

生物法制取异戊二烯技术

唐冰宇 17307130357

异戊二烯是合成橡胶的重要单体,主要用于生成异戊橡胶、丁基橡胶和 SIS 热塑性弹性体,也广泛应用于医药、农药、黏结剂及香料等领域。目前,异戊二烯的主要生产方法有:石油基原料异戊烷和异戊烯脱氢法、化学合成法(包括异丁烯-甲醛法、乙炔-丙酮法、丙烯二聚法)和裂解 C5 馏分萃取蒸馏法。然而,随着化石资源的日益枯竭,原料来源是利用石油基原料制备异戊二烯的重要瓶颈问题。近年兴起了一种利用生物合成异戊二烯的方法,它能有效解决这个问题,前景十分广阔。

技术原理

生物体中主要存在两种天然的代谢途径进行异戊二烯的生物合成,即甲羟戊酸(MVA)途径和甲基赤藓糖-4-磷酸(MEP)途径(见图1)。MVA途径主要存在于真核生物、古细菌和高等植物的细胞液中,而MEP途径存在于植物的质体,细菌,藻类。这两类代谢途径的最终产物都是形成异戊二烯的前体物质二甲基烯丙基焦磷酸(dimethylallyl diphosphate, DMAPP),之后经过异戊二烯合成酶催化DMAPP至异戊二烯。

大肠杆菌具有合成异戊二烯前体物质DMAPP的MEP代谢途径,但是自身缺少异戊二烯合成酶(ispS),不能在生长过程中产生异戊二烯。因此,需要利用基因工程手段使来自植物的ispS在大肠杆菌中表达。但仅过表达ispS的大肠杆菌异戊二烯产量还是很低,故需用其他代谢手段对大肠杆菌进行改造,以提高异戊二烯的生物转化效率。目前有多种改造方法,这里重点介绍其中一种改造异戊二烯工程菌的原理:

1. 分别化学合成乙酰辅酶A酰基转移酶/羟甲基戊二酰辅酶A还原酶基因mvaE, 3-羟-3-甲基戊二酰辅酶A合酶基因mvas,末端烯烃形成脂肪酸脱羧酶基因OleT和油酸水合酶OhydEM,并分别与载体pGH连接;
2. 将所得的含有基因OleT和基因OhydEM的pGH载体与pCOLADuet-1载体重组后获得重组质粒pCOLA-OleT-OhydEM(见图2、图3);将所得的含有基因mvaE和基因mvaS的pGH载体与pACYDuet-1载体重组后获得重组质粒pACY-mvaE-mvaS(见图4);

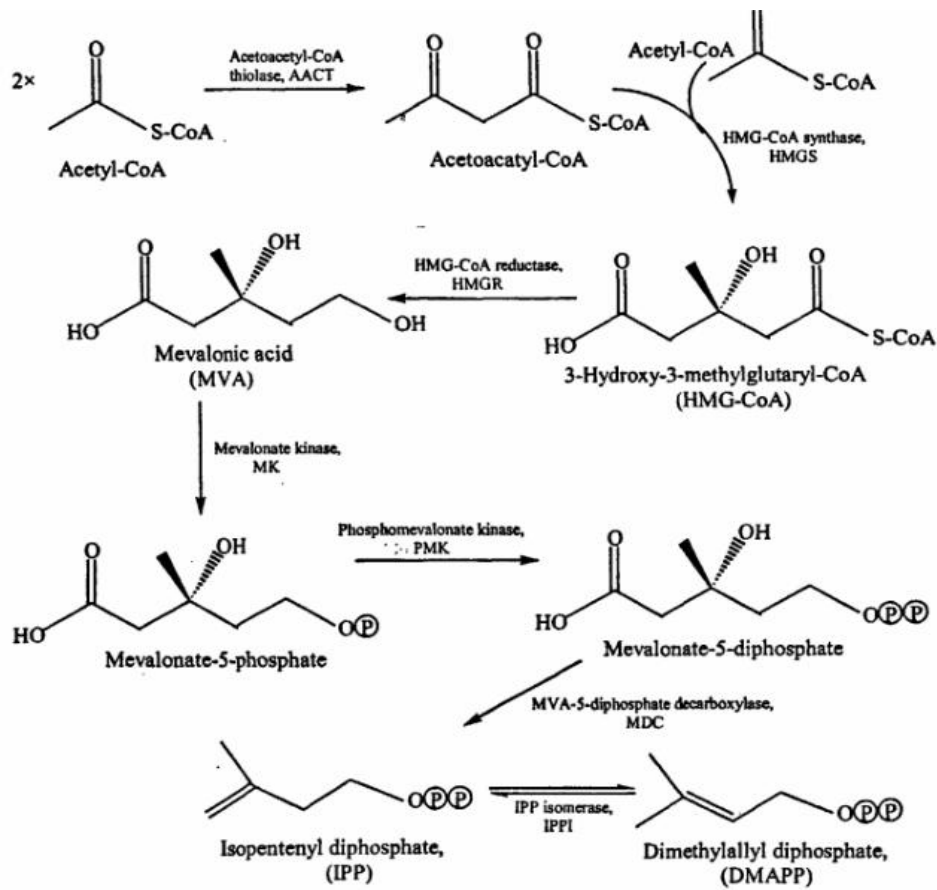


图1 MVA 途径

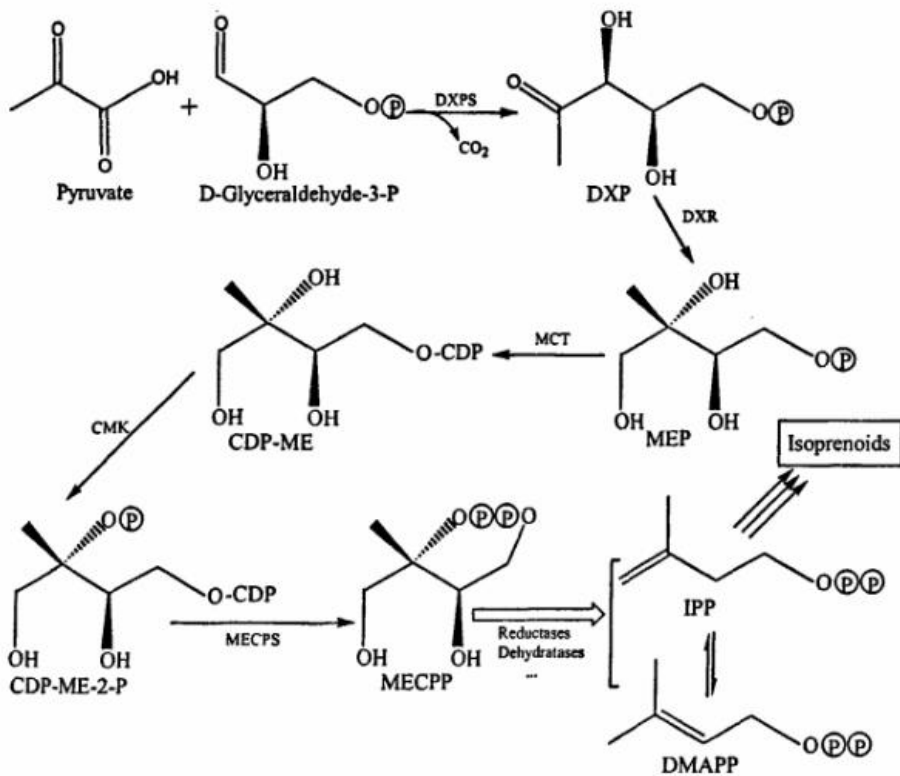


图1 MEP 途径

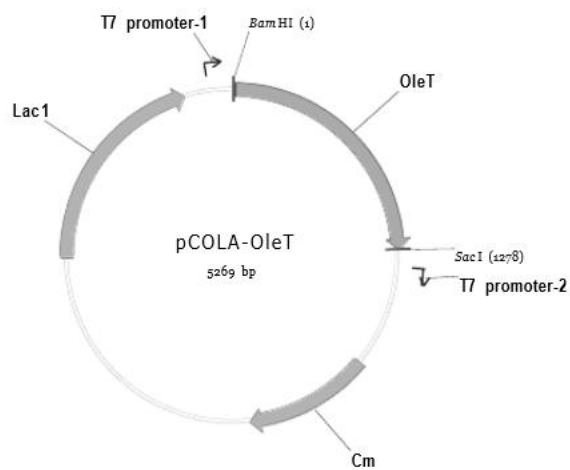


图 2

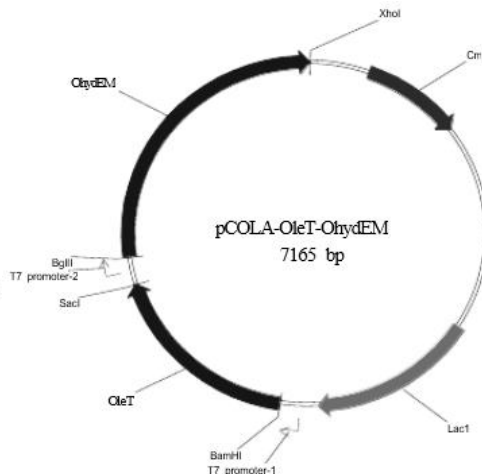


图 3

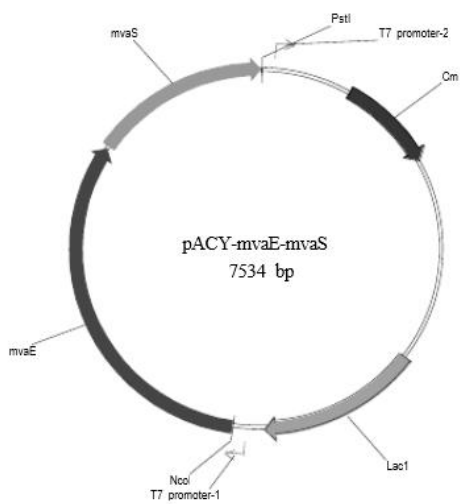


图 4

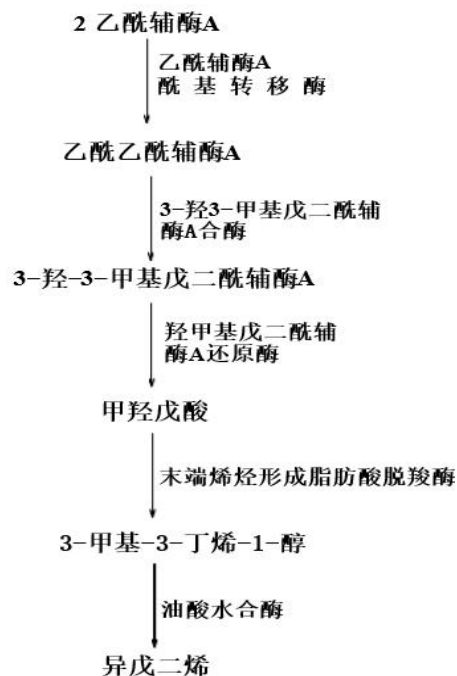


图 5

3. 将所得的重组质粒 pACY-mvaE-mvaS 和 pCOLA-OleT-OhydEM 转化入大肠杆菌 *E. coli* BL21 (DE3) 中, 获得重组菌;
4. 利用所得重组菌发酵生产异戊二烯 (见图 5)。

技术应用

生物法制取的异戊二烯是一种重要的化工平台化合物, 其 95% 用于合成橡胶, 其中多种橡胶都可用于制造轮胎。另外, 异戊二烯在航空燃料、医药农药中间体、合成润滑油添加剂、橡胶硫化剂等领域也有应用。

- 生产聚异戊二烯橡胶

聚异戊二烯橡胶是一种重要的合成橡胶，是由异戊二烯单体，通过本体聚合或者溶液聚合，在催化剂作用下制得的。根据异戊二烯单体结构的不同，聚异戊二烯橡胶可分为 1,2-聚异戊二烯橡胶、顺式-3,4-聚异戊二烯橡胶、高顺式-1,4-聚异戊二烯橡胶、反式-1,4-聚异戊二烯橡胶 4 种异构体。根据引发体系，又可进行分类。由于聚异戊二烯橡胶，又俗称“合成天然橡胶”，是替代 NR 制造轮胎的重要原料。

- 制备集成橡胶 (SIBR)

集成橡胶 (SIBR) 是一种具有广泛用途的新型材料，在以烷基锂为催化剂的作用下，由异戊二烯、丁二烯和苯乙烯，通过阴离子聚合方法得到的。其显著特点是：多种链段结构组成分子链。集成橡胶 SIBR 兼顾了高性能轮胎对抗湿滑性能、胎面胶滚动阻力、耐低溢和耐磨的要求。

- 生产聚丁基橡胶

丁基橡胶 (Butyl Rubber, 简称 IIR)，是合成橡胶的一种，由少量异戊二烯与异丁烯合成，具有优良的性能，具有广泛的用途，但是其硫化速度慢、粘接性差和难与其他橡胶共混的缺点，限制了它的应用领域。

- 合成 SIS

SIS 全称为苯乙烯-异戊二烯-苯乙烯嵌段聚合物，是一种热塑性弹性体，以异戊二烯和苯乙烯为原料，通过阴离子聚合制得的。

技术优缺点

- 优点

1. 可持续发展。利用生物法制取异戊二烯解决了化学法所需原料即化石资源日益枯竭的问题。该技术利用生物质资源为原料，来源丰富且可持续。
2. 环境友好。减少与橡胶制品生产相关的碳排放量；不用大量种植橡胶树，减轻扩大橡胶树种植面积的压力。
3. 价格低廉。生产橡胶的总成本的 70% 以上由单品异戊二烯消耗，而化石资源价格不断攀升。该技术利用丰富且廉价的生物质资源，极大地节约了成本。

- 缺点

1. 异戊二烯的生物合成代谢途径和调控机制复杂，其中的技术有待进一步完善。

2. 大肠杆菌自身 MEP 途径的内源调控机制限制了异戊二烯的产量，而过多的异源基因表达可能会导致细胞自身代谢的紊乱，影响细胞的正常生长代谢。

参考文献：

郭静，曹玉瑾，咸漠等 大肠杆菌生产异戊二烯的代谢工程研究进展 生物工程学报 2016

刘敏 大肠杆菌 MEP 途径的构建及其产异戊二烯的研究 2013

《一种产异戊二烯基因工程菌及其应用》