

· 序 言 ·

王钦宏 中国科学院天津工业生物技术研究所研究员、博士生导师、副所长。国务院特殊津贴获得者，天津市创新人才推进计划创新团队入选者，荣获天津市五一劳动奖章等荣誉。主要从事工业微生物的进化与代谢工程研究，包括重要化学品高性能细胞工厂创制、基因组水平编辑和实验室进化筛选、液滴微流控高通量筛选平台搭建及应用等。近年来在 *Metab Eng*、*Biotechnol Biofuels*、*ACS Synth Biol*、*Anal Chem* 等领域主流国际期刊发表科研论文 50 余篇，获授权专利 13 项，参与了国家科学技术部、国家发展和改革委员会、中国科学院相关领域战略规划编制。现为学术期刊 *Scientific Reports* 和《生物工程学报》编委。



代谢工程 30 年专刊序言 (2021)

王钦宏^{1,2}

1 中国科学院天津工业生物技术研究所 中国科学院系统微生物工程重点实验室，天津 300308

2 国家合成生物技术创新中心，天津 300308

王钦宏. 代谢工程 30 年专刊序言 (2021). 生物工程学报, 2021, 37(5): 1471-1476.

Wang QH. Preface for special issue on the 30th anniversary of metabolic engineering (2021). Chin J Biotech, 2021, 37(5): 1471-1476.

摘要: 代谢工程利用重组 DNA 技术、合成生物学、基因组编辑来改变生物体的细胞网络，包括代谢、基因调控和信号网络等。它可以实现加强包括化学品、燃料、化学原料药和其他生物技术产品等代谢物生产的目标，提升生物制造能力与效率。为了梳理和凝练代谢工程 30 年来的发展状况，《生物工程学报》特组织出版专刊，从代谢工程总体发展、共性技术以及以什么宿主和做什么产品等 4 个方面展现该领域的发展动态和趋势，并为代谢工程领域的进一步发展提出建设性的意见与展望。

关键词: 代谢工程，细胞网络，合成生物学，基因组编辑，生物制造

Received: April 13, 2021

Corresponding author: Qinong Wang. Tel/Fax: +86-22-84861950; E-mail: wang_qh@tib.cas.cn

Preface for special issue on the 30th anniversary of metabolic engineering (2021)

Qinhong Wang^{1,2}

¹ CAS Key Laboratory of Systems Microbial Biotechnology, Tianjin Institute of Industrial Biotechnology, Chinese Academy of Sciences, Tianjin 300308, China

² National Technology Innovation Center of Synthetic Biology, Tianjin 300308, China

Abstract: Metabolic engineering is the use of recombinant DNA technology, synthetic biology and genome editing to modify the cellular networks including metabolic, gene regulatory, and signaling networks of an organism. It can achieve the desirable goals such as enhanced production of metabolites, and improve the capability of biomanufacturing pharmaceuticals, biofuels and biochemicals as well as other biotechnology products. In order to comprehend the status of metabolic engineering in past 30 years, we published this special issue to review the progress and trends of metabolic engineering from the four aspects of overall development, key technologies, host engineering and product engineering, respectively, for laying the foundation for the further development of metabolic engineering.

Keywords: metabolic engineering, cellular networks, synthetic biology, genome editing, biomanufacturing

代谢工程利用重组 DNA 技术、基因和基因组编辑等技术，对细菌、酵母或植物等生物体的代谢、基因调控、信号网络等进行细胞网络定向修饰和改造。它可以优化现有的生化反应和代谢途径，引入外源代谢途径，甚至创建自然界不存在的代谢途径，来实现和提高氨基酸、有机酸、化工醇、抗生素、维生素、化学原料药以及其他生物技术产品的生物合成与制造能力。代谢工程这一概念最早由该领域的先驱、美国学者 James Bailey 于 1991 年提出^[1]。代谢工程领域另一重要先驱、*Metabolic Engineering* 杂志创刊主编 Gregory Stephanopoulos 教授等认为，代谢工程是一种提高菌体生物量或代谢物产量的理性化方法^[2-4]。

代谢工程从 20 世纪 90 年代初出现以来，极大地推进了生物技术与生物产业的发展。特别是近年来随着合成生物学、基因组编辑、深度机器学习、自动化技术等前沿领域的快速发展，进一步把代谢工程领域推向前所未有的高度^[5-8]。代谢工程研究已经从简单基因操作发展到多基因优化改造发展，从改造局部基因组向全基因组规模的设计合成与系统优化发展 (图 1)。通过发展多基因、多位点操作的多重基因组自动改造等技术，

可以在基因组水平上重塑细胞网络，对影响生物合成能力与效率的基因编码序列、启动子结合位点、核糖体结合位点或其他调控区进行多位点突变、修饰、改造和进化，优化前体 (中间体) 的供应、解除产物反馈抑制、调控关键酶的磷酸化、乙酰化、甲基化以及促进还原力供给与能量代谢平衡等^[9]。利用合成生物学的理念，可以按照对生命系统运行法则的认识，以最优化的方式重新

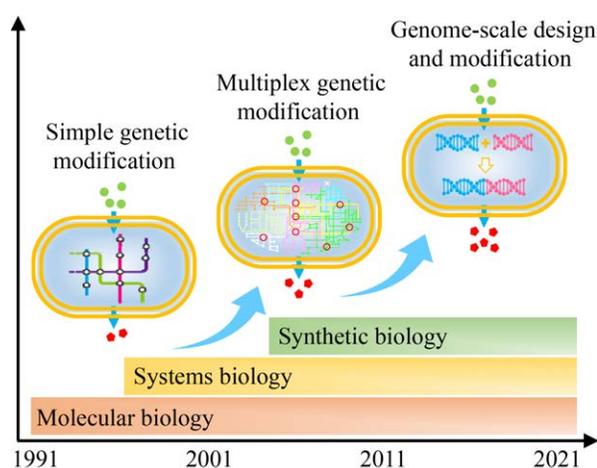


图 1 代谢工程 30 年发展路线图

Fig. 1 Roadmap of metabolic engineering in the past 30 years.

编程,甚至合理引入自然界不存在的人造法,构建出全新的“人工生物”^[10]。设计重构的“人工生物”不仅有可以高效利用生物质资源转化生产基础化学品,还能合成原来不能自然合成的石油化工产品。由此,塑料、橡胶、纤维以及许多大宗的传统石油化工、材料化工产品,将逐渐被来自可再生原料的生物制造产品所替代,生物制造将彻底改变自工业革命以来以化石资源为基础的原料路线,实现从不可再生的“碳氢化合物”为能源和原材料的经济结构向可再生的“碳水化合物”的经济结构的转变^[11-13]。

值此代谢工程诞生 30 周年之际,为了梳理 30 年来代谢工程的发展脉络,包括核心技术进展、重大产品开发及生物产业推进的影响和贡献,《生物工程学报》组织出版了本期“代谢工程 30 年”专刊,分 4 个栏目,共 18 篇,邀请了一批在代谢工程研究领域的一线科学家,分别从总体发展(总体篇)、共性技术(技术篇)以及以什么宿主(宿主篇)和做什么产品(产品篇)等 4 个方面展现该领域的发展动态和趋势,为代谢工程领域的进一步发展提出建设性的意见与展望。

30 年来,代谢工程先后与分子生物学、系统生物学和合成生物学发生深度的交叉融合,并在此基础上获得了飞速发展,极大地促进了生物技术进步和生物产业升级。我国较早从事代谢工程研究的天津大学赵学明/陈涛团队(1477-1493 页),基于国内外代谢工程理论与实践的成果,结合多年来从事代谢工程教学与科研的体会,系统总结了代谢工程 30 年的总体发展状况,尤其是通过国际 SCI 论文发表情况对 30 年来代谢工程学术研究现状与我国在该领域的地位和影响力进行了分析,同时重点总结了近 10 年来系统生物学方法和合成生物学的主要使能技术在代谢工程中的成功实践,也探讨了目前代谢工程发展中存在的主要问题 and 今后的发展趋势。科学认知的不断深刻,分子遗传操作技术的迅猛发展,生物元件的开发,

进化工程与机器学习的持续创新,使工程思维在应用中大放异彩,代谢工程在 30 年进化过程中取得了巨大的成就,中国科学院植物生理生态研究所王勇团队(1494-1509 页)从代谢设计(从简单到复杂)、流量优化(从静态到动态)、进化工程(从基因到菌株)以及机器学习(从代谢设计到流量优化)4 个角度,系统介绍了代谢工程在发展中不断创新的理论与方法及其应用,结合人工智能的发展,展望了代谢工程自动化、智能化的发展前景。

共性技术是推进代谢工程领域快速发展的重要手段。代谢工程的创新发展离不开代谢分析、代谢建模与代谢调控等共性技术的开发与创新。代谢工程研究需要从基因、RNA、蛋白、代谢物和代谢流量等多个层次,从全局规模上分析细胞代谢,并以此为基础进一步设计、修饰和重构细胞。代谢流量分析可以深入解析代谢调控规律,提供预测目标产物高产的改造方案,使代谢流量最大限度地流入目标产物的合成途径。上海交通大学姚瑞莲团队(1510-1525 页)综述了代谢流分析的发展历程,总结了代谢流量组学技术在工业生物技术和生物医药与大健康领域中的应用情况,并对代谢流量分析的标准化、高通量以及基因组尺度的 ^{13}C 代谢流量分析等未来发展方向进行展望。近年来,基因组规模代谢网络模型(Genome Scale Metabolic network Model, GSMM)正成为代谢工程研究的重要工具。在基础 GSMM 模型基础上,通过整合基因组、转录组、蛋白组和热力学数据,可以实现基于各种约束的 GSMM 的构建及应用。华东理工大学庄英萍/夏建业团队(1526-1540 页)系统梳理了转录组约束、蛋白组约束、以及热力学约束的 GSMM 理论基础、构建方法、应用范围,分析了相应方法的不足及应用限制等,并对基于约束的 GSMM 构建及应用前景进行了展望,从而为该领域的研究理清线索,为基于各种约束模型的构建提供了参考。代谢调控技术是代谢工程改造的重要技术手段。尤其是随

着合成生物学的不断突破,挖掘和人工设计的高质量调控元件大幅度提升了对细胞网络的改造能力。中国科学院微生物研究所于波团队 (1541–1563 页) 从转录调控、翻译调控、翻译后调控等不同层面,系统总结了代谢调控研究从单基因的静态调控到系统水平上的智能精确动态调控的发展状况、存在问题等,为代谢表达调控技术进一步发展及在代谢工程领域应用提供了参考。

宿主细胞(也称为底盘细胞)是开展代谢工程研究的重要载体,尤其对生物制造而言,不同类型的宿主细胞适用于不同类型产品的生产。微生物细胞、植物细胞、动物细胞都被用于代谢工程研究,但是目前更多的宿主细胞还是微生物细胞。模式微生物——大肠杆菌和酿酒酵母,由于培养简单、生长快速、遗传工具丰富且遗传改造效率高而被广泛应用。但是近年来,随着 CRISPR/Cas 等基因编辑技术的发展,谷氨酸棒杆菌、枯草芽孢杆菌、丝状真菌、非传统酵母等越来越多的微生物细胞被推广使用,有效地拓展了代谢工程研究的范围^[14]。大肠杆菌作为一种重要的模式工业微生物宿主,在医药、化工、农业等方面广泛应用;中国科学院天津工业生物技术研究所张学礼团队 (1564–1577 页) 从大肠杆菌途径设计、合成途径创建与优化、细胞全局优化 3 个方面,对大肠杆菌代谢改造起重要推动作用的技术进行系统总结,并对大肠杆菌代谢工程中关键技术的应用进行了展望。酿酒酵母作为另一种重要的模式工业微生物宿主,被广泛应用于大量大宗化学品和新型高附加值生物活性物质的生物制造;浙江大学连佳长团队 (1578–1602 页) 结合合成生物学、生物信息学以及机器学习等相关技术的快速发展,总结了经典代谢工程的常用方法和策略,以及在此基础上发展而来的系统代谢工程和合成生物学驱动的代谢工程技术,并且结合最新技术发展趋势,展望了未来酿酒酵母代谢工程发展的新方向。谷氨酸棒杆菌长期以来主要用于氨基酸生

产,但是随着代谢工程的发展,有机酸、化工醇、重组蛋白等都可以在谷氨酸棒杆菌中实现高效生产;中国科学院天津工业生物技术研究所郑平/王钰团队 (1603–1618 页) 综述了近期针对谷氨酸棒杆菌开发的代谢工程使能技术发展状况,着重介绍了基于 CRISPR 的基因组编辑、基因表达调控、适应性进化和生物传感器等技术的开发和应用。枯草芽孢杆菌作为一种食品安全级的微生物,具有胞外分泌蛋白能力强以及无明显的密码子偏爱性等特点,也逐渐成为被广泛应用的代谢工程宿主细胞;江南大学刘龙团队 (1619–1636 页) 从启动子工程、基因编辑、基因回路、辅因子工程以及途径酶组装等方面介绍枯草芽孢杆菌在代谢工程领域的研究历程,并总结其在生物制品生产中的相关应用,最后对其未来研究方向进行展望。丝状真菌作为重要的工业微生物,在有机酸、蛋白质及次级代谢产物等关键生物基产品生产方面发挥着重要作用;中国科学院天津工业生物技术研究所田朝光团队 (1637–1658 页) 系统介绍了近年来丝状真菌代谢工程技术的发展,及其在生物基化学品细胞工厂构建中的应用,讨论了丝状真菌代谢工程中的关键问题并展望其未来发展。解脂耶氏酵母、克鲁维酵母、毕赤酵母、假丝酵母、汉逊酵母等非传统酵母因其具有天然的生理代谢优势,包括快速生长、多底物利用、胁迫耐受性强等,在代谢工程领域得到了广泛关注;中国科学院天津工业生物技术研究所戴宗杰团队 (1659–1676 页) 总结了非传统酵母中基因编辑工具的发展,并从代谢工程改造策略角度概括了利用非传统酵母进行产品合成的研究进展,讨论了非传统酵母在产品生产应用方面遇到的挑战和未来的研究方向。相关技术的不断发展与进步,使我们加深对不同宿主细胞深入认识的同时,也使这些宿主细胞逐渐成为代谢工程研究和开发的理想宿主细胞。

代谢工程研究的主要目的是通过改造细胞代

谢网络, 高效地合成目标产品。30 年来通过广泛的代谢工程研究与开发, 生物基化学品 (如氨基酸、有机酸、维生素、抗生素)、生物燃料 (如乙醇)、生物材料 (如聚羟基脂肪酸酯、聚乳酸等) 等都可以以可再生的原料和绿色的生产方式实现高效生产制造, 推动人类工业经济发展进入一个新的阶段。氨基酸生产是我国发酵工业的支柱产业, 随着代谢工程的快速发展, 氨基酸的代谢工程育种蓬勃发展; 天津科技大学陈宁团队 (1677-1696 页) 首先总结了传统的正向代谢工程、基于组学分析与代谢模拟的反向代谢工程, 以及借鉴自然进化的进化代谢工程等策略, 然后分别介绍了大宗氨基酸、分支氨基酸、芳香族氨基酸等不同氨基酸代谢工程的发展状况与未来的发展趋势, 为应对日益剧烈的市场竞争、开发高附加值氨基酸品种和新工艺提供了参考。四碳有机酸作为重要的平台化学品, 广泛应用于食品、化工、农业、医药和生物材料等领域, 利用微生物发酵生产四碳有机酸具有反应条件温和、过程绿色环保等优势, 具有广泛的应用前景; 南京工业大学姜岷团队 (1697-1720 页) 总结了四碳有机酸的生物合成途径和代谢机制, 着重讨论了天然菌株生产四碳有机酸以及基于菌种选育和代谢工程改造策略提高四碳有机酸合成能力的研究进展及挑战, 为四碳有机酸的高效生物合成提供广阔的参考方向。高级醇具有比乙醇更优秀的燃料性能, 是化石燃料的重要补充, 利用微生物以可再生的生物质为原料进行高级醇的生产可同时缓解当前的能源与环境危机, 已成为绿色生物制造的重大发展方向; 北京理工大学霍毅欣团队 (1721-1736 页) 结合自身有幸亲历了该领域从零到一、直至实现跨越式突破的完整历程, 回顾了高级醇异源微生物合成的数个里程碑式工作, 从途径创建、途经优化、原料扩展、底盘改造、产业化进程等多方面进行了分析总结, 希冀对高级醇代谢工程的创新发展提供参考。随着细菌耐药性问题越来越突出, 迫

切需要研发出新型抗生素来应对耐药菌, 抗生素代谢工程研究提供了重要路径; 中国医学科学院医药生物技术研究所赫卫清团队 (1737-1747 页) 结合亲身经历 14-16 元环大环内酯类抗生素 (Macrolide antibiotics, MA) 的开发, 对利用代谢工程解析并改造 MA 的生物合成基因来获得新的 MA 衍生物以及利用代谢工程的方法提高 MA 产量进行了总结, 并详细介绍了我国自主研发的大环内酯类新药可利霉素的特点及利用代谢工程构建和改造其产生菌的过程, 为我们创造出具有多种骨架的大环内酯类化合物来抵御后抗生素时代的威胁提供了借鉴。维生素是维持人体生命活动必需的一类有机物质, 已广泛应用于医药、食品添加剂、饲料添加剂、化妆品等领域, 全球需求呈逐年增长态势, 维生素代谢工程可以促进绿色环保安全生产、能耗低, 极具发展前景; 中国科学院天津工业生物技术研究所张大伟团队 (1748-1770 页) 回顾了近 30 年来代谢工程在维生素生产领域的研究进展, 详细阐述了水溶性维生素 (维生素 B1、B2、B3、B5、B6、B7、B9、B12 和维生素 C 的前体) 和脂溶性维生素 (维生素 A、维生素 D 的前体、维生素 E 和维生素 K) 的生物合成研究现状, 并对其发酵生产的瓶颈进行了探讨, 最后对合成生物技术创建维生素生产菌种进行了展望, 为进一步推进维生素代谢工程研发奠定基础。芳香族化合物是一类可以通过微生物发酵生产的化学品, 广泛应用于医药、食品、饲料和材料等领域, 利用代谢工程手段对莽草酸和芳香族氨基酸合成途径进行理性改造, 微生物细胞可以定向地大量积累人们需要的各种芳香族化合物; 笔者团队 (1771-1793 页) 对 30 年来国内外代谢工程改造微生物合成各种芳香族化合物的研究策略和生物合成途径进行了梳理和总结, 以期开展相关研究提供参考。聚羟基脂肪酸酯 (Polyhydroxyalkanoate, PHA) 是微生物合成的可降解高分子材料, 种类及性能多样, 应用前景广

阔, 然而其大规模生产受制于它较为高昂的生产成本; 清华大学陈国强团队 (1794–1811 页) 结合自身 30 年来在该领域的丰富经验, 系统介绍了代谢工程技术拓展 PHA 的多样性、改造 PHA 合成相关通路、提高 PHA 合成效率、进行 PHA 的低成本生产等几个方面的进展, 重点介绍嗜盐单胞菌为底盘的“下一代工业生物技术”并提出展望, 为未来提高 PHA 的市场竞争力和推进其商业化提供了重要参考。

代谢工程研究是支撑生物技术与生物产业的重要领域。作为一个交叉前沿领域, 代谢工程在研究方式上有生物科学、物质科学和工程科学紧密合作的特色, 这种密切交叉体现了现代技术科学的活力与优势。多学科交叉渗透与集成创新已成为代谢工程发展的新方向。希望本期专刊的推出, 对梳理代谢工程发展的里程碑有重要的参考意义, 为后续的代谢工程研究标定出新的“起点”。在这新的“起点”, 通过生物学与物理学、化学、计算机科学、工程学的交叉与整合, 使代谢工程历久弥新, 不断进化和持续壮大, 加速新一代生物技术和生物制造产业的跨越式发展, 促进物质合成与加工方式的变革和传统产业的改造升级, 为人类面临的能源、资源和环境问题提供系统解决方案。此外, 本专刊内容上如有疏漏和不足之处, 希望各位同行和广大读者批评指正。

REFERENCES

- [1] Bailey JE. Toward a science of metabolic engineering. *Science*, 1991, 252(5013): 1668-1675.
- [2] Stephanopoulos G, Vallino JJ. Network rigidity and metabolic engineering in metabolite overproduction. *Science*, 1991, 252(5013): 1675-1681.
- [3] Koffas M, Roberge C, Lee K, et al. Metabolic engineering. *Annu Rev Biomed Eng*, 1999, 1(1): 535-557.
- [4] Woolston BM, Edgar S, Stephanopoulos G. Metabolic engineering: past and future. *Annu Rev Chem Biomol Eng*, 2013, 4: 259-288.
- [5] Nielsen J, Keasling JD. Engineering cellular metabolism. *Cell*, 2016, 164(6): 1185-1197.
- [6] Liu Y, Nielsen J. Recent trends in metabolic engineering of microbial chemical factories. *Curr Opin Biotechnol*, 2019, 60: 188-197.
- [7] Ko YS, Kim JW, Lee JA, et al. Tools and strategies of systems metabolic engineering for the development of microbial cell factories for chemical production. *Chem Soc Rev*, 2020, 49(14): 4615-4636.
- [8] Kwon MS, Lee BT, Lee SY, et al. Modeling regulatory networks using machine learning for systems metabolic engineering. *Curr Opin Biotechnol*, 2020, 65: 163-170.
- [9] Lee SY, Kim HU. Systems strategies for developing industrial microbial strains. *Nat Biotechnol*, 2015, 33(10): 1061-1072.
- [10] Hanczyc MM. Engineering life: a review of synthetic biology. *Artif Life*, 2020, 26(2): 260-273.
- [11] Clomburg JM, Crumbley AM, Gonzalez R. Industrial biomanufacturing: The future of chemical production. *Science*, 2017, 355(6320): aag0804.
- [12] Zhang YP, Sun JB, Ma YH. Biomanufacturing: history and perspective. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 2017, 44(4/5): 773-784.
- [13] 谭天伟, 陈必强, 张会丽, 等. 加快推进绿色生物制造 助力实现“碳中和”. *化工进展*, 2021, 40(3): 1137-1141.
- [14] Tan TW, Chen BQ, Zhang HL, et al. Accelerate promotion of green bio-manufacturing to help achieve “carbon neutrality”. *Chem Ind Eng Prog*, 2021, 40(3): 1137-1141 (in Chinese).
- [14] Liu J, Wu X, Yao M, et al. Chassis engineering for microbial production of chemicals: from natural microbes to synthetic organisms. *Curr Opin Biotechnol*, 2020, 66: 105-112.

(本文责编 陈宏宇)