

对本期发表的酶工程技术、高附加值化合物的生物催化合成以及细胞工厂构建与工艺优化等相关的研究论文和综述进行了评述,主要侧重右旋糖酐酶、酰胺水解酶等新酶挖掘与功能设计,红景天苷、新橙皮苷等天然产物的生物催化转化,1,4-丁二醇、灵芝酸等重要产品生物制造等研究论文进行导读,以期方便读者更好地了解当前工业生物技术的新发展。

孙周通 《生物工程学报》编委

(中国科学院天津工业生物技术研究所,天津 300308)

新酶挖掘、表征与功能解析

细菌纤维素(bacterial cellulose, BC)是由细菌代谢所产生的葡萄糖聚合物。细菌纤维素合成酶(bacterial cellulose synthase, BCS)是催化 BC 形成的关键酶。BCS 不同种类亚基之间的协同性确保了 BC 的胞内形成及胞外分泌。聂雯霞等总结了已报道的 BC 合成菌株的种类、不同菌株中 BCS 的区别,并综述了 BC 合成机制、BCS 中亚基之间的相互作用及菌株内自身结构特征对高度有序纤维结构的影响等方面的研究进展,为利用合成生物学技术优化 BC 合成提供更多策略^[1]。

右旋糖酐酶是一种专一性水解 α -1,6 糖苷键的酶。夏冰冰等通过定点突变对海洋氧化节杆菌 KQ11 来源的右旋糖酐酶进行了改造,重点改造了“隧道状结合位点”的氨基酸,并对 507 位进行了饱和突变,获得了酶活性和催化效率提高的系列突变体。与野生型相比, W507Y 突变体的比活力提高了 2 倍, k_{cat} 增加了 3.62 倍, K_{m} 降低了 54%, 催化效率 $k_{\text{cat}}/K_{\text{m}}$ 提高了 8.98 倍。三维结构分析显示, W507Y 突变体与结合位点另

一侧氨基酸的距离缩短,增强了氢键作用,促进了底物水解和产物排出,从而显著提高了酶活性和催化效率^[2]。

己糖激酶是血糖检测中的关键诊断试剂,需具备高酶活和热稳定性。国内主要依赖进口酵母来源酶,但其价格高且热稳定性差,限制了血糖诊断试剂的开发。李倩妮等在大肠杆菌 BL21(DE3)中异源表达了一种来源于嗜热菌的 ATP 依赖型己糖激酶(Glk),其对葡萄糖特异性高,依赖 Mg^{2+} , 最适 pH 8.5, 温度 80 °C, 在 30–37 °C 下保存 7 d 后能够保持 90% 以上酶活,表现出热稳定的偏碱性特性;通过优化表达条件,使 Glk 表达量提高了 4.71 倍,纯化后比酶活达到 43.05 U/mg, 纯度 $\geq 98\%$ 。该研究为突破国内血糖诊断试剂的短板提供了新的途径和发展空间^[3]。

不可自然降解塑料的广泛应用对生态环境的危害日益严峻,塑料高聚物污染物已成为生态环境治理的焦点,其中利用酶等生物法对高聚物进行解聚具有一定优势,不仅反应条件温和,解聚产物还可以进行回收进入再循环。近年来,聚酯型塑料如聚对苯二甲酸乙二醇酯

(polyethylene terephthalate, PET)和聚己二酸/对苯二甲酸丁二醇酯 (polybutylene adipate terephthalate, PBAT)的生物解聚研究较多,发现了多种高效解聚酶,但基于酰胺键的聚酰胺塑料生物解聚酶研究较少。郑芷然等使用 4-硝基丙酰苯胺为模式底物,筛选实验室建立的塑料解聚酶库,获得了一个来源于红色亚栖热菌 (*Meiothermus ruber*)且能水解酰胺键的 MrABH,将其在大肠杆菌中进行了表达,并利用亲和层析技术纯化获得了纯度较高的酶,对其催化性质、酶学性质以及催化聚酰胺的产物进行了研究,发现 MrABH 在 pH 8.0–10.0 都有良好的稳定性,其最适 pH 为 9.0、最适温度为 30 °C;动力学分析表明其对酯键和酰胺键的催化效果相近,MrABH 能解聚聚酰胺 6 (polyamide 6, PA6)和聚酰胺 66 (polyamide 66, PA66)生成单体 and 寡聚物,未来有潜力应用于聚酰胺的生物解聚和再循环利用^[4]。

酪氨酸酶是一种含铜的多酚氧化酶,广泛应用于食品、日化、医药等领域。目前商品化酪氨酸酶主要依赖于真菌提取,存在价格高、纯度低、比酶活低和稳定性差等问题。郑依琳等为获得高效表达并具有工业化应用前景的细菌酪氨酸酶,通过在大肠杆菌 BL21(DE3)中异源表达 5 种不同来源的细菌酪氨酸酶,发现巨大芽孢杆菌来源的酪氨酸酶 TyrBm 具有较好的热稳定性和底物专一性;建立了基于 TyrVs 催化的酶法生物染发体系,实现了原位催化染发,水洗色牢度试验测得模拟 14 d 清洁后的色差值 ΔE 低于 7.38 ± 0.64 ^[5]。为便于催化产物与酶快速分离,成功构建了依赖于自组装标签 CipA 的固定化酶 TyrVs-CipA 催化体系并将其应用于水解丝素多肽的多巴修饰,酶能够连续催化达 7 次以上,且对 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼自由基与 O_2^- 自由基的清除活性较好,为基于酪氨酸酶的绿色生物染发剂及组织工程生物材料开发提供了酶元件基础^[5]。

在本期的综述文章中,蔡雪等以 ω -转氨酶、赖氨酸脱羧酶、苏氨酸醛缩酶、L-酪氨酸酚解酶等典型磷酸吡哆醛(pyridoxal phosphate, PLP)依赖型酶为例,评述了 PLP 依赖型酶的结构特征与催化机理,总结了它们的分子改造研究进展以及在工业生产中的应用,并从 PLP 辅因子的体内再生系统及工业应用等方面展望了 PLP 依赖型酶的未来发展潜力^[6]。杨媚媛等从酶促塑料降解的角度出发,全面梳理了对苯二甲酸单羟乙酯水解酶 MHETase 的三维结构、底物结合模式以及催化反应机理等,展示了该酶降解活性的结构特征和关键残基及其酶工程改造的研究进展,同时对基于 MHETase 支架结合 PET 降解酶开发定制的酶促 PET 降解系统进行了展望,为将来设计和开发更加高效的 PET 水解酶体系提供参考^[7]。另外,2-酮戊二酸/ Fe^{2+} 依赖的双加氧酶能够实现复杂结构化合物 sp^3 杂化 C-H 键的官能化反应,是生物碱等天然产物合成途径中的关键酶。陈曦等总结了这一类双加氧酶中的莨菪碱 6β -羟化酶催化机制、底物谱和应用进展,对该酶转化不同结构特点底物的羟化、环氧化等反应的潜在能力进行了评估,为后续对酶的设计改造和应用研究提供理论基础^[8]。

重组菌株构建与高值化合物的生物催化

胍基乙酸作为一种能源性物质,在食品、医药和饲料等行业有着广泛的应用前景,但目前并未实现利用生物法工业化生产胍基乙酸。廖雅芯等在食品级安全菌株枯草芽孢杆菌中设计了胍基乙酸的合成路线,通过调控关键酶表达、解除反馈抑制、增加膜通透性等技术,实

现全细胞催化高效合成胍基乙酸。首先基于进化树挖掘筛选最佳 L-精氨酸:甘氨酸脒基转移酶, 利用强启动子与基因组整合相结合的策略提高关键酶表达; 其次, 引入谷氨酸棒杆菌中用于 L-精氨酸合成的鸟氨酸循环途径, 缓解副产物 L-鸟氨酸对酶的反馈抑制, 并敲除 L-精氨酸降解途径, 强化底物再生; 再次, 增强 N-乙酰胞壁-L-丙氨酸酰胺酶基因表达, 改善细胞膜通透性; 最后, 利用菌株 Bs-13 在最佳转化条件下, 经 24 h 获得 13.1 g/L 胍基乙酸, 转化速率为 0.54 g/(L·h), 底物甘氨酸的转化率为 92.7%; 以上策略一定程度上提高了胍基乙酸的生产, 为生物法合成胍基乙酸提供了参考^[9]。

红景天苷是一种在食品、医药等领域应用广泛的功能性成分, 其传统生产方法为植物提取, 原料成本高昂且提取过程繁琐。魏晨昱等通过生物合成法, 以酪醇为底物高效生产红景天苷; 在利用糖基转移酶实现酪醇糖基化的同时, 引入蔗糖合酶构建尿苷二磷酸葡萄糖(uridine diphosphate glucose, UDPG)循环再生系统。通过比较, 筛选出糖基转移酶 UGT33 以及蔗糖合酶 AtSUS, 构建重组大肠杆菌 BL21/pETDuet-AtSUS-UGT33, 并针对基因的拷贝数进行了优化, 确定糖基转移酶与蔗糖合酶的最优拷贝数比例为 3:1; 进一步对重组菌株的全细胞催化条件进行优化, 在最适反应温度、pH、菌体量、底物浓度、适量金属离子的最优反应条件下, 在 5 L 发酵罐转化 24 h, 红景天苷最高产量达到 8.17 g/L。该研究为利用微生物高效生产红景天苷提供了一定的参考^[10]。

新橙皮苷是一种黄酮糖苷, 广泛应用于食品和药品行业。目前新橙皮苷生产主要依靠的植物提取法需要大量的有机溶剂, 而生物转化法绿色环保、转化率高, 具有较高的经济效益。张萱

等在大肠杆菌中引入拟南芥来源的糖基转移酶 UGT73B2、葡萄来源的鼠李糖合酶 VvRHM-NRS 和柚子来源的鼠李糖转移酶 Cm1,2RhaT, 构建了新橙皮苷的生物合成路径; 通过模块优化和糖基供体强化后, 重组菌株在 5 L 发酵罐中合成新橙皮苷的产量达到 4.64 g/L, 底物橙皮素的摩尔转化率为 45.8%, 这是目前在微生物中异源合成新橙皮苷的最高产量。该研究为新橙皮苷高产菌株的构建与应用奠定了基础, 也为代谢工程改造微生物生产其他黄酮糖苷提供了借鉴^[11]。

儿茶酚是一种重要的化工和医药中间体, 应用范围极为广泛。目前合成方法是通过化学法实现苯酚羟化, 对环境不够友好, 而生物法则受制于原儿茶酸脱羧酶的活性不高和生物合成儿茶酚生产效率较低, 难以满足大规模工业生产的要求。为了进一步提高儿茶酚生产效率, 田立岩等首先对不同来源的 21 个原儿茶酸脱羧酶进行筛选, 发现理研菌来源的 RbAroY 脱羧酶性能最好, 含有该酶的全细胞生物催化剂 ER11 能够合成 13.54 g/L 儿茶酚; 对该酶进行稳定性计算设计, 发现突变体 RbAroY-G99A 的全细胞生物催化剂 ERT01 催化合成儿茶酚产量较野生型提高 12%; 之后对生物催化条件进一步优化, 以原儿茶酸为底物, 全细胞生物催化剂 ERT01 能够催化合成 25.7 g/L 儿茶酚; 最后, 以 3-脱氢莽草酸发酵液为底物, 同时表达 3-脱氢莽草酸脱水酶和原儿茶酸脱羧酶的全细胞生物催化剂 DER03, 催化合成了 29.55 g/L 儿茶酚, 为目前国内外报道的最高产量。该研究为儿茶酚生物合成工业生产提供了重要参考^[12]。

谷氨酸棒杆菌是支链氨基酸工业生产的主力菌, 乙酰羟酸合酶(acetohydroxyacid synthase, AHAS)是支链氨基酸合成的关键酶, 强化 AHAS 的表达是提高菌种水平的关键手段。然

而目前还未实现高效调控 AHAS, 乔倩倩等首先基于前期开发的靶基因表达调控报告系统, 从 6 个组成型强启动子中筛选乙酰羟酸合酶编码基因 *ilvBN* 的高效表达启动子, 成功获得 P_{gpmA}*启动子, 表达强度是 P_{ilvBN} 天然启动子的 23.3 倍。其次, 在 P_{gpmA}*启动子基础上, 构建并通过平板荧光成像初步筛选了 3 种人工合成核糖体结合位点(ribosome binding site, RBS)文库, 发现“R(9)N(6)”为优势的突变文库, 通过进一步的孔板复筛, 成功获得 36 个不同强度增强的 RBS 突变体, 最高强度可达 P_{ilvBN} 天然启动子的 62.3 倍。最后, 选择 P_{gpmA}*启动子分别组合野生型、RBS18 和 RBS36 调控 *ilvBNS155F* 的表达生产 L-缬氨酸, 产量随着表达强度的增强而提高, 分别为 1.1 g/L、1.4 g/L 和 2.4 g/L, 在 RBS18 调控基础上组合 *ilvC* 的过表达, L-缬氨酸产量可达 7.6 g/L。该研究获得的 AHAS 表达调控元件库, 为改造 AHAS 生产 L-缬氨酸等支链氨基酸提供了丰富元件, 还可为其他关键酶的表达调控提供思路和方法借鉴^[13]。

D-甘露糖是一种在食品、医疗、化妆品等领域都具有很大经济价值和应用价值的天然己糖。目前大部分生物合成 D-甘露糖的方法都是以大肠杆菌作为宿主, 生产过程中存在安全性问题, 对后续应用产生了诸多限制。刘祖怡等通过比较多个来源的甘露糖异构酶的酶学性质, 筛选出最优来源甘露糖异构酶。以食品安全级菌株枯草芽孢杆菌 168 为底盘细胞, 将最优来源的甘露糖异构酶进行异源表达, 获得了重组菌株, 并通过优化转化温度、pH、底物浓度等条件, 提高其转化合成 D-甘露糖的效率。结果表明, 重组菌株在最适转化条件下进行 5 L 发酵罐全细胞转化, 分别以 500 g/L 果糖和 600 g/L 果糖为底物, 转化 6 h, D-甘露糖的产量分别为

138.74 g/L 和 163.30 g/L, 转化率分别达到 27.75%和 27.22%, 为 D-甘露糖的工业化安全生产及应用奠定了坚实基础^[14]。

细胞工厂构建与发酵工艺优化

1,4-丁二醇是一种重要的中间体, 广泛应用于化工、农业、医药等领域。姜君逸等将酶工程和代谢工程相结合, 通过数据库挖掘设计了一条由 α -酮酸脱羧酶、羧酸还原酶、乙醇脱氢酶的新型催化途径, 引入大肠杆菌底盘细胞 W3110 后, 实现了 1,4-丁二醇的从头合成^[15]。为进一步提高该路径的合成效率, 敲除了乳酸脱氢酶、丙酮酸甲酸裂解酶基因, 阻断旁路代谢途径; 强化表达柠檬酸合酶, 增加 α -酮戊二酸代谢通量并增强底盘细胞中关键辅酶 NADPH 合成量; 替换强启动子强化 *sucA*、*car*、*yqhD* 基因表达量, 改善了 1,4-丁二醇合成前体的供给效率。最终, 重组菌株摇瓶发酵 1,4-丁二醇产量达 770 mg/L, 在 5 L 发酵罐中 1,4-丁二醇产量达 4.22 g/L, 得率为 12.46 mg/g 葡萄糖。与已报道的路径相比, 该新路径无需乙酰辅酶 A 参与, 避免了副产物乙酸的积累, 同时避免了氨的添加, 为代谢工程改造生产 1,4-丁二醇及其高附加值衍生产品提供了新思路^[15]。

灵芝作为历史悠久的食药两用型真菌, 具有抗肿瘤、抗氧化等药理活性, 其药用价值主要由灵芝三萜这一主要活性物质体现。针对传统深层发酵和振荡-静置两阶段培养的局限性, 姜幸怡等建立了高效液态发酵生产灵芝三萜的技术体系。利用振荡-静置循环培养工艺, 结合遗传算法构建人工神经网络模型进行优化, 灵芝三萜含量达到 20.82 mg/g, 灵芝酸得率为 129.09 mg/L, 且培养周期缩短至 10.6 d。该研究提供了一种经济有效的液态发酵培养方式, 简化了工艺流程、缩短了发酵周期并有效改善

了传统培养方式的局限性, 同时为液态发酵高产灵芝三萜的规模化应用提供了参考, 具有广阔的应用前景^[16]。

Gadusol 是一种具有抗氧化能力的高效天然紫外吸收物质, 广泛存在于微生物、藻类及鱼卵等水生生物中。为解决其天然提取量低且环境不友好等问题, 易崇华等将斑马鱼来源的 gadusol 合成途径引入毕赤酵母, 过表达了来源于树干毕赤酵母的木糖同化基因以提高其关键底物景天庚酮糖-7-磷酸的含量。结果表明木糖的利用是提高 gadusol 产量的有效策略, 在纯木糖培养基中, gadusol 的产量达到 141.8 mg/L (32.3 mg/g DCW), 约是在纯葡萄糖培养基中的 46 倍。经功能表征发现, 该物质具有较好的抗氧化效果。该研究为 gadusol 的工业化生产及应用提供了理论基础^[17]。

此外, 本期还包括 γ -氨基丁酸^[18]和人乳低聚糖^[19]等产物生物合成方面的综述, 为未来实现相关产品的工业生产提供了有益启示。

REFERENCES

- [1] 聂雯霞, 古梦洁, 钟卫鸿. 细菌纤维素合成酶亚基多样性和纤维结构形成研究进展[J]. 生物工程学报, 2024, 40(9): 2797-2811.
NIE WX, GU MJ, ZHONG WH. Research progress in bacterial cellulose synthase subunit diversity and fiber structure formation[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(9): 2797-2811 (in Chinese).
- [2] 夏冰冰, 马岱, 叶子凡, 杨静文, 张洪斌, 胡雪芹. 定点突变提高海洋氧化节杆菌 KQ11 右旋糖酐酶的催化活性[J]. 生物工程学报, 2024, 40(9): 3072-3082.
XIA BB, MA D, YE ZF, YANG JW, ZHANG HB, HU XQ. Site-directed mutagenesis enhances the activity of dextranase from *Arthrobacter oxidans* KQ11[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(9): 3072-3082 (in Chinese).
- [3] 李倩妮, 舒泉先, 杨小雁, 赵运英, 周胜虎, 邓禹. 高热稳定性己糖激酶在大肠杆菌中的表征和表达优化[J]. 生物工程学报, 2024, 40(9): 3171-3188.
LI QN, SHU QX, YANG XY, ZHAO YY, ZHOU SH, DENG Y. Characterization and expression optimization of a highly thermostable hexokinase in *Escherichia coli*[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(9): 3171-3188 (in Chinese).
- [4] 郑芷然, 丛琳, 李志帅, 刘卫东, 游松, 韩旭. 一种新型聚酰胺水解酶的鉴定和性质分析[J]. 生物工程学报, 2024, 40(9): 3103-3113.
ZHENG ZR, CONG L, LI ZS, LIU WD, YOU S, HAN X. Identification and characterization of a novel polyamide hydrolase[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(9): 3103-3113 (in Chinese).
- [5] 郑依琳, 胥睿睿, 王阳, 方承格, 堵国成, 康振. 细菌酪氨酸酶高效异源表达及其在生物染发和丝素多肽多巴修饰中的应用[J]. 生物工程学报, 2024, 40(9): 3083-3102.
ZHENG YL, XU RR, WANG Y, FANG CG, DU GC, KANG Z. Heterologous expression of bacterial tyrosinase and its applications in biological hair dyeing and DOPA modification of hydrolyzed silk fibroin[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(9): 3083-3102 (in Chinese).
- [6] 蔡雪, 孙晨阳, 翟增春, 施雪, 柳志强, 郑裕国. 磷酸吡哆醛依赖型酶的研究进展及其应用[J]. 生物工程学报, 2024, 40(9): 2771-2785.
CAI X, SUN CY, ZHAI ZC, SHI X, LIU ZQ, ZHENG YG. Recent advances in pyridoxal phosphate-dependent enzymes and their applications[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(9): 2771-2785 (in Chinese).
- [7] 杨媚媛, 樊芳芳, 何灵娟, 陈杰, 王林泉, 邱帅, 吕常江, 黄俊. 对苯二甲酸单羟乙酯水解酶结构与功能的研究进展[J]. 生物工程学报, 2024, 40(9): 2812-2830.
YANG MY, FAN FF, HE LJ, CHEN J, WANG LQ, QIU S, LYU CJ, HUANG J. Advances in the structure and function of MHETase[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(9): 2812-2830 (in Chinese).
- [8] 陈曦, 吴洽庆, 朱敦明. 多功能氧化酶苕蓍碱 6 β -羟化酶的研究进展[J]. 生物工程学报, 2024, 40(9): 2786-2796.
CHEN X, WU QQ, ZHU DM. Research progress of the multifunctional oxidase scopolamine 6 β -hydroxylase[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(9): 2786-2796 (in Chinese).
- [9] 廖雅芯, 张杰, 张显, 饶志明, 徐美娟. 构建整合型重组枯草芽孢杆菌高效合成胍基乙酸[J]. 生物工程学报, 2024, 40(9): 3025-3038.
LIAO YX, ZHANG J, ZHANG X, RAO ZM, XU MJ. Efficient biosynthesis of guanidoacetic acid by a

- recombinant strain of *Bacillus subtilis*[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(9): 3025-3038 (in Chinese).
- [10] 魏晨昱, 黄珠莹, 沈知行, 张显, 饶志明, 胡晓清, 徐美娟. 基于尿苷二磷酸葡萄糖循环再生系统高效转化酪醇合成红景天苷[J]. 生物工程学报, 2024, 40(9): 3127-3141.
- WEI CY, HUANG ZY, SHEN ZX, ZHANG X, RAO ZM, HU XQ, XU MJ. Efficient synthesis of salidroside from tyrosol based on UDPG recycling system[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(9): 3127-3141 (in Chinese).
- [11] 张萱, 刘世柯, 曾伟主, 周景文, 侯颖. 重组大肠杆菌催化橙皮素合成新橙皮苷[J]. 生物工程学报, 2024, 40(9): 3011-3024.
- ZHANG X, LIU SK, ZENG WZ, ZHOU JW, HOU Y. Production of neohesperidin from hesperetin by an engineered strain of *Escherichia coli*[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(9): 3011-3024 (in Chinese).
- [12] 田立岩, 李静, 江小龙, 宋国田, 路福平, 戴宗杰, 李庆刚, 王钦宏. 原儿茶酸脱羧关键酶挖掘改造优化儿茶酚生物合成[J]. 生物工程学报, 2024, 40(9): 3057-3071.
- TIAN LY, LI J, JIANG XL, SONG GT, LU FP, DAI ZJ, LI QG, WANG QH. Screening and engineering of a protocatechuic acid decarboxylase for efficient biosynthesis of catechol[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(9): 3057-3071 (in Chinese).
- [13] 乔倩倩, 宁舒展, 王瑞瑞, 郑宇, 路福平, 陈久洲, 刘娇, 郑平. 谷氨酸棒杆菌乙酰羟酸合酶的高效表达调控及应用[J]. 生物工程学报, 2024, 40(9): 3114-3126.
- QIAO QQ, NING SZ, WANG RR, ZHENG Y, LU FP, CHEN JZ, LIU J, ZHENG P. Efficient expression regulation of acetohydroxyacid synthase for production of branched-chain amino acids in *Corynebacterium glutamicum*[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(9): 3114-3126 (in Chinese).
- [14] 刘祖怡, 乔邳钠, 杜宇轩, 石选平, 尤甲甲, 饶志明, 王立. 重组枯草芽孢杆菌全细胞高效催化合成 D-甘露糖[J]. 生物工程学报, 2024, 40(9): 3158-3170.
- LIU ZY, QIAO ZN, DU YX, SHI XP, YOU JJ, RAO ZM, WANG L. Efficient whole-cell biosynthesis of D-mannose by recombinant *Bacillus subtilis*[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(9): 3158-3170 (in Chinese).
- [15] 姜君逸, 郭艺鸣, 杨套伟, 饶志明. 代谢工程改造大肠杆菌从头合成 1,4-丁二醇[J]. 生物工程学报, 2024, 40(9): 3142-3157.
- JIANG JY, GUO YM, YANG TW, RAO ZM. Metabolic engineering of *Escherichia coli* for *de novo* synthesis of 1,4-butanediol[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(9): 3142-3157 (in Chinese).
- [16] 姜幸怡, 韩伟, 郭嘉, 刘艳芳, 徐爱国, 唐传红, 冯杰, 张劲松. 振荡-静置循环培养新策略提升灵芝三萜合成与菌丝体活性[J]. 生物工程学报, 2024, 40(9): 3189-3200.
- JIANG XY, HAN W, GUO J, LIU YF, XU AG, TANG CH, FENG J, ZHANG JS. Oscillation-static cycle cultivation enhances the synthesis of triterpenes and mycelium activity in *Ganoderma lucidum*[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(9): 3189-3200 (in Chinese).
- [17] 易崇华, 钱思雨, 钮成拓, 郑飞云, 刘春风, 李崎, 王金晶. 天然紫外吸收剂 gadusol 在毕赤酵母中的生物合成及其性能分析[J]. 生物工程学报, 2024, 40(9): 3039-3056.
- YI CH, QIAN SY, NIU CT, ZHENG FY, LIU CF, LI Q, WANG JJ. Synthesis and properties of the natural ultraviolet absorber gadusol in *Komagataella phaffii*[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(9): 3039-3056 (in Chinese).
- [18] 詹侃, 刘颖, 陈庆, 庄程翰, 郑仁朝. γ -氨基丁酸衍生物的化学-酶法合成研究进展[J]. 生物工程学报, 2024, 40(9): 2831-2845.
- ZHAN K, LIU Y, CHEN Q, ZHUANG CH, ZHENG RC. Advances in the chemoenzymatic synthesis of gamma-aminobutyric acid derivatives[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(9): 2831-2845 (in Chinese).
- [19] 吕欣洋, 陈祥松, 姚建铭, 吴金勇, 袁丽霞. 利用大肠杆菌合成 3'-和 6'-唾液酸乳糖的研究进展[J]. 生物工程学报, 2024, 40(9): 2846-2865.
- LYU XY, CHEN XS, YAO JM, WU JY, YUAN LX. Research progress in the synthesis of 3'- and 6'-sialactose by *Escherichia coli*[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(9): 2846-2865 (in Chinese).

(本文责编 郝丽芳)