

重构工业菌让“细胞工厂”绿色高效

作者：writer 来源：科学网

本文原地址：<https://www.iikx.com/news/progress/26805.html>

本文仅供学习交流之用，版权归原作者所有，请勿用于商业用途！

重构工业菌让“细胞工厂”绿色高效。





生物发酵罐。陶勇摄

既然外源行不通，那就试试内源。陶勇说， α 酮戊二酸在青霉素到头孢的催化反应中会生成琥珀酸，而在三羧酸循环中 α 酮戊二酸同样会生成琥珀酸。团队不禁设想，如果能让三羧酸循环中的 α 酮戊二酸在催化反应中转化为琥珀酸，不就解决了内源供应问题吗？

基于此，研究人员将三羧酸循环中 α 酮戊二酸到琥珀酸的通道断开，把青霉素到头孢的酶催化反应偶联到循环之中，这样既能在细胞正常生长的同时为酶提供必需的供底物，又解决了 α 酮戊二酸依赖型的一系列酶的催化能力不足问题。

林白雪说：我们当时只改了这一步，就把酶催化效率提高了11倍。2015年，该研究成果发表于《美国科学院院刊》（PNAS）。

适者生存的聪明细胞

新的挑战又出现了。陶勇回忆道，三羧酸循环断了之后，细胞只能在实验室提供的营养丰富的牛肉膏蛋白胨培养基中生长，一旦移到工业生产所用的无机盐培养基中，细胞就不长了。

团队又马不停蹄地开始工业化路径的进一步探索。

自然界中有些微生物天生不具有三羧酸循环，但也能在有氧条件下生存。这让论文第一作者、当时在中国科学院微生物研究所读博士的周航兴奋起来：是否可以通过人为进化让切断三羧酸循环的菌调节自身来适应无机盐环境呢？

周航开始了为期11周的适应性进化实验。我们先把没有完整三羧酸循环的菌放在牛肉膏蛋白胨培养基中生长，看到有菌长起来后就把它整体稀释十倍，取其十分之一转接到葡萄糖培养基里。一共做了45轮循环之后发现，没有完整三羧酸循环的菌也能够无机盐培养基中正常生长了。随后，团队成员开始着手基因组分析。

2017年，陶勇前往美国参加会议。细菌代谢流分析学者、美国特拉华大学教授Maciek R. Antoniewicz对陶勇团队正在开展的研究颇感兴趣，主动提出可以帮助他们利用同位素标记进行定位。根据对碳13代谢流数据分析，陶勇团队终于发现了不完全三羧酸循环下细胞仍能正常生长的奥秘。

在细胞中央代谢提供的12个分子中， α 酮戊二酸、草酰乙酸和丁二酰辅酶A是三羧酸循环所必须的。

通过代谢流分析可以发现，除去人工阻断循环的地方，还有两处没有流量通过，并且正常的三羧酸循环是顺时针流动的，进化后的菌中有一步是逆时针流动。陶勇告诉《中国科学报》，细胞很聪明，我们不让它从这边走，但它要活下去，它只好把另一步反应突变，调转方向，以此维持琥珀酰辅酶A的产生。

于是，他们在实验室里实现了不完整三羧酸循环的细胞在无机盐培养基中生存。

实现高价值化学品的生物制造

从设计到进化再到解析，这已经是一个成熟的研究发现。但周航并不满足于此。

大肠杆菌和很多好氧微生物一样，‘吃’进去的葡萄糖在三羧酸循环中会转化为二氧化碳。周航说，二氧化碳的排放减少了直接用于产品合成的碳通量，从而对产品产量产生负面影响。因此，阻断三羧酸循环及其旁路可以减少碳耗散，促进好氧发酵中的化学生物合成。这也是科学家一直想要提高的有氧发酵中的生产效率问题。

有没有办法让细胞不需要琥珀酰辅酶A，在工业化生产中提高生产效率？周航又一次钻进文献里寻找头绪。

终于，他们发现，将外源乙酰辅酶A依赖途径引入到大肠杆菌中，使大肠杆菌不需要依赖琥珀酰辅酶A。林白雪说，改造后的大肠杆菌在三羧酸循环缺失的情况下，在无机盐中长得非常好。

团队构建了一种没有功能性三羧酸循环的大肠杆菌菌株，该菌株可以作为化学物质生物合成的通用底盘。利用这个底盘细胞，他们开始尝试不同化学品的生物合成，实现了4种不同化学品的生物合成，提高了产物转化率。

研究团队进一步以左旋肉碱生物合成为突破口。左旋肉碱是人体内天然存在的一种类氨基酸物质，广泛应用于食品添加剂、饲料添加剂、药物治疗等多个领域，具有日益旺盛的市场需求。预计2025年左旋肉碱的市场规模将达到2.5亿美元。

陶勇团队利用上述工业底盘细胞构建微生物细胞工厂，实现了左旋肉碱的绿色高效生物制造。项目获得具有自主知识产权的关键技术，技术达国际先进水平，并已完成技术转让，实现产业化，生产后经济效益可观。左旋肉碱项目转化的实现，说明这个底盘细胞可以‘一石多鸟’，实现了研发的闭环。林白雪说。

陶勇说，这项研究成果不仅打破了从实验室到产业化的关键瓶颈，更为微生物发酵减碳提供了新的思路。未来，这座绿色高效的细胞工厂将会陆续赋能多种化学品合成。陶勇说：在减少二氧化碳排放的同时，提高合成产物得率，我想这应该是我们做绿色生物制造最理想的目标，也是我们一直在努力的方向。（来源：中国科学报 李晨 杨晨）

相关论文信息：<https://doi.org/10.1038/s41467-024-46655-4>

作者：陶勇等 来源：《自然—通讯》

更多 科学进展 请访问 <https://www.iikx.com/news/progress/>

本文版权归原作者所有，请勿用于商业用途，[爱科学iikx.com](https://www.iikx.com)转发