

产 L-精氨酸基因工程菌的研究*

陈雪岚 许正宏 陶文沂

(江南大学教育部工业生物技术重点实验室, 无锡 214036)

摘 要 较为详细地介绍了 L-精氨酸生物合成途径,并就目前生产 L-精氨酸基因工程菌的相关研究做一简要概述。

关键词 L-精氨酸 基因工程

L-精氨酸(L-Arginine,简称 L-Arg)是一种非必需氨基酸,是生物体尿系循环的一种重要中间代谢产物,具有多种独特的生理和药理作用。在正常情况下,机体能自身合成 L-Arg,但在饥饿、损伤、疾病、应急状态及生长阶段时,机体对 L-Arg 的需求超过了自身合成的能力,因此及时补充外源性 L-Arg 有利于提高机体的免疫能力。此外,研究发现 L-Arg 对氨中毒性肝昏迷及病毒性肝炎有显著疗效。随着 L-Arg-NO(一氧化氮)途径在临床上研究的不断深入,发现 L-Arg 还具有抗动脉粥样硬化、防治高血压及心力衰竭等作用。传统生产 L-Arg 的高产菌株大多采用诱变筛选的方法获得,但此法有盲目性高、工作量大,且存在突变株生理失调、易退化等局限性;DNA 重组技术出现以后,人们开始探索利用 DNA 重组技术调控合成 Arg 代谢途径,以达到提高 Arg 产量的目的。

1 L-精氨酸生物合成及其代谢途径

Arg 的生物合成是通过细胞内的代谢网络进行的,该代谢网络由众多的酶催化相互关联的一系列化学反应以及特异性的膜转移系统所构成。1991 年, Bailey 提出了代谢工程学说,即利用分子生物学原理系统地分析细胞的代谢网络,并通过 DNA 重组技术合理设计细胞代谢途径及对其进行遗传修饰,改造细胞本身固有的代谢途径,提高终产物的产量^[1]。

在原核微生物中, L-Arg 的合成是从谷氨酸开始,经历了 8 种酶催化而成,其合成途径如图 1。首先,谷氨酸的氨基基团在由 argA 基因编码的乙酰谷氨酸合成酶的作用下乙酰化,乙酰化作用既阻止了自发环化又阻止了谷氨酸羧基基团被修饰形成脯氨酸。此途径的第 5 步是乙酰鸟氨酸在酶的作用下脱去乙酰基团形成鸟氨酸,根据脱乙酰基团方式的不同, L-Arg 的代谢途径分为 2 种,一种称之为线形途径,即乙酰鸟氨酸在由 argE 基因编码的乙酰鸟氨酸酶的水解作用下形成 Arg 前体物——鸟氨酸^[2,3];另一种称之为循环途径,即乙酰鸟氨酸在由 argJ 基因编码的鸟氨酸乙酰转移酶的作用下形成鸟氨酸的同时,乙酰基团被转移至谷氨酸形成乙酰谷氨酸,在此途径中,鸟氨酸乙酰转移酶表现出二重功能——既具有乙酰鸟氨酸酶的功能又具有乙酰谷氨酸合成酶的功能,故此途径又称为经济循环途径^[2,4~6]。肠杆菌(*Escherichia coli*)^[3]、假单胞铜绿菌^[7](*Pseudomonas aeruginosa*)及古细菌中的硫化裂片菌^[4](*Sulfolobus solfataricus*)以线形途径生产 Arg,而迄今研究过的所有其他原核微生物,包括嗜温性古细菌^[8,9]、杆状脂肪嗜热菌^[10,11](*Bacillus stearothermophilus*)、奈瑟氏淋球菌^[12](*Neisseria gonorrhoeae*)及杆菌属^[4]以及真核微生物都采用循环途径^[13]。有报道表明,在肠杆菌中,合成 Arg 的第 1 个酶,乙酰谷氨酸合成酶是终产物 Arg 反馈抑

第一作者:博士研究生。

*江苏省十五攻关课题(No. BE0024)

收稿时间 2003-02-20

制的靶目标^[3,14];而采用循环途径的微生物,被 Arg 抑制的关键酶是合成途径的第 2 个酶,乙酰谷氨酸激酶^[4,5]或第 5 个酶:鸟氨酸乙酰转移酶^[6,15]。谷氨酸棒杆菌被 Arg 抑制的关键酶是乙酰谷氨酸激酶,此酶不仅被 Arg 反馈抑制亦被其反馈阻遏;鸟氨酸乙酰转移酶被其代谢产物鸟氨酸反馈抑制,但不受 Arg 的反馈抑制和阻遏;乙酰谷氨酸合成酶亦不受 Arg 抑制也不受其阻遏^[4]。原核微生物的 Arg 生物合成基因都受 argR 基因编码的同一阻遏蛋白调控,自由 Arg 对大多数酶扮演共阻遏制。

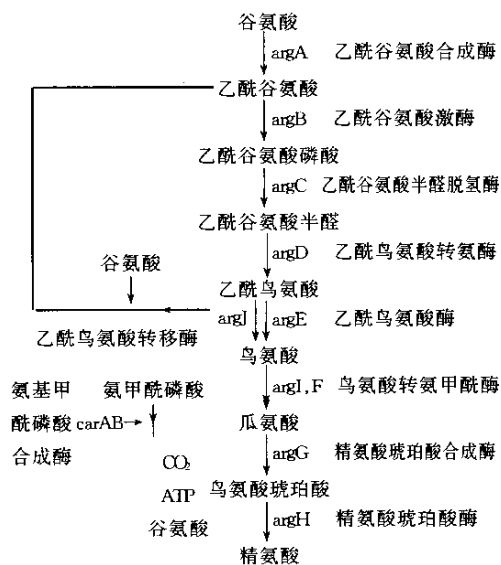


图 1 精氨酸生物合成途径

图 1 亦显示合成 Arg 的另一旁路途径,即由氨基甲酰磷酸形成瓜氨酸进入 Arg 合成途径。氨基甲酰磷酸是合成 Arg 和嘧啶的前体物,它由氨基甲酰磷酸合成酶(carbamoyl phosphate synthase,简称 CPS)催化 CO_2 、ATP 及谷氨酸而形成。CPS 是由相邻的基因 carA、carB 编码,carA 基因编码 CPS 的小亚基,此亚基以谷氨酸为底物将其氨基基团转至由 carB 基因编码的大亚基连接氨基的位点上,大亚基则催化 CO_2 、ATP 及 NH_4^+ 形成氨基甲酰磷酸。CPS 受 Arg 和嘧啶碱基的积累阻遏,当二者存其一时,发生部分阻遏;当二者共存时,几乎发生完全阻遏。通过识

别特异性操纵子序列,从而控制合成 Arg 一系列酶的基因转录的 Arg 阻遏子亦参与积累阻遏。大肠杆菌及其他原核微生物的此化合物由单一的酶,即 CPS 催化形成^[16,17];而真核微生物则有两个不同的酶,其一专一于 Arg 合成途径,另一专一于嘧啶合成途径^[13]。

2 谷氨酸棒杆菌生物合成精氨酸的基因特性

目前研究 Arg 生产的工程菌受体主要是肠杆菌及棒杆菌属和短棒杆菌属,尤其是谷氨酸棒杆菌和大肠杆菌 K-12。大肠杆菌遗传背景研究得最为详尽,载体系统完善,利于工程菌的构建,其合成 Arg 的基因特性在此不再赘述,而谷氨酸棒杆菌由于与其他多种革兰氏阳性菌不同,谷氨酸棒杆菌能够识别包括革兰氏阴性菌在内的许多原核细菌的外源基因表达调控元件,大量的外源基因在这种细菌中获得高效表达。谷氨酸棒杆菌的氨基酸合成基因顺序组织与大肠杆菌等革兰氏阴性菌具有显著的相似性^[18],因此,长期以来谷氨酸棒杆菌在氨基酸生产上占据中心地位。2001 年 3 月,谷氨酸棒杆菌基因组全序列的公布及相关代谢网络调控机制的研究,为利用基因技术修饰、改造和设计 Arg 代谢途径提供了良好基础。以下主要介绍有关在野生型谷氨酸棒杆菌 ATCC13032 中合成 Arg 的其中 4 个串联基因 argCJBD 的特性,因为串基因中包含编码关键酶基因 argB 及决定 Arg 代谢途径的基因 argJ。

这 4 个串联基因包含 4 个开放阅读框(open reading frame,简称 ORF),其先后顺序如图 2 ORF1 至 ORF4 这 4 个阅读框架分别编码 357、388、3、7 和 391 个氨基酸残基的多肽。根据最佳匹配比较,谷氨酸棒杆菌的 argJ 序列与 *N. gonorboeae*^[19]、*B. stearothermophilus*^[10]及 *B. subtilis*^[20]的同源性分别为 36%、39% 和 35%,且类似处覆盖整个序列。最佳匹配比较显示此菌 argB 编码的乙酰谷氨酸激酶序列与 *Porphyra*

umbilicalis^[21]、*B. stearothersophilus*^[10]、*B. subtilis*^[20]、*E. coli*^[22]、*N. crassa*^[23]、*Saccharomyces cerevisiae*^[24] 及 *Schizosaccharomyces pombe*^[25] 这些菌的乙酰谷氨酸激酶大约分别有 42%、39%、35%、29%、25%、23% 和 23% 的相同氨基酸。*argD* 编码的多肽序列分别与 *E. coli*^[22]、*B. subtilis*^[20] 和 *S. cerevisiae*^[24] 有 40%、42% 和 36% 的相同氨基酸。序列分析显示谷氨酸棒杆菌的 *argD* 起始密码子与 *argB* 的 TAA 终止子紧邻,这种现象在 *B. stearothersophilus*^[9] 和 *B. subtilis*^[20] 也观察,它们的 *argD* 基因和 *argB* 基因有几个核酸重叠,提示此 2 基因翻译时的耦合;而 *argC* 与 *argJ* 及 *argJ* 与 *argB* 的基因内间距相对较大。

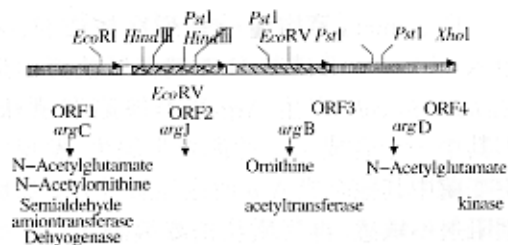


图 2 谷氨酸棒杆菌中串联基因 *argCJBD* 的 ORF 的顺序、方向及其上限制性酶切位点

在 *argJ* 序列中,显著特点是罕有的 CGA 精氨酸密码子的出现频率异常高,达到每 12 个密码子中就有 4 个 CGA;除此, *argJ* 中密码子的第 3 位碱基为 G 或 C 的频率也较 *argB* 及 *argD* 的低,三者分别为 51.7%、59.3% 和 64.1%;另外,无论是在 *argC*、*argJ*、*argB*,还是在 *argD* 中都无法强烈的偏好密码子^[4]。

在 *argC* 中有一 *EcoRI* 酶切位点,在 *argD* 中有一 *XhoI* 酶切位点, *argCJBD* 经 *EcoRI* 和 *XhoI* 酶切后,亚克隆此 3.1Kb 的 *EcoRI* - *XhoI* 片段进 pUC9 载体,构建了 pEX4 质粒。实验发现含 pEX4 质粒的 *E. coli* - K12XS1D2R 转化体中, *argB* 的转译似乎独立于外源启动子,这种假设被乙酰谷氨酸激酶的活性在 *E. coli* 很显著所证实;启动

子探针质粒 pGA46 证实在 *argJ* 的 *HindIII* 酶切位点处,即在此 3.1 Kb 的 1172 核酸处及 *argB* 结构基因起始密码子之间存在一个启动子^[4]。有报道称,在 *B. stearothersophilus* 菌中, *argB* 基因上游也存在一个能被 *E. coli* RNA 聚合酶识别的启动子^[26]。

随着人们对谷氨酸棒杆菌自身质粒及在革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌中都能复制的穿梭质粒的深入研究,使得谷氨酸棒杆菌成为生产精氨酸的最佳改造对象。

3 提高 L-精氨酸产量的策略

3.1 提高酶量

3.1.1 提高关键酶酶量

借助于基因克隆与表达技术,将 Arg 生物合成途径中的关键酶编码基因导入生产菌中,通过增加基因剂量和更换表达调控元件,强化表达。导入的关键酶基因既可以是生产菌自身的内源基因,也可能是来自非生产菌的外源基因。Katsumita 等即以此法提高 Arg 产量。在实验中采用棒状杆菌属及短棒杆菌属的菌,如 *Corynebacterium glutamicum* K-46、*Corynebacterium herculis* K-47 及 *Brevibacterium flavum* K-48 等为宿主,以实验中构建的穿梭质粒 pEnar1 为载体,推携带来自于大肠杆菌中编码乙酰谷氨酸激酶的基因 *argB* 来提高 Arg 产量,实现了利用异源基因在棒状杆菌和短棒杆菌中的生产;同时通过工程水平优化发酵条件,如温度、pH 值及培养基成分等使细胞处于最佳生产 Arg 状态。实验发现,在野生型棒杆菌属及短棒杆菌属的菌中,质粒 pEarg1 显示了对 Arg 产量的贡献;然而,Arg 生产突变菌显示导入 pEarg1 质粒后,Arg 的产量更为提高,Arg 产量最高为 1.8 mg/mL^[27]。

解除终产物 Arg 对关键酶的抑制,提高关键酶的活力也可通过定点突变的方法改变关键酶结合 Arg 的活性中心,从而提高 Arg 的生物合成速率。但是,目前还未见报道采用此法使生物合成 Arg 的关键酶与 Arg 的亲性和性降低,无论是大肠杆菌中的 *argA*,还是

谷氨酸棒杆菌中的 *argB*。但有报道, Rajagopal 等采用乙基甲磺酸突变剂使 *E. coli* PT2 中的 *argA* 发生突变,使之编码的乙酰谷氨酸合成酶对 Arg 有反馈抗性。序列分析 *E. coli* PT2M216 和 *E. coli* PT2M217 表明, *argA*216 的点突变位置为 859 位的碱基,由 G 变为 A,即 287 位的 Gyl 由 Ser 所替代。*argA*217 有 2 个突变位点,分别是 161 和 1295 位碱基,161 位的 G 突变为 A,由 Asn 取代 Ser-54;1295 位由 A 突变为 G,即由 Arg 取代 Gln-432。实验发现,持续(用 IPTG)诱导携带突变 *argA* 的质粒表达,会降低质粒的稳定性,而那些在菌体生长期间不表达 *argA* 基因的质粒,在正常生长条件下,能保持产 Arg 的能力且证明提高 *E. coli* 菌产 Arg 的量不需加入外源鸟氨酸,Arg 的产量最高达 108 nmol/mg(干物质)h^[3]。

3.1.2 解除阻遏蛋白和 Arg 对其生物合成途径的反馈阻遏

细菌中与 L-精氨酸生物合成途径相关的酶受到由 *argR* 编码的阻遏蛋白的调控,受到 Arg 的共阻遏,因此要提高精氨酸的产量,可以采用适当方法减轻或摆脱阻遏蛋白及 Arg 对合成 Arg 酶的基因的调控,最大限度的解除 Arg 及阻遏蛋白对其生物途径造成的反馈阻遏,提高酶的表达,从而达到提高 Arg 产量的目的。

3.1.2.1 Arg boxes 的多拷贝竞争性结合阻遏蛋白

Arg boxes 是被 *argR* 编码的阻遏蛋白结合的 5'端非编码区内 2 个长为 18bp 的部分保守的不完善回文结构的靶位点,包含于操纵子之中,由 3bp 隔开。当发酵液中 Arg 量达到一定时,会促使阻遏蛋白与 Arg boxes 的结合,从而阻遏编码生产 Arg 相关酶的表达,因此,可以通过 Arg boxes 的多拷贝竞争性结合阻遏蛋白,达到提高 Arg 产量的目的。

Mendel 等即采用此法提高生产 Arg 相关酶的表达。在实验中,将大肠杆菌中 *argI* 的 Arg boxes 克隆进 pLLK12 质粒,Arg boxes 的多拷贝促使 Arg 阻遏子放弃了对

Arg 调节子的阻遏,从而相应提高 Arg 产量^[28]。Rajagopal 等亦探讨了利用多拷贝 *arg I* 的 Arg boxes 来提高 Arg 产量,携带 Arg boxes 的 pABIA 质粒转入 *E. coli* K-12MG1655R 菌和 DH5 α 菌中表达,Arg 的产量最高为 64.7 nmol/mg(干物质)h,但表现出对鸟氨酸的依赖性,当培养基中不添加鸟氨酸时,MG1655R 菌的 Arg 产量约为 50.7 nmol/mg(干物质)h, DH5 α 菌的 Arg 产量约为 39.3 nmol/mg(干物质)h^[3]。

3.1.2.2 Arg boxes 的突变解除阻遏蛋白及 Arg 的反馈阻遏

Arg boxes 的突变包括 Arg boxes 自身的突变,也包括相邻 2 个 Arg boxes 距离的改变,相邻 Arg boxes 距离的改变也影响阻遏蛋白对 Arg boxes 的亲性和性。

Katsumata 等构建一系列穿梭质粒,采用 N-甲基-N'-亚硝基-N 亚硝基胍使野生型 *Escherichia coli* 产生 Arg-营养缺陷型菌株,即其中一个合成 Arg 的酶发生缺失,发现此突变菌中其他合成 Arg 的途径酶对 Arg 的反馈阻遏不敏感,再用质粒携带编码此类酶的遗传信息转入棒杆菌属或短棒杆菌属菌内,从而提高 Arg 产量,Arg 产量最高为 2.5 mg/mL^[29]。笔者认为经亚硝基胍处理后的 Arg-大肠杆菌其合成 Arg 的酶对 Arg 的反馈阻遏不敏感的原因是编码基因的 5'非编码区的 Arg boxes 发生了突变,使得 *argR* 编码的阻遏蛋白对 Arg boxes 的亲性和性下降所致。

argR 编码的阻遏蛋白能与一个 Arg box 结合,虽然其结合不稳定,但促进了阻遏蛋白对相邻的 Arg box 的结合。Daniel 等报道,在 *E. coli* K-12 中,生产 Arg 的编码相关酶的基因的 2 个相邻的 Arg boxes 最佳距离为 3bp(除 *argR* 外,其相邻 Arg boxes 由 2bp 隔开),多一个碱基或少一个碱基不影响这种促进作用,但使 3bp 增加为 5bp 或更多碱基,则这种促进作用消失,除非在两个相邻的 Arg boxes 之间有一个完整的螺旋存在^[30]。笔者认为改变相邻 Arg boxes 的距离,从而达到降低 Arg boxes 与阻遏蛋白的结合稳定

性也是一种值得探讨提高 Arg 产量的方法。

3.1.2.3 利用阻遏蛋白对异源的 Arg boxes 不识别,解除阻遏反馈

1998年, Savchenko 等研究 *B. stearothermophilus* 的串联基因 argCJBD 的启动子强度,此串基因有单一的操纵子。在此菌中,物异的阻遏子通过连接到与 argCJBD 操纵子位置重叠的 Parg 启动子序列来控制 argCJBD 操纵子的表达,因此, Parg 在原宿主中潜在的强度没有得到反映。实验采用 *Escherchia coli* 作为宿主来检测 Parg 的强度,发现其 argR 编码的阻遏子与异源的 *B. stearothermophilus* 启动子,即与启动子中的 Arg boxes 无交互作用,在 parg 启动下, argC 基因的表达急剧增加,达到 *Escherchia coli* 总蛋白的 38%^[31]。鉴于调控的复杂性,人们可以考虑采用这种新的启动子与合成 Arg 有关酶的结构基因相连,而不去逐个研究调控点。

但是,启动子与结构基因的连接位置需斟酌,因为它们的连接位置对基因的翻译效率是至关重要的。一般来说, mRNA 与核糖体结合程度越强,翻译的起始效率就越大,而这种结合程度主要取决于质粒的启动子与起始密码子之间的 SD 序列,即位于翻译起始密码子上游的 6~8 个核苷酸 Shine-Dalgarno 序列,与 16 srRNA 的碱基互补性。SD 序列与起始密码子之间的序列对翻译起始效率的影响表现在碱基组成和间隔长度两方面。以 *Escherchia coli* 为例,当受体为 *Escherchia coli* 时,SD 序列后面的碱基若为 AAAA 或 UUUU,翻译效率最高;而 CCCC 或 GGGG 的翻译效率分别是最高值的 50% 和 25%。在很多情况下,SD 序列位于起始密码子之前大约 7 个碱基处,在此间隔中少一个碱基或多一个碱基,都会导致起始翻译效率不同程度的降低^[17]。

3.1.2.4 argR 的突变降低对 Arg boxes 的亲性和

argR 是编码阻遏蛋白,受 Arg 浓度调控的基因。它通过编码的阻遏蛋白与 Arg

boxes 结合而达到阻遏生产 Arg 的相关酶的表达,因此,使 argR 发生突变,可以改变其编码的蛋白对 Arg boxes 的亲性和。Mendel 等利用携带 argR 突变的 *Escherchia coli* MG1665R 菌研究 carAB 的表达,因 argR 编码的阻遏蛋白对 Arg 调节子无阻遏, CPS 的活性显示比那些有完整 argR 的细菌高至少 20~30 倍^[27]。

但采用 argR-突变菌而使外源基因过量表达会造成质粒的不稳定性。外源基因的过量表达,某种意义上也包括重组质粒的过度增殖,均可能诱发工程菌的不稳定性。因此,实践中常使用可诱导表达的启动子控制外源基因的定时表达,外源基因的时空特异性表达控制可以在最大程度上减少表达产物对细菌自身生长代谢过程的影响,提高表达产物的宏观产率;基因工程培养菌的目的产物都必须与细菌的初级代谢和次级代谢途径共用一套蛋白质翻译系统,因此控制工程菌特异基因的表达强度和时间,有利于细胞内的 3 种代谢途径的和谐和稳定。从理论上讲,外源基因剂量的增加有助于提高其表达产物的产量,但细胞内 RNA 聚合酶是限制因素,重组质粒的高拷贝复制耗费大量的能源,不但影响细菌的正常生长和代谢,而且不利于其稳定性。因此,提高构建的质粒在宿主中的稳定性,对提高 Arg 的产量是不可忽视的一大问题。目前已发展出多种方法抑制重组质粒的结构和分配不稳定性,主要有改进载体宿主系统,施加选择压力,包括抗生素及营养缺陷选择压力,控制外源基因的过量表达及优化培养条件等^[16]。

3.2 改变代谢流

通过共同途径代谢前体物的积累,打断竞争的代谢支路和构建代谢旁路等手段,可以改变代谢流,使其向着希望的途径运行。对共同途径的研究在于代谢过程的关键分支点。在 Arg 合成途径中,谷氨酸为合成脯氨酸和 Arg 的共同前体物,氨甲酰磷酸是合成精氨酸和嘧啶的共同前体物,为提高 Arg 的产量可以采用基因敲除等方法使谷氨酸合成

为脯氨酸的酶及氨甲酰磷酸合成为嘧啶的酶失活,从而为 Arg 的生产提供更多的原料。

4 结 语

基因工程技术日新月异的发展为生物合成 Arg 的基因工程菌的构建提供了新的思路。在对大肠杆菌载体-受体系统广泛而深入研究的基础上,对棒状杆菌属的遗传背景、代谢途径和载体-受体系统的研究也取得了长足进展,这为利用基因工程手段提高 Arg 的产量打下了坚实的基础。在应用基因工程技术对 Arg 代谢途径的改良过程中,把握改良作用的强度是至关重要的,适度的改良才能保证在不破坏细胞精细平衡状态的同时,获得高产 Arg 的菌株。可以预见,随着整体系统观念的加强以及新的检测手段和计算机模拟方法的应用,用基因工程技术定向地选育抗反馈抑制和阻遏调节的、高表达的及分泌型的基因工程菌株必将代替诱变筛选获得的生产菌株。

参 考 文 献

- 1 Bailey J E. Science, 1991, 262: 1668-1675
- 2 Cunin R, Glansdorff N, Pierard A et al. Microbiol Rev, 1986 (50): 314-352
- 3 Rajagopal B S, Joseph deponete III, Mendel Tuchman et al. Applied and Environmental Microbiol, 1998 (5): 1805-1811
- 4 Vehary Sakanyan, Pavel Petrosyan, Michele Lecocq et al. Microbiol, 1996 (142): 99-108
- 5 Van de Castele M, Demarez M, Legrain C et al. J Gen Microbiol, 1990, 136: 1177-1183
- 6 Vehary Sakanyan, Daniel Charlier, Christianne Legrain et al. J Gen Micro, 1993 (139): 393-402
- 7 Dieter Haas, Verena Kurer, Thomas Leisinger. Eur J Biochem, 1972 (31): 290-295
- 8 Meile L, Leisinger T. Experientia, 1984, 40: 899-900
- 9 Sakanyan V, Kochikyan A, Mett I et al. J Gen microbial, 1992, 138: 125-130
- 10 Sakanyan V, Charlier D, Legrain C et al. J GEN, Microbiol, 1993, 139: 393-402
- 11 Frederic Marc, Pierre Weigel, Christianne Legrain et al. J Bio Chem, 2001, 276: 25404-25410
- 12 Picard F J, Dillon J R. J Bacteriology, 1989, 171 (3): 1644-1651
- 13 Davis R H. Microbiol, 1986, 50: 280-313
- 14 Thomas Leisinger, Dieter Haas. J Bio, Chem, 1975, 250: 1690-1693
- 15 Hass D, Leisinger T. Eur J Biochem, 1975, 52: 377-383
- 16 Hiroshi Nyunoya, Lusty C J. Proc Natl Acad Sci USA 1983, 80: 4629-4633
- 17 Jacques Piette, Hisoshi Nyunoya, Lusty C J et al. Proc Natl Acad Sci USA 1984, 81: 4143-4138
- 18 张惠展. 基因工程概论. 上海: 华东理工大学出版社, 1999
- 19 Martin P R, Mulks M H. J Bacteriol, 1992, 174: 2694-2701
- 20 O'Reilly M, Devine K M. Microbiol, 1994, 140: 1023-1028
- 21 Reilth M, Munholland J. Cur Geet, 1993, 23: 59-65
- 22 Prsot C, Boyen A, Cohen G. N et al. Gene, 1988, 68: 275-283
- 23 Gessert S F, Kim J H, Nargang F E et al. J Biol Chem, 1994, 269: 8189-8203
- 24 Boonchird C, Messengey F, Dubois S. Mol & Gen Genet 1991, 226: 154-166
- 25 Van Huffel C, Dubois E, Messenguy F. Eur J Biochem, 1992, 205: 33-43
- 26 Sakanyan V, Legrain C, Charlier D et al. Genetika, 1993, 29: 556-570
- 27 Katsumata et al. United States Patent: 1988, 4, 775, 623
- 28 Mendel Tuchman, B. S. Rajagopal, Mark T. Applied and Environmental Microbiology, 1997, Jan, 33-38
- 29 Katsumata et al. 1991, United States Patent: 5, 017, 482
- 30 Daniel Charlier, Martine Roovers, Françoise Van Vliet et al. J Mol Biol, 1992, 226: 367-386
- 31 Alexey Savchenko, Pierre Weigel, Diliaana Dimova et al. The bacillus sterothermophilus Gene, 1998, 212: 1670-1677

Studies on the Genetic Engineering Strains Producing L-Arginine

Chen Xuelan Xu Zhenghong Tao Wenyi

(Key Laboratory of Industry Biotechnology, Ministry of Education, Southern Yangtze University, Wuxi, 214036)

ABSTRACT The biosynthetic pathway of L-arginine was elucidated in detail. The studies on the genetic engineering strains producing L-arginine were also reviewed simply in this paper.

Key words L-arginine genetic engineering