

• 导 读 •

本期主要围绕生物活性物的生物制造，环二肽、灯盏乙素、紫苏酸等天然化合物和 17 α -OH 孕酮等甾体化合物的生物合成，特别是其中涉及到的 P450 酶的分子改造，以及多聚磷酸激酶再生 ATP、D-甘露糖的生物合成、聚对苯二甲酸乙二醇酯(polyethylene terephthalate, PET)的生物降解和肠道微生物资源库等文章进行导读。

来自动物的功能糖、蛋白质、活性氨基酸、多肽和脂类，以及来自植物的萜类、黄酮、酚类和生物碱，这些生物活性物在医疗、健康、食品、营养、饲料和个人护理等多个领域具有重要作用。由于动物和特种植物资源的稀缺性，如果能采用合成生物学的手段，使微生物成为主要生产宿主，有望显著降低这些生物活性物的生产成本，扩大市场应用。杨婷婷等^[1]对功能糖、活性氨基酸、蛋白质、肽类、萜类、黄酮类、酚类、生物碱、核酸、脂类、酶和维生素等生物活性物在国内外的产业化发展情况进行了深入分析，提出生物制造技术对推动这些生物活性物的大规模、低成本生产具有重要作用。解决颠覆性技术创新不足、完善科技成果转化体系、加快制定产业法律法规、改善研发及市场环境，对推动生物活性物的生物制造产业发展至关重要。

环二肽类活性天然产物在药物研发和生物工程领域具有巨大的潜力^[2]。其中，放线菌作为环二肽的重要生产菌，阐明其生物合成机制，对新型环二肽类天然产物的发掘、设计、合成与应用具有重要意义。放线菌具有非核糖体肽合成酶和环二肽合酶两种催化酶，为环二肽的

合成提供了多种可能。研究放线菌中骨架结构的修饰酶，理解环二肽的结构修饰机制，有助于设计合成具有特定活性的新型环二肽分子。目前放线菌的环二肽合成机制研究已经取得了一定进展，但还需要深入理解放线菌中的非核糖体肽合成酶和环二肽合酶的催化机制，进一步探索和发现新的骨架结构修饰酶，以实现更多环二肽分子的设计合成。

灯盏乙素是一种重要的黄酮化合物，该化合物及其前体野黄芹素已经在临床被用于治疗心脑血管疾病。在重组酿酒酵母或解脂耶氏酵母生产灯盏乙素的过程中，会副产大量芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷，使得灯盏乙素含量难以达到超过 90%的标准。该问题产生的根源是由于黄酮 6 位羟基化酶与黄酮 7 位糖基化酶竞争底物芹菜素。前者活性若高，芹菜素偏向形成野黄芹素；前者活性若不足，芹菜素则偏向形成芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷。白杰等^[3]基于结构预测和分子动力学模拟，并通过量子化学计算，研究了分别来自灯盏花和黄芩的 2 种黄酮 6 位羟基化酶的催化机制。在理论计算指导下，对来自黄芩的黄酮 6 位羟基化酶进行了 L540A 突变，突变体的 6 位羟基化催化效率是野生型

酶的 1.37 倍,进而揭示出底物结合与释放的过程对黄酮 6 位羟基化酶催化效率具有重要影响。

单萜化合物紫苏酸具有重要用途,但目前尚未实现从头合成。黄瑶等^[4]在酿酒酵母的过氧化物酶体内表达绿薄荷来源的柠檬烯合酶,实现了柠檬烯的生物合成;进而通过增加前体模块、提高关键基因拷贝数等策略,将柠檬烯的产量提高到 87 mg/L。在柠檬烯生产菌株中表达了丹参来源的细胞色素 P450 酶基因,产生 4.4 mg/L 的紫苏酸,为构建生产紫苏酸的酵母细胞工厂提供了可能。

17 α 羟化酶可以将卵巢黄体分泌的天然孕激素——孕酮转化合成 17 α -OH 孕酮及其衍生物,这些孕激素药物对治疗妇科疾病具有重要作用。P450 酶能够催化孕酮进行 17 α 羟化反应,但同时会催化 16 α 羟化反应。同时提高 P450 的酶活性和催化位点选择性,是对 P450 酶进行分子改造的重要目标。王蓝蓝等^[5]针对纤维素黏性细菌来源的羟化酶 CYP260A1,构建了一个可有效转化孕酮的电子传递系统。通过选择性突变,显著提高了突变体的 17 α 羟化活性;同时对能够向 17 α 羟化酶突变体传递电子的铁氧还蛋白进行突变,进一步增强了对孕酮 C17 位催化的特异性,为提高 17 α 羟化酶生产 17 α -OH 孕酮的效率和选择性提供了新的可能。

理解分枝杆菌中甾类化合物的代谢途径,研究甾醇降解途径中的新代谢产物,对探索分枝杆菌在甾体类药物生产中的潜力以及开发新的甾类中间体具有重要意义。何建新等^[6]通过结构鉴定和基因敲除等实验手段,揭示了分枝杆菌 HGMS2 甾醇降解过程中产生的新 C-23 类

代谢中间体的形成机制。这为进一步理解甾体化合物的代谢途径以及开发新的甾类中间体提供了重要参考。

多种生物催化反应需要高能磷酸化合物 ATP 来提供磷酸基团。工业生产中,不可能在反应体系中直接添加 ATP,因此需要构建低成本的 ATP 再生系统。目前已经有关于乙酸激酶-乙酰磷酸、肌酸激酶-磷酸肌酸等多种 ATP 再生系统的报道,但其成本都较高,难以实现大规模应用。多聚磷酸激酶(polyphosphokinase, PPK)能以多聚磷酸为磷酸基团供体合成 ATP,由于多聚磷酸成本低廉,基于 PPK 的 ATP 再生系统近年来受到较多关注。程峰等^[7]总结了不同类型 PPK 的结构特征、催化机制以及酶学性质的差异和分子改造的案例,以及基于 PPK 的双酶级联和多酶级联生物催化系统。目前该系统的实际应用尚少,生物催化剂和产品的成本,以及催化过程的传质限制都是在产业化过程中需要考虑的因素。

D-甘露糖是一种低卡路里的天然甜味剂,被广泛应用于食品、饮料、医药等行业。D-甘露醇氧化酶可以将 D-甘露醇转化为 D-甘露糖,在 D-甘露糖的酶法制备中具有重要的应用潜力。李冉等^[8]从类芽孢杆菌 HGF5 中发现了一个新的 D-甘露醇氧化酶 PsOX,其与天蓝链霉菌来源的 D-甘露醇氧化酶 AldO 氨基酸序列相似性仅为 51%。PsOX 在 D-甘露醇的转化中表现出了很高的效率和稳定性,具有用于 D-甘露糖酶法制备的潜力。

聚对苯二甲酸乙二醇酯(polyethylene terephthalate, PET)结构复杂且难降解,其生物降解是当前的研究热点。微生物和酶可以将

PET 降解为对苯二甲酸双羟乙酯、对苯二甲酸单羟乙酯、对苯二甲酸和乙二醇等。金玉凤等^[9]总结了能够降解 PET 的微生物、菌群及 PET 降解酶,分析了 PET 的生物降解途径及其生物降解机制,并从扩大底物结合口袋及增加疏水性、减少中间产物的抑制作用、增强酶的热稳定性、改进全细胞生物催化剂以及对 PET 进行预处理等方面,总结了 PET 降解酶分子改造的研究进展。目前高结晶度 PET 材料的生物降解还存在很大挑战,酶的计算设计技术在创造更高效的 PET 降解酶方面将发挥重要作用。

肠道微生物资源库的构建是一个充满挑战和机遇的领域^[10]。近年来,活体生物药物的开发、菌株与宿主互作的分子机制研究及新型抗菌肽、酶、代谢途径的挖掘,都在推动这个领域的快速发展。尽管现有的肠道微生物资源库已经包含了 1 000 多种肠道细菌,但人肠道中还有很多未被发现的细菌物种。肠道微生物资源库的建设对下一代益生菌的发展,将起到重要的推动作用。一方面,资源库可以为益生菌的开发提供丰富的候选资源;另一方面,深入了解资源库中菌株与宿主的相互作用机制,有望开发出更有效的益生菌产品。目前,肠道微生物资源库的建设还面临着很多挑战,样本来源的多样性和资源库构建方法的优化,是首先需要考虑和解决的问题。

REFERENCES

- [1] 杨婷婷,曹丛丛,刘毅,陆震,王瑞妍. 生物活性物的生物制造:现状、挑战和发展趋势[J]. 生物工程学报, 2023, 39(11): 4335-4357.
YANG TT, CAO CC, LIU Y, LU Z, WANG RY. Biomanufacturing of bioactive compounds: current situation, challenges, and future perspectives[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(11): 4335-4357 (in Chinese).
- [2] 黄运红,黎金祖,陈思敏,刘文慧,吴妙尔,朱笃,谢运昌. 放线菌环二肽类活性天然产物生物合成研究进展[J]. 生物工程学报, 2023, 39(11): 4497-4516.
HUANG YH, LI JZ, CHEN SM, LIU WH, WU ME, ZHU D, XIE YC. Advances in the biosynthesis of cyclodipeptide type natural products derived from actinomycetes[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(11): 4497-4516 (in Chinese).
- [3] 白杰,李从雨,张鹤渐,黄蓉,张磊,王千,刘晓楠,骆健美,江会锋. 黄酮 6 位羟基化酶催化机制的理论研究与应用[J]. 生物工程学报, 2023, 39(11): 4635-4646.
BAI J, LI CY, ZHANG HJ, HUANG R, ZHANG L, WANG Q, LIU XN, LUO JM, JIANG HF. Theoretical analysis and practical applications of the catalytic mechanism of flavonoid 6-hydroxylase[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(11): 4635-4646 (in Chinese).
- [4] 黄瑶,杨海泉,沈微,夏媛媛,曹钰,陈献忠. 代谢工程改造酿酒酵母合成柠檬烯及其衍生物[J]. 生物工程学报, 2023, 39(11): 4647-4662.
HUANG Y, YANG HQ, SHEN W, XIA YY, CAO Y, CHEN XZ. Production of limonene and its derivative in *Saccharomyces cerevisiae* via metabolic engineering[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(11): 4647-4662 (in Chinese).
- [5] 王蓝蓝,赵昕,李杰,艾佳莹,孙静,毛淑红. 电子传递链的适配提高孕酮 17 α 羟基化生物催化效率[J]. 生物工程学报, 2023, 39(11): 4608-4620.
WANG LL, ZHAO X, LI J, AI JY, SUN J, MAO SH. Adaptation of the electron transport chain improves the biocatalytic efficiency of progesterone 17 α hydroxylation[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(11): 4608-4620 (in Chinese).
- [6] 何建新,董新林,黄永棋,宋士奎,苏正定. 分枝杆菌 HGMS2 甾醇降解中新 C-23 代谢产物的鉴定及其代谢途径分析[J]. 生物工程学报, 2023, 39(11): 4550-4562.
HE JX, DONG XL, HUANG YQ, SONG SK, SU ZD. Identification of a new C-23 metabolite in sterol degradation of *Mycobacterium neoaurum* HGMS2 and analysis of its metabolic pathways[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(11): 4550-4562 (in Chinese).

- of Biotechnology, 2023, 39(11): 4550-4562 (in Chinese).
- [7] 程峰, 李欢, 李可欣, 刘海云, 沈其, 薛亚平, 郑裕国. 多聚磷酸激酶及其在 ATP 再生体系构建中的进展[J]. 生物工程学报, 2023, 39(11): 4413-4427.
- CHENG F, LI H, LI KX, LIU HY, SHEN Q, XUE YP, ZHENG YG. Recent advances in poly phosphate kinase (PPK) and the construction of PPK-mediated ATP regeneration system[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(11): 4413-4427 (in Chinese).
- [8] 李冉, 宋聪, 张翔, 贾振华. 类芽孢杆菌来源 D-甘露醇氧化酶的性质及制备 D-甘露糖的应用[J]. 生物工程学报, 2023, 39(11): 4682-4693.
- LI R, SONG C, ZHANG X, JIA ZH. Characterization of a D-mannitol oxidase from *Paenibacillus* sp. and its application in the preparation of D-mannose[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(11): 4682-4693 (in Chinese).
- [9] 金玉凤, 邱佳容, 张良清, 朱梦磊. 聚对苯二甲酸乙二醇酯生物降解的研究进展[J]. 生物工程学报, 2023, 39(11): 4445-4462.
- JIN YF, QIU JR, ZHANG LQ, ZHU ML. Biodegradation of polyethylene terephthalate: a review[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(11): 4445-4462 (in Chinese).
- [10] 冯赛赛, 柳利平, 张亮亮, 徐建国. 肠道微生物资源库的构建: 进展、方法和展望[J]. 生物工程学报, 2023, 39(11): 4463-4481.
- FENG SS, LIU LP, ZHANG LL, XU JG. Construction of gut microbial culture banks: advances, methods and perspectives[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(11): 4463-4481 (in Chinese).

(本文责编 陈宏宇)