

• 特邀综述 •



费强 西安交通大学化工学院教授、博士生导师、生物化工学术带头人，国家重点研发计划首席科学家、陕西省杰青基金获得者、陕西省高层次人才计划入选者。长期从事一碳气体的微生物固定及其高值化利用研究，实现生物转化一碳气体高密度发酵制备蛋白饲料、化学品和生物能源，并对其放大工艺进行技术经济可行性分析。以第一或通讯作者在国内外知名期刊发表学术论文 50 余篇。现任中国生物工程学会一碳生物技术专业委员会（筹）副主任委员兼秘书长、中国化工学会生物化工专业委员会委员、中国微生物学会普通微生物学专业委员会委员及 *J Industrial Microbiol Biotechnol*、*Bioresour Bioproc*、*ChinChem Lett*、《生物加工过程》《中国沼气》等国内外学术期刊编委。

微生物固碳的电子供给策略研究进展

焦子悦¹，黄小涵¹，郭树奇¹，王新宇²，钟超²，费强^{1,3}

1 西安交通大学 化学工程与技术学院，陕西 西安 710049

2 中国科学院深圳先进技术研究院 合成生物研究所 材料合成生物学研究中心，广东 深圳 518055

3 陕西省能源化工过程强化重点实验室，陕西 西安 710049

焦子悦，黄小涵，郭树奇，王新宇，钟超，费强. 微生物固碳的电子供给策略研究进展. 生物工程学报, 2022, 38(7): 2396-2409.

JIAO ZY, HUANG XH, GUO SQ, WANG XY, ZHONG C, FEI Q. Electron supply strategies for microbial carbon fixation: a review. Chin J Biotech, 2022, 38(7): 2396-2409.

摘 要：随着生物化工技术的不断发展成熟，通过改造微生物已可以实现二氧化碳、甲烷等温室气体气体的固定、转化和利用，而电子传递及能量供给对微生物固碳效率起着决定性的作用。本文首先分析了好氧性嗜甲烷菌、化能自养微生物等天然微生物细胞内外的直接、间接电子传递系统。在此基础上，围绕微生物固碳细胞工厂的构建，进一步介绍了基于光能、电能的人工电子供给策略及其对固碳过程中代谢通量、合成路径和供能效率的影响。最后针对微生物固碳的关键共性技术难点，简要展望了可行性的解决方案及相关应用前景。

关键词：微生物固碳；电子传递；二氧化碳；甲烷

Received: February 25, 2022; **Accepted:** April 21, 2022; **Published online:** May 13, 2022

Supported by: National Key Research and Development Program of China (2021YFC2103500); National Natural Science Foundation of China (22178281)

Corresponding author: FEI Qiang. E-mail: feiqiang@xjtu.edu.cn

基金项目：国家重点研发计划 (2021YFC2103500); 国家自然科学基金 (22178281)

Electron supply strategies for microbial carbon fixation: a review

JIAO Ziyue¹, HUANG Xiaohan¹, GUO Shuqi¹, WANG Xinyu², ZHONG Chao², FEI Qiang^{1,3}

1 School of Chemical Engineering and Technology, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049, Shaanxi, China

2 Center for Materials Synthetic Biology, Shenzhen Institute of Synthetic Biology, Shenzhen Institutes of Advanced Technology, Chinese Academy of Sciences, Shenzhen 518055, Guangdong, China

3 Shaanxi Key Laboratory of Energy Chemical Process Intensification, Xi'an 710049, Shaanxi, China

Abstract: Given the rapid development of technologies in biochemical engineering and genetic engineering, biological capture, conversion and utilization of greenhouse gases (carbon dioxide and methane) into value-added products have been progressed rapidly. The efficiency of electron transfer and energy supply are essential for microbial carbon fixation. In this review, the concepts of direct and indirect electron transfer chains in methanotrophic and chemoautotrophic microbes were introduced firstly. Subsequently, the strategies of supplying light and electrical energy as well as their effects on metabolic flux, synthetic pathway and energy supply efficiency during microbial carbon fixation were discussed. Finally, solutions and application prospects to address the key technical challenges of microbial carbon fixation were discussed.

Keywords: microbial carbon fixation; electron transfer; carbon dioxide; methane

二氧化碳 (CO₂)、甲烷 (CH₄) 等温室气体的减排与中和, 是世界各国在全球变暖环境下提出的共同发展方向。在温和的条件下, 微生物可利用 CO₂、CH₄ 等一碳气体合成燃料和化学品, 并结合成熟的基因操作手段实现产物碳链的延长^[1-4]。上述一碳气体的微生物固定、转化和利用 (微生物固碳) 主要通过卡尔文循环 (Calvin-Benson-Bassham cycle, CBB cycle)、单磷酸核酮糖循环 (ribulose monophosphate cycle, RuMP cycle)、丝氨酸循环 (serine cycle)、还原性乙酰辅酶 A 途径 (reductive acetyl-CoA pathway)、还原性三羧酸循环途径 (reductive TCA cycle, rTCT cycle)、3-羟基丙酸途径 (3-hydroxypropionate pathway, 3-HP pathway)、3-羟基丙酸/4-羟基丁酸循环 (3-hydroxypropionate/4-hydroxybutyrate cycle,

3-HP-4-HB cycle) 和二羧酸/4-羟基丁酸循环 (dicarboxylate/4-hydroxybutyrate cycle, DC/4-HB cycle) 等通路^[5]实现, 并在固碳循环中生成有机分子。CO₂ 的微生物固定主要由羧化酶或还原酶催化, 其催化性质及代谢原理已被解析^[6], 重要应用是以合成气 (CO、CO₂ 和 H₂) 发酵制醇^[7-8]、丙酮^[8]、脂肪酸^[9]、生物基聚合物^[10]等产物, 以合成气等低成本废气为原料的发酵已实现反应器设计、合成气重整、菌株改进等工艺优化, 并基于生命周期分析证实了放大发酵的负碳足迹^[8], 在废物利用、产品增值方面具有商业化前景^[11]。CH₄ 的微生物利用基于好氧性嗜甲烷菌中的甲烷单加氧酶 (methane monooxygenase, MMO) 实现氧化催化, 部分厌氧性嗜甲烷菌也可以使用卡尔文循环固定 CO₂ 来补充同化路径^[12-13], 但由于其难以开发遗传工

具而无法实现合成生物学改造^[13]。混合嗜甲烷菌群亦是微生物利用 CH_4 的重要实现形式,其分子生态学^[14]、保藏方法^[15]和放大发酵^[16]等研究为菌株监测、富集、分离及固定化奠定了基础^[17-18],但混合嗜甲烷菌群发酵的种间电子传递机制探究较少。嗜甲烷菌的工业化大规模培养在甲烷去除和有毒化合物的生物降解等环境生物工程中的重要价值^[19],目前其过程强化研究主要是 CH_4 溶解度的增强^[20]、高密度发酵^[21]等方面,基于电子传递的策略将进一步通过还原力的平衡提高 CH_4 转化率。除天然固碳微生物外,大肠杆菌 (*Escherichia coli*)^[22-23]、酿酒酵母^[24-25]等传统底盘微生物也可被引入固碳代谢模块从而实现一碳气体的转化,并与生物燃料和化学品生产进行耦合,但利用一碳气体作为唯一碳源的碳转化率仍有待进一步提高^[26-27]。微生物在固定和转化 CO_2 、 CH_4 方面表现出来的可持续性、可控性及可靠性^[5-6],可有效助力我国“碳中和”目标的实现,同时在缓解温室效应和解决化石能源枯竭问题方面具有重要生态和社会意义^[28]。

微生物体内的还原力供给主要是将来自氢、无机盐等电子供体的电子通过一系列电子载体传递给氧等电子受体,而电子传递速率已成为限制微生物固碳效率的决定性因素,亟需立足于天然机制对电子供给方案进行创新和优化。因此,本文重点关注 CO_2 和 CH_4 的微生物利用过程,首先分析了好氧性嗜甲烷菌和化能自养微生物细胞内外的直接、间接电子传递系统。然后进一步介绍了生物-光敏剂杂化系统和生物电化学系统等电子供给策略,以实现电子传递过程的调控和平衡,并讨论了上述策略对固碳过程中代谢通量、合成路径和供能效率的影响。最后,针对微生物固碳中电子传递的关键共性技术难点,简要地展望了具有可行性

的解决方案及相关应用前景,为生物转化 CO_2 、 CH_4 合成生物基产品提供参考。

1 天然电子传递系统

在基于氢和电子传递体的微生物电子传递链中,多酶氧化还原体系使电子沿着低氧化还原电位至高氧化还原电位的方向传递,保存能量并生成还原型产物,因而不同呼吸场所的电子传递链具有不同的还原力和能量生产能力(表 1)。

如图 1 所示,胞外呼吸是微生物与环境进行电子交换的重要机制,电子首先通过细胞色素 c (cytochrome c, Cyt c) 从质膜传递至周质和外膜,再从外膜传递到金属、高分子醌类聚合物、阳极等胞外电子受体^[30]。根据外膜和胞外之间的不同电子传递方式,胞外电子传递链分为直接电子传递(细胞色素 c^[31]或导电菌毛^[32])和间接电子传递(小分子螯合剂^[33]或电子穿梭体^[34]),其中关键电子传递体的结构和功能已被解析,故本文不进行赘述。具有血红素辅基的 Cyt c 参与了许多直接电子传递过程^[35-36],通过血红素辅基中铁原子的还原态 (Fe^{2+}) 和氧化态 (Fe^{3+}) 之间的可逆变化实现近距离下向胞外电子受体的电子传递^[37]。而间接电子传递基于电子介质在外膜和底物之间形成的电子传递桥,其中小分子螯合剂或电子穿梭体使微生物更远距离地还原金属氧化物。在电子介质存在下,大多数微生物与矿物表面不直接接触,而是使用氧化态和还原态的电子介质进行胞外电子传递。以水溶性电子介质核黄素(riboflavin, RF) 为例(图 1),RF 具有还原大多数铁氧化物和螯合 Fe^{3+} 的能力,在含金属的环境中,内源性 RF 的电子穿梭、金属螯合和表面结合可以协同作用,促进胞外呼吸和金属氧化物的溶解^[38]。

表 1 不同电子传递链的电子受体和能量生产

Table 1 Electron acceptors and energy production in different electron transport chains				
Electron transfer chain		Final electron acceptors	NAD(P)H	Net ATP
Intracellular respiration	Aerobic respiration	O ₂	0	38 ^[29]
	Anaerobic respiration	Oxidized compound	2	2 ^[29]
	Fermentation	Intermediates not completely oxidized	0–6	0–2 ^[29]
Extracellular respiration	Fe/Mn respiration	Insoluble Fe/Mn oxide	0	0
	Humus respiration	High molecular quinone polymer	0	0
	Electricigenic respiration	Anode	0	0

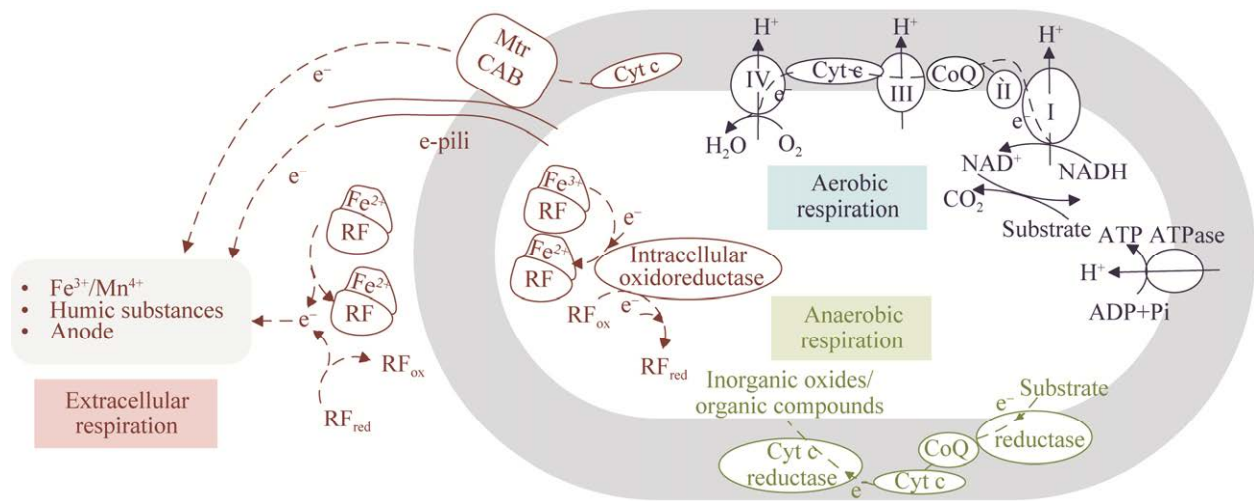


图 1 微生物固定 CO₂ 相关细胞内外电子传递系统

Figure 1 Microbial CO₂ fixation related intracellular and extracellular electron transport system. The blue part is aerobic respiration, the green part is anaerobic respiration, and the red part is extracellular respiration. The solid arrow indicates the biochemical reaction and the dotted arrow indicates the electron transfer path. Nicotinamide adenine dinucleotide: NADH; riboflavin: RF; oxidized riboflavin: RF_{ox}; reduced riboflavin: RF_{red}; ubiquinone: CoQ; adenosine triphosphate: ATP; adenosine diphosphate: ADP; phosphate ion: Pi; NADH dehydrogenase: I; succinate dehydrogenase: II; ubiquinone cytochrome c oxidoreductase: III; cytochrome c oxidase: IV; cytochrome c: Cyt c; metal reducing complex CAB: MtrCAB.

作为强还原性底物，CH₄ 的氧化过程伴随着大量 NADH 消耗。好氧性嗜甲烷菌独有的膜细胞蛋白-颗粒型甲烷单加氧酶 (particulate methane monooxygenase, pMMO) 可同时参与

甲烷转化和辅酶再生过程，其中 NADH 借助醌池通道内的泛醌驱动甲烷氧化，在这个过程中，每氧化 1 摩尔甲烷需要 2 摩尔电子和 2 摩尔质子的参与。根据嗜甲烷菌中的生物氧化模

型^[39], NADH 脱氢酶、细胞色素 bc1 型复合物和氧依赖末端电子受体组成了一条有限的呼吸链, 在还原力的作用下, 电子流经过 NADH 脱氢酶和醌池到达 pMMO (图 2)。而作为电子在传递链复合体间传输的主要通道之一, 醌池也同时影响好氧性嗜甲烷菌的氧化磷酸化水平及产能效率^[40]。目前, pMMO 氧化甲烷生产甲醇

的研究主要以甲酸盐为外部电子供体^[41], 但仍存在 pMMO 活性不稳定、电子供体不可重复使用等问题。CO₂ 中碳为最高氧化价态, 且 C=O 双键键能很高, 因此微生物固定 CO₂ 需要大量能量。如表 2 所示, CO₂ 的天然固定途径可归纳为 6 种, NAD(P)H 或铁氧化还原蛋白作为还原剂通常与电子传递链紧密耦合, 但上述途径

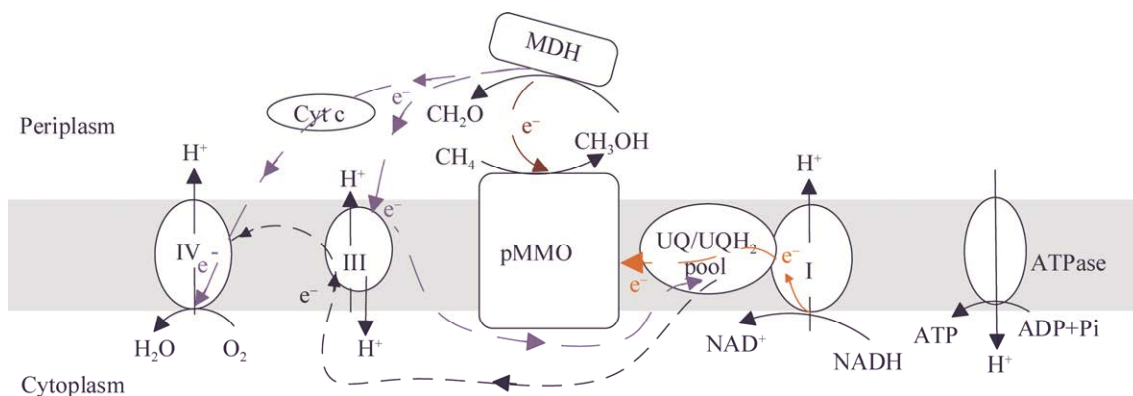


图 2 好氧嗜甲烷菌利用 CH₄ 相关电子传递系统 (参考文献[26]修改)

Figure 2 CH₄ utilization related electron transport system in aerobic methanotrophic bacteria (modified from[26]). The solid arrow indicates the biochemical reaction and the dotted arrow indicates the electron transfer path. The orange arrow is redox arm (ubiquinol generated from NADH drives methane oxidation). The red arrow is direct coupling (electrons from methanol oxidation transfer directly to pMMO). The purple arrow is uphill electron transfer (electrons from methanol dehydrogenase feed back into the ubiquinol pool and partially support methane oxidation). UQ/UQH₂ pool: ubiquinol pool; MDH: methanol dehydrogenase.

表 2 CO₂ 固定途径的还原剂种类和能量消耗^[6]

Table 2 Reductants and energy consumption for CO₂ fixation pathway^[6]

Pathways	Reductants	ATP/C (mol/mol)	NAD(P)H/C (mol/mol)
CBB cycle	NAD(P)H	3.00	2.00
3-HP pathway	NAD(P)H	1.67	1.67
3-HP-4-HB cycle	NAD(P)H	2.00	2.00
rTCA cycle	NAD(P)H, ferredoxin	1.00	2.00
Reductive acetyl-CoA pathway	Ferredoxin	0.50	2.00
DC/4HB cycle	NAD(P)H, ferredoxin	1.50	2.00

都存在能量供给效率不足的问题^[6]。尽管通过代谢工程改造进化和新型固碳酶设计等策略构建的人工固碳途径具有一定潜力,但其酶活及能量利用率仍十分有限^[42]。综上所述,微生物固碳过程中的电子传递和能量供给水平已成为制约微生物固碳效率的重要瓶颈因素。为提高代谢网络碳通量和温室气体的转化效率,研究人员开发了多种基于光能、电能的电子供给体系和策略,并利用胞外电子传递解决代谢还原力和能量不足的问题。

2 微生物固碳的人工电子供给策略

2.1 基于光能的电子供给策略

2.1.1 微生物与光敏剂的耦合应用

光敏剂能够在光照下被诱发电荷分离并形成电子-空穴对,通过耦合微生物系统供给电子以促进微生物中的氧化还原反应^[43],主要方式包括二者在反应液中的简单混合以及光敏剂与细胞组分的结合(表3)。

微生物与光敏剂的耦合体系需要添加甲基紫精(methyl viologen, MV)等电子介质,其作用机制与RF等胞外电子传递系统中的天然电子介质相同(图1)。反应液中光敏剂产生的光生电子将水溶性的氧化态电子介质转化为还原态电子介质,后者扩散进入细胞膜并在氧化还原酶的活性中心释放电子。Rowe等^[44]在以希瓦氏菌(*Shewanella oneidensis*) MR-1作为全细胞催化剂的反应体系中添加染料、无机配合物等代表性可溶光敏剂,引入MV催化H₂的生成和富马酸、丙酮酸以及CO₂的还原,并分析了还原态MV生成量等影响因素以及MtrCAB复合物的光还原过程,为不同微

生物进行可见光驱动的化学合成提供了通用策略。

微生物与光敏剂的结合也可以通过生物矿化、化学吸附等方式实现。以CdS的生物矿化为例,在含Cd²⁺的重金属环境中,微生物催化半胱氨酸(cysteine, Cys)脱硫并在细胞壁上形成无机半导体CdS^[45-46]。杨培东团队利用上述机制成功激发了非光合细菌热醋穆尔氏菌*Moorella thermoacetica*的光敏性^[47],首次在*M. thermoacetica*-CdS杂化系统中利用光生电子激活还原性乙酰辅酶A途径固定CO₂,该人工光合作用避免了自然光合作用暗循环中分解代谢的能量损失,其量子产率和产物乙酸的选择性分别为2.44%±0.62%和90%。在上述系统中,Cys既是合成CdS的硫源又是猝灭电子空穴的牺牲剂,被空穴氧化为二硫化物形式的胱氨酸(cystine, CySS),因此杨培东团队还将该系统与光催化TiO₂氧化水并还原CySS的过程相耦合,实现CySS/Cys氧化还原对的再生,拓展了生物-光敏剂杂化系统的应用领域^[48]。除生物矿化作用外,光敏剂亦可通过化学作用力吸附于微生物表面或蛋白酶。Gai等^[49]利用静电作用将有机半导体茈二酰亚胺衍生物(perylene diimide derivative, PDI)和聚(芴-共-亚苯基)(poly(fluorene-co-phenylene), PFP)涂覆在*M. thermoacetica*表面并形成异质结(PFP/PDI),比PFP/PDI氧化还原电位更低的红素氧还原蛋白和黄素蛋白等膜蛋白接收光生电子,电子进入还原性乙酰辅酶A途径固定CO₂合成乙酸,有效将量子产率提高到了植物和藻类水平,显著提升了CO₂的微生物固定效率。

表 3 与光敏剂耦合的代表性微生物生产系统

Table 3 Representative microbial production system coupled with photosensitizer

Bio-photosensitizer hybrid system	Methods	Quantum yield/efficiency	References
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> -InP	InP nanoparticles were partially functionalized by polyphenol complexes, and then coordinated and connected to the surface of engineered yeast	Quantum efficiency: 1.58%	[50]
<i>E. coli</i> -CdS	The binding protein PbrR was fused and expressed on outer membrane protein A (OmpA), selectively adsorbing Cd ²⁺ and forming CdS	—	[51]
<i>E. coli</i> -NTA decorated CdSeS@ZnS	CsgA on the cell membrane was connected with histidine tag (His-Tag), coordinating with NTA decorated CdSeS@ZnS via NTA-metal-His bond	—	[52]
<i>E. coli</i> -TiO ₂	Fusion expression of binding peptide R5 on CsgA	—	[53]
<i>E. coli</i> -CdS	Cysteine desulfurase catalyzed Cys to produce sulfide, resulting in biomineralization of CdS on the cell surface under the stress of Cd in the environment	Apparent quantum efficiencies: 7.93% at 470 nm and 9.59% at 620 nm	[45]
<i>M. thermoacetica</i> -CdS		Quantum yield: 2.44%	[47]
<i>Idiomarina</i> sp. OT37-5b-CdS		—	[46]
<i>M. thermoacetica</i> -Au nanoclusters (AuNC)	The ligand end of AuNC was combined with the lipid head group through electrostatic interaction, and penetrated into membrane and evenly distributed in the cell	Quantum efficiency: 2.86%	[54]
<i>M. thermoacetica</i> -PFP/PDI	PDI: electrostatic interactions between the cationic quaternary ammonium groups of PDI and the negative charged surface of cell PFP: insert into bacterial membrane through hydrophobic interactions followed by electrostatic adsorption on the bacteria surface	Quantum yield: 1.60%	[49]
<i>S. oneidensis</i> -CuInS ₂ /ZnS	Chemical binding affinity between Zn in the shell of CuInS ₂ /ZnS and Fe-S cluster of periplasmic hydrogenases	Apparent quantum efficiency: 15.02%	[55]
<i>Azotobacter vinelandii</i> /Cupriavidus necator-seven ZnS shell quantum dots	Chemical binding affinity of Zn with either a histidine-tagged MoFe nitrogenase or Fe-S clusters in hydrogenases and quinones	Maximum internal quantum efficiency: 13.10%	[56]
<i>E. coli</i> -TiO ₂	The reduced state of MV penetrated the lipid membrane and enters the cell	Apparent quantum yield: 1.57%	[57]
<i>S. oneidensis</i> -dyes or inorganic complexes		Apparent quantum efficiencies: 0.60% for eosin Y, 0.50% for Ru(bpy) ₃ ²⁺	[44]

2.1.2 光敏剂结合肽的改造与杂化系统的优化

鉴于材料结合肽的高选择性和强结合力^[53,58],其在纳米颗粒的生物合成^[59]方面备受关注。研究人员利用基因工程技术在蛋白质上融合该类功能肽段,并通过原位合成构建了多种生物-光敏剂杂化系统(表3)。Wei等将来自耐重金属贫铜菌(*Cupriavidus metallidurans*) CH34的重

金属特异性结合肽 PbrR 与大肠杆菌外膜蛋白 OmpA 融合表达^[60],在细胞膜表面合成 CdS 并引入了仿生二氧化硅封装策略,实现该系统在有氧条件下持续制氢,并将得率增高至 0.34 μmol/10⁸ 细胞^[51],该策略丰富了氧敏感蛋白酶的电子供给系统设计思路。

此外,研究人员基于功能肽段与生物膜结

构蛋白高效融合技术, 结合生物膜的高细胞密度和环境响应能力等特性^[61]构建高效的生物-光敏剂系统。以大肠杆菌生物膜为例, 其淀粉样单体 CsgA 蛋白由于谷氨酰胺和天冬酰胺残基形成的疏水网络具有很高的稳定性^[62], 功能肽段在该蛋白上的融合具有极大潜力和可操作性。Wang 等^[52]将功能肽段组氨酸标签 (His-Tag) 与 CsgA 蛋白融合并通过配位键固定量子点, 成功开发了可循环的功能化生物膜技术, 最终利用 MV 为氢化酶供给电子实现了生物制氢 (37.7 $\mu\text{mol/L}$)。为了进一步完成光敏剂的多尺度矿化, Li 等^[53]基于大肠杆菌设计了一种三结构域融合蛋白 (TiO₂ 结合肽 R5-CsgA-几丁质结合结构域), 以 CsgA 蛋白和天然多糖几丁质为关键元件构建了分层有序的复合多孔结构, 并通过将其与产氢工程菌共培养有效提高了持续制氢效率 (0.21 $\mu\text{mol}/\mu\text{L}$), 为光敏剂矿化结构的设计提出了新策略。

光驱动的微生物固碳过程是固碳途径与光敏剂材料之间的有机结合, 这种光催化生物-材料杂化系统实现了固碳途径的电子供给, 并利用光照等电磁辐射从外部触发合成开关。目前, 研究人员已采用多种杂化方法构建了微生物固碳-光敏剂杂化系统, 并围绕电子传递效率的提高、固碳效率的增强、细胞生长代谢中的能量平衡等方面进行系统优化。由于电子传递效率取决于电子传递距离, 因此光敏剂与蛋白酶直接结合的策略能有效避免电子跨膜传递的能量损失。Ding 等^[56]将 His-Tag 融合在钼铁固氮酶 (MoFe-nitrogenase, MFN) 上, 并利用 Zn 与 His-Tag 的化学亲和力使 ZnS 壳层量子点与 MFN 直接结合, 最终在光照下实现了 13.1% 的最大内部量子效率。为同时保证电子传递效率和材料的光吸收效果, Luo 等^[55]基于化学亲和力在 *S. oneidensis* MR-1 的周质氢化酶上固定量

子点, 进而将这种位于周质的生物-光敏剂杂化系统的产氢量提高了 8.6 倍。此外, 减少有氧呼吸中 CO₂ 的生成也可有效增强固碳效率。考虑到上述过程与 ATP 合成相耦合 (图 1), Hu 等^[63]在大肠杆菌内膜表达视紫红质以实现光驱动的 ATP 供给, 使有氧生长阶段 CO₂ 产生量减少了 17%, 并通过矿化 CdS 完成厌氧固碳阶段的电子供给, 将 L-苹果酸产量和固碳速率分别提高了 30% 和 26%。蛋白组学和代谢组学分析表明, 生物-光敏剂杂化系统的能量平衡可显著影响电子传递效率和微生物固碳水平。基于此, Zhang 等^[64]针对 *M. thermoacetica*-CdS 系统的光催化过程进行研究, 发现三羧酸循环和部分糖酵解途径被激活生成大量 NADH 和 ATP 从而为还原性乙酰辅酶 A 途径供给还原力并维持细胞生理活动, 并以此设计了稳定的人工光合系统, 实现了光生电子高效固定 CO₂ 的目的。

在与光敏剂耦合的微生物生产系统中, 较高的氧气浓度将影响一些光敏剂和微生物的性能, 限制了耦合系统的光能转换效率。另外, 多样化产物开发的瓶颈在于细胞色素的还原, 这可能是由于脂多糖的阻碍或光敏剂激发态的非生产性猝灭^[44], 基于光能的电子供给策略的大规模应用仍需机制探究和系统优化。

2.1.3 甲烷单加氧酶与光能的耦合应用

除了上述基于光敏剂的微生物 CO₂ 固定策略, 光能也已被应用于微生物利用 CH₄ 的研究。Toshiaki Kamachi 团队提取了嗜甲烷菌 (*Methylosinus trichosporium*) OB3b 的膜组分, 结合类囊体光合系统构建了光诱导甲烷羟基化系统, 利用光照下叶绿素氧化水产生的 NADH 为 pMMO 提供还原力, 产物甲醇的产量约为 65 $\mu\text{mol/L}$, 实现了光能向还原力的转化^[65]。为进一步在光诱导系统中构建从醌池到 pMMO 的电子传递链, 该团队将光系统 II (PSII) 重组

到 *M. trichosporium* OB3b 的膜组分中, 并通过调节光强度优化了该重组膜的电子转移速率, 使甲醇产量提高至约 120 $\mu\text{mol/L}$ ^[66], 尽管该系统仍受限于膜组分的低稳定性, 但光合组分的引入将推动基于光能的电子供给策略在嗜甲烷菌全细胞催化体系中的应用。

2.2 基于电能的电子供给策略

2.2.1 基于电活性微生物的微生物固碳

电活性微生物可通过胞外电子传递链与环境进行电子交换^[67], 因此在电化学系统中该类微生物能够直接利用阴极电子进行电合成。以电活性微生物 *S. oneidensis* MR-1 为例, 在其金属还原呼吸途径 (metal-reducing respiratory pathway, Mtr 途径) 中, 两种 Cyt c (MtrA, MtrC) 和一种外膜桶蛋白 MtrB 组成了电子通道 MtrCAB, 外膜上的 MtrAB 复合物与细胞外的 MtrC 紧密连接, 电子通过 MtrC 的血红素辅基实现与电极之间的可逆传递^[31,68]。在基于 *S. oneidensis* MR-1 的电催化固碳系统中, 电子通过 MV^[69]、RF^[70] (图 1) 等电子介质从阴极传递到细胞外膜, 并依次从 MtrCAB、醌池、NADH 脱氢酶传递到 NAD^{+} ^[71], 从而为固碳过程提供还原力, 并将目标产物甲酸的浓度提高了 2 倍^[72]。

此外, 由于电活性细胞可被固定在阴极表面并通过导电蛋白完成直接电接触, 因而该策略被广泛应用于生物-阴极界面的材料设计, 并在微生物固碳领域取得诸多突破^[73-75]。Li 等^[76]在多孔固态结构的单壁碳纳米管 (single walled carbon nanotubes, SWCNT) 上培养电活性产乙酸菌扬氏梭菌 (*Clostridium ljungdahlii*) 使其形成致密生物膜, 利用细胞膜上的复合物直接接收电子, 进而将该 SWCNT 生物阴极的乙酸产率提升了 3 倍。考虑到该类直接电接触界面的稳定性受限于碱性的局部环境, Su 等^[77]调节了

电解质 pH 以增加缓冲容量, 实现对产乙酸菌卵形孢子菌 (*Sporomusa ovata*) 和硅纳米线阵列界面的强化, *S. ovata* 将阴极电子转化为还原力并激活还原性乙酰辅酶 A 途径固定 CO_2 , 最终将甲酸产率提高到了 0.3 g/(L·d) 以上。

2.2.2 基于非电活性微生物的微生物固碳

鉴于大部分微生物不具备直接从阴极接受电子的能力, 因此为了充分发挥不同底盘微生物在电化学系统中的产电优势, 异源表达 MtrCAB 等胞外电子传递蛋白已成为激发电活性的主要策略之一^[78-81]。大肠杆菌 T110 工程菌 (pMtrABC, pFccA-CymA, pBTCA) 可在其体内表达 MtrCAB 复合物、富马酸还原酶 (FccA) 和碳酸氢盐转运体 (bicarbonate transporter, BT) 等关键点合成蛋白。在以该工程菌为生物阴极的电化学系统中, HCO_3^- 通过 BT 转运到胞内实现 CO_2 浓度的增加, 同时电子从 MtrCAB 传递到 FccA 从而强化了 CO_2 固定, 最终将琥珀酸产率提高了近 2 倍^[82]。此外, 研究人员发现人工添加电子介质有助于微生物接收阴极电子^[83], 通过探索不同电子介质的电化学活性并解析其电子转移机制, 显著提高了产品选择性^[84-85]。围绕嗜甲烷菌的代谢网络和发酵条件的优化^[12,86-87], 研究人员发现其在电共生作用中过表达细胞色素以构建纳米线结构, 从而与其他微生物进行能量和还原力交换, 这为提高 CH_4 微生物利用的效率提供了全新的思路^[88]。

然而, 电活性微生物在系统发育学上具有高度多样性, 且不存在保守的电化学活性功能基因^[67], 因此电活性鉴定方法缺乏准确性, 研究人员难以利用小亚基单位、核糖体核糖核酸基因或荧光原位杂交探针等分子生物学工具对其进行识别, 电活性微生物的分离和非电活性微生物的构建仍存在效率低的问题^[89-90], 单细胞水平上的可视化评估方法及生理状态分析分子

工具^[91]有望为基于电能的大规模生产做出贡献。

3 展望

鉴于合成生物及生物化工技术的快速发展,微生物的电子供给问题有望通过光电人工合成策略解决,进而实现能量和还原力供给与微生物全细胞催化剂的有效结合,促进微生物催化剂的催化性能。为将人工电子供给策略应用于微生物固碳,光电合成系统的构建需从pMMO主导的CH₄微生物利用和还原酶或羧化酶主导的CO₂固定途径两个角度出发。在甲烷微生物利用过程中,电子人工供给策略将有效提高嗜甲烷菌体内pMMO的活性并解决其催化过程能量供应不足的问题,使其在CH₄微生物利用和平台化合物生产中发挥更重要的作用。然而,pMMO的生理电子供体尚未确定,不同生长条件下多个电子通道(图2)可能分别或同时发挥作用,使电子交换的监测成为瓶颈,因此基于光电能的还原力供给及能量池优化需在模型的指导下建立方案,例如利用基因组规模代谢模型分析嗜甲烷菌中甲烷氧化的电子流机制。光能及电能已被应用于CO₂的微生物固定,其向工业化的推进是可持续的碳中和解决方案,但化能自养微生物的生长得率较低,且胞外有机物的累积会影响固碳过程中的电子供给和能量输入。化能自养微生物的代谢网络优化和基于共生作用的混合菌种发酵有望突破其固碳潜能,使从膜蛋白进入的电子有效参与羧化酶或还原酶催化。

目前,光电合成系统的进一步开发成为了研究热点。随着材料科学和系统生物学的深入研究,电子介质性能、光能材料转化效率及其生物系统相容性在不断提高^[92],使得生物-无机杂化系统和生物电化学系统的构建策略在人工微生物固碳方面体现出了明显优势,并进一步

推动了光电驱动微生物催化一碳底物技术的发展。现阶段上述系统已发展出稳定的整体构建框架,但其中耦合元件(电子介质和电子传递体)或关键步骤(还原力保存和能量再生)等研究仍待完善。微生物对光生电子和阴极电子的利用首先基于电子介质,但受限于其光/电还原速率,杂化系统对光、电能的转化效率仍有很大提升空间,基于原子取代的材料带隙调节可以有效优化电子介质的催化性质,增强从光敏剂和阴极到微生物的电子传递速率。电子传递体支持电子在细胞膜上的进一步传递,然而其在生物-无机杂化系统和生物电化学系统中的电子传递动力学研究尚未起步,开发人工电子传递策略仍面临诸多挑战。

此外,辅因子光谱表征及其催化亚单位和氧化还原电位的研究将为探究细胞色素等关键元件的电子传递速率及其影响因素提供理论依据。电子通过上述元件被微生物接收后通常进入还原力保存路径,其过程是通过NADH脱氢酶将电子从醌池传递到NAD⁺并合成NADH,但该反应在热力学上难以自发进行而导致大量能量的消耗,限制着电子供给策略在一碳气体固定中的大规模应用,通过提高质子动力促进ATP合成的策略将有助于解决NADH脱氢酶电子传递效率的瓶颈问题。以上方案为生物-无机杂化系统和生物电化学系统的设计提供新思路,而系统评估和优化还需整合诸多影响因素,例如生物-非生物界面对细胞稳定性的改变、还原力对代谢通路的影响以及不同代谢途径还原力通量的人工调节等。

未来,代谢工程、合成生物学、组学分析等前沿生物技术将从新型能量利用靶点挖掘、人工电子传递路径创建、电子供应调控策略开发以及高值多碳化学品合成途径设计等角度助力微生物系统在一碳生物转化技术开发中的应

用, 发展一碳温室气体的微生物固定技术, 推动一碳资源绿色生物制造产业及生物碳经济创新模式的发展。

REFERENCES

- [1] Batlle-Vilanova P, Ganigué R, Ramió-Pujol S, et al. Microbial electrosynthesis of butyrate from carbon dioxide: production and extraction. *Bioelectrochemistry*, 2017, 117: 57-64.
- [2] Ni J, Liu HY, Tao F, et al. Remodeling of the photosynthetic chain promotes direct CO₂ conversion into valuable aromatic compounds. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2018, 57(49): 15990-15994.
- [3] Duc Nguyen A, Hoang Trung Chau T, Lee EY. Methanotrophic microbial cell factory platform for simultaneous conversion of methane and xylose to value-added chemicals. *Chem Eng J*, 2021, 420: 127632.
- [4] 高子熹, 郭树奇, 费强. 生物转化温室气体生产单细胞蛋白的研究进展. *化工学报*, 2021, 72(6): 3202-3214.
Gao ZX, Guo SQ, Fei Q. Recent progress in microbial bioconversion of greenhouse gases into single cell protein. *CIESC J*, 2021, 72(6): 3202-3214 (in Chinese).
- [5] 胡礼珍, 王佳, 袁波, 等. 碳一气体生物利用进展. *生物加工过程*, 2017, 15(6): 17-25.
Hu LZ, Wang J, Yuan B, et al. Production of biofuels and chemicals from C1 gases by microorganisms: status and prospects. *Chin J Bioprocess Eng*, 2017, 15(6): 17-25 (in Chinese).
- [6] Salehizadeh H, Yan N, Farnood R. Recent advances in microbial CO₂ fixation and conversion to value-added products. *Chem Eng J*, 2020, 390: 124584.
- [7] Stoll IK, Boukis N, Sauer J. Syngas fermentation to alcohols: reactor technology and application perspective. *Chemie Ingenieur Tech*, 2020, 92(1/2): 125-136.
- [8] Liew FE, Nogle R, Abdalla T, et al. Carbon-negative production of acetone and isopropanol by gas fermentation at industrial pilot scale. *Nat Biotechnol*, 2022, 40(3): 335-344.
- [9] Zhang F, Ding J, Zhang Y, et al. Fatty acids production from hydrogen and carbon dioxide by mixed culture in the membrane biofilm reactor. *Water Res*, 2013, 47(16): 6122-6129.
- [10] Dhakal N, Acharya B. Syngas fermentation for the production of bio-based polymers: a review. *Polymers*, 2021, 13(22): 3917.
- [11] Mohammadi M, Najafpour GD, Younesi H, et al. Bioconversion of synthesis gas to second generation biofuels: a review. *Renew Sustain Energy Rev*, 2011, 15(9): 4255-4273.
- [12] 郭树奇, 费强. 甲烷生物利用及嗜甲烷菌的工程改造. *生物工程学报*, 2021, 37(3): 816-830.
Guo SQ, Fei Q. Bioconversion of methane by metabolically engineered methanotrophs. *Chin J Biotech*, 2021, 37(3): 816-830 (in Chinese).
- [13] Fei Q, Guarnieri MT, Tao L, et al. Bioconversion of natural gas to liquid fuel: opportunities and challenges. *Biotechnol Adv*, 2014, 32(3): 596-614.
- [14] Han B, Chen Y, Abell G, et al. Diversity and activity of methanotrophs in alkaline soil from a Chinese coal mine. *FEMS Microbiol Ecol*, 2009, 70(2): 40-51.
- [15] 江皓, 侯仲轩, 韩冰, 等. 甲烷氧化混合菌的保藏方法研究. *微生物学通报*, 2014, 41(7): 1463-1469.
Jiang H, Gou ZX, Han B, et al. Study on preservation methods of mixed methane-oxidizing bacteria. *Microbiol China*, 2014, 41(7): 1463-1469 (in Chinese).
- [16] Jiang H, Duan CH, Jiang PX, et al. Characteristics of scale-up fermentation of mixed methane-oxidizing bacteria. *Biochem Eng J*, 2016, 109: 112-117.
- [17] Jiang H, Duan CH, Luo MF, et al. Enrichment and characteristics of mixed methane-oxidizing bacteria from a Chinese coal mine. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2016, 100(24): 10331-10341.
- [18] Sun MT, Yang ZM, Fu SF, et al. Improved methane removal in exhaust gas from biogas upgrading process using immobilized methane-oxidizing bacteria. *Bioresour Technol*, 2018, 256: 201-207.
- [19] Jiang H, Chen Y, Jiang PX, et al. Methanotrophs: multifunctional bacteria with promising applications in environmental bioengineering. *Biochem Eng J*, 2010, 49(3): 277-288.
- [20] Han B, Su T, Wu H, et al. Paraffin oil as a "methane vector" for rapid and high cell density cultivation of *Methylosinus trichosporium* OB3b. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2009, 83(4): 669-677.
- [21] Duan CH, Luo MF, Xing XH. High-rate conversion of methane to methanol by *Methylosinus trichosporium* OB3b. *Bioresour Technol*, 2011, 102(15): 7349-7353.
- [22] Kim HJ, Huh J, Kwon YW, et al. Biological conversion of methane to methanol through genetic reassembly of native catalytic domains. *Nat Catal*, 2019, 2(4): 342-353.
- [23] Antonovsky N, Gleizer S, Noor E, et al. Sugar synthesis from CO₂ in *Escherichia coli*. *Cell*, 2016,

- 166(1): 115-125.
- [24] Gassler T, Sauer M, Gasser B, et al. The industrial yeast *Pichia pastoris* is converted from a heterotroph into an autotroph capable of growth on CO₂. *Nat Biotechnol*, 2020, 38(2): 210-216.
- [25] Kim SR, Kim SJ, Kim SK, et al. Yeast metabolic engineering for carbon dioxide fixation and its application. *Bioresour Technol*, 2022, 346: 126349.
- [26] Nguyen AD, Lee EY. Engineered methanotrophy: a sustainable solution for methane-based industrial biomanufacturing. *Trends Biotechnol*, 2021, 39(4): 381-396.
- [27] Gleizer S, Ben-Nissan R, Bar-On YM, et al. Conversion of *Escherichia coli* to generate all biomass carbon from CO₂. *Cell*, 2019, 179(6): 1255-1263.e12.
- [28] 郭树奇, 焦子悦, 费强. 基于化学品生物合成的嗜甲烷菌人工细胞构建及应用进展. *合成生物学*, 2021, 2(6): 1017-1029.
- Guo SQ, Jiao ZY, Fei Q. Progress in construction and applications of methanotrophic cell factory for chemicals biosynthesis. *Synth Biol J*, 2021, 2(6): 1017-1029 (in Chinese).
- [29] 沈萍, 陈向东. 微生物学. 2 版. 北京: 高等教育出版社, 2006.
- Shen P, Chen XD. *Microbiology*. 2nd Ed. Beijing: Higher Education Press, 2006 (in Chinese).
- [30] Gralnick JA, Newman DK. Extracellular respiration. *Mol Microbiol*, 2007, 65(1): 1-11.
- [31] Edwards MJ, White GF, Butt JN, et al. The crystal structure of a biological insulated transmembrane molecular wire. *Cell*, 2020, 181(3): 665-673.e10.
- [32] Gu YQ, Srikanth V, Salazar-Morales AI, et al. Structure of *Geobacter* pili reveals secretory rather than nanowire behaviour. *Nature*, 2021, 597(7876): 430-434.
- [33] Zhang P, Van Cappellen P, Pi KF, et al. Oxidation of Fe(II) by flavins under anoxic conditions. *Environ Sci Technol*, 2020, 54(18): 11622-11630.
- [34] Aeppli M, Giroud S, Vranic S, et al. Thermodynamic controls on rates of iron oxide reduction by extracellular electron shuttles. *PNAS*, 2022, 119(3): e2115629119.
- [35] Shi L, Richardson DJ, Wang ZM, et al. The roles of outer membrane cytochromes of *Shewanella* and *Geobacter* in extracellular electron transfer. *Environ Microbiol Rep*, 2009, 1(4): 220-227.
- [36] Wang FB, Gu YQ, O'Brien JP, et al. Structure of microbial nanowires reveals stacked hemes that transport electrons over micrometers. *Cell*, 2019, 177(2): 361-369.e10.
- [37] Liu TX, Luo XB, Wu YD, et al. Extracellular electron shuttling mediated by soluble *c*-type cytochromes produced by *Shewanella oneidensis* MR-1. *Environ Sci Technol*, 2020, 54(17): 10577-10587.
- [38] Shi L, Dong HL, Reguera G, et al. Extracellular electron transfer mechanisms between microorganisms and minerals. *Nat Rev Microbiol*, 2016, 14(10): 651-662.
- [39] Dispirito AA, Kunz RC, Choi DW, et al. Chapter 7: respiration in methanotrophs. Dordrecht: Springer, 2008: 149-168.
- [40] Nariya S, Kalyuzhnaya MG. Diversity, physiology, and biotechnological potential of halo (alkali) philic methane-consuming bacteria. *Methanotrophs*. Cham: Springer International Publishing, 2019: 139-161.
- [41] Ito H, Yoshimori K, Ishikawa M, et al. Switching between methanol accumulation and cell growth by expression control of methanol dehydrogenase in *Methylosinus trichosporium* OB3b mutant. *Front Microbiol*, 2021, 12: 639266.
- [42] Lu XY, Liu YW, Yang YQ, et al. Constructing a synthetic pathway for acetyl-coenzyme A from one-carbon through enzyme design. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 1378.
- [43] Kornienko N, Zhang JZ, Sakimoto KK, et al. Interfacing nature's catalytic machinery with synthetic materials for semi-artificial photosynthesis. *Nat Nanotechnol*, 2018, 13(10): 890-899.
- [44] Rowe SF, Le Gall G, Ainsworth EV, et al. Light-driven H₂ evolution and C=C or C=O bond hydrogenation by *Shewanella oneidensis*: a versatile strategy for photocatalysis by nonphotosynthetic microorganisms. *ACS Catal*, 2017, 7(11): 7558-7566.
- [45] Wang B, Zeng CP, Chu KH, et al. Enhanced biological hydrogen production from *Escherichia coli* with surface precipitated cadmium sulfide nanoparticles. *Adv Energy Mater*, 2017, 7(20): 1700611.
- [46] Ma N, Sha ZL, Sun CM. Formation of cadmium sulfide nanoparticles mediates cadmium resistance and light utilization of the deep-sea bacterium *Idiomarina* sp. OT37-5b. *Environ Microbiol*, 2021, 23(2): 934-948.
- [47] Sakimoto KK, Wong AB, Yang PD. Self-photosensitization of nonphotosynthetic bacteria for solar-to-chemical production. *Science*, 2016, 351(6268): 74-77.
- [48] Sakimoto KK, Zhang SJ, Yang PD. Cysteine-cystine photoregeneration for oxygenic photosynthesis of acetic acid from CO₂ by a tandem inorganic-biological

- hybrid system. *Nano Lett*, 2016, 16(9): 5883-5887.
- [49] Gai PP, Yu W, Zhao H, et al. Solar-powered organic semiconductor-bacteria biohybrids for CO₂ reduction into acetic acid. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2020, 59(18): 7224-7229.
- [50] Guo JL, Suástegui M, Sakimoto KK, et al. Light-driven fine chemical production in yeast biohybrids. *Science*, 2018, 362(6416): 813-816.
- [51] Wei W, Sun PQ, Li Z, et al. A surface-display biohybrid approach to light-driven hydrogen production in air. *Sci Adv*, 2018, 4(2): eaap9253.
- [52] Wang XY, Pu JH, Liu Y, et al. Immobilization of functional nano-objects in living engineered bacterial biofilms for catalytic applications. *Natl Sci Rev*, 2019, 6(5): 929-943.
- [53] Li K, Li YF, Wang XY, et al. Diatom-inspired multiscale mineralization of patterned protein-polysaccharide complex structures. *Natl Sci Rev*, 2020, 8(8): nwaa191.
- [54] Zhang H, Liu H, Tian ZQ, et al. Bacteria photosensitized by intracellular gold nanoclusters for solar fuel production. *Nat Nanotechnol*, 2018, 13(10): 900-905.
- [55] Luo BF, Wang YZ, Li D, et al. A periplasmic photosensitized biohybrid system for solar hydrogen production. *Adv Energy Mater*, 2021, 11(19): 2100256.
- [56] Ding YC, Bertram JR, Eckert C, et al. Nanorg microbial factories: light-driven renewable biochemical synthesis using quantum dot-bacteria nanobiohybrids. *J Am Chem Soc*, 2019, 141(26): 10272-10282.
- [57] Honda Y, Hagiwara H, Ida S, et al. Application to photocatalytic H₂ production of a whole-cell reaction by recombinant *Escherichia coli* cells expressing [FeFe]-hydrogenase and maturases genes. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2016, 55(28): 8045-8048.
- [58] Mao CB, Flynn CE, Hayhurst A, et al. Viral assembly of oriented quantum dot nanowires. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(12): 6946-6951.
- [59] Tang TC, An BL, Huang YY, et al. Materials design by synthetic biology. *Nat Rev Mater*, 2021, 6(4): 332-350.
- [60] Wei W, Liu XZ, Sun PQ, et al. Simple whole-cell biodetection and bioremediation of heavy metals based on an engineered lead-specific operon. *Environ Sci Technol*, 2014, 48(6): 3363-3371.
- [61] Leonov PS, Flores-Alsina X, Gernaey KV, et al. Microbial biofilms in biorefinery-towards a sustainable production of low-value bulk chemicals and fuels. *Biotechnol Adv*, 2021, 50: 107766.
- [62] Chapman MR, Robinson LS, Pinkner JS, et al. Role of *Escherichia coli* curli operons in directing amyloid fiber formation. *Science*, 2002, 295(5556): 851-855.
- [63] Hu GP, Li ZH, Ma DL, et al. Light-driven CO₂ sequestration in *Escherichia coli* to achieve theoretical yield of chemicals. *Nat Catal*, 2021, 4(5): 395-406.
- [64] Zhang RT, He Y, Yi J, et al. Proteomic and metabolic elucidation of solar-powered biomanufacturing by bio-abiotic hybrid system. *Chem*, 2020, 6(1): 234-249.
- [65] Ito H, Mori F, Tabata K, et al. Methane hydroxylation using light energy by the combination of thylakoid and methane monooxygenase. *RSC Adv*, 2014, 4(17): 8645-8648.
- [66] Ito H, Kondo R, Yoshimori K, et al. Methane hydroxylation with water as an electron donor under light irradiation in the presence of reconstituted membranes containing both photosystem II and a methane monooxygenase. *Chembiochem*, 2018, 19(20): 2152-2155.
- [67] Logan BE, Rossi R, Ragab A, et al. Electroactive microorganisms in bioelectrochemical systems. *Nat Rev Microbiol*, 2019, 17(5): 307-319.
- [68] Cheng ZH, Xiong JR, Min D, et al. Promoting bidirectional extracellular electron transfer of *Shewanella oneidensis* MR-1 for hexavalent chromium reduction via elevating intracellular cAMP level. *Biotechnol Bioeng*, 2020, 117(5): 1294-1303.
- [69] Le QAT, Kim HG, Kim YH. Electrochemical synthesis of formic acid from CO₂ catalyzed by *Shewanella oneidensis* MR-1 whole-cell biocatalyst. *Enzyme Microb Technol*, 2018, 116: 1-5.
- [70] La Cava E, Guionet A, Saito J, et al. Involvement of proton transfer for carbon dioxide reduction coupled with extracellular electron uptake in *Shewanella oneidensis* MR-1. *Electroanalysis*, 2020, 32(8): 1659-1663.
- [71] Rowe AR, Rajeev P, Jain A, et al. Tracking electron uptake from a cathode into *Shewanella* cells: implications for energy acquisition from solid-substrate electron donors. *mBio*, 2018, 9(1): e02203-e02217.
- [72] Hwang H, Yeon YJ, Lee SM, et al. Electro-biocatalytic production of formate from carbon dioxide using an oxygen-stable whole cell biocatalyst. *Bioresour Technol*, 2015, 185: 35-39.
- [73] Hassan RYA, Febbraio F, Andreescu S. Microbial electrochemical systems: principles, construction and biosensing applications. *Sensors (Basel)*, 2021, 21(4): 1279.

- [74] Zhao JT, Li F, Cao YX, et al. Microbial extracellular electron transfer and strategies for engineering electroactive microorganisms. *Biotechnol Adv*, 2021, 53: 107682.
- [75] Yu YY, Wang YZ, Fang Z, et al. Single cell electron collectors for highly efficient wiring-up electronic abiotic/biotic interfaces. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 4087.
- [76] Li ZD, Xiong W, Tremolet De Villers BJ, et al. Extracellular electron transfer across bio-nano interfaces for CO₂ electroreduction. *Nanoscale*, 2021, 13(2): 1093-1102.
- [77] Su YD, Cestellos-Blanco S, Kim JM, et al. Close-packed nanowire-bacteria hybrids for efficient solar-driven CO₂ fixation. *Joule*, 2020, 4(4): 800-811.
- [78] Baruch M, Tejedor-Sanz S, Su L, et al. Precise electronic control of redox reactions inside *Escherichia coli* using a genetic module. *PLoS One*, 2021, 16(11): e0258380.
- [79] Ueki T, Walker DJF, Woodard TL, et al. An *Escherichia coli* chassis for production of electrically conductive protein nanowires. *ACS Synth Biol*, 2020, 9(3): 647-654.
- [80] Tan Y, Adhikari RY, Malvankar NS, et al. Expressing the *Geobacter metallireducens* *PilA* in *Geobacter sulfurreducens* yields pili with exceptional conductivity. *mBio*, 2017, 8(1): e02203-e02216.
- [81] Bird LJ, Kundu BB, Tschirhart T, et al. Engineering wired life: synthetic biology for electroactive bacteria. *ACS Synth Biol*, 2021, 10(11): 2808-2823.
- [82] Wu ZQ, Wang JS, Liu J, et al. Engineering an electroactive *Escherichia coli* for the microbial electrosynthesis of succinate from glucose and CO₂. *Microb Cell Factories*, 2019, 18(1): 1-14.
- [83] Kaneko M, Ishikawa M, Song J, et al. Cathodic supply of electrons to living microbial cells *via* cytocompatible redox-active polymers. *Electrochem Commun*, 2017, 75: 17-20.
- [84] Utesch T, Sabra W, Prescher C, et al. Enhanced electron transfer of different mediators for strictly opposite shifting of metabolism in *Clostridium pasteurianum* grown on glycerol in a new electrochemical bioreactor. *Biotechnol Bioeng*, 2019, 116(7): 1627-1643.
- [85] Fu HX, Lin M, Tang IC, et al. Effects of benzyl viologen on increasing NADH availability, acetate assimilation, and butyric acid production by *Clostridium tyrobutyricum*. *Biotechnol Bioeng*, 2021, 118(2): 770-783.
- [86] Hu LZ, Yang YF, Yan X, et al. Molecular mechanism associated with the impact of methane/oxygen gas supply ratios on cell growth of *Methylobacterium buryatense* 5GB1 through RNA-seq. *Front Bioeng Biotechnol*, 2020, 8: 263.
- [87] Hu LZ, Guo SQ, Yan X, et al. Exploration of an efficient electroporation system for heterologous gene expression in the genome of methanotroph. *Front Microbiol*, 2021, 12: 717033.
- [88] Wegener G, Krukenberg V, Riedel D, et al. Intercellular wiring enables electron transfer between methanotrophic archaea and bacteria. *Nature*, 2015, 526(7574): 587-590.
- [89] Lovley DR, Holmes DE. Electromicrobiology: the ecophysiology of phylogenetically diverse electroactive microorganisms. *Nat Rev Microbiol*, 2022, 20(1): 5-19.
- [90] Chen H, Simoska O, Lim K, et al. Fundamentals, applications, and future directions of bioelectrocatalysis. *Chem Rev*, 2020, 120(23): 12903-12993.
- [91] Wang CL, Hu WT, Guan LD, et al. Single-cell metabolite analysis on a microfluidic chip. *Chin Chem Lett*, 2022, 33(6): 2883-2892.
- [92] 郭禹曼, 洪学明, 樊彬, 等. 光催化-微生物耦合固碳研究进展. *生物加工过程*, 2022, 20(2): 148-159.
- Guo YM, Hong XM, Fan B, et al. Recent development of photocatalytic-biological hybrid systems for CO₂ assimilation. *Chin J Bioprocess Eng*, 2022, 20(2): 148-159 (in Chinese).

(本文责编 郝丽芳)