
天津工生所在L-半胱氨酸高通量筛选平台的开发与应用方面获进展

作者：writer 来源：中国科学院

本文原地址：<https://www.iikx.com/news/progress/20338.html>

本文仅供学习交流之用，版权归原作者所有，请勿用于商业用途！

天津工生所在L-半胱氨酸高通量筛选平台的开发与应用方面获进展

L-半胱氨酸是重要的含硫氨基酸，在农业、医药、日化、食品添加剂等行业应用广泛。然而，高浓度L-半胱氨酸具有一定的细胞毒性，在细胞内L-半胱氨酸的合成受到多水平的代谢调控，同时关于L-半胱氨酸细胞代谢调控的认识尚且缺乏，因而通过传统的敲除、过表达等策略较难实现L-半胱氨酸的高效生产。高通量筛选技术是实现菌种定向进化的有力工具，可在缺乏遗传背景的条件下，从大型随机突变体文库中快速筛选出特定的遗传表型。目前，尚无关于L-半胱氨酸高通量筛选方法的报道，限制了L-半胱氨酸工业发酵菌株的开发。

中国科学院天津工业生物技术研究所研究员刘君带领的微生物生理和代谢工程研究组，利用响应L-半胱氨酸的转录调控因子，开发了L-半胱氨酸生物传感器，并建立了L-半胱氨酸高通量筛选平台。相关研究成果发表在*Metabolic Engineering*上。

研究通过体内L-半胱氨酸响应实验、体外凝胶阻滞迁移（EMSA）实验和DNA足迹实验，初步解析了转录调控因子CcdR的调控机理，建立了CcdR转录调控模型，发现了CcdR能够特异性结合L-半胱氨酸，结合到特定启动子 P_{ccdA}

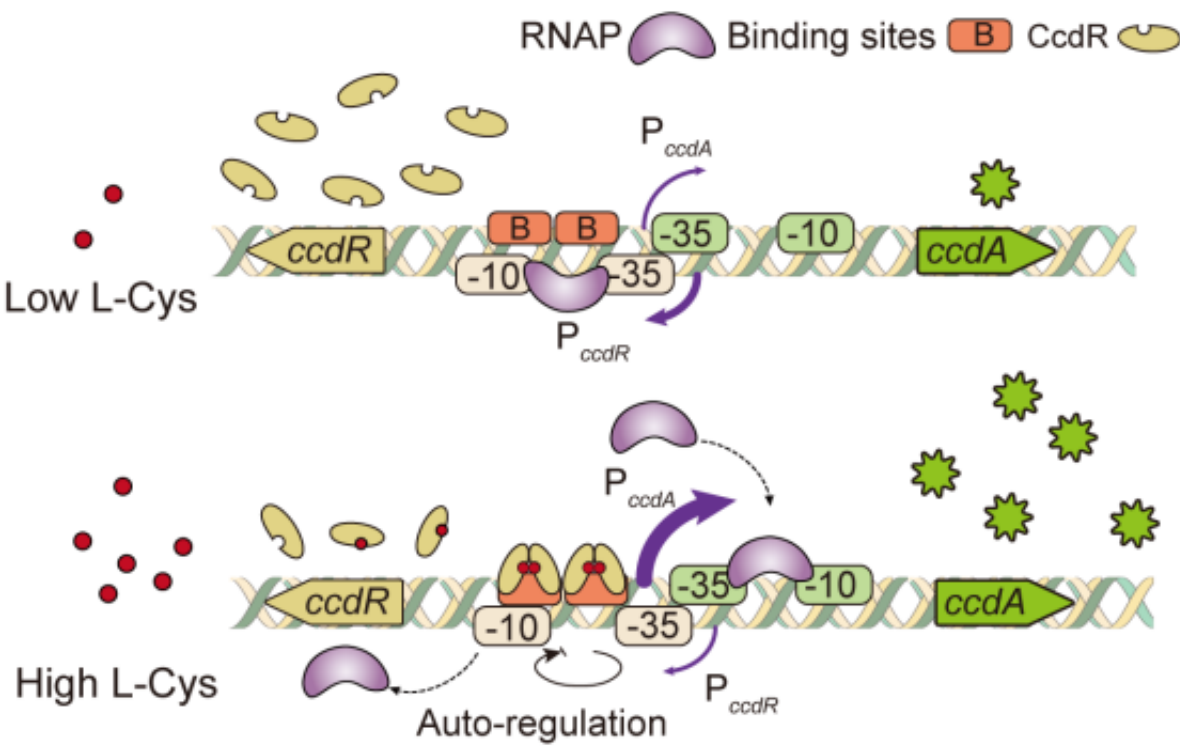
上游DNA序列上，招募RNA聚合酶激活下游 P_{ccdA}

启动子的表达。基于上述原理，科研人员将胞内L-半胱氨酸浓度输入信号与荧光强度的输出信号相偶联，开发设计出L-半胱氨酸生物传感器，实现了对胞内L-半胱氨酸浓度的实时监测。

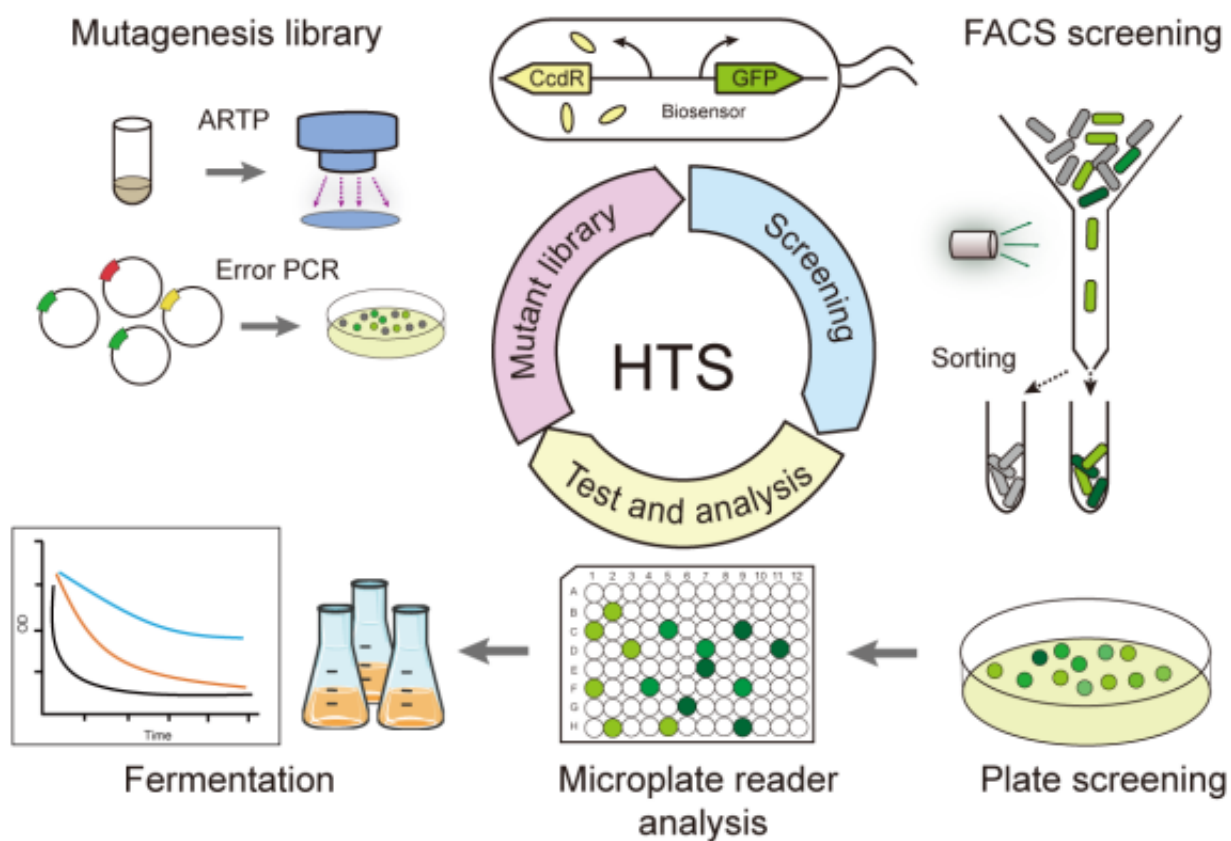
为了进一步提升L-半胱氨酸生物传感器的响应灵敏性和响应强度，科研人员采用多策略优化L-半胱氨酸生物传感器。研究通过转录调控因子半理性设计改造、转录调控因子表达优化以及响应启动子的截短测试等策略，显著提升了L-半胱氨酸生物传感器的响应灵敏性和动态范围。进一步，研究将构建的L-半胱氨酸生物传感器与流式细胞分选技术（FACS）偶联，构建了L-半胱氨酸高通量筛选平台，并分别应用于L-半胱氨酸合成途径关键酶的定向进化和L-半胱氨酸高产菌株的筛选。最终，将关键酶丝氨酸乙酰转移酶活性提升了七倍多，并获得了10株L-半胱氨酸产量显著提升的突变体菌株。

该研究构建的L-半胱氨酸高通量筛选平台具有高特异性、高灵敏性及高分选效率等特点，能够从大规模突变体文库中筛选具有较高生产能力的突变体菌株，为L-半胱氨酸工业菌株的进化和筛选提供了有力工具，可以加快菌种的改造和优化进程，在L-半胱氨酸及其相关产品的生产方面具有较大的应用潜力。

研究工作得到国家重点研发计划、国家自然科学基金、天津市自然科学基金、天津市合成生物技术创新能力提升行动及中国博士后科学基金等的支持。



转录调控因子CcdR调控模型



L-半胱氨酸高通量筛选平台的建立

研究团队单位：天津工业生物技术研究所

更多 科学进展 请访问 <https://www.iikx.com/news/progress/>

本文版权归原作者所有，请勿用于商业用途，[爱科学iikx.com](https://www.iikx.com)转发