

综述



高仁钧, 吉林大学生命科学学院分子酶学工程教育部重点实验室教授。长期从事酶工程研究, 在嗜热酶的分子改造、酶的固定化和酶的实时调控等领域研究较深入。研究工作先后得到国家“863”计划、国家重点研发计划和国家自然科学基金等项目的资助。实验室根据酶学原理成功将常温酶通过化学修饰成超嗜热酶, 并首次通过红外光激活将嗜热酶用于肿瘤的精准治疗, 发表论文70余篇。

扩展生物催化的边界：嗜热酶的潜力与应用

李雅静¹, 李悦君¹, 杨昕睿², 解桂秋², 高仁钧^{1*}

(¹吉林大学生命科学院, 长春 130000; ²吉林大学药学院, 长春 130000)

摘要: 20世纪中期, 科学家在深海热液喷口和热泉中发现了能够生存的微生物。这一发现极大地拓展了人们对生命极限的认知, 更引领了科学界对嗜热菌及其嗜热酶的深入研究。嗜热酶的三维结构相比常温酶类更为紧密, 分子间的相互作用更为密集, 赋予了它们在高温下仍能维持高效催化活性和结构稳定性的能力。随着绿色化学理念的推广以及对酶催化技术的日益重视, 嗜热酶凭借其独特的优异特性, 在生物技术和工业领域迎来了新的发展机遇。本文将探讨嗜热酶的独特性质, 并阐述其在生物技术、食品工业、医药、化工和环境保护等领域的应用潜力。

关键词: 嗜热酶; 热稳定性; 化工合成; 食品工业; 临床医学及药学研究

Expanding the frontiers of biocatalysis: the potential and applications of thermophilic enzymes

LI Yajing¹, LI Yuejun¹, YANG Xinrui², XIE Guiqiu², GAO Renjun^{1*}

(¹School of Life Sciences, Jilin University, Changchun 130000, China;

²School of Pharmaceutical Sciences, Jilin University, Changchun 130000, China)

Abstract: In the mid-20th century, scientists discovered that microorganisms could survive in deep-sea hydrothermal vents and hot springs, which greatly expanded people's understanding of the limits of life and sparked a deeper exploration into thermophiles and their thermophilic enzymes. The three-dimensional structures of thermophilic enzymes are more compact than mesophilic enzymes, featuring denser intermolecular interactions, which allows them to maintain high catalytic activity and structural stability

收稿日期: 2024-05-19

基金项目: 国家自然科学基金项目(21778021, 31700696); 国家重点研发计划项目(2020YFA0907003)

第一作者: E-mail: yajing22@mails.jlu.edu.cn

*通信作者: E-mail: gaorj@jlu.edu.cn

even under high-temperature. With the promotion of green chemistry concepts and increasing attention to enzyme catalysis technology, thermophilic enzymes have opened up new opportunities in the field of biotechnology and industry due to their unique excellent properties. This paper will discuss the unique properties of thermophilic enzymes and their potential applications in various fields such as biotechnology, the food industry, medicine, chemistry, and environmental protection.

Key Words: thermophilic enzymes; thermostability; chemical synthesis; food industry; clinical and pharmaceutical studies

嗜热菌的发现标志着人们对于极端环境微生物认知的重大突破。1985年, Brock^[1]在美国黄石公园的温泉口发现了能在88 ℃高温下生长的菌落。这一发现颠覆了此前科学界认知的生物体生长的最高温度极限。随后的研究发现嗜热微生物分布广泛, 它们不仅存在于世界各地的高温环境, 如火山口、温泉、浅海或深海栖息地、地热区以及堆肥堆中, 还存在于非高温环境, 如某些寒带和温带土壤中(表1)。发掘嗜热酶的经典方法是通过培养微生物来筛选所需酶。然而, 绝大多数嗜热微生物由于生长条件苛刻而无法用传统方法培养, 宏基因组学的出现使得无需培养即可分析微生物遗传物质成为可能^[2]。

嗜热菌能在80 ℃以上环境中生长, 其产生的酶展现出卓越的热稳定性和耐受性。这主要归功于酶分子特殊的三维结构。氨基酸残基形成的氢键、疏水相互作用以及二硫键都可以在高温下帮助维持蛋白质的结构。此外, 嗜热酶的结构多

以(β/α) 8桶状折叠和短螺旋为主, 有助于限制热能在蛋白质内部的扩散, 从而降低高温破坏的可能性^[16]。

随着绿色化学的推广和对酶催化的认可, 酶制剂已成为工业领域的研究热点。尽管已有大量常温酶被评估可用于工业生产, 但多数酶无法承受极端工业条件。相比之下, 嗜热酶在工业催化中展现出了巨大潜力, 尽管只有少数得到商业化应用, 但分子生物学和生物信息学的进步, 特别是宏基因组学等技术的发展, 为嗜热酶的工业应用奠定了坚实的基础, 也预示着其广泛的应用前景(图1)。

1 嗜热酶在基因诊断技术中的应用

嗜热酶, 特别是DNA聚合酶, 因在高温下的稳定性而在聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)中得到了广泛的应用。基因诊断需要高效而准确地获得目的基因, 而PCR作为一种获

表1 嗜热菌的分布区域及培养条件

菌种名	培养温度	域	生长条件	来源	参考文献
<i>Pyrococcus furiosus</i>	95 ℃	古菌域	厌氧	海洋堆积物	[3]
<i>Thermotoga maritima</i>	80 ℃	细菌域	厌氧	高温海洋堆积物	[4]
<i>Thermococcus onnurineus</i>	80 ℃	古菌域	厌氧	深海热液喷口区	[5]
<i>Thermoproteus tenax</i>	85 ℃	古菌域	厌氧	盐酸温泉	[6]
<i>Pyrodictium occultum</i>	95 ℃	古菌域	厌氧	火山附近海底	[7]
<i>Caldanaerobacter subterraneus</i>	75 ℃	细菌域	厌氧, 嗜酸	温泉	[8]
<i>Pyrodictium abyssi</i>	95 ℃	古菌域	厌氧	火山口附近区域	[9]
<i>Methanothermobacter wolfeii</i>	60 ℃	古菌域	厌氧	污泥与河流堆积物	[10]
<i>Methanothermobacter thermautotrophicus</i>	65 ℃	古菌域	厌氧	污水污泥	[11]
<i>Geobacillus kaustophilus</i>	60 ℃	细菌域	嗜碱	马利亚纳海沟海底淤泥	[12]
<i>Laceyella sacchari</i>	50 ℃	细菌域	需氧	干草堆积物	[13]
<i>Thermomonospora curvata</i>	50 ℃	细菌域	需氧	秸秆堆积物	[14]
<i>Saccharopolyspora rectivirgula</i>	50 ℃	细菌域	需氧	土壤	[15]

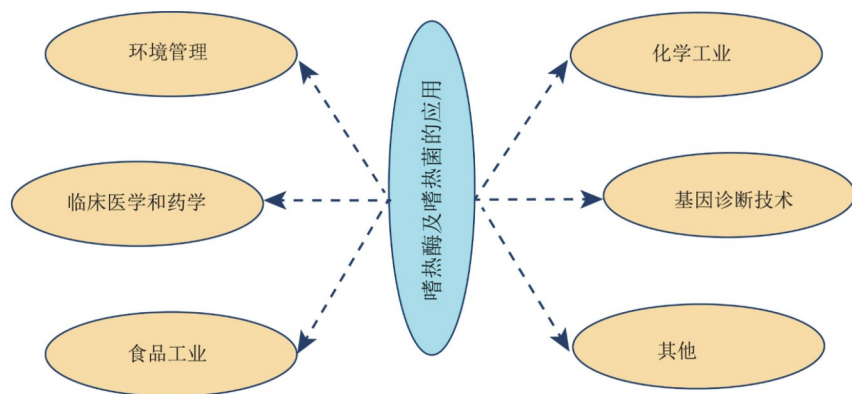


图1 嗜热酶及嗜热菌的应用领域

取基因的方法，需要高温解开双链DNA，从而允许引物结合并启动新的DNA链的合成。研究者们一直致力于开发和改进这些酶，以提高PCR的效率和准确性。Hernández-Pollán等^[17]构建了一种新型DNA聚合酶(Neq2X7)。它结合了*Nanoarchaeum equitans*和*Sulfolobus solfataricus*聚合酶的DNA结合域，具有高活性、耐抑制剂和对尿嘧啶的耐受性，适用于长片段DNA扩增、高GC含量DNA和dUTP依赖的PCR应用，是分子生物学和诊断PCR的有力工具。Gloeckner等^[18]通过对Klentaq DNA聚合酶的随机突变筛选，找到了一种即使在DNA受损的情况下也能保持高效扩增的变异体。而来自*Thermoanaerobacter tengcongensis*的极端TLS聚合酶，也被发现能够在氧化损伤位点进行DNA合成^[19]。这两种DNA聚合酶的开发极大提高了PCR在处理复杂样品时的效率。除了改进聚合酶，科学家们也在探索其他方法来提升PCR性能。Li等^[20]发现，嗜热无机焦磷酸酶能有效去除PCR过程中产生的副产品——焦磷酸盐，从而促进PCR反应的顺利进行。Fujiwara等^[21]指出，嗜热解旋酶EshA有助于减少PCR过程中的非特异性扩增，而特定的焦磷酸化酶如dITP^[22]和dUTP^[23]焦磷酸化酶能够分解可能干扰PCR的非标准核苷酸，进而增强PCR的准确性并提高目标DNA的产量。

除了PCR技术，基因测序也是基因诊断的常用技术，嗜热酶在这一领域也显示出其重要价值。Zhelkovsky等^[24]利用来自嗜热自养甲烷杆菌的RNA连接酶成功制备了适用于下一代测序的预腺苷酸化DNA接头，这种方法不仅提高了文库的质量，

也缩短了测序时间。Yang等^[25]克隆了*Pfu* RNA连接酶，并构建了融合酶8H-AP。它结合了*Pfu* RNA连接酶和T₄多聚核苷酸激酶的优点，具备出色的热稳定性，能够直接催化5'-OH末端的DNA底物生成腺苷化标记，提高测序效率。Shroff等^[26]通过定向进化对嗜热逆转录酶进行了改造，获得的突变体RTX-Ome v6展现出了对DNA、RNA和2'-O-甲基RNA模板的高效延伸和校对能力。它不仅能够读取2'-O-甲基化的模板，还保留了对未修饰DNA的逆转录和PCR扩增能力。

此外，嗜热酶在核苷酸合成领域的研究也非常广泛。Esipov等^[27]利用嗜热菌来源的三种核酸合酶的串联反应，有效生产5'-磷酸核苷，开辟了新的生物催化路径。Fateev等^[28]发现，来自*Thermus thermophilus* HB 27的腺嘌呤磷酸核糖转移酶和次黄嘌呤磷酸核糖转移酶能大幅提高嘌呤核苷酸合成的效率和产物多样性，在复杂嘌呤衍生物的合成领域表现得尤为出色。Barthel等^[29]对脱氧核苷酸转移酶进行了热稳定性改良，显著提升了其在发夹底物上的延伸速率。综上所述，嗜热酶在分子生物学和生物技术领域的重要性日益凸显，其在PCR、基因测序、核苷酸合成等多个方面都展示出了卓越的性能和广阔的前景。随着研究的不断深入，我们可以期待嗜热酶在未来科学和技术发展中扮演更重要的角色。

2 嗜热酶在化工合成中的应用

化学合成是化学工业的核心领域，涉及基础化学品、精细化工产品以及许多高附加值材料和药

品的制造。在众多催化剂中, 嗜热酶以其独特的优势在该领域崭露头角。嗜热酶不仅能够高温条件下保持稳定的活性, 而且具有高效、专一性强、可再生等特点。这些特性使得嗜热酶在提高反应速率、降低能耗、减少副产物生成等方面具有显著优势。随着生物技术的不断进步, 嗜热酶的生产成本有望进一步降低, 其在化工合成领域的应用将得到更广泛的推广和应用。

2.1 基于醇脱氢酶的生物合成

醇脱氢酶(alcohol dehydrogenase, ADH)是生物体内一种重要的氧化还原催化剂, 能够高效地将醇类转化成醛或酮。嗜热ADH因出色的稳定性、环保特性和高选择性, 被广泛应用于制药和精细化工领域。来自*Thermotoga lettingae* TMO的ADH不仅可以氧化伯醇, 还能将脂肪族和芳香醛还原为相应的醇^[30]。而来源于*Carboxydotherrmus hydrogenoformans*的短链ADH则显示出对多种脂肪族、环烷烃和芳香族酮以及酮酯的宽泛的底物适用性, 是有机合成中不对称还原反应的有效工具^[31]。此外, Orrego等^[32]成功克隆了一种新型嗜热性(S)-3-羟基丁酰辅酶A脱氢酶, 并将其与NADH共固定化, 构建了一个能够自主合成 β -酮酯的异相催化体系。这一创新为聚合物合成提供了一种高效且可持续的生产方案。而Kato等^[33]则通过代谢工程改造将嗜热醇脱氢酶基因引入嗜热菌*Moorella thermoacetica*中, 使其具有从糖类和合成气体中生产异丙醇的能力, 为利用生物质和废气生产化学物质提供了一种新的生物转化策略。

2.2 基于醛氧化还原酶的生物合成

在工业上, 醛类是药物合成、溶剂制备、催化反应和防腐处理等多个领域的重要物质。醛氧化还原酶家族包括醛脱氢酶、醛还原酶和醛氧化酶, 是促进醛类生物转化的关键酶类。特别是可在嗜热环境中工作的醛氧化还原酶, 由于其出色的性能, 正成为工业生物技术研究 and 应用的热点。Brytan等^[34]通过对*Thermus thermophilus*来源的醛脱氢酶进行C端截断改造, 显著提升了该酶对特定大分子和芳香族取代醛的催化效率。该研究不仅阐明了C端延伸在嗜热酶稳定性和活性调节中的关键作用, 还为探究蛋白质在极端环境中的适应机制以及酶工程的进一步发展提供了新的见解。

Liu等^[35]发现的嗜热醛脱氢酶展现出了处理多种醛类底物的能力, 并且对多种添加剂和变性剂具有抵抗力, 预示着其在大规模工业应用中的广阔前景。Shortall等^[36]从*T. thermophilus*中提取出一种融合了脱氢酶和酯酶活性的双功能酶ALDH_{Tt}, 它在醛的氧化和酯的水解过程中表现卓越。通过ALDH_{Tt}与乳酸脱氢酶联合开发的双酶流动反应器能够稳定地再生NAD⁺并持续合成羧酸化合物, 即使在长时间运行后仍然能够保持高效运行, 体现了其在工业生产中的实际应用价值^[37]。Kadowaki等^[38]克隆的嗜热乙二醛氧化酶能够将发酵抑制剂5-羟甲基糠醛转化为有价值的化学品, 体现了其在生物炼制行业的潜力。

2.3 基于酯酶的生物合成

作为生物体内不可或缺的酶类, 酯酶催化酯键的形成与断裂。它们不仅是脂肪和油脂代谢的核心参与者, 还在化学合成中具有重要作用。酯酶在工业上的应用也极为广泛, 在制药、食品生产和化学合成方面展现出巨大的潜力。Miguel-Ruano等^[39]从温泉宏基因组中克隆了嗜热酯酶EstD11, 其对短链脂肪酸底物的偏爱以及出色的立体选择性为理解HSL家族酶的功能提供了全新的视角。González-González等^[40]发现了一种新型嗜热酯酶KLEST-3S, 它可以罕见地水解各种酰基甘油三酯。此外, 它还展现出高度的立体选择性, 能够精确催化(R, S)-布洛芬甲酯的水解反应, 为生物转化和有机合成提供了新方案。Bzdrenga等^[41]发现, *Thermogutta terrifontis*来源的酯酶TtEst2对塔崩和对氧磷等神经毒剂具有良好的清除效果。此外, 有研究表明, 嗜热酯酶在高价值聚合物的合成中同样表现出色, 如聚 δ -戊内酯和聚己内酯的合成^[42-44]。嗜热酯酶在生物催化方面的多样性和高效性使它们成为醇、酸和酯类精细化学品及药物中间体合成的理想催化剂。此外, 环境保护、造纸业乃至生物能源开发等多个领域也都有它们的身影, 预示着嗜热酯酶在当代工业生产中的作用愈发关键^[45-47]。

2.4 其他

嗜热酶的应用已远超醇、醛和酯的传统催化范畴, 其他嗜热酶在化工领域也显示出巨大潜力。Kim等^[48]利用嗜热血红蛋白催化环丙烷化反应, 将重氮丙酮和未活化烯烃转化为药物中间体。解桂

秋等^[49]通过嗜热脱卤酶合成了D-乳酸。Tavanti等^[50]利用嗜热细胞色素P450酶催化双氯芬酸转化为5-羟基代谢物。Parker等^[51]对嗜热L-氨基酸酯化酶进行改良,提高了其对L-氨基酸对映体的水解效率。Memarpoor-Yazdi等^[52]使用固定化嗜热脂肪酶催化正己烷合成芳香酯乙酸甲酯,提供了一种高效、经济、生物兼容且可再生的催化方案。Matsubara等^[53]则利用嗜热葡萄糖酸钠脱水酶合成2-酮-3-脱氧-D-葡萄糖酸钠。这些成果共同凸显了嗜热酶在生物医药和精细化工领域的强大作用及广泛应用前景。

3 嗜热酶在食品工业中的应用

食品工业是全球经济的重要支柱产业之一,其发展对满足人们日益增长的食品需求、保障食品安全、促进农业产业链升级和推动经济发展具有重大意义。嗜热酶作为一种高效的生物催化剂,在食品工业中发挥着不可替代的作用。它们能够改善食品口感、提高产品产量、增强物质稳定性,从而提升食品品质和延长保质期。随着现代生物工程技术的不断进步,嗜热酶的应用领域正在扩大,为食品工业的创新和发展注入了新的动力。

3.1 嗜热酶在糖类合成中的应用

在食品工业中,糖类既是基础成分又影响食品质感和感官体验。随着健康意识的提高,低糖和益生元食品需求增长,促使研究人员探索新型甜味剂和功能性糖类添加剂。当前,科学家们正通过嗜热酶催化技术革新糖类的生产方式。Arntzen等^[54]发现的嗜热外切海藻酸裂解酶,能在多种pH值、温度和盐浓度条件下发挥作用,可以高效地将海藻酸盐、聚- β -D-甘露糖酸和聚- α -L-古洛糖醛酸转化为单体糖。与之不同,Li等^[55]从*Rhodothermus marinus*中分离出的海藻多糖裂解酶则是一种内切型酶,它能将海藻多糖和聚- β -D-甘露糖酸以及聚- α -L-甘露糖酸分解成二糖、三糖和四糖。这些嗜热酶的发现为海藻生物质资源的利用提供了新的工具。Meng等^[56]在大肠杆菌体系内创建了一条高产的嗜热生物合成途径,用于高效生产UDP-葡萄糖醛酸,使生产成本大幅降低。Li等^[57]利用嗜热酶级联反应开发了一种高效低成本的UDP-半乳糖合成

途径,并通过分批和连续反应成功实现了UDP-半乳糖的克级生产,为UDP-糖类化合物的大规模合成提供了新思路。此外,Chaikaew等^[58]结合嗜热酶技术和先进的雾化处理,极大地提升了木薯浆液的水解速率,开辟了生产高附加值生物制品的新路线。Talekar等^[59]设计的新型酶基磁性纳米生物催化剂,整合了三类嗜热酶,实现了淀粉的全面转化,展现了在淀粉水解方面的卓越效能。在益生元的合成研究中,Hassan等^[60]从*Halothermothrix orenii*中克隆的半乳糖苷酶显示出了对多种底物的高效催化能力,特别是在合成 β -D-Galp-(1 $\rightarrow$ 6)-D-Lac和 β -D-Galp-(1 $\rightarrow$ 3)-D-Lac时。Zerva等^[61]利用嗜热 β -半乳糖苷酶将工业废料乳清酸转化为高价值的低聚半乳糖,实现了废物资源化。上述进展共同描绘了嗜热酶在糖类生产与应用的未来趋势:提升生产效率、降低成本,并向更加可持续和健康的生产模式转型。

3.2 其他

除了糖类,氨基酸、多肽和维生素也是食品工业发展的关键部分。Zhang等^[62]利用双功能谷胱甘肽合成酶和嗜热酶ATP再生系统,实现了谷胱甘肽的高效合成。Hanatani等^[63]通过组合11种嗜热酶,建立了一条葡萄糖合成半胱氨酸的体外途径。Zeng等^[64]借助嗜热枯草杆菌发酵甘蔗糖蜜和味精废液,生产聚 γ -谷氨酸,实现了废弃物的再利用。Zhong等^[65]开发的热循环四酶级联生物催化系统,实现了蔗糖向肌醇的转化,达到了98%的收率,为大规模低成本生产肌醇奠定了基础。随着生物技术的不断进步和创新,我们可以预见嗜热酶在食品工业中将扮演越来越重要的角色,从新型功能性食品的开发到废弃物资源化利用,再到提高生产效率降低成本,嗜热酶不仅助力实现更高效的生产过程,还将推动食品工业向更加绿色、可持续发展的方向。

4 嗜热酶在环境保护中的应用

随着工业化与城市化的快速发展,环境污染和生态破坏问题愈发严峻,对人类健康和可持续发展的威胁日益加剧。因此,寻求有效解决方案以应对环境挑战变得尤为迫切。在环境保护领域,微生物技术凭借其独特优势受到广泛关注,尤其

是嗜热菌及其特有的酶类, 它们在环境治理中展现出巨大潜力。嗜热酶因为在高温下的稳定性, 能够在严苛环境条件下维持活性, 可有效降解污染物、净化水质与土壤。此外, 嗜热酶还因具有高效、专一性强和可再生性等特点, 有助于降低环境治理成本并提升治理成效。近来, 随着生物技术的进步, 嗜热酶的应用范围和效果有了显著提升。目前, 嗜热酶已被广泛应用于废水处理、废气净化和污染治理等多个领域, 取得了显著的环境治理成果。同时, 研究者们正不断探索嗜热酶在其他环境治理领域的潜在应用, 以期望为解决环境问题提供更多的策略。

4.1 嗜热酶在环境污染治理中的应用

嗜热酶在环境污染治理领域发挥着重要作用, 特别是在高温条件下处理各种污染。凭借其在高温环境下的优异稳定性和抗毒性, 嗜热酶在应对石油泄漏、热油井等高温污染环境问题时尤为有效^[66]。Eumalai等^[67]表明, 嗜热混合菌群能有效降解长链烷烃, 这对理解和开发石油污染修复技术至关重要。Bubina等^[68]揭示了嗜热菌*Geobacillus* sp. G27降解萘的新代谢途径, 为高温环境下微生物降解多环芳烃机制的理解及耐高温生物降解技术的发展提供了新选择。除了石油污染修复, 嗜热酶也被用于其他工业废料的处理。嗜热菌*Geobacillus thermoleovorans* KNG 112能降解偶氮染料, 将其转化为低毒化合物, 为染料废水处理提供生物技术方^[69]。嗜热木聚糖酶可水解棕榈油厂的废水, 显著提升甲烷产率, 助力生物质能源的可持续发展^[70]。而嗜热果胶裂解酶和木聚糖酶则被用于分解农业和工业废弃物, 生产功能性生物寡糖, 实现废弃物的资源化^[71]。此外, Gao等^[72]通过嗜热菌和烷基多糖联合预处理加速污泥水解, 提高了污泥处理效率和有机物质的生物降解性, 为环保型污泥处理提供了新策略。Hsieh等^[73]则利用热纯化的氰酶和碳酸酐酶耦合系统进行氰酸盐降解, 高热稳定性的嗜热酶不仅提高了碳捕获效率, 还增强了其在工业废水处理中的实用性, 为氰酸盐的绿色、经济去除提供了有效解决方案。总体而言, 嗜热酶在环境污染治理的多个层面展现了广泛的应用潜力, 有助于解决工业废水和废物处理带来的挑战, 推动了可持续环保策

略的实施。

4.2 嗜热酶在碳捕获及封存中的应用

面对全球气候变暖的挑战, 二氧化碳的捕获和有效利用成为研究热点。生物技术, 特别是嗜热碳酸酐酶及嗜热菌的应用, 为这一问题提供了新的解决方案^[74,75]。嗜热碳酸酐酶在极端环境下的稳定性使其成为传统碳捕获方法的有效补充。Sharma等^[76]揭示了嗜热碳酸酐酶在恶劣环境下优异的性能。Luca等^[77]发现的新型嗜热 α -碳酸酐酶更是展现出了最高的催化效率。而嗜热菌*Sulfurihydrogenibium yellowstonense*不仅可用于碳捕获和储存, 还能通过与其他酶共表达来降低化学合成过程中的二氧化碳排放, 并提高产品产量^[78]。科研人员还探索了利用其他嗜热菌捕获二氧化碳的方法。例如, 嗜热微藻*Scenedesmus acuminatus* TH04在碳酸氢盐和二氧化碳系统中展现出强大的碳固定能力^[79]; 而嗜热菌*Methanothermobacter*则能在高温条件下直接将氢气和二氧化碳转化为甲烷, 显著提高了碳转化效率^[80]。同时, *Thermoanaerobacter kivui*被发现可以高效捕获二氧化碳并将其转化为甲酸, 其特有的氢依赖性二氧化碳还原酶进一步提升了甲酸产量^[81]。嗜热酶及相关微生物在碳捕获和转化领域发挥着举足轻重的作用, 它们不仅有助于减少大气中的温室气体排放, 还为应对气候变化和开发可持续能源提供了多种生物技术解决方案。

5 嗜热酶在生物能源生产中的应用

全球能源需求上升与传统化石燃料减少之间的矛盾推动了人类对可再生能源的迫切需求。生物能源因其清洁、可再生特性而备受青睐。然而, 生物能源生产中使用的酶在高温下稳定性不足, 影响了生产效率和规模。因此, 发掘在高温下稳定工作的嗜热酶和微生物, 对于生物能源的发展至关重要^[82]。嗜热酶在生物乙醇和甲醇的生产中展现出了良好的应用前景^[83]。Silva等^[84]通过嗜热厌氧微生物成功地利用葡萄糖和木糖高效生产乙醇。此外, 嗜热酶在氢能开发领域也扮演了重要角色^[85]。Bibra等^[86]发现的一种嗜热菌群落, 能够在高温下直接利用草原麻草产生氢气, 而且无需任何预处理步骤。Mohr等^[87]发现, 嗜热菌

*Parageobacillus thermoglucosidasius*具有一种特殊的酶系,能在高CO浓度环境下生长,并能将近似等摩尔比例的CO转化为氢气。而Noji等^[88]将嗜热蓝细菌的光系统Ⅱ和金纳米颗粒结合,发明了一种新型的光驱动水裂解纳米装置,实现了水的整体裂解并生成了无碳燃料氢气。这些创新成果均表明,嗜热微生物技术在生物燃料和氢能等可再生能源领域的应用已经展现出巨大的潜力和价值。随着研究的不断深入和技术创新的推进,我们可以预见嗜热微生物技术在未来能源转型中将扮演更加关键的角色。

6 嗜热酶在临床医学及药学中的应用

在临床医学和药学领域,嗜热酶的应用正逐渐受到重视,它们独特的稳定性和功能性为多种治疗和诊断手段带来了革新。Ferraro等^[89]从极端嗜热红藻中克隆到的C-藻蓝蛋白具有出色的抗氧化性能,并能在极端环境中保持稳定,使其有望成为食品工业中的色素和防腐剂,同时具备抗氧化和

抗癌的双重功效。Saeed等^[90]发现的*Pyrococcus furiosus*来源的L-天冬酰胺酶对白血病和癌症细胞具有选择性毒性,展示了其作为治疗急性淋巴细胞白血病的潜力。Ojha等^[91]从*Bacillus paralicheniformis*中分离出的热稳定溶菌酶,不仅能诱导癌细胞凋亡,还具有抗氧化活性,为开发天然抗氧化剂和抗癌药物提供了新的可能。

嗜热酶不仅在制药领域展现出了巨大的应用前景,还在疾病的诊断和治疗中发挥了重要作用,尤其是在癌症治疗和疫苗开发等方面。Tang等^[92]研发的嗜热酶纳米催化剂,利用天冬酰胺酶和精氨酸酶,可在近红外激光照射下引发精准的氨基酸剥夺和光热联合治疗,有效对抗乳腺癌。这种策略通过局部酶解必须氨基酸破坏肿瘤细胞内的代谢平衡,抑制细胞增殖和迁移,并通过光热转换增强治疗效果(图2)。Ahn等^[93]改造的嗜热蛋白酶体纳米颗粒,通过添加RGD肽增强了与肿瘤细胞的结合力,提升了肿瘤成像的效率。Wu等^[94]描述的NIR-Ⅱ激活纳米系统,利用嗜热木瓜蛋白酶降

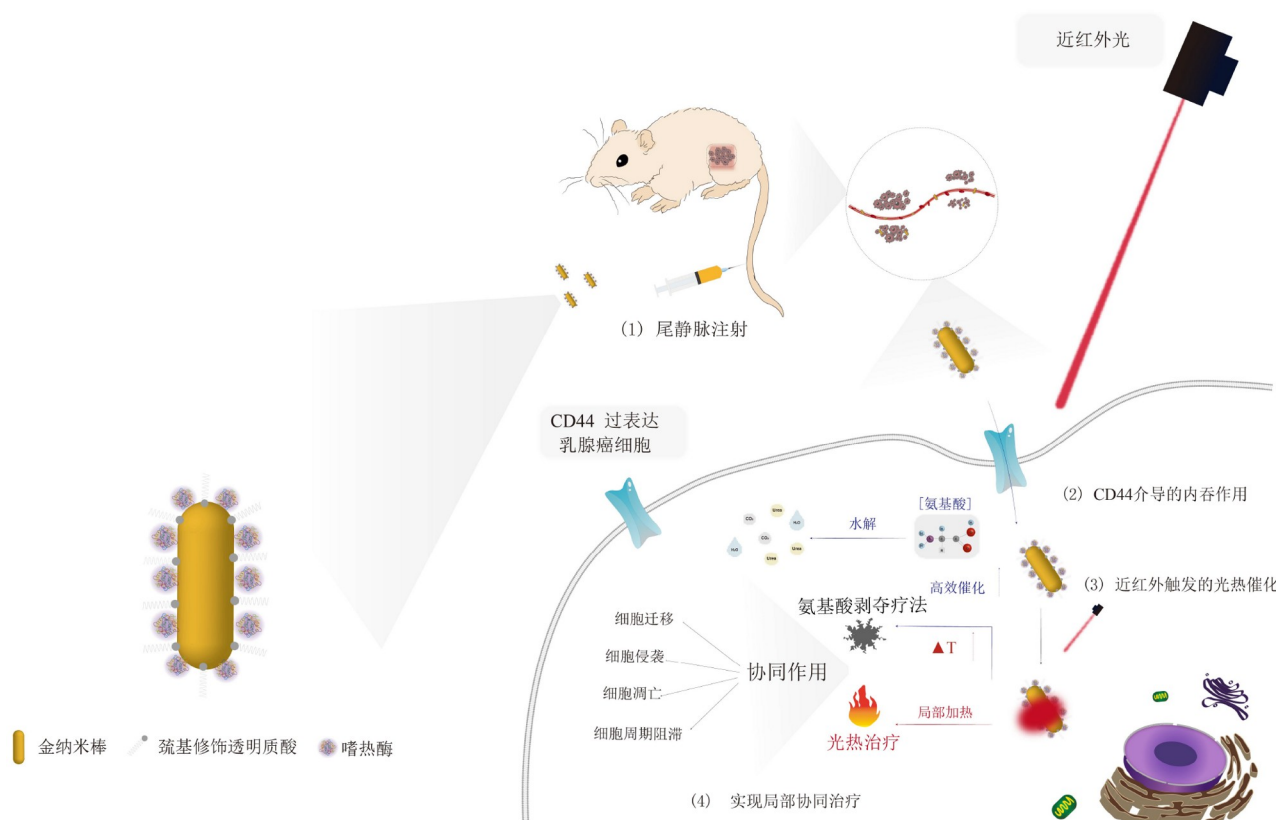


图2 近红外诱导的GHE纳米催化剂在嗜热酶-光热疗法中的示意图^[92]

解肿瘤细胞外基质, 增强了纳米药物对深层肿瘤组织的渗透, 开辟了深部肿瘤治疗的新途径。Hong等^[95]利用嗜热FOF1-ATPase负载的色质体构建了一种具有主动定向运动能力的肿瘤药物递送载体, 该载体在酸性肿瘤微环境中具有分布优势, 展现了其在提高疗效和减少不良反应方面的巨大潜力。Zhang等^[96]构建了新型热稳定自组装纳米骨架, 通过特异性激活细胞免疫, 尤其是T细胞介导的免疫反应, 为肿瘤和病毒感染的防治提供了新的疫苗开发策略。Liu等^[97]构建的多功能复合物GAS, 结合了嗜热酰基氨肽酶的A β 降解能力和scFv的靶向作用, 以及金纳米棒的光热转换特性, 为阿尔茨海默病的检测和治疗提供了新策略。Torres-Chavolla等^[98]提出的基于嗜热酶依赖等温放大技术和纳米粒子的DNA生物传感器, 可用于检测结核病相关基因片段IS6110, 其高灵敏度和经济性为结核病的早期诊断带来了希望。随着研究的不断深入, 嗜热酶在临床医学和药学中的价值正逐步显现。它们不仅有望成为抗击癌症、治疗神经退行性疾病等重大疾病的有力武器, 还将为疾病的早期诊断和个性化治疗提供更多可能性。

7 展望

嗜热酶自从在PCR技术中应用以来, 已在分子生物学领域展现出巨大的潜能。随着PCR相关技术的不断发展, 未来嗜热酶的研究应集中于基于PCR的高精度分子生物学技术, 如基因诊断、基因测序、单细胞测序和DNA存储等。在医学诊断领域, 嗜热酶的高精度表现为疾病检测提供了新的工具。同时, 在生物多样性研究中, 嗜热酶也为物种鉴定和生态保护提供了重要支持。其次, 嗜热酶在临床医学和药学领域的研究中展现出了极大的潜力。作为一个新型研究方向, 嗜热酶在肿瘤光热疗法中的应用正在逐步扩展, 包括将其作为有效的药物递送系统或直接参与药效发挥的分子。此外, 将嗜热酶与现行的肿瘤疗法, 如靶向治疗和化疗等相结合, 有望进一步增强其治疗效果, 为肿瘤治疗提供更为有效的方法。此外, 将嗜热酶的研究潜力转变为现实生产力是至关重要的。嗜热酶在化学工程、食品工业和环境管理等方面的探索已取得一定成果, 但这些应用大多仍

局限于实验室研究层面。要实现嗜热酶在工业生产中的广泛应用, 还需要克服诸多挑战。最后, 在嗜热酶的开发过程中, 必须考虑到生产活动对环境的影响, 确保其应用方式符合可持续发展的原则。同时, 还需关注相关的伦理问题, 保证其应用不会违背社会伦理标准。总之, 嗜热酶的未来发展不仅要在科技上追求卓越, 在社会责任和伦理考量上亦需谨慎行事。

参考文献

- [1] Brock TD. Life at high temperatures. *Science*, 1985, 230 (4722): 132-138
- [2] Jin M, Gai Y, Guo X, et al. Properties and applications of extremozymes from deep-sea extremophilic microorganisms: a mini review. *Mar Drugs*, 2019, 17(12): 656
- [3] Fiala G, Stetter KO. *Pyrococcus furiosus* sp. nov. represents a novel genus of marine heterotrophic archaeobacteria growing optimally at 100 °C. *Arch Microbiol*, 1986, 145(1): 56-61
- [4] Huber R, Langworthy TA, König H, et al. *Thermotoga maritima* sp. nov. represents a new genus of unique extremely thermophilic eubacteria growing up to 90 °C. *Arch Microbiol*, 1986, 144(4): 324-333
- [5] Bae SS, Kim YJ, Yang SH, et al. *Thermococcus onnurineus* sp. nov., a hyperthermophilic archaeon isolated from a deep-sea hydrothermal vent area at the PACMANUS field. *J Microbiol Biotechnol*, 2006, 16(11): 1826-1831
- [6] Siebers B, Zaparty M, Raddatz G, et al. The complete genome sequence of *Thermoproteus tenax*: a physiologically versatile member of the *Crenarchaeota*. *PLoS ONE*, 2011, 6(10): e24222
- [7] Stetter KO, König H, Stackebrandt E. *Pyrodictium* gen. nov., a new genus of submarine disc-shaped sulphur reducing archaeobacteria growing optimally at 105 °C. *Systatic Appl Microbiol*, 1983, 4(4): 535-551
- [8] Xue Y, Xu Y, Liu Y, et al. *Thermoanaerobacter tengcongensis* sp. nov., a novel anaerobic, saccharolytic, thermophilic bacterium isolated from a hot spring in Tengcong, China. *Int J Systatic Evolary Microbiol*, 2001, 51(4): 1335-1341
- [9] Pley U, Schipka J, Gambacorta A, et al. *Pyrodictium abyssi* sp. nov. Represents a novel heterotrophic marine archaeal hyperthermophile growing at 110 °C. *Systatic Appl Microbiol*, 1991, 14(3): 245-253
- [10] Winter J, Lerp C, Zabel HP, et al. *Methanobacterium wolfei*, sp. nov., a new tungsten-requiring, thermophilic,

- autotrophic methanogen. *Systatic Appl Microbiol*, 1984, 5 (4): 457-466
- [11] Zeikus JG, Wolee RS. *Methanobacterium thermoautotrophicus* sp. n., an anaerobic, autotrophic, extreme thermophile. *J Bacteriol*, 1972, 109(2): 707-713
- [12] Takami H, Inoue A, Fuji F, et al. Microbial flora in the deepest sea mud of the Mariana Trench. *FEMS Microbiol Lett*, 1997, 152(2): 279-285
- [13] Corbaz R, Gregory PH, Lacey ME. Thermophilic and mesophilic actinomycetes in mouldy hay. *J Gen Microbiol*, 1963, 32(3): 449-455
- [14] Henssen A. Beiträge zur morphologie und systematik der thermophilen actinomyceten. *Archiv Mikrobiol*, 1957, 26 (4): 373-414
- [15] Krasil'nikov NA, Agre NS. On two new species of *Thermopolyspora* hind. *Antibiot Bull*, 1964, 6: 97-107
- [16] Han H, Ling Z, Khan A, et al. Improvements of thermophilic enzymes: from genetic modifications to applications. *Bioresource Tech*, 2019, 279: 350-361
- [17] Hernández-Rollán C, Ehrmann AK, Vlassis A, et al. Neq2X7: a multi-purpose and open-source fusion DNA polymerase for advanced DNA engineering and diagnostics PCR. *BMC Biotechnol*, 2024, 24(1): 17
- [18] Gloeckner C, Sauter K, Marx A. Evolving a thermostable DNA polymerase that amplifies from highly damaged templates. *Angew Chem Int Ed*, 2007, 46(17): 3115-3117
- [19] Tian LF, Gao H, Yang S, et al. Structure and function of extreme TLS DNA polymerase TTEDbh from *Thermoanaerobacter tengcongensis*. *Int J Biol Macromol*, 2023, 253: 126770
- [20] Li Y, Yang X, Gao R. Thermophilic inorganic pyrophosphatase Ton1914 from *Thermococcus onnurineus* NA1 removes the inhibitory effect of pyrophosphate. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(21): 12735
- [21] Fujiwara A, Kawato K, Kato S, et al. Application of a euryarchaeota-specific helicase from *Thermococcus kodakarensis* for noise reduction in PCR. *Appl Environ Microbiol*, 2016, 82(10): 3022-3031
- [22] Kim YJ, Ryu YG, Lee HS, et al. Characterization of a dITPase from the hyperthermophilic archaeon *Thermococcus onnurineus* NA1 and its application in PCR amplification. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2008, 79(4): 571
- [23] Cho Y, Lee HS, Kim YJ, et al. Characterization of a dUTPase from the hyperthermophilic archaeon *thermococcus onnurineus* NA1 and its application in polymerase chain reaction amplification. *Mar Biotechnol*, 2007, 9(4): 450-458
- [24] Zhelkovsky AM, McReynolds LA. Simple and efficient synthesis of 5' pre-adenylated DNA using thermostable RNA ligase. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39(17): e117
- [25] Yang Z, Zhang C, Lian G, et al. Direct adenylation from 5'-OH-terminated oligonucleotides by a fusion enzyme containing Pfu RNA ligase and T₄ polynucleotide kinase. *Nucleic Acids Res*, 2022, 50(13): 7560-7569
- [26] Shroff R, Ellefson JW, Wang SS, et al. Recovery of information stored in modified DNA with an evolved polymerase. *ACS Synth Biol*, 2022, 11(2): 554-561
- [27] Esipov RS, Abramchik YA, Fateev IV, et al. A cascade of thermophilic enzymes as an approach to the synthesis of modified nucleotides. *Acta Naturae*, 2016, 8(4): 82-90
- [28] Fateev IV, Sinitsina EV, Bikanasova AU, et al. Thermophilic phosphoribosyltransferases *Thermus thermophilus* HB27 in nucleotide synthesis. *Beilstein J Org Chem*, 2018, 14: 3098-3105
- [29] Barthel S, Palluk S, Hillson NJ, et al. Enhancing terminal deoxynucleotidyl transferase activity on substrates with 3' terminal structures for enzymatic *de novo* DNA synthesis. *Genes*, 2020, 11(1): 102
- [30] Chen R, Yin X, Yu C, et al. Characterization of the recombinant group 3 alcohol dehydrogenase from *Thermotoga lettingae* TMO. *Afr J Microbiol Res*, 2020, 14(2): 1-9
- [31] Zhou S, Zhang SC, Lai DY, et al. Biocatalytic characterization of a short-chain alcohol dehydrogenase with broad substrate specificity from thermophilic *Carboxydothermus hydrogenoformans*. *Biotechnol Lett*, 2013, 35(3): 359-365
- [32] Orrego AH, Andrés-Sanz D, Velasco-Lozano S, et al. Self-sufficient asymmetric reduction of β -ketoesters catalysed by a novel and robust thermophilic alcohol dehydrogenase co-immobilised with NADH. *Catal Sci Technol*, 2021, 11 (9): 3217-3230
- [33] Kato J, Matsuo T, Takemura K, et al. Isopropanol production via the thermophilic bioconversion of sugars and syngas using metabolically engineered *Moorella thermoacetica*. *Biotechnol Biofuels*, 2024, 17(1): 13
- [34] Brytan W, Shortall K, Duarte F, et al. Contribution of a C-terminal extension to the substrate affinity and oligomeric stability of aldehyde dehydrogenase from *Thermus thermophilus* HB27. *Biochemistry*, 2024, 63(9): 1075-1088
- [35] Liu T, Hao L, Wang R, et al. Molecular characterization of a thermostable aldehyde dehydrogenase (ALDH) from the hyperthermophilic archaeon *Sulfolobus tokodaii* strain 7. *Extremophiles*, 2013, 17(1): 181-190
- [36] Shortall K, Durack E, Magner E, et al. Study of ALDH from thermus thermophiles-expression, purification and characterisation of the non-substrate specific, thermophilic enzyme displaying both dehydrogenase and esterase

- activity. *Cells*, 2021, 10(12): 3535
- [37] Shortall K, Arshi S, Bendl S, et al. Coupled immobilized bi-enzymatic flow reactor employing cofactor regeneration of NAD⁺ using a thermophilic aldehyde dehydrogenase and lactate dehydrogenase. *Green Chem*, 2023, 25(11): 4553-4564
- [38] Kadowaki MAS, Godoy MO, Kumagai PS, et al. Characterization of a new glyoxal oxidase from the thermophilic fungus *Myceliophthora thermophila* M77: hydrogen peroxide production retained in 5-hydroxymethylfurfural oxidation. *Catalysts*, 2018, 8(10): 476
- [39] Miguel-Ruano V, Rivera I, Rajkovic J, et al. Biochemical and structural characterization of a novel thermophilic esterase EstD11 provide catalytic insights for the HSL family. *Comput Struct Biotechnol J*, 2021, 19: 1214-1232
- [40] González-González R, Fuciños P, Beneventi E, et al. Reactivity of a recombinant esterase from *Thermus thermophilus* HB27 in aqueous and organic media. *Microorganisms*, 2022, 10(5): 915
- [41] Bzdrenga J, Ternet E, Chantegreil F, et al. A thermophilic bacterial esterase for scavenging nerve agents: a kinetic, biophysical and structural study. *Molecules*, 2021, 26(3): 657
- [42] Cao H, Han H, Li G, et al. Biocatalytic synthesis of poly(δ -Valerolactone) using a thermophilic esterase from *Archaeoglobus fulgidus* as catalyst. *Int J Mol Sci*, 2012, 13(10): 12232-12241
- [43] Ren H, Xing Z, Yang J, et al. Construction of an immobilized thermophilic esterase on epoxy support for poly(ϵ -caprolactone) synthesis. *Molecules*, 2016, 21(6): 796
- [44] Wang M, Shi H, Wu D, et al. Glutaraldehyde cross-linking of immobilized thermophilic esterase on hydrophobic macroporous resin for application in poly(ϵ -caprolactone) synthesis. *Molecules*, 2014, 19(7): 9838-9849
- [45] Xie Q, Zhang Z. Efficient control of dissolved and colloidal substances in raw papermaking whitewater by immobilized thermophilic esterase from a metagenomic library. *Cellulose*, 2024, 31(7): 4053-4062
- [46] Zhang Z, Hu W, Xie Q, et al. Efficient decolorization of melanoidin in raw molasses wastewater by thermophilic esterase in actual extreme conditions. *Bioresource Tech*, 2023, 382: 129191
- [47] Karnaouri A, Antonopoulou I, Zerva A, et al. Thermophilic enzyme systems for efficient conversion of lignocellulose to valuable products: structural insights and future perspectives for esterases and oxidative catalysts. *Bioresource Tech*, 2019, 279: 362-372
- [48] Kim T, Kassim AM, Botejue A, et al. Hemoprotein-catalyzed cyclopropanation en route to the chiral cyclopropanol fragment of grazoprevir. *ChemBioChem*, 2019, 20(9): 1129-1132
- [49] 解桂秋, 潘东, 何文龙, 等. 嗜热古细菌 *Sulfolobus tokodaii* 脱卤酶在D-乳酸生产中的应用. 高等学校化学学报, 2015, 36(4): 698-703
- [50] Tavanti M, Porter JL, Sabatini S, et al. Panel of new thermostable CYP116B self-sufficient cytochrome P450 monooxygenases that catalyze C-H activation with a diverse substrate scope. *Chem Cat Chem*, 2018, 10(5): 1042-1051
- [51] Parker BM, Taylor IN, Woodley JM, et al. Directed evolution of a thermostable L-aminoacylase biocatalyst. *J Biotechnol*, 2011, 155(4): 396-405
- [52] Memarpour-Yazdi M, Karbalaee-Heidari HR, Khajeh K. Production of the renewable extremophile lipase: valuable biocatalyst with potential usage in food industry. *Food Bioprocess Processing*, 2017, 102: 153-166
- [53] Matsubara K, Köhling R, Schönenberger B, et al. One-step synthesis of 2-keto-3-deoxy-d-gluconate by biocatalytic dehydration of d-gluconate. *J Biotechnol*, 2014, 191: 69-77
- [54] Arntzen MØ, Pedersen B, Klau LJ, et al. Alginate degradation: insights obtained through characterization of a thermophilic exolytic alginate lyase. *Appl Environ Microbiol*, 2021, 87(6): e02399-20
- [55] Li L, Cao S, Zhu B, et al. Efficient degradation of alginate and preparation of alginate oligosaccharides by a novel biofunctional alginate lyase with high activity and excellent thermophilic features. *Mar Drugs*, 2023, 21(3): 180
- [56] Meng DH, Du RR, Chen LZ, et al. Cascade synthesis of uridine-5'-diphosphate glucuronic acid by coupling multiple whole cells expressing hyperthermophilic enzymes. *Microb Cell Fact*, 2019, 18(1): 118
- [57] Li Y, Chen Q, Liu S, et al. Efficient one-pot synthesis of uridine diphosphate galactose employing a trienzyme system. *J Agric Food Chem*, 2024, 72(7): 3644-3653
- [58] Chaikaew S, Maeno Y, Visessanguan W, et al. Application of thermophilic enzymes and water jet system to cassava pulp. *Bioresource Tech*, 2012, 126: 87-91
- [59] Talekar S, Joshi A, Kambale S, et al. A tri-enzyme magnetic nanobiocatalyst with one pot starch hydrolytic activity. *Chem Eng J*, 2017, 325: 80-90
- [60] Hassan N, Nguyen TH, Intanon M, et al. Biochemical and structural characterization of a thermostable β -glucosidase from *Halothermothrix orenii* for galacto-oligosaccharide synthesis. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2015, 99(4): 1731-1744
- [61] Zerva A, Limnaios A, Kritikou AS, et al. A novel thermophile β -galactosidase from *Thermothielavioides*

- terrestris producing galactooligosaccharides from acid whey. *New Biotechnol*, 2021, 63: 45-53
- [62] Zhang X, Wu H, Huang B, et al. One-pot synthesis of glutathione by a two-enzyme cascade using a thermophilic ATP regeneration system. *J Biotechnol*, 2017, 241: 163-169
- [63] Hanatani Y, Imura M, Taniguchi H, et al. *In vitro* production of cysteine from glucose. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2019, 103(19): 8009-8019
- [64] Zeng W, Li W, Shu L, et al. Non-sterilized fermentative co-production of poly(γ -glutamic acid) and fibrinolytic enzyme by a thermophilic *Bacillus subtilis* GXA-28. *Bioresource Tech*, 2013, 142: 697-700
- [65] Zhong C, You C, Wei P, et al. Thermal cycling cascade biocatalysis of *myo*-inositol synthesis from sucrose. *ACS Catal*, 2017, 7(9): 5992-5999
- [66] Nzila A. Current status of the degradation of aliphatic and aromatic petroleum hydrocarbons by thermophilic microbes and future perspectives. *Int J Environ Res Public Health*, 2018, 15(12): 2782
- [67] Elumalai P, Parthipan P, Karthikeyan OP, et al. Enzyme-mediated biodegradation of long-chain n-alkanes (C32 and C40) by thermophilic bacteria. *3 Biotech*, 2017, 7(2): 116
- [68] Bubinas A, Giedraitytė G, Kalėdienė L, et al. Degradation of naphthalene by thermophilic bacteria via a pathway, through protocatechuic acid. *Open Life Sci*, 2008, 3(1): 61-68
- [69] Rajashekarappa KK, Mahadevan GD, Neelagund SE, et al. Decolorization of amaranth RI and fast red E azo dyes by thermophilic *Geobacillus thermoleovorans* KNG 112. *J Chem Tech Biotech*, 2021, 97(2): 482-489
- [70] Prasertsan P, Khangkhachit W, Duangsuwan W, et al. Direct hydrolysis of palm oil mill effluent by xylanase enzyme to enhance biogas production using two-steps thermophilic fermentation under non-sterile condition. *Int J Hydrogen Energy*, 2017, 42(45): 27759-27766
- [71] Kieraite I, Petkauskaitė R, Jasilionis A, et al. Evaluation of the potential of free and immobilized thermophilic bacterial enzymes in the degradation of agro-industrial wastes. *Arch Biol Sci (Beogr)*, 2015, 67(1): 161-172
- [72] Gao P, Guo L, Sun J, et al. Accelerating waste sludge hydrolysis with alkyl polyglucose pretreatment coupled with biological process of thermophilic bacteria: hydrolytic enzyme activity and organic matters transformation. *J Environ Manage*, 2019, 247: 161-168
- [73] Hsieh CJ, Hu CJ, Yu CY. Biomimetic carbon sequestration and cyanate detoxification using heat-purified carbonic anhydrase from *Sulphurihydrogenibium yellowstonense*. *Biomimetics*, 2023, 8(4): 365
- [74] Zaidi S, Srivastava N, Kumar Khare S. Microbial carbonic anhydrase mediated carbon capture, sequestration & utilization: a sustainable approach to delivering bio-renewables. *Bioresource Tech*, 2022, 365: 128174
- [75] Ali J, Faridi S, Sardar M. Carbonic anhydrase as a tool to mitigate global warming. *Environ Sci Pollut Res*, 2023, 30(35): 83093-83112
- [76] Sharma A, Chiang R, Manginell M, et al. Carbonic anhydrase robustness for use in nanoscale CO₂ capture technologies. *ACS Omega*, 2023, 8(41): 37830-37841
- [77] Luca VD, Vullo D, Scozzafava A, et al. An α -carbonic anhydrase from the thermophilic bacterium *Sulphurihydrogenibium azorense* is the fastest enzyme known for the CO₂ hydration reaction. *Bioorg Med Chem*, 2013, 21(6): 1465-1469
- [78] Ting WW, Yu JY, Lin YC, et al. Enhanced recombinant carbonic anhydrase in T7RNAP-equipped *Escherichia coli* W3110 for carbon capture storage and utilization (CCSU). *Bioresource Tech*, 2022, 363: 128010
- [79] Do CVT, Nguyen NTT, Tran TD, et al. Capability of carbon fixation in bicarbonate-based and carbon dioxide-based systems by *Scenedesmus acuminatus* TH04. *Biochem Eng J*, 2021, 166: 107858
- [80] Jiang B, Hu X, Söderlind U, et al. Identification of the biomethanation pathways during biological CO₂ fixation with exogenous H₂ addition. *Fuel Processing Tech*, 2022, 238: 107478
- [81] Schwarz FM, Müller V. Whole-cell biocatalysis for hydrogen storage and syngas conversion to formate using a thermophilic acetogen. *Biotechnol Biofuels*, 2020, 13(1): 32
- [82] Zuliani L, Serpico A, De Simone M, et al. Biorefinery gets hot: thermophilic enzymes and microorganisms for second-generation bioethanol production. *Processes*, 2021, 9(9): 1583
- [83] Dutta S, Suresh Kumar M. Potential use of thermophilic bacteria for second-generation bioethanol production using lignocellulosic feedstocks: a review. *Biofuels*, 2023, 14(8): 851-864
- [84] Silva V, Ratti RP, Sakamoto IK, et al. Biotechnological products in batch reactors obtained from cellulose, glucose and xylose using thermophilic anaerobic consortium. *Renew Energy*, 2018, 125: 537-545
- [85] Gupta N, Pal M, Sachdeva M, et al. Thermophilic biohydrogen production for commercial application: the whole picture. *Int J Energy Res*, 2016, 40(2): 127-145
- [86] Bibra M, Kumar S, Wang J, et al. Single pot bioconversion of prairie cordgrass into biohydrogen by thermophiles. *Bioresource Tech*, 2018, 266: 232-241
- [87] Mohr T, Aliyu H, Küchlin R, et al. CO-dependent

- hydrogen production by the facultative anaerobe *Parageobacillus thermoglucosidasius*. *Microb Cell Fact*, 2018, 17(1): 108
- [88] Noji T, Suzuki H, Gotoh T, et al. Photosystem II-gold nanoparticle conjugate as a nanodevice for the development of artificial light-driven water-splitting systems. *J Phys Chem Lett*, 2011, 2(19): 2448-2452
- [89] Ferraro G, Imbimbo P, Marseglia A, et al. A thermophilic C-phycocyanin with unprecedented biophysical and biochemical properties. *Int J Biol Macromol*, 2020, 150: 38-51
- [90] Saeed H, Hemida A, El-Nikhely N, et al. Highly efficient *Pyrococcus furiosus* recombinant L-asparaginase with no glutaminase activity: expression, purification, functional characterization, and cytotoxicity on THP-1, A549 and Caco-2 cell lines. *Int J Biol Macromol*, 2020, 156: 812-828
- [91] Ojha P, Kar NP, Behera HT, et al. Independent antioxidant and anticancer properties of a novel thermostable lysozyme isolated from *Bacillus paralicheniformis*: *in silico* and *in vitro* studies. *3 Biotech*, 2023, 13(7): 240
- [92] Tang X, Zhang L, Huang M, et al. Selective enhanced cytotoxicity of amino acid deprivation for cancer therapy using thermozyne functionalized nanocatalyst. *J Nano-biotechnol*, 2024, 22(1): 53
- [93] Ahn KY, Ko HK, Lee BR, et al. Engineered protein nanoparticles for *in vivo* tumor detection. *Biomaterials*, 2014, 35(24): 6422-6429
- [94] Wu D, Chen X, Zhou J, et al. A synergistic optical strategy for enhanced deep-tumor penetration and therapy in the second near-infrared window. *Mater Horiz*, 2020, 7(11): 2929-2935
- [95] Hong W, Lou B, Gao Y, et al. Tumor microenvironment responded naturally extracted FOF1-ATPase loaded chromatophores for antitumor therapy. *Int J Biol Macromol*, 2023, 230: 123127
- [96] Zhang J, Yang J, Li Q, et al. T Cell activating thermostable self-assembly nanoscaffold tailored for cellular immunity antigen delivery. *Adv Sci*, 2023, 10(26): 2303049
- [97] Liu D, Li W, Jiang X, et al. Using near-infrared enhanced thermozyne and *scFv* dual-conjugated Au nanorods for detection and targeted photothermal treatment of Alzheimer's disease. *Theranostics*, 2019, 9(8): 2268-2281
- [98] Torres-Chavolla E, Alocilja EC. Nanoparticle based DNA biosensor for tuberculosis detection using thermophilic helicase-dependent isothermal amplification. *Biosens Bioelectron*, 2011, 26(11): 4614-4618