



视觉中国供图

三代测序技术：让你“看清”微生物基因“骨架”

◎ 实习记者 孙瑜

近10年来，肠道微生物基因组成为生命科学领域的热点。然而，目前大部分相关研究，仍使用主流二代测序技术进行肠道微生物种功能解析，宏基因组的拼接质量仍然有较大提高空间，且菌株水平的功能差异分析等领域亟待新的突破。

不久前，我国首部生物经济的五年规划《“十四五”生物经济发展规划》发布。该规划明确指出，加快发展高通量基因测序技术，推动以单分子测序为标志的新一代测序技术创新。而近期，三代测序技术已引发整个行业的关注，不少企业正积极布局，将其作为二代测

序技术的有效补充，在针对二代测序范围外的复杂基因突变类型进行测序方面寻求新的解决方案。

有鉴于此，中国科学院微生物研究所王军研究员课题组和中国科学院动物研究所宋默识研究员课题组合作，利用三代纳米孔测序技术解析了肠道宏基因组，建立了三代和二代测序数据混合组装和后续分析流程。该研究提高了宏基因组组装的质量，以及对结构变异的发现能力，发现了大量包括插入突变和基因倒位在内的结构变异对于菌株水平上基因功能的影响，并对噬菌体等系统进行了深度挖掘，这些都是将三代纳米孔测序技术用于肠道微生物研究后取得的新进展。该研究论文近日发表在《自然·通讯》杂志上。

二代测序技术联手探索肠道微生物

人类的肠道是细菌、真菌等微生物的家园，这些微生物被统称为肠道微生物群。科学家们现在已经收集了人类肠道中4600多种细菌的20万个基因组和1.7亿个蛋白质序列，并建立了数据库。

尽管科学家长期致力于这一领域的研究，但肠道菌群中的一些微生物种类在很长时间内不为人所知。据估计，人体内含有的微生物数量比人体细胞还多。在人类肠道中已经发现了共计4600余种细菌。有研究表明，这其中超过70%的被检测到的细菌还未在实验室中培养，它们在人体内的活性仍然未知。

“在人的肠道中，尤其是在直肠里，有非常丰富的微生物，个体数量超过人体细胞的3—10倍。虽然这些微生物种的基因组较小，但由于种类很多，其基因多样性比人高10—100倍。”王军告诉记者，肠道微生物群落形成了一个非常复杂的肠道环境，对其进行研究有助于了解肠道的状态和功能，从而更好地了解人体和疾病，指导胃

肠道疾病的诊断和治疗。

宋默识表示，肠道微生物在人类代谢食物、抵御感染和应答药物等过程中起着非常重要的作用。肠道维持着人体的代谢平衡，很多食物会在肠道内最终降解成小分子最终代谢物。如果肠道微生物生态系统失衡，将导致代谢功能失调，造成胃肠道疾病。同时，一些肠道免疫性疾病（如炎症性肠炎）也与肠道微生物生态系统的免疫调节相关。因此，肠道微生物群一直是科学家们最关注的议题之一。

但受研究方法的限制，相关研究一直进展较慢。

“以前，相关研究依靠低通量的微生物群培养手段。但随着二代测序技术的发展，能够使我们以高通量的方法去了解肠道微生物种。近年来，三代测序技术发展迅速，又弥补了二代测序技术的一些不足，两者相结合，为探索肠道微生物种提供了较好的方法条件。”王军说。

三代测序是二代测序的有益补充

王军向记者介绍，以纳米孔测序为代表的三代测序技术飞速发展，目前英国ONT测序和美国PacBio测序两种技术路线，都能够完成较长的DNA片段测序。

三代测序技术较二代测序技术有何不同？对此，王军表示，二代测序技术是目前的主流测序方式，已广泛应用于疾病和癌症的研究，

具有高通量的特点，但不足之处在于测出来的基因片段较短，对于复杂的基因组区域以及较大的结构变异的检测有一定的局限性。而三代测序技术则能够帮助研究者针对感兴趣的基因或区域进行高精度测序研究。目前，三代测序技术已被应用于疾病或癌症领域人类基因遗传标志物、融合基因、甲基化检测等研究中，方法主要有



以前，相关研究依靠低通量的微生物群培养手段。但随着二代测序技术的发展，能够使我们以高通量的方法去了解肠道微生物种。近年来，三代测序技术发展迅速，又弥补了二代测序技术的一些不足，两者相结合，为探索肠道微生物种提供了较好的方法条件。

王军

中国科学院微生物研究所研究员

长片段PCR扩增、CRISPR/Cas9靶向捕获和液相探针捕获三类。

在研究中，王军课题组使用了二代测序与三代测序数据组装拼接的办法。“引入三代测序能够弥补二代测序‘序列短’这一不足。三代测序读出的长序列就像一个‘骨架’，能够让研究者知道二代测序读出来的短片段之间有什么对应关系，该怎么拼接，从而提高整体基因拼接序列的质量，提高对某个生物染色体的全面认识。”王军说。

三代测序技术未来还有更大发展空间

近年来，全球实验室都开始大规模应用三代测序技术。

“每一个新测序技术刚出来的时候一般都很贵，大家都觉得是在‘烧钱’做研究。”王军向记者介绍，尽管三代测序技术为精细探索基因功能提供了新的路径，但其经济性仍不高，“三代测序技术的单位测序数据成本比二代要高很多。每次测序非常贵，一次出来的数据量约为二代的1/10，有时甚至还不到二代的3%。数据量少的特性是由三代测序技术的原理决定的。”

在充斥着电解液的容器中，放置镶嵌有纳米孔蛋白的分子膜。在相关蛋白质和酶的辅助下，DNA分子以较为稳定的速度通过纳米孔，当纳米孔内被特定的核苷酸占据时，会对孔周围的电流产生扰动。通过记录DNA分子通过纳米孔过程中产生的电流信号情况，再将这一特异性的电信号序列利用算法软件翻译为核苷酸序列，这就是三代测序技术的基本操作原理。

“目前的工艺决定了三代测序技术测出的数

据量偏少。”王军说，但其与二代测序技术相结合，能为建立更高质量的基因组图谱作出贡献。

下一步，三代测序技术还有哪些发展空间？在王军看来，开发序列信息解读算法是一个发展方向。如何精确地将新一代基于纳米孔的单分子实时电信号测序技术生成的原始电信号翻译为序列信息，是科学家们关注的重点，近年来也诞生了多种用于精确翻译电信号的相关工具。

同时，三代测序技术还能在甲基化检测等特殊领域发挥重要作用。三代测序技术能够检测DNA分子自身的物理化学特性，因此生物基因组上的修饰信息也可以在电信号中得到反应。DNA分子上的甲基化修饰具有非常强的细胞特异性和细胞周期特异性，对表观遗传学研究有着重要的意义。

“三代测序技术暂时取代不了二代测序技术，但在未来，它将成为测序技术不可缺少的组成部分，在甲基化检测等特殊领域实现其重要价值。”王军说。

研究进展

新工艺提升灯盏乙素合成效率

科技日报讯（记者赵汉斌）灯盏乙素是云南“十大云药”之一灯盏花的核心药效成分。

近期，云南农业大学杨生超教授团队和中国科学院天津工业生物技术研究所江会峰研究员团队合作，尝试在解脂耶氏酵母中生产灯盏乙素，解决前期研究中存在的灯盏甲素产量高于灯盏乙素的关键科学问题，提升灯盏乙素产量。

“以灯盏乙素为主要成分生产的注射用灯盏花素、灯盏细辛注射液等重要中成药产品，在治疗脑栓塞和脑溢血方面疗效显著。”杨生超介绍，此前两个团队合作，在酿酒酵母底盘细胞中成功构建了灯盏乙素全合成的细胞工厂，首次实现了灯盏乙素的全合成，初步具备了工业化生产的潜在能力。

此次研究发现，灯盏甲素产量高于灯盏乙素，是因为葡萄糖醛酸转移酶与P450酶F6H会竞争底物芹菜素，项目组通过筛选高催化效率的F6H，提高灯盏乙素的产量及比例。而来自黄芩的工程菌株在产量和比例方面都呈现出最好的催化活性，可在提高灯盏乙素产量的同时，大幅降低灯盏甲素的产出比例。

为进一步提高灯盏乙素产量，研究团队增加了这种工程菌株中关键酶的拷贝数，并发现增加下游基因拷贝数对引导碳通量向灯盏乙素的合成至关重要。

他们通过在1.3升发酵罐中补料并将这些发酵罐分批发酵优化，使得灯盏乙素的产量在118小时后达到每升346毫克，产量大大提升。

此次研究构建的解脂耶氏酵母生产灯盏乙素底盘细胞及所采用的研究策略，对其他天然产物合成底盘细胞的构建具有重要借鉴意义，相关成果近期发表在《合成和系统生物技术》期刊上。

百合珠芽形成分子机制获揭示

科技日报讯（记者马爱平 通讯员许铁敏）近日，中国农业科学院蔬菜花卉研究所花卉种质资源与遗传育种创新团队克隆了两个百合珠芽新基因——LIWOX9和LIWOX11，并对其调控百合珠芽形成的分子机制进行了深入解析，对提高百合繁殖效率具有重要意义。相关研究成果发表在《植物生理学》上。

珠芽为百合属植物重要的繁殖器官，掌握百合珠芽形成的调控机制有望在生产上发挥珠芽高效繁殖的优势。目前，关于百合珠芽形成的研究仍处于初始阶段，其分子调控机制尚不清楚。

通过荧光定量分析、荧光原位杂交、瞬时过表达及病毒诱导的基因沉默技术，研究人员鉴定到两个百合珠芽新基因LIWOX9和LIWOX11，二者可促进百合珠芽形成。

前期研究表明，细胞分裂素B类响应因子可正向调控百合珠芽形成。该研究验证发现，细胞分裂素B类响应因子可与LIWOX9和LIWOX11的启动子结合并促进其转录，从而诱导百合珠芽形成。

此外，LIWOX11可与细胞分裂素通路负调控因子LIRR9启动子结合并抑制其转录，进一步加强细胞分裂素信号，促进百合珠芽的形成。



受访者供图

科学家从畜禽粪便菌群入手 降低抗生素残留造成的环境风险

科技日报讯（记者过国忠 实习生柳鑫）畜禽养殖业是乡村振兴的重要支柱产业，有效带动了广大农民走上致富路，推动了新农村建设。抗生素是畜禽养殖重要的临床应用药物，具有杀灭细菌、控制感染的作用。但由于动物机体代谢不完全，残留的抗生素可通过粪便还田进入土壤和水体，引发环境风险。

江苏省家禽科学研究所科研团队应用现代生物技术，通过在鸡粪堆肥中添加土霉素、诺氟沙星和微生物菌剂，探究它们在堆肥过程中对氮素和腐殖质转化的单独和联合作用，并利用16S rDNA生物测序技术确定了与之相关的核心微生物菌群。

“我们研究中发现，随着堆肥环境的变化，微生物群落发生了明显的演替现象，其中厚壁菌门与腐殖质转化相关；厚壁菌门、放线菌门和变形菌门与氮素转化相关。日前该成果已发表在生物资源技术领域国际权威期刊《生物资源技术》上。”江苏省家禽科学研究所副研究员李尚民称。

相关专家认为，该研究不仅阐明了抗生素胁迫和微生物菌剂对鸡粪堆肥的理化性质及细菌群落演替的影响，同时还有助于在实际应用中有针对性地提出促进抗生素降解的控制策略，具有重要的科学意义和进一步研究的价值。



视觉中国供图

百万吨可降解生物塑料项目预计年底实现量产 用“绿色科技”破解“白色污染”难题

◎ 周芸吉 本报记者 何星辉

随着国家《“十四五”生物经济发展规划》的出台，生物技术在“降塑”上被寄予厚望。但长期以来，受制于成本和技术，可降解生物塑料的产能一直是个问题。日前，南京工业大学与态创生物科技（广州）有限公司（以下简称态创生物）达成合作，布局百万吨级可降解生物塑料项目，引起业内关注。

生物降解聚合物迎来发展契机

“我们这次布局的是国内鲜有的生物基PBS项目，预计将在年底实现量产。”合作项目首席科学家、南京工业大学教授、博士生导师姜岷表示，因需求急剧增大以及石油资源的不可再生属性，生物基PBS发展空间巨大。

PBS是一种可完全生物降解聚合物，可在自

然界中细菌或酶的作用下实现降解，被视为环境友好型材料中的“潜力股”。按照原料来源，可分为石油基PBS与生物基PBS两大类。

行业调研显示，全球每年使用塑料袋约1万亿个，塑料瓶约2000亿个。疫情防控期间，全球塑料包装市场规模从2019年的9092亿美元增长到2021年的10126亿美元。由塑料制品引发的“白色污染”，具有处理难度大、回收利用难和环境破坏周期长等特点，生物降解塑料被视为解决“白色污染”的最新方案。

随着世界范围内垃圾分类和“限塑令”的强制性逐步升级，PBS迎来了巨大的发展机会。姜岷说，目前的塑料制品市场，给予了可降解塑料的替代空间。“未来，在政策加持和降低成本双重作用下，生物基PBS市场增长会非常强劲。”

校企联手降低生产成本

长期以来，全生物基PBS囿于成本问题，不

能很好地进入市场。目前，国内尚未有真正意义上的全生物基PBS生产企业，PBS合成原料无论是自产还是外购，成本都难以大幅降低。

南京工业大学在生物基PBS核心原料丁二酸的生物合成上，有着非常出色的技术储备。姜岷透露，此次南京工业大学与态创生物合作，生产的生物基PBS的成本可直接追平石油基PBS。

南京工业大学在丁二酸工业菌株构建过程中省去了有氧菌体的培养过程，可实现“一步厌氧”，从而大幅降低成本。在此生产工艺中，碳捕捉技术可实现生产1公斤丁二酸固定0.37公斤的二氧化碳，并依托态创生物的多物质量产平台，通过高通量筛选的方式进行代谢通道改善，进一步提升生产效率。

值得一提的是，态创生物的生物法丁二醇量产技术，可以避免丁二酸到丁二醇的化学物质消耗，直接将生物法丁二酸与生物法丁二醇聚合成为全生物基PBS，让生产更为绿色环保。

姜岷说，南京工业大学和态创生物合作能充分发挥各自的优势，突破实验室转化到规模化生产的技术瓶颈，有效提升了产品竞争力，在降低产品成本的同时，让生物基PBS产品的质量、性能不断改进。

科学家们预判，未来生物技术对人类的影响将远远超过信息技术，在这个已“鸣枪起跑”的生物经济“新赛道”上，采用工程化设计理念并按照特定目标改造的合成生物，将用以解决人类食品短缺、能源紧张、环境污染、医疗健康等各方面的问题，对于全球可持续发展至关重要。

“态创生物作为生物制造平台，致力成为绿色生态基建者，我们一直以需求为导向，打破科研与应用、实验室与工厂的壁垒，努力让合成生物模式改变传统生产方式，为构建绿色低碳经济贡献力量。”态创生物创始人兼CEO张志乾说，此次与南京工业大学的合作，将立足助力“双碳”目标实现、减少环境污染。