

## 温度调控大肠杆菌发酵合成 L-丙氨酸

肖亚中

(《微生物学通报》编委会 北京 100101)

L-丙氨酸是最小的手性分子之一,被用于医药和兽药行业,与其他 L-型氨基酸共同用作手术前和手术后的营养剂<sup>[1]</sup>。由于 L-丙氨酸具有甜味,也被用于食品添加剂<sup>[2]</sup>。目前, L-丙氨酸全球需求年增长率为 20%,主要增长地区是亚洲、北美等。然而, L-丙氨酸产量和价格基本被日本垄断和控制。国内企业生产规模小,生产菌种陈旧低效, L-丙氨酸的供应量远低于市场需求量。

本刊 2015 年 11 期刊登了周丽、周哲敏等的文章“温度调节基因开关调控大肠杆菌发酵合成 L-丙氨酸”<sup>[3]</sup>。作者以野生型 *E. coli* CICIM B0016 为出发菌株,通过敲除副产物乙酸、甲酸、乙醇、琥珀酸、乳酸合成途径编码基因,敲除丙氨酸消旋酶编码基因,并将来源于嗜热脂肪地芽孢杆菌(*Geobacillus stearothermophilus*)的 L-丙氨酸脱氢酶编码基因 *alaD* 克隆于  $P_L$  和  $P_R$  启动子下游,构建出可通过温度开关控制 L-丙氨酸合成的重组大肠杆菌菌株。在 28 °C 下,重组菌株 B0016-060B/pPL-*alaD* 几乎不合成 L-丙氨酸,而在 42 °C 下可高效合成 L-丙氨酸。5 L 罐发酵试验结果证实可合成 67.2 g/L L-丙氨酸,体积生产强度达到 2.06 g/(L·h)。

自上文发表以后,研究组进一步将 L-丙氨酸脱氢酶连同温度调控开关整合于重组 *E. coli* 染色体 DNA 上,构建了新型重组菌 B0016-060BC。该菌株 L-丙氨酸产量得以继续提高,经 40 h 培养,可发酵合成 120.8 g/L L-丙氨酸<sup>[4,5]</sup>。该研究开发了具有自主知识产权的 L-丙氨酸发酵生产技术,实现了 L-丙氨酸的高强度合成,对促进 L-丙氨酸工业生产及 L-丙氨酸产物的大规模应用具有重要意义。

关键词: L-丙氨酸, 温度调控, 大肠杆菌, 发酵

### 参考文献

- [1] Hols P, Kleerebezem M, Schanck AN, et al. Conversion of *Lactococcus lactis* from homolactic to homoalanine fermentation through metabolic engineering[J]. *Nature Biotechnology*, 1999, 17(6): 588-592
- [2] Lee M, Smith GM, Eiteman MA, et al. Aerobic production of alanine by *Escherichia coli* *aceF* *ldhA* mutants expressing the *Bacillus sphaericus* *alaD* gene[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2004, 65(1): 56-60
- [3] Zhou L, Deng C, Cui WJ, et al. L-alanine production in recombinant *Escherichia coli* with thermo-regulated genetic switch[J]. *Microbiology China*, 2015, 42(11): 2272-2281 (in Chinese)  
周丽, 邓璨, 崔文璟, 等. 温度调节基因开关调控大肠杆菌发酵合成 L-丙氨酸[J]. *微生物学通报*, 2015, 42(11): 2272-2281
- [4] Zhou L, Deng C, Cui WJ, et al. Efficient L-alanine production by a thermo-regulated switch in *Escherichia coli*[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2016, 178(2): 324-337
- [5] Zhou ZM, Zhou L, Cui WJ, et al. Efficient L-alanine production by a thermo-regulated switch in *Escherichia coli*: China, CN201510158566.1[P]. 2015-07-15 (in Chinese)  
周哲敏, 周丽, 崔文璟, 等. 一种高效发酵生产 L-丙氨酸的大肠杆菌: 中国, CN201510158566.1[P]. 2015-07-15

## L-alanine production in recombinant *Escherichia coli* with thermo-regulated genetic switch

XIAO Ya-Zhong

(The Editorial Board of *Microbiology China*, Beijing 100101, China)

**Keywords:** L-alanine, Thermo-regulated genetic switch, *E. coli*, Fermentation