可以促进柚皮素的生物合成。该研究为提高黄酮类化合物的生物合成效率提供了一个新的思路。

在维生素 C 的二步法发酵工艺中, 由 D-山梨醇到 L-山梨糖的第一步反应是由氧化葡萄糖酸杆菌催化的。氧化葡萄糖酸杆菌在工业上还可以用于生产葡萄糖酸等产品, 但是基因编辑工具比较缺乏。杨宇彤等<sup>[3]</sup>在氧化葡萄糖酸杆菌中构建了一个由 CRISPR/dCpf1 介导的基因转录抑制系统, 可同时应用于多基因的抑制并

表现出很强的抑制能力。该 CRISPR 干扰系统既可以用于鉴定出氧化葡萄糖酸杆菌途径中的关键酶, 也可以用于研究途径中关键酶的生理作用, 为实现氧化葡萄糖酸杆菌的转录调控提供了新的工具。

细菌产生的纤维素由于其结晶度高、孔隙率高以及抗拉伸能力强, 在医药和造纸领域具有应用潜力。黄龙辉等<sup>[4]</sup>发现, 对参与细菌纤维素组装过程的纤维素合酶亚基之一 BcsD 的表达量进行调控, 可以在维持细菌纤维素产量不变的情况下改变细菌纤维素的结晶度和孔隙率。这就使一步发酵获得结构不同细菌纤维素成为可能, 为调控细菌纤维素的结构提供了一种新的方法。

为了提高对真核微生物的遗传操作效率, 一般都会在真核微生物中设计一些营养缺陷型筛选标记。近期多个研究表明, 这些营养缺陷型筛选标记会影响代谢工程的效率。郭未蔚等<sup>[5]</sup>在利用工程酵母生产青蒿酸的放大研究中发现, 工程酵母很难利用对青蒿酸积累起到决定性作用的碳源——乙醇。作者推测工程酵母中乳清苷-5'-磷酸脱羧酶基因 *URA3* 的缺失可能会影响细胞生长和青蒿酸生产, 并通过恢复 *URA3* 证明了这一假设, 在发酵罐中可使青蒿酸产量达到 20 g/L 以上。但是这一研究还不能解释为什么工程酵母从摇瓶放大到发酵罐时会丢

失 *URA3* 基因, 阐明这一点可能对后续研究会有很好的指导作用。

葡萄糖二酸和半乳糖二酸(又称黏酸)都是重要的平台化学品。李杰等<sup>[6]</sup>构建了一株能够生产葡萄糖二酸的酿酒酵母工程菌, 通过强化葡萄糖二酸合成途径和细胞摄取胞外肌醇的能力, 将葡萄糖二酸的产量从 6 g/L 提高到超过 10 g/L。进一步的研究需要考虑找出限制葡萄糖二酸生物合成效率的关键因素。谭黄虹等<sup>[7]</sup>则总结了如何以果胶的主要成分 D-半乳糖醛酸通过糖醛酸氧化酶, 生成半乳糖二酸-1,5-内酯, 然后自发水解生成半乳糖二酸。若要实现半乳糖二酸的积累, 需要阻断半乳糖二酸脱水酶。目前半乳糖二酸的产量最高可以积累至 25 g/L。

将难溶于水的染料木素及其单糖苷衍生物通过转糖基反应提高其水溶性, 具有重要应用价值。在水相催化反应中, 如何提高酶与难溶于水的底物的结合, 是提高催化效率的关键。柴宝成等<sup>[8]</sup>对能够催化转糖基反应的环糊精葡萄糖基转移酶进行了结构分析, 找到一个与染料木素存在相互作用力的 D182 位点, 并进行了饱和突变。结果发现一个 D182C 的突变体的主要糖基化产物提高了 40%–60%, 酶学表征分析发现, D182C 与底物的亲和力确实显著提高, 为改造类似酶的转糖基反应效率提供了一种新的思路。

多数情况下, 手性化学品的合成由氧化还原酶催化, 这些氧化还原酶需要 NADPH 或 NADH 作为辅因子。由于 NAD(P)H 价格较高, 大规模生产时, 无法在反应体系中直接添加。若以廉价的甲酸为辅助底物, 通过甲酸脱氢酶的作用, 可以将甲酸中的还原力转变为 NADPH

或 NADH, 这样就可以构建一个辅因子的廉价来源, 为低成本生产手性化学品提供可能。程峰等<sup>[9]</sup>总结了甲酸脱氢酶的种类、结构、酶学特性、辅因子偏好性和催化机制, 以及利用基于甲酸脱氢酶的辅因子再生体系生产手性氨基酸、手性羧酸、手性醇、手性胺的进展。

萜类化合物的生物合成, 是近年来天然化合物合成生物学领域的重要热点。其中, 由两个异戊二烯单位构成的单萜类化合物一般具有较强的香气, 因此在精油、香料方面用途广泛, 价格一般都高于每公斤 1 000 元, 每个产品的全球市场规模一般都在几百吨到上千吨。张帆等<sup>[10]</sup>从单萜前体生物合成途径、单萜的生物合成以及单萜的衍生转化 3 个方面, 对单萜类化合物的微生物合成进行了综述, 并总结了大肠杆菌和酿酒酵母这两个底盘生物生产蒎烯、柠檬烯、香叶烯、香叶醇、芳樟醇等单萜化合物的进展。单萜化合物也具有燃料的特性, 但其对葡萄糖较低的得率, 使其难以成为生物燃料的替代品。萜类化合物中数量和种类最多的是三萜化合物, 一共有 2 万多种。其中环氧角鲨烯环化酶能够将法尼基焦磷酸转化为 2,3-氧化鲨烯, 进而形成多种甾醇和三萜类物质。因此, 环氧角鲨烯环化酶是三萜化合物多样性的基础。来自同一研究组的陈翠玉等<sup>[11]</sup>综述了环氧角鲨烯环化酶的特征、结构和分子催化机制以及合成环阿屯醇、羊毛甾醇、葫芦二烯醇、香树脂醇等三萜化合物的进展。萜类化合物种类众多、结构各异, 如果能从化学结构上对不同萜类化合物建立一个连接, 会有助于读者更系统地理解萜类化合物的合成与转化。

本期还发表了多篇比较有新意的综述。例

如,随着测序成本的不断降低,可以采用高通量测序技术来鉴定动物源食品中肉类掺假(主要是指在价格较高的牛羊肉食品中掺入相对廉价的猪、鸭、鸡肉)。采用DNA宏条形码技术,即DNA条形码和高通量测序技术的结合,可实现复杂样品中多个物种鉴定。挑战是如何做到更加准确的定性鉴定,和对各物种成分的精确定量,甘永琦等<sup>[12]</sup>对此进行了综述。再如,利用微生物的脲酶可以将尿素分解成为 $\text{NH}_3$ 和 $\text{CO}_2$ ,由 $\text{NH}_3$ 创造的碱性环境可以使 $\text{Ca}^{2+}$ 与碳酸根结合形成碳酸钙沉淀。碳酸酐酶则可以将自然界中 $\text{CO}_2$ 的水合速率提高1亿倍,从而显著提高 $\text{Ca}^{2+}$ 的矿化速率。由脲酶和碳酸酐酶作用引起的“微生物诱导碳酸钙沉积”,被称为“微生物水泥”,在修复建筑裂缝等方面具有很大的应用潜力。王磊等<sup>[13]</sup>介绍了微生物水泥的基本概念,以及脲酶和碳酸酐酶结构和功能的研究进展。又如,近年来受到较多关注的微藻,主要是因为其合成高价值物质和生物柴油的潜力。但是微藻天然具有运动能力,基于微藻的运动能力可以开发出纳米机械人,为靶点操纵、分子药物递送等生物学中的应用提供了新的可能。刘原源等<sup>[14]</sup>以莱茵衣藻为模式藻种,总结了微藻的趋磁、趋光和趋化特性,如何利用这些特性开发出基于微藻的微纳米机器人。

## REFERENCES

- [1] 翁妍, 刘喜朋. 嗜嗜热古菌 *Thermococcus eurythermalis* A501 编码 B 家族 DNA 聚合酶的生化特性及 PCR 应用. 生物工程学报, 2022, 38(2): 807-819.
- Weng Y, Liu XP. Characterization of a family B DNA polymerase from *Thermococcus eurythermalis* A501 and its application in PCR. Chin J Biotech, 2022, 38(2): 807-819 (in Chinese).
- [2] 李明佳, 周景文, 李江华. 关键酶泛素化位点对柚皮素生物合成的影响. 生物工程学报, 2022, 38(2): 691-704.
- Li MJ, Zhou JW, Li JH. Effect of key enzymes ubiquitination sites on the biosynthesis of naringenin. Chin J Biotech, 2022, 38(2): 691-704 (in Chinese).
- [3] 杨宇彤, 李宁, 周景文, 等. 基于 CRISPR/dCpf1 的氧化葡萄糖酸杆菌转录抑制系统的构建与应用. 生物工程学报, 2022, 38(2): 719-736.
- Yang YT, Li N, Zhou JW, et al. A CRISPR/dCpf1-based transcriptional repression system for *Gluconobacter oxydans*. Chin J Biotech, 2022, 38(2): 719-736 (in Chinese).
- [4] 黄龙辉, 李雪晶, 孙雪文, 等. CRISPR/dCas9 干扰 *bcsD* 基因表达调控细菌纤维素结构. 生物工程学报, 2022, 38(2): 772-779.
- Huang LH, Li XJ, Sun XW, et al. Regulating the structure of bacterial cellulose by altering the expression of *bcsD* using CRISPR/dCas9. Chin J Biotech, 2022, 38(2): 772-779 (in Chinese).
- [5] 郭未蔚, 艾丽梅, 胡栋, 等. *URA3* 基因影响青蒿酸酿酒酵母工程菌中试发酵产量. 生物工程学报, 2022, 38(2): 737-748.
- Guo WW, Ai LM, Hu D, et al. *URA3* affects artemisinic acid production by an engineered *Saccharomyces cerevisiae* in pilot-scale fermentation. Chin J Biotech, 2022, 38(2): 737-748 (in Chinese).
- [6] 李杰, 赵运英, 邓禹. 高效合成葡萄糖二酸酿酒酵母工程菌的构建. 生物工程学报, 2022, 38(2): 705-718.
- Li J, Zhao YY, Deng Y. Engineering *Saccharomyces cerevisiae* for efficient production of glucaric acid. Chin J Biotech, 2022, 38(2): 705-718 (in Chinese).
- [7] 谭黄虹, 王静, 刘青, 等. 果胶 D-半乳糖醛酸生物转化制备黏酸研究进展. 生物工程学报, 2022, 38(2): 666-677.
- Tan HH, Wang J, Liu Q, et al. Production of mucic acid from pectin-derived D-galacturonic acid: a review. Chin J Biotech, 2022, 38(2): 666-677 (in Chinese).
- [8] 柴宝成, 姜钰琳, 倪晔, 等. 环糊精葡萄糖基转移酶 182 位点定点改造催化合成糖基化染料木素. 生物工程学报, 2022, 38(2): 749-759.

- Chai BC, Jiang YL, Ni H, et al. Engineering the 182 site of cyclodextrin glucosyltransferase for glycosylated genistein synthesis. *Chin J Biotech*, 2022, 38(2): 749-759 (in Chinese).
- [9] 程峰, 魏澜, 王成娇, 等. 甲酸脱氢酶及其在手性生物制造中的应用. *生物工程学报*, 2022, 38(2): 632-649.
- Cheng F, Wei L, Wang CJ, et al. Formate dehydrogenase and its application in biomanufacturing of chiral chemicals. *Chin J Biotech*, 2022, 38(2): 632-649 (in Chinese).
- [10] 张帆, 王颖, 李春. 单萜类化合物的微生物合成. *生物工程学报*, 2022, 38(2): 427-442.
- Microbial synthesis of monoterpenoids: a review. *Chin J Biotech*, 2022, 38(2): 427-442 (in Chinese).
- [11] 陈翠玉, 庞亚如, 陈泉冰, 等. 环氧角鲨烯环化酶在三萜化合物生物合成中的进展. *生物工程学报*, 2022, 38(2): 443-459.
- Chen CY, Pang YR, Chen QB, et al. Oxidosqualene cyclases in triterpenoids biosynthesis: a review. *Chin J Biotech*, 2022, 38(2): 443-459 (in Chinese).
- [12] 甘永琦, 卢曼曼, 赖青鸟, 等. 高通量测序技术在肉类掺假检测中的应用进展. *生物工程学报*, 2022, 38(2): 411-426.
- Gan YQ, Lu MM, Lai QN, et al. Application and progress in high-throughput sequencing technology for meat adulteration detection. *Chin J Biotech*, 2022, 38(2): 411-426 (in Chinese).
- [13] 王磊, 王绪霞, 李斐, 等. 微生物水泥相关酶的研究进展. *生物工程学报*, 2022, 38(2): 506-517.
- Wang L, Wang XX, Li F, et al. Advances of enzymes related to microbial cement. *Chin J Biotech*, 2022, 38(2): 506-517 (in Chinese).
- [14] 刘原源, 曾威阳, 陈如, 等. 微藻趋向运动及其靶向运输应用研究进展. *生物工程学报*, 2022, 38(2): 578-591.
- Liu YY, Zeng WY, Chen R, et al. Tactic movement of microalgae and its application in targeted transport: a review. *Chin J Biotech*, 2022, 38(2): 578-591 (in Chinese).

(本文责编 郝丽芳)