大肠杆菌 *araE* 基因对典型苯丙素类化合物转运过程的影响

王 奎[1,2]， 周景文[1,2]， 李江华[*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：为了研究阿拉伯糖转运蛋白对大肠杆菌转运典型苯丙类素化合物的能力，采用基因过量表达和基因沉默技术，实现对蛋白质表达量进行控制，从而研究 AraE 对苯丙类素化合物的转运过程机制。同时，用定量 PCR 技术在转录水平考察并验证了 *araE* 基因的过量表达水平和基因抑制程度。通过测定菌体的生长动力学参数，衡量菌体对典型苯丙素类化合物的转运能力。结果表明，大肠杆菌 *araE* 基因只参与了大肠杆菌对白藜芦醇的转运，对其他种类的苯丙素类化合物作用不明显。

关键词：*araE*；大肠杆菌；苯丙素类化合物；基因沉默；定量 PCR；转运

中图分类号：Q 786　**文献标志码**：A　**文章编号**：1673—1689(2015)08—0856—08

Identification of *araE* Gene Associated with Response to Different Phenylpropanoids by Gene Silencing in *Escherichia coli* BL21

WANG Kui[1,2]， *ZHOU Jingwen*[1,2]， *LI Jianghua*[*1,2]

（1. Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China）

Abstract: AraE is an important unidirectional transport channel protein that could transport some compounds outside the cell. *E. coli* is a common host-bacterial to produce phenylpropanoids, and the growth was inihibited by phenylpropanoids. In order to investigate the transport ability of AraE on phenylpropanoids in *E. coli*, the gene overexpression and silencing routes was used in this study to regulate the expression of AraE. The level of overexpression and silencing was confirmed by qPCR and SDS-PAGE. The transport ability of phenylpropanoids was measured by detection of the recombinant bacterial growth kinetics parameter (μ_{max}) in different typical phenylpropanoids (rutin, naringenin and resveratrol). The result showed that AraE could only transport resveratrol in *E. coli*.

Keywords: *araE*, *E. coli*, phenylpropanoids, gene silencing, qPCR, transport

收稿日期：2014-03-05

基金项目：国家自然科学基金面上项目(31370130)。

* **通信作者**：李江华(1966—)，男，江西九江人，工学博士，教授，博士研究生导师，主要从事酶技术、发酵过程优化与控制方面的研究。E-mail：lijianghua@jiangnan.edu.cn

苯丙素类化合物（phenylpropanoids）是自然界种类最多的多酚类植物次级代谢产物，广泛存在于植物界中，目前发现的种类已超过 8 000 多种。苯丙素类化合物是天然存在的一类苯环与三个直链碳连接构成的酚类化合物，主要包括简单苯丙素、香豆素、木脂素、木质素类和黄酮类[1]。苯丙素类化合物具有广泛的生理功能。在植物体中，苯丙素类化合物主要参与调节植物生长、抵抗紫外伤害、抵抗病毒、信号转导和清除活性氧自由基[2-3]。在生物体内，苯丙素类化合物还具有广泛的药学价值，具有较强的抑菌、抗炎、抗氧化、抗肿瘤、免疫调节、抗癌、抗病毒、降血糖、抗辐射和降血脂等多种生物学作用[4-6]。近年来，由于苯丙素类化合物的广泛应用，其市场每年增长 30%以上。大部分天然苯丙素类化合物在植物体内含量极低，提取法成本高昂且受季节限制较为严重[7]。此外，由于其具有复杂的化学结构，用化学方法合成较困难。这些因素导致了市场上的苯丙素类化合物价格较高，部分甚至处于供不应求的状态[8]。微生物具有生长速度快、适应力强、遗传操作简单等特点，用微生物法合成苯丙素类化合物已经吸引越来越多的科研人员关注。目前许多研究人员利用酿酒酵母（*Saccharomyces cerevisiae*）和大肠杆菌（*Escherichia coli*）等为宿主菌进行苯丙素类化合物的合成[9-11]。

大肠杆菌作为常用的工程菌，遗传背景清晰，分子操作技术完善，是生物技术生产平台的首选，很早就有人通过改造大肠杆菌相关代谢途径生产苯丙素类化合物[12]。目前通过基因工程、代谢工程等技术手段已实现了多种苯丙素类化合物在大肠杆菌中的合成，如柚皮素、白藜芦醇等[13]。但是由于菌体无法快速地将苯丙素类化合物转运出胞外，造成大量的苯丙素类产物在胞内大量积累，对工程菌生长造成毒害作用，极大的限制了产量的进一步提高。因此，特异性或者非特异性的转运通道蛋白对提高产量具有着重要的作用[14]，尤其是单向通道蛋白，可以降低胞内积累的苯丙素类化合物的含量，减少菌体的代谢负担，促进苯丙素类化合物的合成。

AraE 转运蛋白是由 Macpherson 等在 1981 年首次鉴定出来的，最初鉴定的功能是一类阿拉伯糖低亲和力高转运能力的 H^+协同转运蛋白。后来的研究发现，AraE 的功能不仅仅局限于转运阿拉伯糖，对其他的糖类如半乳糖、木糖、核糖和海藻糖等都有一定的转运效果[15]。Yu 等在酿酒酵母中表达大肠杆菌的非特异性阿拉伯糖转运蛋白 AraE 能够使白藜芦醇的产量提高 2.44 倍[16]。也有研究表明，在酿酒酵母中共同表达大肠杆菌来源的 *araE* 基因和其他来源的 *TAL*、*4CL*、*STS* 基因能够使白藜芦醇的产量从 1.27 mg/L 提升到 3.1 mg/L[17]。在工程菌大肠杆菌（BW27784）中协同表达 *4CL*、*STS* 和 *araE* 基因，可使白藜芦醇产量达到 100 mg/L[18]。但是目前还未有阿拉伯糖转运蛋白 AraE 在大肠杆菌内对苯丙素类化合物转运能力的报道。AraE 转运蛋白在酿酒酵母中对白藜芦醇有转运作用是因为白藜芦醇和阿拉伯糖相似都含有多个羟基[16]。作者选取具有相似羟基的两种苯丙素类化合物芦丁和柚皮素，用以观察 AraE 蛋白对其他种类的苯丙素类化合物是否同样有转运作用。藜芦醇、芦丁和柚皮素的结构见图1。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种和质粒 大肠杆菌 *E. coli* BL21（DE3）：宿主菌株；大肠杆菌 *E. coli* JM109：质粒构建菌株；基因操作所用质粒 pMD19-T Simple vector：购自 TaKaRa 公司；基因表达所用的质粒 pRSFDuet-1 和 pACYCDuet-1：购自 Novagen 公司。

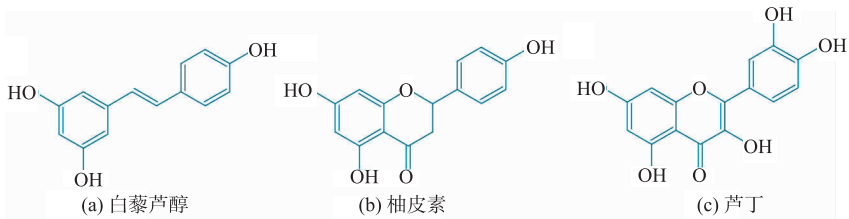


图 1　所选 3 种苯丙素类化合物结构

Fig. 1　Structure of 3 phenylpropanoids

1.1.2 培养基

1)大肠杆菌 LB 培养基:NaCl 10 g/L,胰蛋白胨 20 g/L,酵母浸粉 10 g/L,固体培养基添加琼脂 20 g/L;阳性转化子筛选培养基:LB 培养基中分别加入 500 μg/mL 氨苄青霉素 (质粒 pMD19-T Simple vector)、340 μg/mL 氯霉素 (质粒 pACYCDuet-1)或 100 μg/mL 卡那霉素(质粒 pRSF-PTasRNA)。

2) 菌株生长曲线测定培养基:M9 培养基(13.3 g/L M9CA Broth,0.2 g/dL 葡萄糖 ,1 mmol/L $MgSO_4$,0.5 μg/mL Thiamine·HCl,过滤除菌),1.0 g/L 芦丁或者柚皮素或者白藜芦醇 (DMSO 溶解),100 μg/mL 卡那霉素或者 340 μg/mL 氯霉素 ,IPTG (0,100,200,400 μmol/L)[19]。

1.1.3 酶、引物、DNA Marker 及相关试剂盒

pMD18 -T Simple Vector、LATaq、DNA Marker、Solution I 连接酶、大肠杆菌感受态制备试剂盒、质粒小量抽提试剂盒、胶回收试剂盒、细菌总 DNA 提取试剂盒以及各种内切酶均购自 TaKaRa 公司。本研究中所用的引物合成和测序工作均由生工生物工程(上海)有限公司完成。

1.2 *araE* 过量表达重组菌的构建

以大肠杆菌基因组为模板,引物 P1 和 P2 扩增获得 *araE* 基因片段,使用限制性内切酶位点 *Eco*RI 和 *Hind*III,连入具有氯霉素抗性的 pACYCDuet-1。化学法转入大肠杆菌 *E.coli* BL21 (DE3), 用引物 P3 和 P4 进行菌落 PCR 验证。构建好的菌株命名为 *E. coli* BL21 (DE3)/pACYC-araE。对照菌株为含有空载体 pACYCDueT-1 的 *E. coli* BL21,命名为 *E. coli* BL21 (pACYC),并进行酶切验证。

1.3 基因沉默菌的构建

利用购自 Agilent 公司的 QuikChange II XL 定点突变试剂盒将 pRSFDuet-1 上的 *Xho*I 去掉,即将序列 CTCGAG 突变成序列 CTAGAG,突变后的质粒命名为 pRSFDuet-1 (Mut)。基因沉默质粒特有的 PTasRNA 序列包含的 *trc* 启动子、*lac* 操纵子、38 bp 末端序列和 stem-loop 结构的 *rrn*B 终止子通过 GeneScript 公司合成[20]。将合成好的 PTasRNA 序列和 pRSFDuet-1 (Mut)用内切酶 *Pfo*I 和 *Bam*HI 双酶切后所获得的片段连接即为基因沉默质粒,命名为 pRSF-PTasRNA。

araE 基因的 asRNA 序列(-40 到 130 bp)用引物 P5 和 P6,见表 1。以 *E. coli* BL21 (DE3)基因组为模板进行扩增。片段进行胶回收后与 pMD19-T Simple vector 连接。将连接体系用化学转化法的方法转入 *E. coli* JM109 感受态,并用通用引物进行菌落 PCR 验证。提取阳性转化子质粒送上海生工进行基因测序,测序正确质粒命名为 pMD19-T-Δ*araE*。

将 pMD19 -T -Δ*araE* 和 pRSF -PTasRNA 用 *Xho*I 和 *Nco*I 酶进行双酶切, 胶回收目的片段和酶切后的质粒连接并转化,使用验证引物 P7 和 P8 进行菌落 PCR 验证。提取连接成功的质粒通过化学转化法转入 *E. coli* BL21 (DE3)感受态,构建好的菌株命名为 *E. coli* BL21 (DE3)/pRSF-asRNA-araE。对照菌株用含有空载体 pRSF-asRNA 的 *E. coli* BL21,命名为 *E. coli* BL21 (pRSF-asRNA),见图 2。

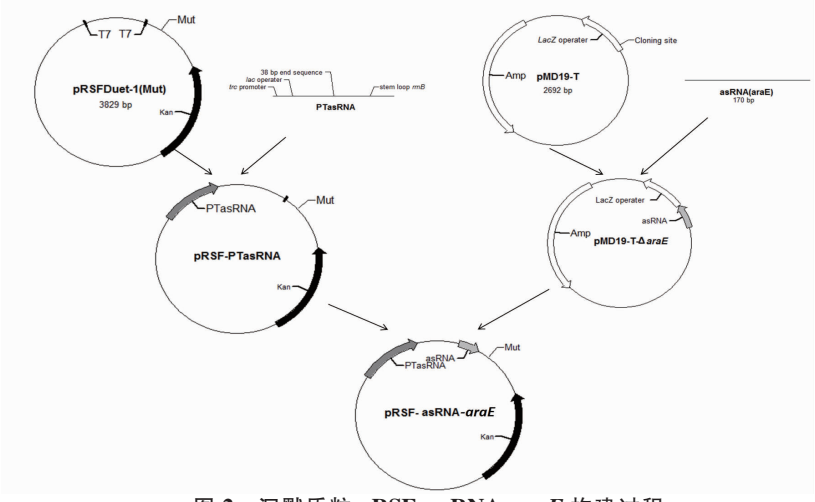


图 2 沉默质粒 pRSF-asRNA-*araE* 构建过程

Fig. 2 Construction of silencing *araE* plasmid pRSF-asRNA-*araE*

1.4　定量 PCR 方法

E. coli BL21 (DE3)的 RNA 提取以及 cDNA 文库的建立,分别参照天根公司的 RNAprep pure Cell/Bateria Kit 和 Takara 公司反转录试剂盒 PrimeScript® RT reagent Kit。参照 Takara 公司的 SYBR Premix Ex Taq 试剂盒和 LightCycler Real Time PCR 扩增仪进行 qPCR 反应。根据 NCBI 公布的 *araE* 的基因序列,由 Beacon Designer 7.0 设计用于 qPCR 的引物 P9 和 P10,内参基因为 16s DNA,引物为 P11 和 P12。按照以下程序进行 qPCR 反应:95 ℃预变性 40 s,95 ℃变性 5 s,57 ℃延伸 30 s,持续 40 个循环,50 ℃冷却 30 s,每个基因做 3 次平行以保证数据的重复性。用 LightCycler 分析绝对定量及相对定量数据。

表 1　构建表达载体时使用的引物序列

Table 1　Oligonucleotides sequence used in vectors construction

引物	碱基序列 (5′→3′)	酶切位点
P1	CGGAATTCCGAATGGTTACTATCAATACGGAATCTGC	*Eco*RI
P2	CCCAAGCTTGGG TCAGACGCCGATATTTCTCAACT	*Hind*III
P3	CTTTAAGAAGGAGATATACCATGGG	
P4	ACAATACGATTACTTTCTGTTCGAC	
P5	CCCTCGAGGGTATTTTTTCACTATGTCTTACTCTCTGC	*Xho*I
P6	CATGCCATGGCATG CGATTACGCCGATATCAAGAC	*Nco*I
P7	GTGAGCGGATAACAATTCCCC	
P8	GGCCGTGTACAATACGATTACTTTC	
P9	GGCTTCCAGTGGCTTGTC	
P10	CAGCGGCTGAATTTCAGA	
P11	GACATCCACAGAACCTTG	
P12	CACCTTCCTCCAGTTTATC	

1.5　SDS-PAGE

挑取 *E. coli* BL21 (pACYC-*araE*)单菌落接种到含有 340 μg/mL 氯霉素的 M9 培养基,30 ℃、200 r/min 活化 10 h。按照 1%的接种体积分数接种到含有 340 μg/mL 氯霉素的 M9 培养基,30 ℃培养 4 h,加入终浓度 100 μmol/L 的 IPTG,诱导 4 h。离心收集 1 mg 菌体,加入 60 μL 含有 Benzonase 的裂解液(裂解液需用 1×PBS 稀释),30 ℃、200 r/min 振荡 30 min。离心收集沉淀,用裂解液清洗沉淀 3 次,加入 60 μL 20% SDS 溶液,用枪头吹吸充分重悬。离心后取 10 μL 上清液,加入 10 μL 上样缓冲液,99 ℃加热 10 min。采用 12 g/dL 分离胶,5 g/dL 浓缩胶进行聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),鉴定蛋白质是否表达。

1.6　重组菌生长动力学参数测定方法

挑取 *E. coli* BL21 (pACYC-*araE*) 或 *E. coli* BL21 (pRSF-asRNA-*araE*)单菌落接种到含有 340 μg/mL 氯霉素的 M9 培养基,37 ℃、200 r/min 活化 10 h。按照 1%的接种体积分数接种到过量表达菌株生长曲线测定培养基中。将接种后的培养基分装至 96 孔板中,每孔 200 μL,置于预热至 30 ℃的 96 孔板振荡器上,900 次/min 振荡培养,每隔 1 小时用酶标仪测量 OD_{600} 直至生长至稳定期[21]。将获得的数据通过软件 OriginPro 8.5 通过公式拟合得出菌株在不同条件下的最大比生长速率(μ_{max})[22]。

$$\mu=\mu_{max}e^{\frac{-(t-t_{max})^2}{2t_L^2}} \quad (1)$$

其中,μ_{max} 为最大比生长速率;t_{max} 为 μ 达到最大值时的时间;t_L 为延迟期的时间。

2　结果与分析

2.1　*araE* 基因的转录水平分析

通过对 *araE* 基因过量表达和基因沉默控制阿拉伯糖转运蛋白 AraE 在细胞内的含量。过量表达可以提高转录水平,进而提高蛋白质含量。基因沉默是通过表达一段 asRNA 序列,导致基因转录失败,进而导致蛋白质含量的减少。定量 PCR 结果显示,在 100 μmol/L IPTG 诱导下,基因沉默导致菌体内 *araE* 基因 mRNA 水平下降了 10 倍,而过量表达使菌株体内 *araE* 基因 mRNA 水平上调了 12 倍,见

图3。

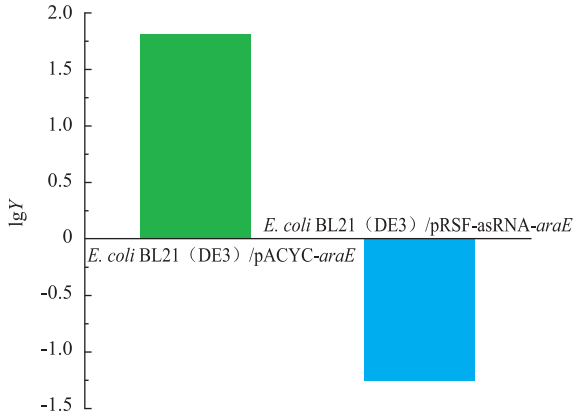
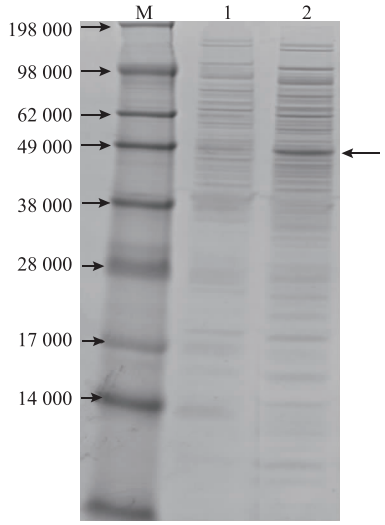


图 3　不同菌株 *araE* 基因转录水平定量 PCR验证

Fig. 3　Relative expression levels of *araE* gene in different strains

2.2　*araE* 基因过量表达的 SDS-PAGE 验证

对菌株 *E. coli* BL21（pACYC-*araE*）不可溶性蛋白进行 SDS-PAGE 电泳鉴定。图 4 显示，所构建的重组菌株 *E. coli* BL21（pACYC-*araE*）在相对分子质量约为 47 000 处明显比对照菌表达量大，与预期相符，说明 AraE 蛋白在大肠杆菌中实现了过量表达。



1. Marker;2. *E. coli* BL21（DE3）;3. *E. coli* BL21（pACYC-araE）

图 4　AraE 在大肠杆菌中表达的 SDS-PAGE

Fig. 4　SDS-PAGE analysis of recombinant AraE in *E. coli* BL21（DE3）

2.3　*araE* 过量表达重组菌株对不同种类苯丙素类化合物的转运能力

E. coli BL21（DE3）在 M9 培养基中的 μ_{max} 达到 0.52 h^{-1}，添加 400 μmol/L IPTG 后，μ_{max} 下降到 0.45 h^{-1}。基因过量表达菌株 *E. coli* BL21（DE3）/pACYC-*araE* 在 1.0 g/L 芦丁环境中，通过不同浓度的 IPTG（0、100、200、400 μmol/L）来控制其表达量，发现其最大比生长速率分别为 0.24、0.21、0.17、0.13 h^{-1}；在 1.0 g/L 柚皮素的环境中，其最大比生长速率分别为 0.21、0.19、0.17、0.16 h^{-1}；在 1.0 g/L 白藜芦醇的环境中，其最大比生长速率分别为 0.13、0.17、0.21、0.29 h^{-1}，见图 5。

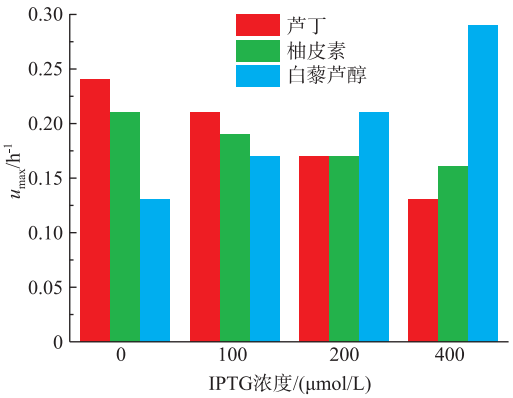


图 5　*araE* 过量表达菌株在不同浓度 IPTG 诱导后在不同种类苯丙素类化合物刺激下最大比生长速率

Fig. 5　μ_{max} of *E. coli* BL21（DE3）/pACYC-*araE* in the 1 g/L rutin, naringenin or resveratrol and induced by different concentrations of IPTG

对过量表达菌株 *E. coli* BL21（DE3）/pACYC-araE 在三种不同物质刺激下的生长曲线的研究发现，随着 IPTG 浓度的增加，也即 AraE 蛋白质表达量的增加，发现 *E. coli* BL21（DE3）/pACYC-*araE* 菌株在芦丁和柚皮素的刺激下的最大比生长速率都略微下降，下降幅度和原始菌株随着 IPTG 浓度增加下降的幅度差不多，说明 AraE 蛋白表达量的增加对于提高大肠杆菌在芦丁或者柚皮素的环境中的生长速率没有作用，也即说明 AraE 蛋白对于芦丁或者柚皮素没有转运作用。但是 *E. coli* BL21（DE3）/pACYC-*araE* 在白藜芦醇的环境中随着 IPTG 浓度的增加，也即 AraE 蛋白表达量的增加，最大比生长速率也增加，说明 AraE 蛋白能够有效地提升大肠杆菌在白藜芦醇中的生长速率，也即 AraE 蛋白在大肠杆菌中也能转运白藜芦醇。这与先前的研究酿酒酵母中 AraE 蛋白能够转运白藜芦醇结果相一致[16,23]。

2.4 *araE* 基因沉默菌株对不同种类苯丙素类化合物的转运能力

基因沉默菌株 *E. coli* BL21 (DE3)/pRSF-asRNA-*araE* 在 1.0 g/L 芦丁环境中,通过不同浓度的 IPTG (0、100、200 和 400 μmol/L)来控制其表达量,发现其最大比生长速率分别为 0.24、0.22、0.19、0.14 h^{-1};在 1.0 g/L 柚皮素的环境中,其最大比生长速率分别为 0.21、0.18、0.16、0.14 h^{-1};在 1.0 g/L 白藜芦醇的环境中,其最大比生长速率分别为 0.13、0.08、0.04、0.02 h^{-1},见图 6。

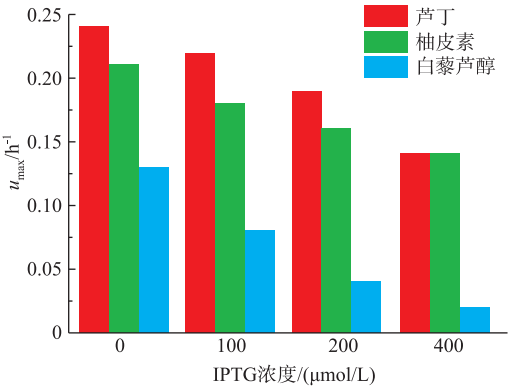


图 6 *araE* 基因沉默菌株在不同浓度 IPTG 诱导后在不同种类苯丙素类化合物刺激下最大比生长速率

Fig. 6 μ_{max} of *E. coli* BL21 (DE3)/pRSF-asRNA-*araE* in the 1 g/L rutin, naringenin or resveratrol and induced by different concentrations of IPTG

对于基因沉默菌株 *E. coli* BL21 (DE3)/pRSF-asRNA-*araE* 生长曲线的研究发现,AraE 蛋白质表达量的降低能够降低大肠杆菌对于白藜芦醇的耐受,而对于芦丁和柚皮素没有很明显的效果。这个结果和基因过量表达的结果相符,从两方面说明了 AraE 蛋白在大肠杆菌能够转运白藜芦醇,而对芦丁和柚皮素没有转运效果[24]。由于白藜芦醇和 AraE 蛋白底物都具有多个羟基,并且都具有一定的极性,所以 AraE 对于白藜芦醇也具有一定的转运效果[25]。

3 结 语

随着苯丙素类化合物对肿瘤、抗氧化等方面的研究深入,市场对其需求日益增加[26]。目前关于苯丙素类化合物合成研究也日益加快,在大肠杆菌以及酿酒酵母中都已成功构建苯丙素类化合物的合成途径[27],所以解决高浓度苯丙素类化合物在胞内的积累问题迫在眉睫,急需找到苯丙素类化合物的高效转运蛋白,降低胞内的产物含量,降低代谢负担,实现高效的苯丙素类化合物生产[28]。

作者考察了 AarE 通道蛋白对 3 种典型苯丙素类化合物的转运情况,通过蛋白质表达水平的差异,实现通道蛋白转运能力的控制,结果首次发现了大肠杆菌中的 *araE* 基因能够提升大肠杆菌对白藜芦醇的耐受能力,该研究对国内开发使用大肠杆菌生产白藜芦醇有一定的指导意义。但是关于转运机理还需进一步研究,而不仅仅局限识别羟基基团,同时对芦丁和柚皮素的转运蛋白也还需进一步研究。

作者所采用的基因沉默手段,解决了蛋白质表达水平控制方面的难题。目前国内的研究多数通过基因敲除手段实现酶的表达量降低,所需的实验操作繁琐,费时长,而且在一些菌种不易实现。采用在转录水平上的 mRNA 调控,可以方便快速的抑制目的基因的表达,实现代谢流的调控,对今后的相关研究有借鉴作用。

参考文献:

[1] Cushnie T, Lamb A J. Antimicrobial activity of flavonoids [J]. **International Journal of Antimicrobial Agents**, 2005, 26(5): 343-356.

[2] Agati G, Brunetti C, Di Ferdinando M, et al. Functional roles of flavonoids in photoprotection: New evidence, lessons from the past[J]. **Plant Physiology and Biochemistry**, 2013, 72: 35-45.

[3] 尤新. 食品抗氧化剂与人体健康[J]. 食品与生物技术学报, 2006, 25(2): 1-5.
YOU Xin. Food Anti-Oxidants and Their Inflence to Human Health [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2006, 25(2): 1-5. (in Chinese)

[4] Ferreyra M L F, Rius S P, Casati P. Flavonoids: biosynthesis, biological functions, and biotechnological applications[J]. **Frontiers in Plant Science**, 2012, 3(222): 1-15.

[5] 陈丛瑾, 王琪, 李欣. 黄酮类化合物抗氧化和抑菌生物活性研究进展[J]. 中国药房, 2011, 22(35): 3346-3348.

CHEN Congjin,WANG Qi,LI Xin. The progress of antioxidant and bacteriostasis bioactive of flavonoids [J]. **Chinese Pharmacy**,2011,22(35):3346-3348. (in Chinese)

[6] 马兵钢,郝青南,马超. 大豆异黄酮分离检测及保健功效的研究[J]. 食品与生物技术学报,2008,27(6):69-72.
MA Binggang,HAO Qingnan,MA Chao. The methods of separation and detection for soybean isoflavones and hygienical functions of soybean isoflavones[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**,2008,27(6):69-72. (in Chinese)

[7] 于涛,钱和. 膜分离技术在提取银杏叶黄酮类化合物中的应用[J]. 无锡轻工大学学报,2004,23(6):55-58.
YU Tao,QIAN He. The application of membrane technology in extracting flavones compounds in ginkgo leaves [J]. **Journal of Wuxi University of Light Industry**,2004,23(6):55-58. (in Chinese)

[8] Fowler Z L,Koffas M A. Biosynthesis and biotechnological production of flavanones:current state and perspectives [J]. **Applied Microbiology and Biotechnology**,2009,83(5):799-808.

[9] Leonard E,Yan Y,Fowler Z L,et al. Strain improvement of recombinant *Escherichia coli* for efficient production of plant flavonoids[J]. **Molecular Pharmaceutics**,2008,5(2):257-265.

[10] Yan Y,Kohli A,Koffas M A. Biosynthesis of natural flavanones in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. **Applied and Environmental Microbiology**,2005,71(9):5610-5613.

[11] Zhou J,Du G,Chen J. Novel fermentation processes for manufacturing plant natural products [J]. **Current Opinion in Biotechnology**,2014,25:17-23.

[12] Horinouchi S. Combinatorial biosynthesis of plant medicinal polyketides by microorganisms [J]. **Current Opinion in Chemical Biology**,2009,13(2):197-204.

[13] Pandey R P,Malla S,Simkhada D,et al. Production of 3-O-xylosyl quercetin in *Escherichia coli* [J]. **Applied Microbiology and Biotechnology**,2013,97(5):1889-1901.

[14] Yazaki K. Transporters of secondary metabolites[J]. **Current Opinion in Plant Biology**,2005,8(3):301-307.

[15] Kolodrubetz D,Schleif R. L-arabinose transport systems in *Escherichia coli* K-12 [J]. **Journal of Bacteriology**,1981,148(2):472-479.

[16] Wang Y,Halls C,Zhang J,et al. Stepwise increase of resveratrol biosynthesis in yeast *Saccharomyces cerevisiae* by metabolic engineering[J]. **Metabolic Engineering**,2011,13(5):455-463.

[17] Jeandet P,Delaunois B,Aziz A,et al. Metabolic engineering of yeast and plants for the production of the biologically active hydroxystilbene,resveratrol[J]. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**,2012,2012(1):1-14.

[18] Watts K T,Lee P C,Schmidt-Dannert C. Biosynthesis of plant-specific stilbene polyketides in metabolically engineered *Escherichia coli*[J]. **BMC Biotechnology**,2006,6(1):22.

[19] Watts K T,Lee P C,Schmidt - Dannert C. Exploring recombinant flavonoid biosynthesis in metabolically engineered *Escherichia coli*[J]. **Chembiochem**,2004,5(4):500-507.

[20] Nakashima N,Tamura T,Good L. Paired termini stabilize antisense RNAs and enhance conditional gene silencing in *Escherichia coli*[J]. **Nucleic Acids Research**,2006,34(20):138-138.

[21] Elowitz M B,Surette M G,Wolf P-E,et al. Protein mobility in the cytoplasm of *Escherichia coli* [J]. **Journal of Bacteriology**,1999,181(1):197-203.

[22] 宋健,林建群,金燕,等. 以比生长速率时间曲线为基础的生物群体生长数学模型[J]. 微生物学通报,2007,34(5):836-838.
SONG Jian,LIN Jian Qun,JIN Yan,et al. A new population growth model based on the time dependent changes of the specific growth rate[J]. **Microbiology China**,2007,34(5):836-838. (in Chinese)

[23] Jeandet P,Vasserot Y,Chastang T,et al. Engineering microbial cells for the biosynthesis of natural compounds of pharmaceutical significance[J]. **BioMed Research International**,2013,20(3):56-61.

[24] Khlebnikov A,Datsenko K A,Skaug T,et al. Homogeneous expression of the PBAD promoter in *Escherichia coli* by constitutive expression of the low-affinity high-capacity AraE transporter[J]. **Microbiology**,2001,147(12):3241-3247.

[25] Buschke N,Schafer R,Becker J,et al. Metabolic engineering of industrial platform microorganisms for biorefinery applications-optimization of substrate spectrum and process robustness by rational and evolutive strategies[J]. **Bioresource Technology**,2013,135:544-554.

[26] 丁利君,苏桂良. 微波辅助提取蜈蚣草黄酮及其抗氧化[J]. 食品与生物技术学报,2009,28(5):79-85.

DING Lijun,SU Guiliang. Extraction of flavonoids from ladder brake with microwave and its antioxidative activity [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**,2009,28(5):79-85. (in Chinese)

[27] Wu J,Du G,Zhou J,et al. Metabolic engineering of *Escherichia coli* for (2 S)-pinocembrin production from glucose by a modular metabolic strategy[J]. **Metabolic Engineering**,2013,16:48-55.

[28] Wu J,Liu P,Fan Y,et al. Multivariate modular metabolic engineering of *Escherichia coli* to produce resveratrol from l-tyrosine[J]. **Journal of Biotechnology**,2013,167(4):404-411.

会 议 信 息

会议名称(中文):第十二届全国酶学学术讨论会

所属学科:化学生物学,生物物理学、生物化学及分子生物学,生物及医药化工

开始日期:2015-10-16 结束日期:2015-10-18

所在城市:山东省 威海市

主办单位:中国生物化学与分子生物学会酶学专业委员会、浙江清华长三角研究院、上海交通大学生命科学技术学院、山东大学(威海)

联系人:牟航 联系电话:0571-83785617

E-MAIL:muhang@126.com 会议网站:http://www.csbmb.org.cn/news.asp?id=501

会议背景介绍:由中国生物化学与分子生物学会酶学专业委员会、浙江清华长三角研究院、上海交通大学生命科学技术学院、山东大学(威海)共同主办的第十二届全国酶学学术讨论会定于 2015 年 10 月 16-18 日在山东威海举行。本次学术会议将邀请在国内外酶学研究领域有重要影响的科学家做大会特邀报告,同时也为活跃在本领域的中青年工作者提供学术交流的平台。全国酶学学术讨论会是由我国著名的生物学家邹承鲁先生倡导并发起举办的学术会议,是我国酶学领域具有重要影响的专业学术会议。酶学是生物化学与分子生物学研究的重要组成部分,当代酶学研究已经渗透到生物学各个分支学科专业领域,包括细胞生物学、结构生物学、肿瘤生物学、信号传递与转导、代谢及调控、合成生物学等,越来越成为交叉边缘的研究热点。对酶学基础及应用基础问题的探讨,将促进对生命本质的深刻认识,也将促进酶生物技术在医药、化工、能源及环境等领域的发展,为促进社会经济的可持续发展奠定基础。

会议名称(中文):第十届生物计算理论及应用国际会议

会议名称(英文):The 10th International Conference on Bio-inspired Computing: Theories and Applic

所属学科:计算数学与科学工程计算,生物技术与生物工程,控制系统仿真技术

开始日期:2015-09-25 结束日期:2015-09-28

所在城市:安徽省 合肥市 主办单位:中国科学技术大学 华中科技大学

联系人:沈同学 联系电话:15256999972 E-MAIL:swycpp@gmail.com

会议网站:http://2015.bicta.org/

会议背景介绍:Bio-inspired computing is a field of study that abstracts computing ideas (data structures, operations with data, ways to control operations, computing models, etc.) from the living phenomena or biological systems such as evolution, cell, tissue, neural network, immune system and ant colony. The areas of bio-inspired computing include evolutionary computation, DNA and molecular computing, membrane computing, neural computing, artificial immune systems, swarm intelligence, etc.The 10th International Conference on Bio-inspired Computing: Theories and Applications (BIC-TA 2015) will be held on 25th—28th September, 2015, in Hefei, China. The conference aims to provide a high-level international forum for researchers working in the field of bio-inspired computing to present their recent results and to exchange ideas. The conference invites researchers to contribute high-quality original research papers in any aspect of bio-inspired computing.