

α -酮酸的合成方法及应用研究

堵国成^{1,2}, 宋阳^{1,2}, 刘龙^{1,2}, 李江华^{1,2}, 陈坚^{1,2}

(1. 江南大学 工业生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡 214122; 2. 江南大学 生物工程学院, 江苏 无锡 214122)

摘要: α -酮酸作为一种有生物活性的双官能团物质,在医药、饲料、食品、化学合成等方面有着重要的应用。目前 α -酮酸主要由化学合成法生产,该法反应步骤多、环境污染严重、产物得率较低。相对化学合成法,发酵法和生物转化合成 α -酮酸具有成本低、反应条件温和、环境友好等特点,目前引起越来越多研究者的关注。作者比较分析了化学合成法、发酵法、生物转化法制备 α -酮酸的研究进展,并在此基础上对该领域今后的研究方向进行了展望。

关键词: α -酮酸;应用;生物合成;化学合成

中图分类号: S 665.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673—1689(2013)11—1121—07

Advances in Production and Application of α -Keto Acids

DU Guo-cheng^{1,2}, SONG Yang^{1,2}, LIU Long^{1,2}, LI Jiang-hua^{1,2}, CHEN Jian^{1,2}

(1. Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, China;

2. School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: α -keto acids, a kind of bifunctional substances combined with biological activities, are widely used in feed, food additives, chemical synthesis, etc. Currently α -keto acids are produced by chemical synthesis, with the disadvantages of multiple reaction steps, serious environmental pollution, and low product yield. Compared with the chemical synthesis, biotechnological production of α -keto acids is an attractive approach due to the low cost, mild conversion conditions as well as environment-friendly mode of production, which have attracted increasingly attention of researchers. In this work, we reviewed the progress of chemical synthesis method, fermentation method, and biotransformation to produce α -keto acids. Finally, the development prospects in this field were outlined.

Keywords: α -keto acid, application, biosynthesis, chemical synthesis

α -酮酸是一类双官能团有机化合物,是有机合成、药物合成及生物合成的重要中间体,已广泛用

于医药、化学合成、化妆品、饲料和食品领域。在生物体内, α -酮酸作为氨基酸脱氨基的产物,氨基酸

收稿日期: 2013-10-10

基金项目: 江苏省科技支撑计划项目(BY2013015-37)。

作者简介: 堵国成(1965—),男,江苏常州人,工学博士,教授,博士研究生导师,教育部“长江学者”特聘教授,主要从事发酵过程优化与控制、酶工程与技术、代谢工程技术方面的研究。E-mail: gdcu@jiangnan.edu.cn

合成的最后一步,是氨基酸代谢中的重要物质。生物体内必须的 20 种氨基酸中,有 12 种经历酮酸形式,通过转氨基作用,生产相应的氨基酸,见表 1。

表 1 酮酸及其衍生物的用途

Table 1 Application of α -keto acids and its derivatives

用途	示例
医药方面	用于慢性肾病患者或者乙型肝炎患者, α -酮酸降低蛋白质中氮的摄入量,降低肾过滤压力 ^[1-2] ;用于抗癌药物,硒基酮酸可参与有机硒代谢 ^[3] ;用于运动员的营养补充,酮酸可促进肌肉生长 ^[4] 。
饲料方面	α -酮异戊酸可刺激羊和猪的肌肉生长 ^[5-6] 。
食品方面	α -酮酸可改善食品风味 ^[7] 。
化妆品	用于功能型化妆品,可有保湿、防皱、抗老化和抗过敏作用。
化学合成	α -酮酸有双功能基团,可用于杂环化合物的合成 ^[8] 。

1 化学合成法

自 1835 年,第一个 α -丙酮酸通过化学合成的方法被人工合成以后,出现了大量关于 α -酮酸的合成和性质的报道,1947 年 Waters 综述了关于 α -酮酸的合成方法^[10]。1958 年和 1964 年, Cordier 着重综述了芳香族酮酸的合成,此后,随着分析和合成技术手段的发展,进一步扩展和完善了各类合成方法^[9]。但是, α -酮酸的化学合成方法不仅条件苛刻,而且需要特殊结构的起始物,产率一般较低,几乎无法用于工业化的生产。除此之外,在化学合成中,需要加入剧毒性原料,如氰化物水解法、 α -酮酸酯水解法等,对环境和生产人员都会造成巨大的毒害作用,所以逐渐不被人们采用。

之后,化学合成法进一步改进。1975 年, Perron^[10]发明的双羧基化法,该方法可以一步合成 α -酮酸,而且操作简单,产品易于分离,与之前的方法相比,有较大的进步。但是,由于催化剂八羧基二钴与零价钯的络合物,价格昂贵,所以不适合大规模的生产。在 1986 年,海因法成功用于苯丙酮酸的合成,东南大学的丁威^[11]又对此方法做了改进,制备了高纯度的 α -酮异己酸。

目前,化学法合成 α -酮酸见图 1。普遍存在原料复杂、工艺繁琐等缺点,所以寻求一条低成本,操作简单的合成路线就尤为重要。目前,需要化学合成方面的进一步丰富和完善合成方法,以获得高收率,高纯度的 α -酮酸,达到工业生产的需求。

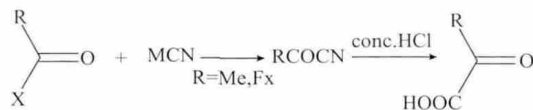
2 发酵法合成酮酸

发酵法是利用微生物的代谢过程将碳源和氮源等营养物质通过代谢途径合成天然产物。发酵法生产 α -酮酸是在底物中添加葡萄糖,利用中心代谢途径,加强酮酸合成途径的通量,阻断其他分支代谢,以及阻断酮酸向氨基酸转化的酶,进而保证酮酸的大量积累。

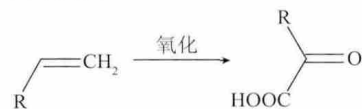
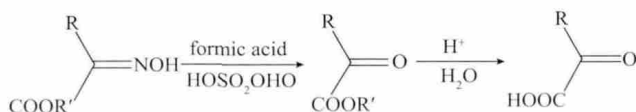
在谷氨酸棒杆菌(*Corynebacterium glutamicum*)中, Felix 等人^[12]通过一系列代谢改造策略合成了 α -酮异戊酸(即缬氨酸前体)。在微生物和植物体内,2 分子的丙酮酸合成 1 分子的 α -酮异戊酸主要经过 3 个酶:羟乙酸合成酶(AHAS,由 *ilvBN* 编码)、乙酰乳酸异构酶(AHAIR,由 *ilvC* 编码)、双羟基酸脱水酶(DHAD,由 *ilvD* 编码)。首先,他们将转氨酶基因(transaminase B)和丙酮酸脱氢酶的 E1p 亚基 *aceE* 敲除, α -酮异戊酸产量达到 40 mmol/L。其次,为了解除从丙酮酸到 α -酮异戊酸代谢流的限制,过量表达谷氨酸棒杆菌自身来源的 *ilvBNCD* 基因,在添加葡萄糖和醋酸盐的情况下, α -酮异戊酸的产量在 72 h 时达到 95 mmol/L,产量提高了 1.375 倍。最后,为了进一步提高产量,根据丙酮酸的代谢流分析,敲除编码丙酮酸氧化脱羧酶的 *pqo* 基因,从而使丙酮酸向 α -酮异戊酸的代谢流增强,结果产量大幅度提高,达到 220 mmol/L,是敲除以前产量的 1.32 倍。

目前,依赖 α -酮酸途径合成支链乙醇的研究较多,其中,关于 α -支链酮酸途径的改造对发酵法生产 α -支链酮酸有着重要的借鉴意义。*Escherichia coli*^[13],*Corynebacterium glutamicum*^[14],*Bacillus subtilis*^[15] 3 种模式菌株都已经通过 α -酮酸中间体合成支链乙醇的研究。异源表达不同来源的 AHAS,异丁醇的产量有所差别。来自 *C. glutamicum* 的 *alsS* 在枯草杆菌中表达,异丁醇的产量为 1.58 g/L。来自枯草杆菌的 *alsS* 基因在 *C. glutamicum* 表达后,异丁醇的产量达到 2.6 g/L。除此之外,AHAS 是合成分支氨基酸的关键酶,同时受到 α -酮酸的调节,其中 α -酮异戊酸与底物竞争性抑制酶活,而同一途径的另两种酮酸(α -酮异己酸,2-酮-3-甲基戊酸)对酶活性影响较小。而且抑制作用的作用点大概在 *ilvC* 编码的亚基的活性中心位置,与 *ilvN* 编码的亚基关系不大,而 *ilvN* 编码的亚基与支链氨基酸的抑制作用相关,所以支链酮酸与支链氨基酸的作用位点和调节机

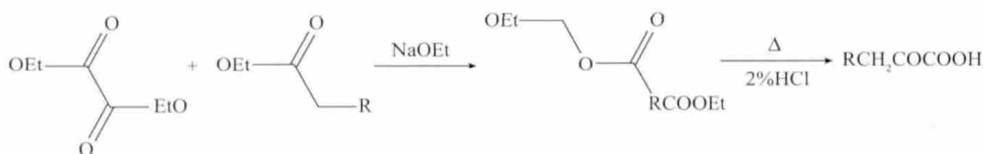
(1) 酰基氧化物水解法



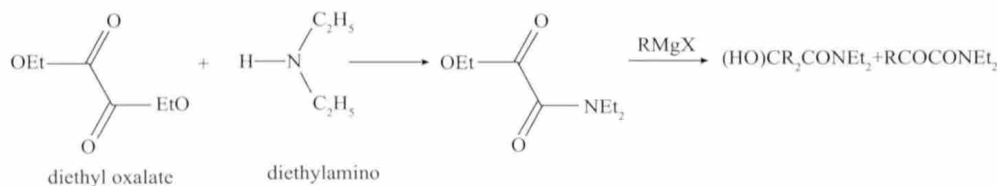
(2) 氧化法

(3) α -酮酸肟及酯的水解反应

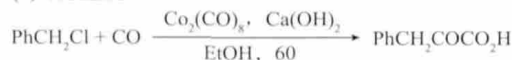
(4) 草酸类已酯水解法



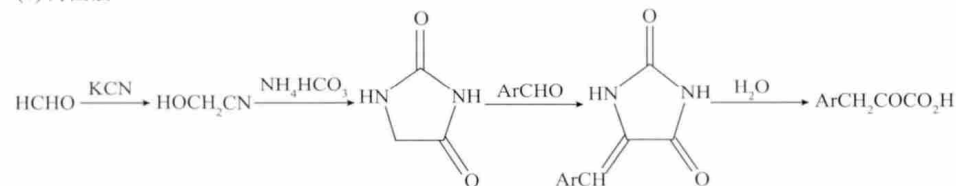
(5) 二乙基草酰胺与格式试剂亲核取代



(6) 双羧基化法



(7) 海因法

图 1 α -酮酸化学合成法Fig.1 Production of α -keto acid by chemical synthesis

制不同。综上,依赖不同的代谢途径改造方法,继续增强 AHAS 酶的活力,改善丙酮酸向酮酸合成的流量,对发酵法生产酮酸有着重要意义。

3 转化法合成酮酸

转化法是利用微生物中某些酶的高选择性的催化特性,对底物的某一部分进行有效的催化反应,使其转化为与底物结构类似,价值更高的产品。转化法可以依赖纯酶,粗酶液,也可以是游离或固定化的细胞,其反应类型种类丰富,操作简单,条件

温和,具有高选择性、高效性、无毒、无污染等特点,广泛用于工业生产当中。目前转化法已用于消旋体的制备、手性化学中间体的合成、生物能源的转化、活性化学品的生产等,如:D型和L型2-萘-丙酮酸的分离,由头孢菌素C合成7-氨基头孢菌烷酸、2,3-丁二醇的生物转化、灰色链霉菌生物转化合成芦丁等。转化法受到多种因素的影响,不论酶转化和微生物转化,对特定酶的改造都是至关重要的。转化法还受到温度、pH、营养物质、抑制剂、底物浓度等多方面的影响,以及转化过程的有机相、双水

相等不同催化体系的影响,因此可以通过调节控制因素和改变催化体系等手段来提高酶的活性和转化效率。

目前,从氨基酸向酮酸转化的酶主要有3种:转氨酶(Aminotransferase, AT, EC 2.6.2.X)^[16]、氨基酸氧化酶(amino acid oxidase, AAO, EC 1.4.3.2 和 EC 1.4.3.3)^[17-19]、膜联L-氨基酸脱氨酶(L-amino acid deaminase, LAD, EC 1.4.3.2)^[20]。其中L-AAO和D-AAO都可以催化脱氨反应,生成相应的酮酸、氨和过氧化氢。而表达在细胞膜上的膜联LAD在脱氨过程中,不会生成过氧化氢,免除了过氧化氢对细菌的毒害作用,极大地方便了脱氨酶的异源表达。

3.1 氨基转移酶

氨基转移酶是一类以吡哆醛-5-磷酸(PLP)为辅因子的用于氨基转移的酶。这类酶在工业生产中应用较多,它可以将氨基转给酮酸或者甲酮(多数以 α -酮戊二酸为底物),生成另一种酮酸和谷氨酸^[21]。在生物体内,氨基转移酶的作用范围广泛,产物多种多样,在肝、脑、肾和多种组织中都发挥重要作用。同时,氨基转移酶含量也可以作为以作为肝炎、血脂异常等疾病的诊断指标^[22-23]。虽然氨基转移酶的底物来源广泛,但是氨基转移酶在工业生产中面临底物/产物抑制, α -酮异戊酸的成本高以及氨基转移酶对温度稳定性差等问题,限制了氨基转移酶在酮酸生产中的应用。

3.2 氨基酸氧化酶

L和D型氨基酸氧化酶是目前研究较多的两种具有脱氨基作用的酶。大多数氨基酸氧化酶是依赖FAD为辅酶的黄素蛋白,可以催化氨基酸氧化脱氨生成相应的酮酸、过氧化氢和氨基。催化过程可以分为两步:第一步是从氨基酸脱下来的氢传递给辅酶FAD生成氨基酸的中间形式,然后立即水解生成酮酸和氨基。第二步是FAD的氢原子将 O_2 还原成过氧化氢,通常在亚氨基酸分解前完成^[24]。氨基酸氧化酶的用途主要分为两类:一类是分泌于体表的氨基酸氧化酶通常是作为分泌者的杀菌剂,因为生成的过氧化氢可以有效抑制细菌感染^[25-27];另一类表达在体内或者细菌来源的氨基酸氧化酶则是参与到氮采集和氨基酸代谢中。氨基酸氧化酶来源广泛,存在于动物、昆虫、细菌、真菌中。蛇毒以及昆虫来源的AAO仍然是氨基酸氧化酶家族的重要一类,而自1944年细菌(*Proteus vulgaris*)来源的氨基

酸氧化酶被发现以后,细菌来源的AAO由于来源广泛,无毒性等特点逐渐受人重视^[28]。从此以后,多种氨基酸氧化酶被发现,在19世纪90年代后,酶的结构成为研究重点,Moustafa等人^[29]和Faust等人^[30]分别获得了来源于蛇毒(*Calloselasma rhodostoma*)和细菌(*Rhodococcus opacus*)的氨基酸氧化酶的结构,同时阐明了该酶的活性位点、作用机制、底物和产物转运通道。不同来源的氨基酸氧化酶有不同的底物范围,如来源于*Rhodococcus opacus*的LAAO可以氧化39种氨基酸及衍生物,而有一些氨基酸氧化酶只可以严格地利用某一构型的一种氨基酸为底物,这类AAO通常以其底物的名称命名,如来自于*Bacillus subtilis*的甘氨酸氧化酶(L-glycine oxidase)^[31]、来自*Streptomyces sp.*的谷氨酸氧化酶(L-glutamate oxidase)^[32]。而在异源表达方面,可能需要转录后修饰等,只有几个LAAO异源表达的文献报道。在2003年,来源于*R. opacus*的LAAO分别在*E. coli*和*Streptomyces lividans*中异源表达,在*E. coli*中,过量表达的酶以包涵体形式存在,而且没有酶活,而与基因来源菌同源性较高的*Streptomyces lividans*则可以作为异源表达稳定的宿主^[33]。DAAO异源表达的研究较多,*R. gracilis*和*T. variabilis*来源的DAAO在毕赤酵母中表达,并且酶的产量达到350 000 U/L和220 000 U/L。近年来,DAAO的改造成为研究热点,通过定点突变、酶的融合等手段,扩大了DAAO的底物范围,改变了催化特性。以*R. gracilis*来源的DAAO为例,改造前此酶无法利用天冬氨酸,经过M213R突变后,对天冬氨酸的氧化能力基本达到与D-天冬氨酸氧化酶同样的活力^[34]。经过M213G突变的*Rg*.DAAO可以提高对D-2-奈-丙酮酸的亲和力,酶的 C_{α} -H的位置在空间构像上更有利于底物结合,突变后的DAAO可以将98%的D-2-奈-丙酮酸转化成相应的L型,并且转化效率提高10倍^[35]。*R. gracilis*来源的DAAO还与*T. variabilis*来源的DAAO发挥不同优势融合成一个酶,但是只是轻微的提高热稳定性(2~5℃)^[36]。

3.3 氨基酸脱氨酶

膜联LAD由于具有不产生过氧化氢,更容易异源表达的特点,近年来成为研究热点。膜上表达的LAD多为来自细菌,如*Proteus*, *Providencia*, *Morganellas*等。不同基因编码的LAD底物范围以及

亲和性也各不相同,甚至来源于同一菌株的不同基因编码的酶也会表现出不同的底物特异性,如 *Proteus mirabilis* 来源的 PM1 只能催化几种氨基酸,而 *Proteus mirabilis* 来源的 PMA 可以催化大多数的氨基酸。膜联 LAD 由于在催化过程中不产生过氧化氢,消除了过氧化氢对细菌的毒害作用,扩展了异源表达的宿主范围。来源于 *Proteus mirabilis* 的 pm1 已经成功在 *E.coli* BL21(DE3) 表达,确定了其对组氨酸、谷氨酸、精氨酸和苯丙氨酸的催化效率较高^[20]。来源于 *Proteus myxofaciens* 的 LAAD 在 *E.coli* K12 中也成功表达,通过全细胞转化确定这个酶主要对脂肪族、芳香族和含硫侧链的氨基酸催化效率较高,并且通过初步纯化表明此酶表达在细胞膜上。膜上表达的 LAD 通常在 N 端有信号肽序列,通过前导肽定位在细胞膜上。Gazi 等人^[9] 试图将 *Proteus mirabilis* 来源的膜联 LAD 变成游离表达,将 N 端的 21~87 个核苷酸去除,结果过量表达的酶为包涵体形式,通过复性和纯化后,酶量为最初的 40%,测定的动力学参数与膜上表达的 LAD 基本相

同。可能信号肽与酶的折叠相关,如果单纯去除信号肽,酶无法正确折叠,进而无法获得有活性的 LAD。

4 展望

α -酮酸作为氨基酸脱氨基的产物,在化学、医药、食品、化妆品领域有着大量的需求,而以氨基酸为原料,将低成本的氨基酸转化成相应高附加值的酮酸,可以获得较高的经济效益。目前酮酸的生物合成方法中,代谢工程改造菌种生产 α -酮酸有着广阔的前景,目前发酵法生产酮酸的产量较低,可以通过进一步的代谢改造提高酮酸产量。虽然具有将氨基酸转化成酮酸能力的酶种类繁多,但是微生物转化法目前研究较少,可以依赖膜联 LAD 进一步提高酶的底物特异性和酶活,或者采用固定化的方法实现工业化大规模生产。而且膜上表达的 LAD 目前仅仅在大肠杆菌中异源表达,可以通过利用不同细胞膜结构的宿主菌,使得酶活进一步提高,早日实现 α -酮酸的生物法大规模生产。

参考文献:

- [1] Aparicio M, Bellizzi V, Chauveau P, et al. Protein-restricted diets plus keto/amino acids—a valid therapeutic approach for chronic kidney disease patients[J]. *Journal of Renal Nutrition*, 2012, 22(2): S1–S21.
- [2] Mou S, Li J, Yu Z, et al. Keto acid-supplemented low-protein diet for treatment of adult patients with hepatitis B virus infection and chronic glomerulonephritis[J]. *Journal of International Medical Research*, 2013, 41(1): 129–137.
- [3] Nian H, Bisson W H, Dashwood W–M, et al. α -Keto acid metabolites of organoselenium compounds inhibit histone deacetylase activity in human colon cancer cells[J]. *Carcinogenesis*, 2009, 30(8): 1416–1423.
- [4] Van Someren K A, Edwards A J, Howatson G. Supplementation with beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) and alpha-ketoisocaproic acid (KIC) reduces signs and symptoms of exercise-induced muscle damage in man[J]. *International Journal of Sport Nutrition & Exercise Metabolism*, 2005, 15(4): 413–424.
- [5] Escobar J, Frank J W, Suryawan A, et al. Leucine and α -ketoisocaproic acid, but not norleucine, stimulate skeletal muscle protein synthesis in neonatal pigs[J]. *The Journal of Nutrition*, 2010, 140(8): 1418–1424.
- [6] Flakoll P, Vandehaar M, Kuhlman G, et al. Influence of alpha-ketoisocaproate on lamb growth, feed conversion, and carcass composition[J]. *Journal of Animal Science*, 1991, 69(4): 1461–1467.
- [7] Hidalgo F J, Delgado R M, Zamora R. Intermediate role of alpha-keto acids in the formation of *Strecker aldehydes* [J]. *Food Chemistry*, 2013, 141(2): 1140–1146.
- [8] Ogo S, Uehara K, Abura T, et al. pH-dependent chemoselective synthesis of alpha-amino acids. Reductive amination of alpha-keto acids with ammonia catalyzed by acid-stable iridium hydride complexes in water [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2004, 126(10): 3020–3021.
- [9] Liu L, Hossain G S, Shin H–D, et al. One-step production of α -ketoglutaric acid from glutamic acid with an engineered l-amino acid deaminase from *Proteus mirabilis*[J]. *Journal of Biotechnology*, 2013, 164(1): 97–104.
- [10] R P. The α -Keto acids[J]. *Ger Offen*, 1976, 2: 541–600.
- [11] 丁威. 海因法合成几种 α -酮酸及 α -酮酸盐[D]. 南京: 东南大学, 2006.
- [12] Krause F S, Blombach B, Eikmanns B J. Metabolic engineering of *Corynebacterium glutamicum* for 2-ketoisovalerate production

- [J]. **Applied and Environmental Microbiology**, 2010, 76(24):8053–8061.
- [13] Atsumi S, Hanai T, Liao J C. Non-fermentative pathways for synthesis of branched-chain higher alcohols as biofuels[J]. **Nature**, 2008, 451(7174):86–89.
- [14] Smith K M, Cho K-M, Liao J C. Engineering *Corynebacterium glutamicum* for isobutanol production [J]. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 2010, 87(3):1045–1055.
- [15] Li S, Wen J, Jia X. Engineering *Bacillus subtilis* for isobutanol production by heterologous ehrlich pathway construction and the biosynthetic 2-ketoisovalerate precursor pathway overexpression [J]. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 2011, 91(3):577–589.
- [16] Freiding S, Ehrmann M A, Vogel R F. Comparison of different *IlvE* aminotransferases in *Lactobacillus sakei* and investigation of their contribution to aroma formation from branched chain amino acids[J]. **Food Microbiology**, 2012, 29(2):205–214.
- [17] Geueke B, Hummel W. A new bacterial L-amino acid oxidase with a broad substrate specificity: purification and characterization [J]. **Enzyme and Microbial Technology**, 2002, 31(1):77–87.
- [18] Pollegioni L, Molla G, Sacchi S, et al. Properties and applications of microbial D-amino acid oxidases: current state and perspectives[J]. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 2008, 78(1):1–16.
- [19] Du X-Y, Clemetson K J. Snake venom L-amino acid oxidases[J]. **Toxicon**, 2002, 40(6):659–665.
- [20] Baek J O, Seo J W, Kwon O, et al. Expression and characterization of a second L-amino acid deaminase isolated from *Proteus mirabilis* in *Escherichia coli*[J]. **Journal of Basic Microbiology**, 2011, 51(2):129–135.
- [21] Taylor P P, Pantaleone D P, Senkpeil R F, et al. Novel biosynthetic approaches to the production of unnatural amino acids using transaminases[J]. **Trends in Biotechnology**, 1998, 16(10):412–418.
- [22] Calderon R M, Cubeddu L X, Goldberg R B, et al. Statins in the treatment of dyslipidemia in the presence of elevated liver aminotransferase levels: a therapeutic dilemma[A]. Elsevier. Mayo Clinic Proceeding[C]. Rochester: Academic Press, 2010:349–356.
- [23] Musso G, Gambino R, Cassader M, et al. A meta-analysis of randomized trials for the treatment of nonalcoholic fatty liver disease [J]. **Hepatology**, 2010, 52(1):79–104.
- [24] Mizutani H, Miyahara I, Hirotsu K, et al. Three-dimensional structure of the purple intermediate of porcine kidney D-amino acid oxidase, optimization of the oxidative half-reaction through alignment of the product with reduced flavin [J]. **Journal of Biochemistry**, 2000, 128(1):73–81.
- [25] Iijima R, Kisugi J, Yamazaki M. A novel antimicrobial peptide from the sea hare *Dolabella auricularia* [J]. **Developmental & Comparative Immunology**, 2003, 27(4):305–311.
- [26] Nagashima Y, Tsukamoto C, Kitani Y, et al. Isolation and cDNA cloning of an antibacterial L-amino acid oxidase from the skin mucus of the great sculpin *Myoxocephalus polyacanthocephalus* [J]. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, 2009, 154(1):55–61.
- [27] Yang H, Johnson P M, Ko K -C, et al. Cloning, characterization and expression of escapin, a broadly antimicrobial FAD-containing L-amino acid oxidase from ink of the sea hare *Aplysia californica* [J]. **Journal of Experimental Biology**, 2005, 208(18):3609–3622.
- [28] Stumpf P, Green D. L-Amino acid oxidase of *Proteus vulgaris*[J]. **Journal of Biological Chemistry**, 1944, 153(2):387–399.
- [29] Moustafa I M, Foster S, Lyubimov A Y, et al. Crystal structure of LAAO from *Calloselasma rhodostoma* with an L-phenylalanine substrate: insights into structure and mechanism[J]. **Journal of Molecular Biology**, 2006, 364(5):991–1002.
- [30] Faust A, Niefind K, Hummel W, et al. The structure of a bacterial L-amino acid oxidase from *Rhodococcus opacus* gives new evidence for the hydride mechanism for dehydrogenation[J]. **Journal of Molecular Biology**, 2007, 367(1):234–248.
- [31] Nishiya Y, Imanaka T. Purification and characterization of a novel glycine oxidase from *Bacillus subtilis* [J]. **FEBS Letters**, 1998, 438(3):263–266.
- [32] Arima J, Sasaki C, Sakaguchi C, et al. Structural characterization of L-glutamate oxidase from *Streptomyces* sp. X-119-6[J]. **FEBS Journal**, 2009, 276(14):3894–3903.
- [33] Geueke B, Hummel W. Heterologous expression of *Rhodococcus opacus* L-amino acid oxidase in *Streptomyces lividans* [J]. **Protein Expression and Purification**, 2003, 28(2):303–309.

- [34] Sacchi S, Lorenzi S, Molla G, et al. Engineering the substrate specificity of d-amino-acid oxidase [J]. **Journal of Biological Chemistry**, 2002, 277(30): 27510-27516.
- [35] Caligiuri A, Darrigo P, Rosini E, et al. Enzymatic conversion of unnatural amino acids by yeast D-amino acid oxidase [J]. **Advanced Synthesis & Catalysis**, 2006, 348(15): 2183-2190.
- [36] Wang S J, Yu C Y, Lee C K, et al. Subunit fusion of two yeast D-amino acid oxidases enhances their thermostability and resistance to H_2O_2 [J]. **Biotechnology Letters**, 2008, 30(8): 1415-1422.

会 议 信 息

会议名称(中文): 全国农业生物化学与分子生物学第十二次学术研讨会

所属学科: 生物物理学、生物化学及分子生物学、细胞生物学、遗传与发育生物学、作物学及林木育种、生物学

开始日期: 2013-12-11

所在城市: 广西壮族自治区南宁市

主办单位: 中国生物化学与分子生物学会农业分会、大北农集团生物技术中心和广西生化与分子生物学会

承办单位: 广西大学

主题: 生化分子生物学新技术、新方法 with 三色农业科技创新

全文截稿日期: 2013-11-20

联系人: 许雷 13661388818

联系电话: 010-82109695

E-MAIL: acsbmb@163.com

会议网站: <http://www.csbmb.org.cn/news.asp?id=414>

会议背景介绍: 科技创新是提高社会生产力和综合国力的战略支撑,创新驱动发展已成为我国社会和经济未来发展方向。农业是我国国民经济的基础产业,但农业科技进步对国民经济的贡献率较低,以知识创新、技术创新、成果创新和产品创制为基础实现粮食安全、生态安全为特点的农业科技创新意义重大。农业的三色革命是农业科技创新的主要载体,而现代生物化学与分子生物学是三色农业的技术核心。为能在农业科技创新和农业三色革命大潮中能有所作为、促进农业生化与分子生物学学科的良性发展、增进同行间的学术交流、搭建研究团队与高新企业间的创新平台、并为各级决策机构制定创新农业技术体系和三色农业革命的发展纲要提供参考,中国生物化学与分子生物学会农业分会、大北农集团生物技术中心和广西生化与分子生物学会联合召开全国农业生化与分子生物学第十二次学术研讨会暨第三次农业生化与分子生物学创新论坛。

会议名称(中文): 2013 生物催化与生物合成工程国际研讨会

会议名称(英文): International Symposium on Biocatalysis and Biosynthetic Engineering 2013

所属学科: 化学生物学、生物物理学、生物化学及分子生物学、生物技术与生物工程

开始日期: 2013-11-11

结束日期: 2013-11-13

所在城市: 上海市黄浦区

具体地点: 华东理工大学

主办单位: 华东理工大学生物反应器工程国家重点实验室

协办单位: 中国微生物学会、上海生物化学与分子生物学会

会议主席: 魏东芝 教授 华东理工大学 联系人: 奕栋 联系电话: 021-64253287 传真: 021-64250068

E-MAIL: isbbe2013@ecust.edu.cn

会议网站: <http://biotech.ecust.edu.cn/newsinfo.aspx?idx=961>

会议背景介绍: 华东理工大学生物反应器工程国家重点实验室、中国微生物学会、上海生物化学与分子生物学会联合定于 2013 年 11 月 11 日至 13 日在华东理工大学举办第六届“生物催化与生物合成工程国际研讨会 2013”(International Symposium on Biocatalysis and Biosynthetic Engineering 2013)。预计将有 200 位中外学者参加本次国际学术会议,其中约 50 人为境外代表。会议邀请国内外知名大学和科研单位专家到会进行深入讨论,为生物技术科研与产业化提供交流机会。会议的主题是“生物催化与生物合成工程”。会议研讨及展览的内容主要包括:1)酶与生物催化:包括酶学和蛋白质研究、生物信息学和结构生物学、新工具酶的筛选等;2)合成生物学:包括合成生物学有关元件模块的发现及组装的技术和研究进展;3)生物过程工程:包括生物过程优化、放大和检测;4)面向应用的生物过程研发:包括医药、生物基化学品等的新技术和新工艺研发。