

探討不同藍藻蛋白合成酶與表現宿主對於藍藻蛋白產量或組成分的影響

黃培騏 (5109)

2023/11/20

大綱

一、前言

- 二、可溶且穩定的藍藻蛋白合成酶提高了大腸桿菌中異源藍藻蛋白的產量。
- 三、谷胺酸棒狀桿菌中異源表達的不同藍藻蛋白合成酶將替代性胺基酸摻入藍藻蛋白中。
- 四、以尿素和氨作為氮源的藍綠菌的生長和藍藻蛋白生產。
- 五、結論

摘要

藍藻蛋白合成酶 1 (CphA1) 可產生藍藻蛋白(cyanophycin) ，也稱為藍藻蛋白基粒肽(cyanophycin grana peptide, CGP) ，主要是由聚-L-天冬胺酸(aspartic acid) 主鏈及 L-精胺酸(arginine)側基所組成，是一種生物聚合物，提高 CGP 產量或生產具有替代胺基酸的 CGP，有利於 CGP 的應用。本次研究目的為探討不同 CphA1 與表現宿主對於 CGP 產量或組成分的影響。來自不同細菌的 CphA1 酶在大腸桿菌中表現時，*Tatumella morbirosei* CphA1 (TmCphA1) 酵素產量特別高，CGP 產量也最高。表現 TmCphA1 的大腸桿菌每公升培養物可生產 1.9 克 CGP(其中 1.8 克為不溶性)。為了擴展 CGP 的應用，藉由谷胺酸棒狀桿菌 (*Corynebacterium glutamicum*)突變體(具有經變異之胺基酸生合成途徑) 生產具有高含量替代胺基酸的 CGP; DM1729 突變體生產的 CGP，賴胺酸(lysine)含量高達 33.5 mol%; 而 ORN2(P_{gdh4})突變體，鳥胺酸(ornithine)含量高達 12.6 mol%。CphA_{Dh} 只生產可溶性 CGP，但 CphA₆₃₀₈Δ1 或 CphA₆₃₀₈Δ1_C595S 可生產可溶性及不溶性 CGP。可表現 CphA_{Dh} 的谷胺酸棒狀桿菌，CGP 含量可達細胞乾重的 36%，每公升培養物可生產 6 克可溶性 CGP。直接從尿液中回收氮的技術常局限於尿液過高的氮磷摩爾比(N:P=30–46:1)，而尿液的高氮濃度也會抑制微生物生長。藍綠菌(cyanobacteria)集胞藻屬 *Synechocystis* sp.將尿素作為唯一氮源時，沒有生長抑制，缺磷可導致 CGP 累積。將培養物以 N:P 為 174:1 的新鮮培養基稀釋會導致快速且短暫的 CGP 累積量高達 11%，之後 CGP 迅速下降至 3%。綜上所述，不同 CphA1 與表現宿主可影響 CGP 產量或其胺基酸組成分，谷胺酸棒狀桿菌突變體則可生產高含量替代胺基酸的 CGP，可表現 CphA_{Dh} 的谷胺酸棒狀桿菌可生產最多可溶性 CGP; 而可表現 TmCphA1 的大腸桿菌則可生產最多不溶性 CGP，*Synechocystis* sp.則可以尿素為氮源生產 CGP，雖產量較低但可應用於從尿液中回收氮。

六、 参考文献

Kyle Swain, Itai Sharon, Wyatt Blackson, Sydney Parrish, Stefan Tekel, T. Martin Schmeing, David R. Nielsen, Brent L. Nannenga. (2023), Soluble and stable cyanophycin synthetase expression enhances heterologous cyanophycin production in *Escherichia coli*. Biochemical Engineering Journal, Volume 195, June 2023, 108916.

Ramona Wördemann, Lars Wiefel, Volker F. Wendisch and Alexander Steinbüchel. (2021), Incorporation of alternative amino acids into cyanophycin by different cyanophycin synthetases heterologously expressed in *Corynebacterium glutamicum*. AMB Express, volume 11, April 2021, Article number: 55.

S. Canizales, M. Sliwzcinka, A. Russo, S Bentvelzen, H. Temmink, A. M. Verschoor, R. H. Wijffels, M. Janssen. (2021), Cyanobacterial growth and cyanophycin production with urea and ammonium as nitrogen source. Journal of Applied Phycology, volume 33, August 2021, pages 3565–3577, Springer Link.