



Bacterial enzymes involved in lignin degradation

李岚宇
2018年4月29日

CONTENTS

01

文献相关信息

02

真菌酶 VS 细菌酶

03

文章内容简述

04

收获与感悟



01

文献相关信息

·Journal of Biotechnology

·格罗宁根大学





Contents lists available at [ScienceDirect](https://www.sciencedirect.com)

Journal of Biotechnology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jbiotec



Review

Bacterial enzymes involved in lignin degradation

Gonzalo de Gonzalo^a, Dana I. Colpa^b, Mohamed H.M. Habib^{b,c}, Marco W. Fraaije^{b,*}

^a Departamento de Química Orgánica, Universidad de Sevilla, c/Profesor García González 1, 41012 Sevilla, Spain

^b Molecular Enzymology, Groningen Biomolecular Sciences and Biotechnology Institute, University of Groningen, Nijenborgh 4, 9747 AG Groningen, The Netherlands

^c Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Pharmacy, Cairo University, 11562 Kasr El-Aini Street, Cairo, Egypt



《Journal of Biotechnology》

BIOTECHNOLOGY & APPLIED MICROBIOLOGY

生物工程与应用微生物



影响因子: 2.599



期刊特点

在生物工程生物技术类杂志中
风评较好，接受文章范围广，德国
主编审稿细致认真，效率高。





university of
groningen

Baidu 百科



格罗宁根大学

格罗宁根是荷兰最有朝气的城市，十七万居民中有超过40000名学生，一半人口年龄在35岁以下，是真正意义上的“大学城”。格罗宁根大学同样位列世界百强学校。





02

木质素降解中的 真菌酶 VS 细菌酶

·木质素降解

·真菌酶 VS 细菌酶



木质素降解中的 真菌酶 VS 细菌酶——木质素降解

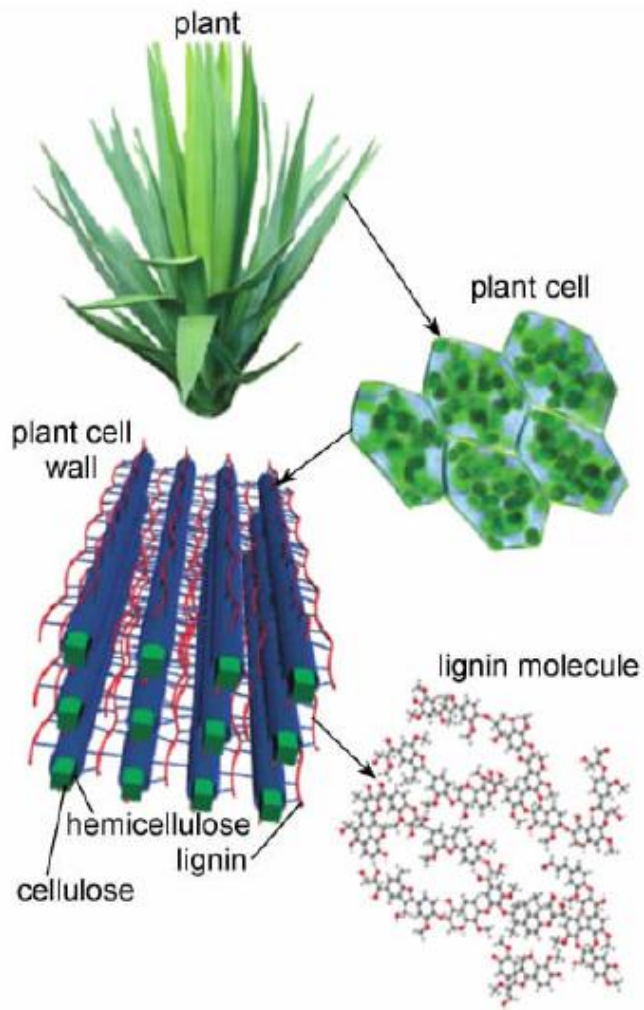
科学界有一句关于木质素的谚语：
You can make anything out of lignin, except money.

为什么？

当前的应用研究情况如何？

木质纤维素常见于草、木材、秸秆及由其产生的植物固体废弃物，主要由纤维素、半纤维素和木质素三种成分组成。其中前两者占50-70%且结构相对简单，分解纤维素和半纤维素可以得到葡萄糖和木糖，然后可再通过生物发酵或者化工催化的方式转化为燃料乙醇、汽油、二醇等。

剩下15-30%则是结构复杂的木质素，目前应用与研究远落后于前两者。



为什么要降解木质素？

木质素宏观上使植物能够产生坚硬的机械结构增加植物本身强度，但更主要的是可以防止纤维素和半纤维素的水解，使得循环利用更加困难，木质素目前已被认为是上个世纪叶的主要工业副产物之一，据估计，来自于造纸废液中的木质素，仅有1%-2%被用作制造其它特殊产品。



木质素降解中的 真菌酶 VS 细菌酶——木质素降解

目前有哪些主要的木质素降解酶？

怎么降解木质素？

物理法（研磨）、溶剂分馏法(有机溶剂溶胶法、磷酸法和离子液体法等)、化学法(酸法、碱法和氧化法)、酶法/微生物降解法。



刨去酶法/微生物降解法，剩余理化方法降解速度较快，但条件苛刻，产率较低，成本虽然低廉，但纯度较差，且副产物对环境影响较大。

怎么做？



+

LiP: lignin peroxidase（木质素过氧化物酶）

MnP: manganese peroxidase（锰过氧化物酶）

VP: versatile peroxidase（多功能过氧化物酶）

Lac: laccase（漆酶）

DyP: dye-decolorizing peroxidase（染料脱色过氧化物酶）



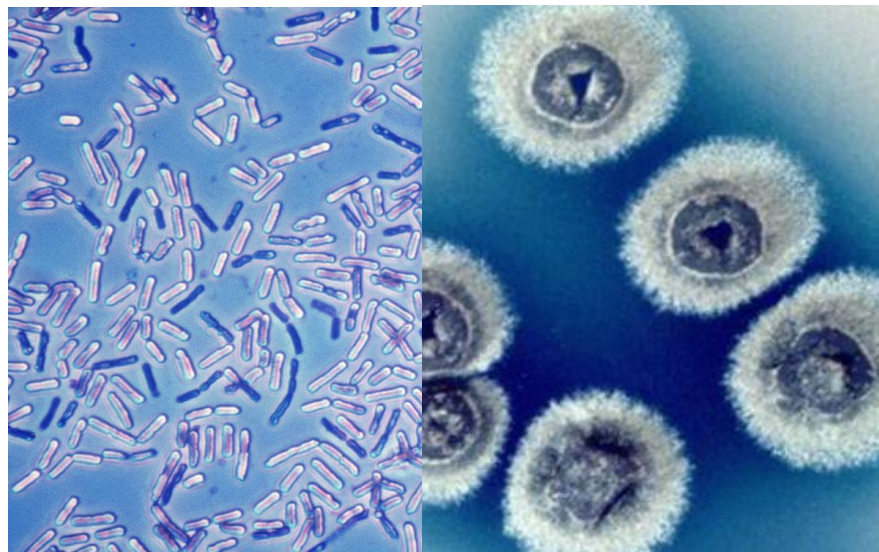
木质素降解中的 真菌酶 VS 细菌酶——孰优孰劣

“不管白猫黑猫，抓到老鼠就是好猫。”



真菌

- (1) 多为LiPs、MnPs、Lac和VPs酶，种类较多；
- (2) 研究较早，具有成熟的知识体系，酶活较强；
- (3) 真核生物，形态稳定结构复杂，当前应用方便，但较难进行修饰改造方面的研究。



细菌（与放线菌）

- (1) 以Dyps酶为主，以及极少部分的类Lac、Lips酶；
- (2) 研究起步较晚，储备不够充分，单一酶活比真菌低；
- (3) 易突变，基因编辑或改造手段容易奏效，未来用途更为广泛。





03

文章内容简述

·文章结构

·文章知识点

·未来展望





1.摘要与介绍



2.在木质素 上作用的细菌酶

- (1) Dyp型过氧化物酶
- (2) 细菌型漆酶



3. 总结与展望



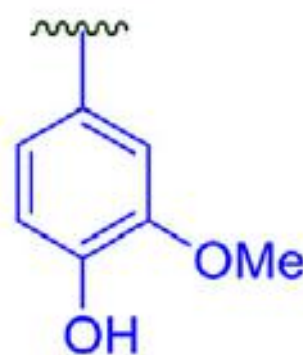
木质素单体间的连接方式&木质素为何难以降解?

研究连接方式前，首先需要了解木质素基本单体即结构单元分别是什么。



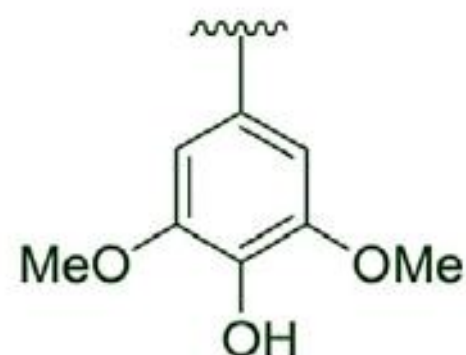
4-hydroxyphenyl (H)
group

4-羟苯基（对羟苯基）



Guaiacyl (G)
group

愈创木基



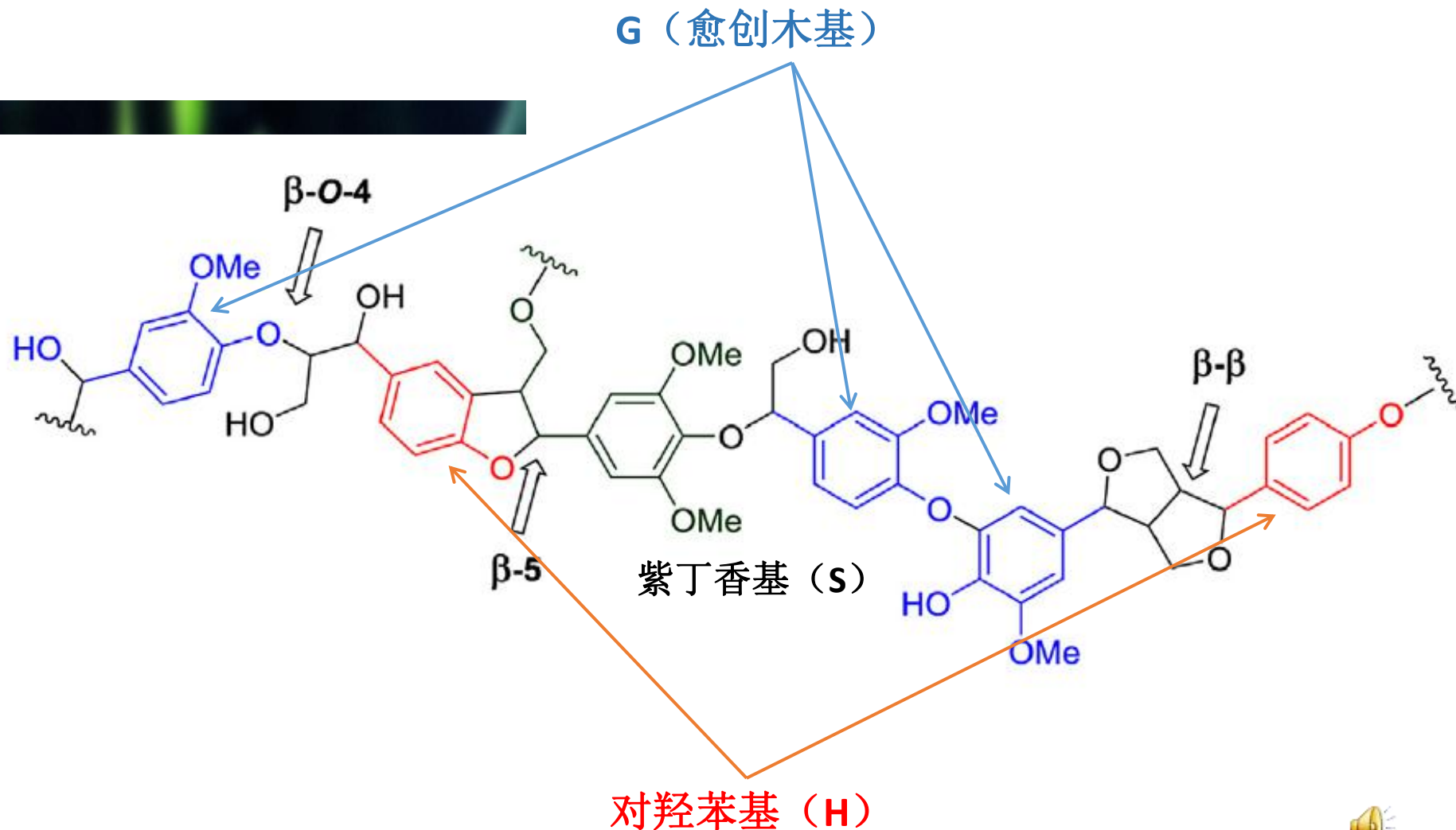
Syringyl (S)
group

紫丁香基



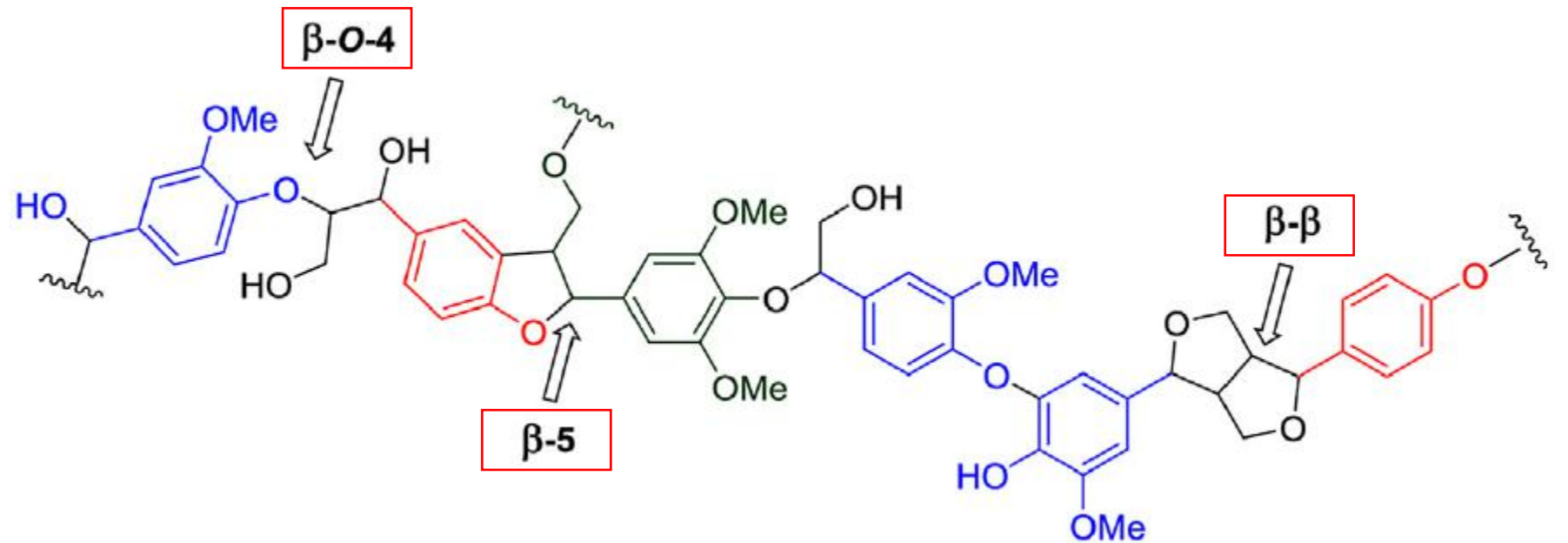
木质素单体间的连接方式&木质素为何难以降解?

右图是木质素结构的简单例子，其中包含最常见的化学键，以及相应的单体结构。



木质素单体间的连接方式&木质素为何难以降解?

木质素单体可以通过不同的键链接，主要通过 β -C碳来耦合。最常见的联系是 β - β 、 β -O-4和 β -5键。



当然单体间耦合的方式不止这三种



木质素单体间的连接方式&木质素为何难以降解?

木质素单体可以通过不同的键链接，主要通过通过 β -C碳来耦合。最常见的联系是 β - β 、 β -O-4和 β -5键。

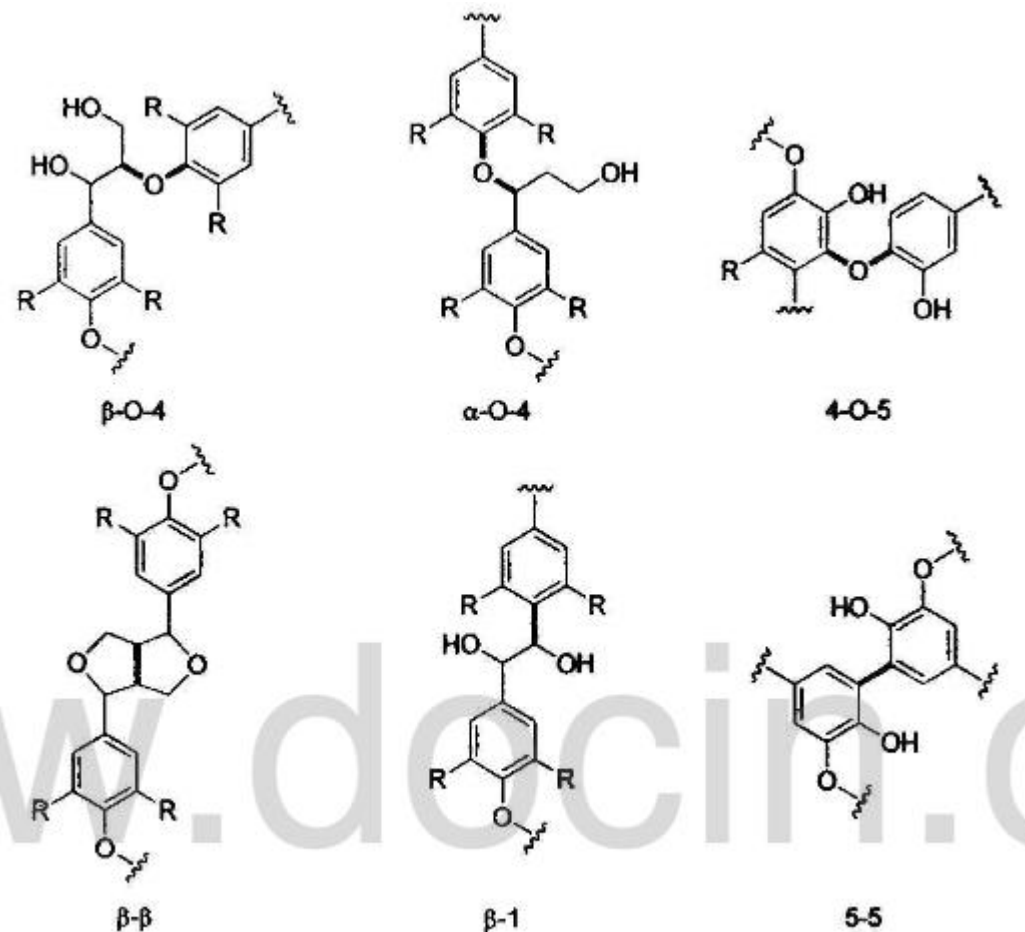


图 1-2 木质素部分连接方式





Dyp型过氧化物酶

Dye-decolorizing peroxidase (染料脱色过氧化物酶) (DyPs, EC 1.11.1.19), 是一种新发现的过氧化物酶家族, 在1999年被分离和鉴定出来, 因其在最早在偶氮染料上的活性, 而为这一家族命名。

特征1

dyp编码基因在细菌基因组中大量存在。

特征2

DyPs被划分为4类。A-C型酶主要存在于细菌中, 而D类DyPs主要是真菌酶。A型DyPs确定为分泌的胞外酶。B、C型DyPs的蛋白序列没有发现分泌信号肽, 表明它们是胞内酶。细菌型DyPs的氧化能力比真菌Dyps的要低。

特征3

Dyps具有非常广泛的应用底物, 包括几种合成染料、单酚类化合物、藜芦醇、 β -胡萝卜素以及木质素相关化合物。



特征1

dyp基因在细菌中大量存在

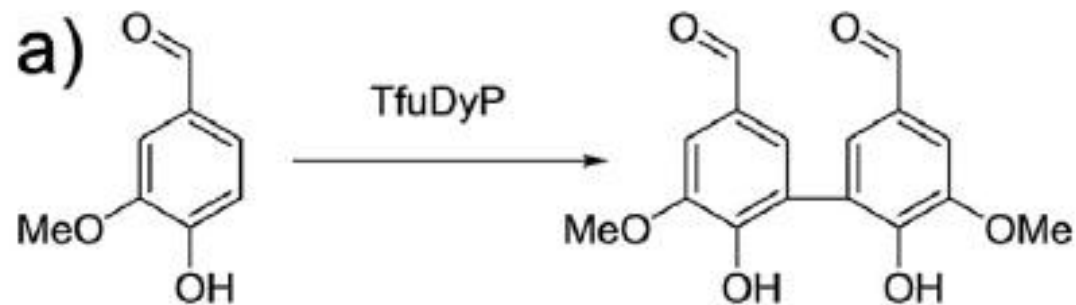
Table 1

Occurrence of DyPs in bacterial genomes. By performing a BLASTP analysis of the predicted proteomes, homologs of known DyPs were identified.

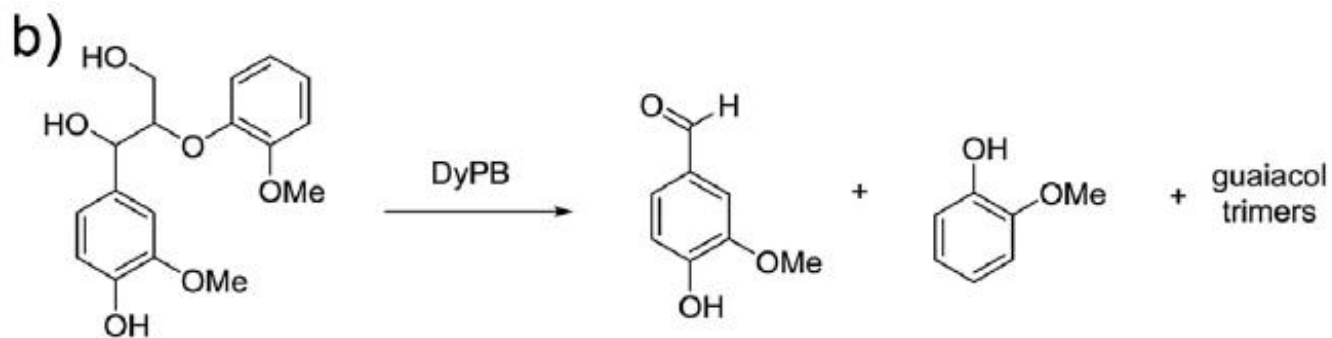
Organism	DyP type		
	A	B	C
埃希氏菌属K-12	1	1	
暗温双歧菌属 YX	1		
红球菌属RHA1	1	1	
绿孢链霉菌属 T7A	1		
天蓝色链霉菌属 A3 (2)	2	1	
拟无枝酸菌属75iv2	1		2
假单胞菌属YS-1p		2	



不同菌株所产Dyps的“工作方式”



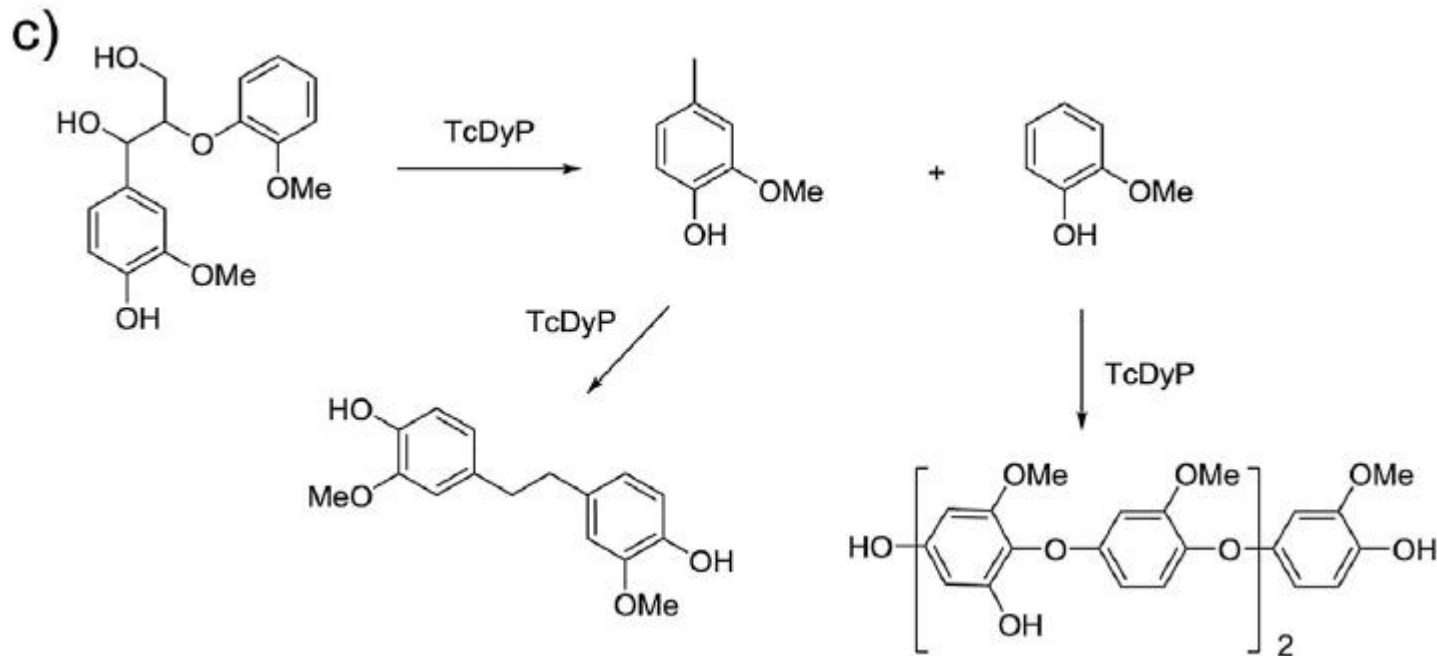
a) *Thermobifida fusca* (黑温双岐菌属) 所得TfuDyP
愈创木基经由催化得到二聚香草醛



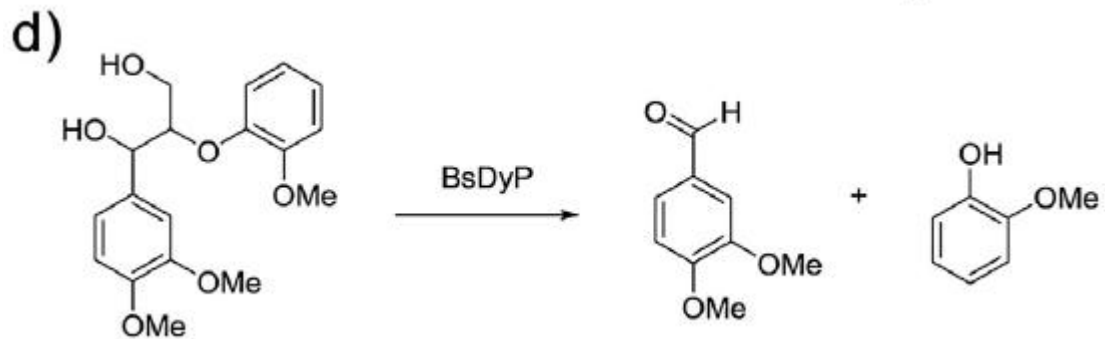
b) 透过DyPB,可将愈创甘油-β-愈创木醚催化降解为香草醛、
愈创木酚以及愈创木酚三聚体



“不同菌株所产Dyps的“工作方式”



C) 由高温单胞菌属所得Tcdyp催化降解愈创甘油-β-愈创木醚终产物可得五聚愈创木酚与二聚甲酚。



D) 由*Bacillus subtilis* (枯草芽孢杆菌) 所得Bsdyp催化降解藜芦醇基甘油-β-愈创木醚得到香草醛与愈创木酚





漆酶的优势

Laccases是极具工业潜力的生物催化剂，它们不需要添加辅助因子。且不同于大多数氧化酶，它们不会产生有毒的过氧化无作为副产物。



漆酶的应用

- 1、生物修复过程净化废水；
- 2、食品工业中稳定和改善食品的感官性质；
- 3、医药和其他精细化学品的合成；
- 4、造纸工业漂白过程中与对木材进行预处理。

漆酶 (Laccases)

Laccases (EC 1.10.3.2)是一种多铜氧化酶使用4个铜离子簇作为电子受体，催化产生水并且形成的自由基产物可以经过进一步的氧化或发生其他反应如水化、歧化或聚合反应。

Laccases在自然界中无处不在，存在于植物、真菌、细菌和昆虫中。它们通常被是胞外催化剂。



目前正在研究的部分细菌漆酶



链霉菌属与拟无枝酸菌属

S. coelicolor A3(2)、

S. lividans TK24、

S. viridosporus T7A、

Amycolatopsis sp. 75iv2

它们的特点是在较广的pH范围

(3-10) 内非常稳定且活性较强



Pantoea ananatis (菠萝泛菌) Sd-1

由水稻种子中分离出来的内生菌株更适应低pH值环境且具有一定的热稳定性，其具有多样的降解产物包括几种低分子量芳香族化合物，如：1,4-苯二甲酸、苯丙酸和苯酚等。



Bacillus tequilensis (芽孢杆菌) SN4

从造纸废水中分离出来的菌株，对高温碱性条件的耐受性较强，在80-90°C时，仍保留了部分活性，pH=8时表现最佳。



木质素降解细菌同真菌相比

不具备木质素降解所使用的真菌型常规过氧化物酶，因为表达这些相对复杂的蛋白酶有一定的困难，这些蛋白质通常是糖基化的，折叠和处理也可能需要特殊的条件。

细菌酶（DyP-type过氧化物酶）没有那么复杂，并且在细菌中广泛传播。在大肠杆菌中，各种DyPs的重组表达往往会产生高水平的表达，这与真菌型过氧化物酶的表达形成了鲜明的对比。因此，细菌酶似乎也更适合大规模重组酶的生产。



木质素降解细菌的应用前景

木质素降解细菌酶的研究仍然不够成熟，更谈不上工业应用，因而依然需要深入研究探索。比起真菌降解酶，更需要结合详细的基因组学、蛋白质组学和生物化学研究，并且发现新的木质素降解菌，可以预见在未来几年中将发现更多的细菌木质分解酶。





04

收获与感悟

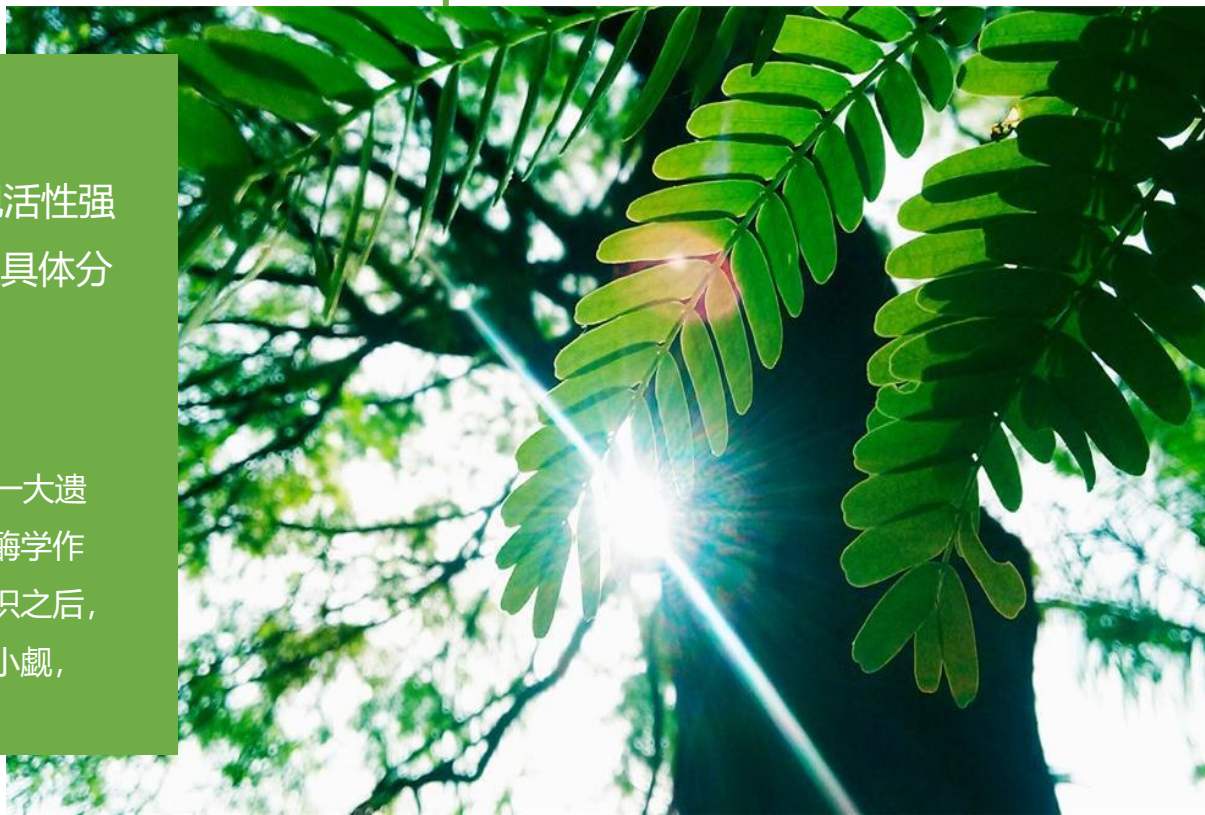


细菌VS真菌

看待科研问题过于片面，以此为例，并不是说表观活性强就比表观活性弱的更有应用研究价值，仍应该具体问题具体分析。

化学重温与酶学初窥

化学知识尤其是有机化学方面好多都抛诸脑后了，这实在是一大遗憾，仍应该将过去学过的知识拾起来“学而时习之”；以前只把酶学作为微生物方向的工具学科，在接触了文献中这一点酶学方面的知识之后，对自己井底之蛙般的粗陋想法羞愧不已，任何一门学科都不应被小觑，都值得我们全身心投入其中。





THANK YOU

END