

· 导 读 ·

本期主要选择底层技术开发升级、酶蛋白发掘发现及改造优化与生物催化、微生物细胞认识及设计构建与生物合成、生物过程解析与发酵工艺优化 4 个方面，特别是涉及 *Taq* DNA 聚合酶、CRISPR/Cas9 基因编辑系统优化，塑料降解酶、 ω -转氨酶等酶蛋白挖掘改造与(S)-1-(2-氟苯基)乙胺、假尿苷生物催化制备，克鲁斯假丝酵母、毕赤酵母等底盘细胞认识理解与鼠李糖脂、红没药烯生物合成制造，以及 L-甲硫氨酸、胞外多糖、白酒酿造等生物过程解析与工艺优化等研究论文进行导读。

王钦宏 《生物工程学报》副主编

(中国科学院天津工业生物技术研究所，天津 300308)

底层技术开发升级

PCR 是一种用于放大扩增特定的 DNA 片段的分子生物学技术，应用广泛。PCR 的最大特点是能将微量的 DNA 大幅增加。最常见的 PCR 反应的催化酶是 *Taq* DNA 聚合酶，而聚合酶的效率在 PCR 反应中是一个非常关键的影响要素，如何获得效率更高、错配更低的聚合酶，是 PCR 技术优化升级的重要研究目标。Colicin E (简称 CE)蛋白质是一类以维生素受体 BtuB 为跨膜受体的大肠杆菌素，其中 CE2、CE7、CE8 和 CE9 是非特异性的 DNase 型大肠杆菌素。*Taq* DNA 聚合酶由 5'→3'核酸外切酶结构域、3'→5'核酸外切酶结构域以及聚合酶结构域组成。缺失 5'→3'核酸外切酶结构域的 *Taq* DNA 聚合酶(Δ *Taq*)具有更高的产量，但是其进行性很低，无法扩增长片段。为了提高 Δ *Taq* 的进行

性，王亚平等^[1]融合 dCE 和 Δ *Taq*，发现 dCE- Δ *Taq* 的进行性相比于 *Taq* DNA 聚合酶和 dCE-*Taq* 显著提升，并且其逆转录酶活性也比 Δ *Taq* 更高。dCE8- Δ *Taq* 的提升最明显，不仅能够 1 min 内扩增 8 kb 的 DNA 片段，并且产量高于其他突变体。总之，通过将 Δ *Taq* DNA 聚合酶和 dCE 进行融合，提升了 *Taq* DNA 聚合酶的 PCR 效率和逆转录活性，为改造 *Taq* DNA 聚合酶提供了新的方法。

CRISPR/Cas9 基因编辑技术是继 ZFN、TALENs 等基因编辑技术推出后的新一代基因编辑技术，从 2012 年建立后，CRISPR/Cas9 基因编辑技术已经风靡全球，成为现有基因编辑和基因修饰里面效率最高、最简便、成本最低、最容易上手的技术之一，成为当今最主流的基因编辑系统。相关研究工作被授予 2020 年诺贝尔化学奖。CRISPR 系统在靶向目标基因

组的过程中,可能会在 sgRNA 与目标 DNA 序列碱基互补配对时出现多个位点的碱基不匹配,致使 Cas9 核酸酶在序列的非目标靶点裂解引发非预期的突变,导致发生脱靶效应,限制了 CRISPR/Cas9 基因编辑的更广泛应用。近年来,将人工智能与已经形成的基因编辑数据有效地结合起来,通过深度学习辅助 CRISPR/Cas9 脱靶预测研究是重要创新思路,有助于研究者实现更高效安全的基因编辑和基因治疗。然而,现有的脱靶数据集大多数存在数据严重不平衡的问题,现有的深度学习模型对脱靶预测的准确性仍有提高空间,难以高度令人信服。谢焕增等^[2]基于多尺度卷积神经网络进行了 CnnCRISPR 模型构建和预测 CRISPR/Cas9 的脱靶情况的研究。首先,运用重采样法整合不同平台的数据集,构建脱靶基准数据集;然后,将向导 RNA 和 DNA 序列分别进行独热编码,再将两个二值矩阵按位进行或运算。将编码后的序列输入基于 Inception 模块的网络进行训练和验证分析。最后,输出向导 RNA 和 DNA 序列对的脱靶情况。在基准数据集上与现有算法比较, CnnCRISPR 模型的性能优于现有的深度学习脱靶预测模型,具有较好的准确性和泛化能力,为脱靶问题的研究提供了有效且可行的方法。

酶蛋白发掘发现及改造优化与生物催化

聚对苯二甲酸乙二醇酯 (polyethylene

terephthalate, PET)是一种性能较好的热塑性聚酯材料,应用领域十分广泛,包括饮用水瓶、纤维、食品包装盒等。我国是 PET 生产和消费大国,广泛应用导致每年产生大量的废弃 PET 塑料,如何有效回收和循环利用废弃的 PET 是急需解决的重大问题,尽管物理再生、化学循环可以实现废弃 PET 塑料的回收利用,但是效率有待提升。近年来,由于 PET 降解酶的发掘发现、设计改造不断取得突破,使得生物酶解废弃 PET 技术展现出诱人的前景。刘欣悦等^[3]采用生物信息学方法,基于序列和结构信息,发现了一种对苯二甲酸单(2-羟乙基)酯[mono(2-hydroxyethyl) terephthalate, MHET]水解酶 BurkMHETase,具有与目前最高效的 IsMHETase 相似的 k_{cat} 值和更高的底物亲和力; BurkMHETase 与 PET 降解酶 IsPETase 联用能够有效改善 PET 薄膜的降解效果;结构功能研究表明 BurkMHETase 可能已经进化出特定的结构特征来催化 MHET 的水解。相关研究证实 BurkMHETase 有潜力应用于 PET 双酶降解系统,加强了对 MHET 降解酶催化作用的理解和认识,为后续挖掘出更多活跃的 MHET 降解酶提供了可能。

手性胺类化合物是许多小分子药物合成的重要手性砌块(chiral Building Blocks),广泛应用于制药和化工领域,在市售药物中有超过 90% 的药物为胺类或源自胺类中间体,其中约有 30% 的药物含有手性胺结构。(S)-1-(2-氟苯基)乙胺作为重要的手性胺类砌块,可用于合成抗

艾滋病的逆转录酶抑制剂及治疗多种癌症的异柠檬酸脱氢酶 1 (isocitrate dehydrogenase 1, IDH1) 抑制剂等。传统化学合成制备手性胺需要使用昂贵金属催化剂, 成本较高, 而生物催化制备手性胺因具有反应条件温和、环境友好、对映体选择性高等优点, 近年来备受青睐。 ω -转氨酶被认为是一种催化制备手性胺的绿色、高效催化剂。于双嵘等^[4]在基因数据库挖掘来源于氧化亚铁假古布尔班克氏菌的新型 ω -转氨酶 (PfTA) 的基础上, 通过同源建模、分子对接和定点突变等手段, 对 PfTA 进行半理性设计, 得到酶活性提高的突变体 Y168R/R416Q。突变体 Y168R/R416Q 的比酶活提高了 11.65 倍, 达到 47.04 U/mg, 催化效率 $k_{\text{cat}}/K_{\text{m}}$ 提高 20.9 倍, 可高选择性催化 2-氟苯乙酮合成(S)-1-(2-氟苯基)乙胺, 产率达 83.58%, 对映体过量值(enantiomeric excess, ee)大于 99%。进一步分析表明, 引起突变体催化效率提高的原因主要在于突变后拓宽了酶的活性口袋, 减少了底物 2-氟苯乙酮进入酶活性中心的空间位阻。该研究不仅为生物催化制备(S)-1-(2-氟苯基)乙胺提供新型微生物来源的催化剂, 还揭示了 ω -转氨酶的催化反应并非完全受限于传统意义上的酶保守位点, 而要根据该保守位点在催化反应中所起的作用判断其在催化不同类型的底物时是否仍然保守。

假尿苷(pseudouridine)或称 5-核糖尿嘧啶(5-ribosyluracil), 是尿苷的一种同分异构体。将假尿苷及其类似物替换尿苷加入 mRNA, 可以解决 mRNA 药物容易被免疫系统识别而被清

除、产生免疫副反应等问题, 在生物和医药领域用途广泛。现有的化学合成法、化学-酶法和生物法等假尿苷制备方法普遍存在步骤繁琐、生产效率低、产品难于回收纯化等缺点, 导致生产成本高, 限制了大规模应用, 迫切需要开发廉价的、适合工业化放大的假尿苷生产工艺。王倩倩等^[5]通过在大肠杆菌中设计新颖的酶级联反应路线, 并实现了全细胞催化尿苷制备假尿苷的生产工艺。首先, 过表达内源的假尿苷-5-磷酸糖苷酶、核糖激酶和核糖核苷水解酶, 构建出尿苷到假尿苷的代谢途径, 实现了假尿苷的积累; 然后, 筛选内源的高活性核糖核苷水解酶, 促进了尿苷的水解, 为假尿苷的合成提供了更多前体; 接着, 对底物与产物的转运途径进行改造, 提升假尿苷产量的同时避免了副产物尿苷的积累。通过上述研究构建的重组菌株在 24 h 内可以全细胞催化 30 g/L 尿苷产生 27.24 g/L 假尿苷, 转化率为 90.8%, 生产效率为 1.135 g/(L·h)。通过系统优化酶的表达和全细胞催化方式, 为酶催化法制备假尿苷的规模化生产提供理论依据。

微生物细胞认识及设计构建与生物合成

底盘细胞承载设计优化的功能化元件、途径的载体, 决定着生物合成的效能, 从一个高性能底盘细胞出发可以构建不同的工业菌种, 高性能底盘细胞是构建工业菌种的基石。底盘细胞耐受性是指在受到外部环境胁迫等干扰因

素时仍能保持其结构及功能的稳定性。提高底盘细胞及工业菌种的耐受性,使其在多变的环境中仍能保持稳定性能,在发酵工艺中至关重要。吴娜莎等^[6]对耐高渗克鲁斯假丝酵母的耐受性进行了较为系统地研究。通过考察克鲁斯假丝酵母对不同底物、盐、高温冲击的耐受性,进一步验证耐高渗假丝酵母可以直接利用海水中预处理的巨菌草酶解液进行发酵的可能性。适应性驯化的克鲁斯假丝酵母可以耐受 200 g/L 的葡萄糖,具有耐受高渗的能力;用海水替代淡水、不灭菌发酵的甘油产量较淡水灭菌发酵提高了 109%;发酵 32 h 时热冲击结合 48 h 时引入 10 g/L 亚硫酸钠,葡萄糖转化为甘油的产率为 0.37 g/g,比对照组提升了 225%;用海水中预处理的巨菌草酶解液发酵,葡萄糖生成甘油及乙醇的总转化率可达 0.45 g/g。研究表明耐高渗克鲁斯假丝酵母对底物、盐、温度表现出较强的适应性,不仅能直接利用复杂的木质纤维素酶解液,还对其表现出较强的耐受性,为利用木质纤维素生产生物基化学品提供了有效的候选底盘细胞。

毕赤酵母是目前应用广泛的蛋白表达的底盘细胞,具有生长快、可高密度发酵和基因操作简便等优点,能够将外源蛋白分泌到胞外,使目标蛋白的后期纯化过程较为简便。毕赤酵母已经被用于数千种异源蛋白表达生产。信号肽是影响毕赤酵母异源蛋白高效表达分泌效率的关键因素之一。目前最常使用的信号肽是来自酿酒酵母的 α 交配因子(α -mating factor, MF α)

的信号肽。但是 MF α 的信号肽还是适用性有限,近年来越来越多的研究着眼于使用毕赤酵母内源信号肽表达外源蛋白,但是缺乏对毕赤酵母全部内源信号肽进行系统的分析和评估。朱凌宣等^[7]利用 SignalP、TMHMM、Phobius、WoLF PSORT 和 NetGPI 等生物信息工具对毕赤酵母 GS115 全基因组编码蛋白序列进行了生物信息学研究,系统分析了全蛋白组内源蛋白信号肽及分泌特征,探索了信号肽分布、长度、氨基酸比例和保守性等规律;在对含有信号肽的序列进行了跨膜区、内质网滞留蛋白、亚细胞定位和 GPI 锚定位点等分析基础上,筛选了 69 个分泌蛋白及其信号肽,并通过分泌蛋白组验证给出了 10 条可能用于外源蛋白表达的内源性信号肽,基本属于高表达和中度表达水平。该研究为找到合适的内源性信号肽用于毕赤酵母表达外源蛋白提供了数据基础,有利于阐明毕赤酵母蛋白分泌机制,同时获得的内源性信号肽毕赤酵母表达外源蛋白提供了新的工具。

生物表面活性剂具有更强的表、界面活性,以及较低的生物毒性和易降解等优点,应用前景广阔。鼠李糖脂(rhamnolipids, RLs)被认为是一种最有前途的糖脂类生物表面活性剂,在石油开采、医药化工、环境治理以及农业生产等领域展现出了较高应用价值。鼠李糖脂是由一到两个呈亲水性的鼠李糖分子与一到两个呈疏水性的饱和或不饱和脂肪酸长链(C8-C16)通过 β -糖苷键相连接的化学结构多样的同系物,由于其单鼠李糖脂与双鼠李糖脂的比例对

其性能有着重要的影响，因此构建鼠李糖脂组分可调控的生产菌更有利于其在不同的场景中应用。赵敏等^[8]通过敲除铜绿假单胞菌 PAO1 中编码鼠李糖基转移酶的基因(*rhlC*)，获得只产单鼠李糖脂的菌株；然后将受阿拉伯糖诱导表达的 *PBAD-rhlC* 基因以整合到染色体上的方式或在质粒上表达的方式进行回补，得到两种类型的回补菌株。随着阿拉伯糖诱导浓度的增加，回补菌株合成的鼠李糖脂中单鼠李糖脂所占的比例逐渐降低，表面张力逐渐升高，临界胶束浓度值逐渐升高，乳化能力逐渐减弱。未诱导的回补菌株可以产生少量的双鼠李糖脂，合成的鼠李糖脂的表面性能更优。相关研究可以为实现特定结构比例鼠李糖脂的生产调控和应用选择提供参考和指导，推动鼠李糖脂产业的按需定制。

红没药烯是单环倍半萜类化合物，是普遍存在于柠檬油、白柠檬油、红没药油、肉豆蔻油、细辛石芥芋等植物天然精油中的活性成分，具有香脂的膏香、甜梓香、温和、厚实香韵，具有抗疟疾、肿瘤、溃疡、抑制细菌生物活性和调节神经活动等作用，广泛用于香料、化妆品和洗涤剂领域。与大多数植物天然产物一样，目前主要通过红没药、佛手柑、八角油和穗状薰衣草油等植物提取获取，生产受制于原料来源，而且生产效率不高并导致大量的废水废物排放；化学从头合成转化效率不高，也难以实现工业应用。因此，生物法合成制造红没药烯备受关注。臧瑜等^[9]在前期构建的产萜

类化合物的酿酒酵母底盘细胞中转入带有红没药烯合成酶基因 *Agbis*，构建了生产红没药烯的工程菌株；为了提升目标产物的生产能力，重点对甘油代谢进行了设计改造。通过高效表达来自嗜鞣管囊酵母的甘油转运通道基因 *PtFPS2* 和来自耐热甲基化酵母的甘油脱氢酶基因 *Opgdh*，有效增强酵母对甘油的利用；同时通过敲除葡萄糖抑制转录因子编码基因 *MIG1*，减弱葡萄糖阻遏作用，蔗糖和甘油共利用能力得到进一步增强，使得工程菌的红没药烯产量比出发菌株提高 82.2%，达到 866.7 mg/L。该研究增强甘油代谢和敲除葡萄糖阻遏转录因子的组合策略，不仅工程菌红没药烯产量，也为优化和提升更多萜类化合物的生产能力提供了重要参考。

生物过程解析与发酵工艺优化

L-甲硫氨酸(L-methionine, L-Met)是人和动物自身不能合成的 8 种必需氨基酸中唯一含硫氨基酸，在生物体内具有非常重要的生理和生化功能。目前，全球 L-甲硫氨酸需求量在快速增长，年复合增长率超过 6%，市售 90% 以上的 L-甲硫氨酸应用于饲料添加剂行业。因此，稳定有效供给 L-甲硫氨酸是全球禽肉消费市场持续增长的坚实保障。目前，微生物发酵法合成 L-甲硫氨酸因其发酵水平较低仍未达到工业化生产要求。高效生产 L-甲硫氨酸不仅需要优良的工业菌种，更需要适配生产菌种的配套发酵工艺。牛坤等^[10]在实验室前期构建的 L-甲硫

氨酸高产菌株大肠杆菌基础上,开展了较为系统的发酵过程和工艺优化研究。比较了 DO-Stat、pH-Stat、控残糖浓度和恒速补料等不同补料工艺对 L-甲硫氨酸发酵生产的影响,发现葡萄糖的控制对发酵过程有较大影响。进一步开发了最优的分批补料发酵工艺,使 L-甲硫氨酸发酵产量达到目前最高产量 31.71 g/L。同时,建立了细胞生长和 L-甲硫氨酸发酵合成的动力学模型,模型可以较好地拟合 L-甲硫氨酸发酵生产过程,为后续 L-甲硫氨酸的全发酵法工业生产提供了重要借鉴和参考。

骆驼刺泛菌 NX-11 胞外多糖 (*Pantoea alhagi* NX-11 exopolysaccharides, PAPS)是由骆驼刺泛菌 NX-11 发酵产生的胞外杂多糖,是一种新型微生物源生物刺激素,具有保水、抗旱和耐盐等良好性质,可增强农作物对盐和干旱胁迫的抗性,且生物可降解,在农业提产增效领域具有巨大的应用前景。PAPS 属于生物高分子物质,发酵后期因产量增加和分子量高导致发酵体系黏度显著增加,进而严重阻碍氧气传递效率,导致多糖的产量难以有效提升。添加氧载体是促进胞外多糖分泌的新策略。为了优化发酵生产工艺,李全飞等^[11]分析了 Span 80、Span 20、Tween 80、Tween 20、甘油、橄榄油和大豆油等 7 种氧载体对发酵产量的影响,发现添加 0.5% (体积分数) Tween 20 促进 PAPS 生产效果最佳;在 7.5 L 生物反应器添加 0.5% (体积分数) Tween 20 后, PAPS 产量达约 17 g/L,产量提高了 17.70%。多糖流变学表征和多糖产

品微观结构结果显示氧载体处理多糖的特征结构未发生改变但其黏度增加。该研究结果为进一步提高其他高分子产品的生物合成效率提供了一定的借鉴。

“曲定酒型”,指的是高温曲酿造酱香型酒、中温曲酿造浓香型酒、低温曲酿造清香型酒。大曲含有多样的微生物菌群、丰富的酶类和风味物质及其前体,在我国传统固态酿造白酒中发挥关键作用,不仅可作为糖化发酵剂,也可作为生香剂。大曲的生产过程主要包括粉碎、混合、成型、自然发酵和成熟等步骤,来源于原料和环境的细菌、酵母和丝状真菌等微生物在大曲中定殖、演替,逐渐形成相对稳定的群落结构,同时伴随着酶类和代谢产物的积累,其中成熟过程是获得高品质大曲的关键步骤,不同类型大曲成熟过程中微生物组成和群落结构变化是影响大曲品质的重要因素。尽管大曲成熟过程中微生物群落组成变化较多,但大曲成熟过程对微生物群落功能的影响及理化性质变化的微生物基础尚不清楚。刘文虎等^[12]以浓香型白酒中温大曲为研究对象,在分析中温大曲成熟前后酶活和挥发性化合物的基础上,通过宏基因组学比较大曲成熟前后的毛霉菌目、散囊菌目、酵母菌目、乳杆菌目和芽孢杆菌目等微生物群落组成和潜在功能的差异性,从基因水平分析了 α -淀粉酶、 α -葡萄糖苷酶、乙醇脱氢酶和乙醇脱氢酶等酶活以及芳香醇类、芳香酯类、吡嗪类、酮类和高级脂肪醇类物质等重要挥发性化合物变化的微生物基

础, 深入探索了大曲糖化力、发酵力、酯化力等性能变化规律, 进而解析大曲成熟的作用及机理, 为理性调控大曲生产和应用提供理论支撑。

REFERENCES

- [1] 王亚平, 平啸寅, 赵艺, 刘阳, 吴林, 马立新. 融合大肠杆菌素 DNA 结合域的 *Taq* DNA 聚合酶的性质表征[J]. 生物工程学报, 2024, 40(3): 812-820.
WANG YP, PING XY, ZHAO Y, LIU Y, WU L, MA LX. Characterization of a *Taq* DNA polymerase fused with a DNA binding domain of *Escherichia coli* colicin[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(3): 812-820 (in Chinese).
- [2] 谢焕增, 黄凌泽, 罗焯, 张桂珊. 基于多尺度卷积神经网络的 CRISPR/Cas9 脱靶预测方法[J]. 生物工程学报, 2024, 40(3): 858-876.
XIE HZ, HUANG LZ, LUO Y, ZHANG GS. Prediction of CRISPR/Cas9 off-target activity using multi-scale convolutional neural network[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(3): 858-876 (in Chinese).
- [3] 刘欣悦, 耿文超, 孙璿原, 陈泽华, 崔颖璐, 吴边. 基于结构信息的 MHET 降解酶挖掘及温和温度下的酶级联塑料降解[J]. 生物工程学报, 2024, 40(3): 773-785.
LIU XY, GENG WC, SUN JY, CHEN ZH, CUI YL, WU B. Structure motif guided mining of MHET hydrolase and development of a two-enzyme cascade for plastics depolymerization at mild temperature[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(3): 773-785 (in Chinese).
- [4] 于双嵘, 钱峰, 章海敏, 孙新强, 王普. ω -转氨酶定点突变及生物催化制备(S)-1-(2-氟苯基)乙胺[J]. 生物工程学报, 2024, 40(3): 821-833.
YU SY, QIAN F, ZHANG HM, SUN XQ, WANG P. Site-specific mutation of ω -transaminase and the biocatalytic preparation of (S)-1-(2-fluorophenyl)ethylamine[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(3): 821-833 (in Chinese).
- [5] 王倩倩, 刘亚琦, 屈琰, 刘欢, 高歌, 徐庆阳, 陈宁, 范晓光. 重组大肠杆菌全细胞催化制备假尿苷[J]. 生物工程学报, 2024, 40(3): 799-811.
WANG QQ, LIU YQ, QU Y, LIU H, GAO G, XU QY, CHEN N, FAN XG. Whole-cell catalytic production of pseudouridine by recombinant *Escherichia coli*[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(3): 799-811 (in Chinese).
- [6] 吴娜莎, 孙亚琴, 修志龙. 耐高渗克鲁斯假丝酵母的耐受性[J]. 生物工程学报, 2024, 40(3): 908-920.
WU NS, SUN YQ, XIU ZL. Tolerance of hyperosmolar *Candida krusei*[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(3): 908-920 (in Chinese).
- [7] 朱凌宣, 崔鑫, 胡善桐, 王诗卉, 张桂敏. 毕赤酵母全蛋白质组信号肽及分泌蛋白分析[J]. 生物工程学报, 2024, 40(3): 834-846.
ZHU LX, CUI X, HU ST, WANG SH, ZHANG GM. Analysis of signal peptides and secreted proteins in the whole proteome of *Pichia pastoris*[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(3): 834-846 (in Chinese).
- [8] 赵敏, 郑雅倩, 于海英, 马旅雁. 鼠李糖脂组分可控生产菌的构建及其鼠李糖脂性能[J]. 生物工程学报, 2024, 40(3): 786-798.
ZHAO M, ZHENG YQ, YU HY, MA LY. Construction of mono/di-rhamnolipid ratios-manipulable strains and characterization of their corresponding surfactants' activity[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(3): 786-798 (in Chinese).
- [9] 臧瑜, 李圳炆, 卢雨欣, 杭嘉炜, 袁围, 孙杰. 增强甘油代谢提高酵母工程菌的红没药烯产量[J]. 生物工程学报, 2024, 40(3): 847-857.
ZANG Y, LI ZY, LU YX, HANG JW, YUAN W, SUN J. Enhancing the glycerol utilization of engineered yeast increases its bisabolene production[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(3): 847-857 (in Chinese).

- [10] 牛坤, 梅子龙, 管安奇, 蔡文斌, 陈懋钦, 柳志强, 郑裕国. 重组大肠杆菌合成 L-甲硫氨酸的发酵过程优化[J]. 生物工程学报, 2024, 40(3): 895-907.
NIU K, MEI ZL, GUAN AQ, CAI WB, CHEN MQ, LIU ZQ, ZHENG YG. Optimization of the fermentative production of L-methionine by engineered *Escherichia coli*[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(3): 895-907 (in Chinese).
- [11] 李全飞, 陈乾, 杨凯, 胡凯, 雷鹏, 谷益安, 孙良, 徐虹, 王瑞. Tween 20 对强化骆驼刺泛菌 NX-11 合成胞外多糖的影响[J]. 生物工程学报, 2024, 40(3): 921-930.
LI QF, CHEN Q, YANG K, HU K, LEI P, GU YA, SUN L, XU H, WANG R. Effect of Tween 20 on enhancing extracellular polysaccharide synthesis by *Pantoea alhagi* NX-11[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(3): 921-930 (in Chinese).
- [12] 刘文虎, 刘光钱, 张芮, 郑蕾, 陆震鸣, 张晓娟, 王松涛, 沈才洪, 史劲松, 许正宏, 柴丽娟. 基于宏基因组解析中温大曲成熟前后的微生物群落功能差异[J]. 生物工程学报, 2024, 40(3): 877-894.
LIU WH, LIU GQ, ZHANG R, ZHENG L, LU ZM, ZHANG XJ, WANG ST, SHEN CH, SHI JS, XU ZH, CHAI LJ. Metagenomics unveils the differences in the functions of microbial community of medium-temperature Daqu before and after maturation[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(3): 877-894 (in Chinese).

(本文责编 郝丽芳)