

## 研究人员创制“升级版”毕赤酵母菌株

# 甲醇作“原料” 高效产蛋白

◎本报记者 陈曦

甲醇蛋白是以甲醇为碳源,通过培养微生物生产的单细胞蛋白,具有成本低、质量稳定可控等优点。甲醇蛋白也被认为是食用和饲用蛋白的有效替代品。

近日,中国科学院天津工业生物技术研究所吴信研究员带领的营养资源合成生物学团队,在“蛋白饲料生物工程制造前沿技术暨新产品创制”项目的支持下,在一碳甲醇原料生物合成单细胞蛋白方面取得了新突破。该研究为解析毕赤酵母碳氮源高效利用以及甲醇-蛋白定向合成的调控机制提供了新策略,同时为突破甲醇蛋白生物制造经济阈值奠定了基础。相关研究成果发表在《国际期刊《微生物细胞工厂》和《生物燃料与生物产品技术》上。

## 甲醇蛋白可替代天然植物蛋白

目前,我国大宗农产品对外依存度依然较高,其中,大豆等蛋白质原料的对外依存度已连续十多年超过80%。营养资源高度依赖进口的局面严重威胁了我国食品供给安全。寻求新的蛋白质资源,代替大豆等作物蛋白迫在眉睫。

“单细胞蛋白被视为食品及饲料蛋白生产的重要替代品。该蛋白是通过微生物发酵的方式生产的菌体蛋白。”吴信介绍,菌体中的蛋白质含量高达40%—85%,远高于天然植物中的蛋白质含量。同时,菌体的氨基酸组成齐全,可利用率高,还含有维生素、无机盐、脂肪和糖类营养成分,可以部分代替鱼粉、大豆、肉类及脱脂奶粉等。

与传统种植方式获取蛋白相比,单细胞蛋白的生产不受自然环境影响,且产率较高。在产量相同的情况下,单细胞蛋白生产用地使用效率比农作物种植用地使用效率提高1000倍以上。

单细胞蛋白可由制糖、造纸、淀粉生产、木材加工等产生的副产物来发酵生产,但这些副产物的供应不稳定,使得单细胞蛋白产量较低。相较之下,甲醇蛋白则有广阔的工业化生产前景。“在一系列一碳化合物中,甲醇的来源丰富且廉价,更容易运输和储存,是化学工业和生物制造的理想一碳资源。”吴信介绍,甲醇还具有高度的还原性,可以为甲醇蛋白的生物合成提供更多驱动力。

此外,我国的煤炭资源较为丰富,以煤炭副产物甲醇作为碳源生产单细胞蛋白,不仅碳源供应稳定,而且还可通过微生物对一碳化合物的同化降低碳排放,有效推动饲料工业原料资源供给和煤炭副产物高效清洁利用。

## 改造菌株高效合成甲醇蛋白

目前,常见的能够以甲醇为碳源合成甲醇蛋白的微生物包括毕赤酵母、谷氨酸棒状杆菌等。在毕赤酵母的甲醇代谢途径中,甲醇首先会被氧化为甲醛。一部分甲醛将进入异化途径,进一步被氧化为二氧化碳和水;另一部分甲

# 兰州大学研发“华羊芯”绵羊育种芯片

科技日报讯(记者顾满斌)记者2023年12月29日从兰州大学获悉,该校反刍动物研究所王维民教授团队发布了国内首款基于大规模基因组选择参考群的高性能绵羊基因组育种芯片“兰大·华羊芯”。这是该团队组织实施的“绵羊双万羊基因组计划”第一阶段的成果。

为提升我国绵羊基因组育种技术水平,王维民团队通过持续精准的大规模性能测定与基因组重测序,率先在国内构建

规模达10318只、羊只来源覆盖全国8个国家湖羊核心育种场和4家规模化湖羊种羊场的基因组选择参考群,累计获得了80万条表型数据和78TB的基因组数据。研究团队绘制出包含2000万个高质量遗传变异位点超高分辨率的湖羊基因组遗传变异图谱,鉴定出饲料转化率、生长速度、尾脂重、肌内脂肪等一系列湖羊重要经济性状的关键基因。

此后,研究团队联合石家庄博瑞迪生

物技术有限公司,利用大数据、生物信息学、育种学等相关技术,研发出包含45052个具有代表性、全局性、功能位点的高性能45K基因组育种芯片“兰大·华羊芯”,并衍生出可在不同应用场景下灵活使用的10K低密度和1K超低密度两款配套使用的系列育种芯片。“芯片配套的遗传评估技术,可用于湖羊基因组选择育种、重要经济性状基因定位、品种鉴定、家系划分、系谱校正等。”王维民介绍。

## 进一步突破工业菌株生产阈值

从20世纪60年代起,世界上就有不少国家开始进



▲ 科研人员正在观察毕赤酵母菌株培养情况。

▲ 图为毕赤酵母菌株。

受访单位供图

行甲醇蛋白的研究与开发生产。至20世纪70年代后期,全球从事该项研究工作的单位达到近千家。我国对甲醇蛋白的研究并不算晚,早在1984年,我国就把甲醇蛋白列为饲料工业发展的重要产品之一。但目前,国内甲醇蛋白行业的竞争程度仍相对较低,大部分企业技术水平有限,产品质量差异较大,市场竞争

力不足。“早些年,我们的设备装置比较落后,技术难以突破,缺乏优良的野生菌种资源和先进的生产工艺。这些问题导致生产成本较高,在一定程度上限制了我国甲醇蛋白的大规模产业化发展。”中国科学院天津工业生物技术研究所副研究员高乐说。

此次研究创制了具有自主知识产权且可使甲醇蛋白高效合成的巴斯德毕赤酵母菌株,粗蛋白含量达到67.2%,甲醇-蛋白转化效率达到理论值的92%,为以甲醇为唯一碳源生产单细胞蛋白提供了一个经济的巴斯德毕赤酵母细胞工厂。目前,研究团队已将这项成果投入应用,在企业实现了万吨级工业化示范。

“未来我们还将引入人工智能系统,加快现有自主知识产权菌株的迭代升级,实现工业菌株-工业原料-发酵工艺/设备高度拟合,进一步突破工业菌株的生产阈值。”吴信表示,提升甲醇蛋白的生理学功能和营养价值,拓展以甲醇蛋白为核心的衍生功能蛋白市场,是未来甲醇蛋白发展的两个重要方向。这能够进一步降低甲醇蛋白的生产成本,提高甲醇蛋白的附加值,促进甲醇蛋白的规模化生产。

行甲醇蛋白的研究与开发生产。至20世纪70年代后期,全球从事该项研究工作的单位达到近千家。我国对甲醇蛋白的研究并不算晚,早在1984年,我国就把甲醇蛋白列为饲料工业发展的重要产品之一。但目前,国内甲醇蛋白行业的竞争程度仍相对较低,大部分企业技术水平有限,产品质量差异较大,市场竞争

力不足。“早些年,我们的设备装置比较落后,技术难以突破,缺乏优良的野生菌种资源和先进的生产工艺。这些问题导致生产成本较高,在一定程度上限制了我国甲醇蛋白的大规模产业化发展。”中国科学院天津工业生物技术研究所副研究员高乐说。

此次研究创制了具有自主知识产权且可使甲醇蛋白高效合成的巴斯德毕赤酵母菌株,粗蛋白含量达到67.2%,甲醇-蛋白转化效率达到理论值的92%,为以甲醇为唯一碳源生产单细胞蛋白提供了一个经济的巴斯德毕赤酵母细胞工厂。目前,研究团队已将这项成果投入应用,在企业实现了万吨级工业化示范。

“未来我们还将引入人工智能系统,加快现有自主知识产权菌株的迭代升级,实现工业菌株-工业原料-发酵工艺/设备高度拟合,进一步突破工业菌株的生产阈值。”吴信表示,提升甲醇蛋白的生理学功能和营养价值,拓展以甲醇蛋白为核心的衍生功能蛋白市场,是未来甲醇蛋白发展的两个重要方向。这能够进一步降低甲醇蛋白的生产成本,提高甲醇蛋白的附加值,促进甲醇蛋白的规模化生产。

## 研究进展

### 高值利用秸秆 制备储能碳材料

科技日报讯(记者马爱平 通讯员王佳)2023年12月29日,记者从中国农业科学院农业环境与可持续发展研究所获悉,该所种植废弃物清洁转化与高值利用团队揭示了秸秆焦油通过聚合改性,制备储能碳材料的合成路径与调控机制,为秸秆高值利用提供了新视角和新方法。相关研究成果日前发表于学术期刊《生物炭》。

2022年,我国农作物秸秆产生量为8.65亿吨。推进秸秆高值利用是改善农业生态环境、加快农业绿色低碳发展的重要举措。热解技术可以将秸秆转化为生物炭、热解气、热解焦油等产品,促进秸秆离田高值利用。其中,热解焦油具有碳含量高、灰分含量低、易聚合等特点,适用于调控合成多孔碳材料。但焦油组分复杂,聚合机理和孔隙调控规律尚不明确。

论文通讯作者、中国农业科学院农业环境与可持续发展研究所研究员姚宗路介绍,此次研究提出了焦油聚合协同活化掺氮来制备多孔储能碳材料的合成策略,发现尿素与氢氧化钾的协同作用在氮元素掺杂和微介孔形成方面发挥了重要作用,且制备出的储能碳材料表现出优异的储能特性。团队对焦油制备的储能碳材料组成的超级电容器器件进行测试,结果表明,该器件在三电极体系下最高比电容为309.5法拉/克。在两电极对称体系中循环1万次后,其单极比电容仍保持80.1%的循环特性,性能显著优于商业活性炭。

本研究为秸秆高值利用提供了新路径和理论支持。“如果将研究提出的秸秆焦油制备储能碳材料技术进行产业化应用,或能产生一定的经济效益。”姚宗路说。



在江苏省宿迁市泗洪县上塘镇垫湖村,农机手忙着秸秆打捆和装车运输。

### 基因编辑技术 促番茄红素产量提升

科技日报讯(记者吴纯新 通讯员李雄飞 李禾)2023年12月29日,记者从湖北工业大学获悉,该校生物工程与食品学院HBUT-China团队利用微生物细胞工厂,结合合成生物学与代谢工程技术,成功开发了CRISPR-MAD7(Cas12a)基因编辑系统改造谷氨酸棒状杆菌,使秸秆生物基有效转化成高附加值产物番茄红素,将“生态包袱”变为“绿色财富”,实现了产品减碳和可持续发展。得益于这一创新成果,该团队荣获2023国际遗传工程机器大赛金奖。

番茄红素被誉为“植物中的黄金”,是目前科学验证最为有效的抗氧化活性物质之一。其功效在于清除人体内导致衰老和疾病的自由基,有助于保护血管以及预防心血管疾病。番茄红素的传统获取方式包含从植物中直接提取以及化学合成等,然而这两种方式存在缺陷,都不是最佳选择。

据介绍,CRISPR-MAD7(Cas12a)基因编辑系统包含两个关键组成部分,一是行使DNA双链切割功能的Cas蛋白MAD7,二是具有导向功能的crRNA。简而言之,该基因编辑系统类似于办公软件上的“查找和替换”工具。科研人员可以通过设计具有特异性的crRNA分子,使其能识别并结合到基因组中特定的位置。随后,Cas蛋白MAD7会被引导到这个特定位置,并对该位置上的DNA进行切割。团队还发现,细胞可以利用自身修复机制,对切割的DNA进行修复,实现对基因的编辑。

“利用该系统,我们可以重新设计菌株的遗传路线,改变菌株的生长和生产特性,使微生物细胞更高效地生产目标产物。”该项目学生负责人江益明说。

为了更好地将这一系统应用于菌株改造,优化系统所需的表达元件是一个关键步骤。经过半年的不懈努力,团队终于获得了理想的实验结果。“每一个小变量的改变都需要从头开始实验,我们不厌其烦、反复对照,最终实现了我们的基因编辑系统在单个基因或大片段敲除上较高的编辑效率。”团队成员王念说,依靠CRISPR-MAD7(Cas12a)基因编辑系统,团队对谷氨酸棒状杆菌进行了一系列改造,成功构建了高产的番茄红素菌株。相较于原始菌株,重组菌株的产量提高了134倍。

通过实验,团队还发现秸秆先后经过酸解和酶解处理,能有效产生葡萄糖,这种秸秆葡萄糖可以作为培养谷氨酸棒状杆菌的碳源。“实验对比显示,相较于普通的葡萄糖,改造后的菌株在秸秆葡萄糖中培养后能产生更多番茄红素。”团队指导老师、湖北工业大学讲师郑学云说。



番茄红素是植物中所含的一种天然色素,主要存在于番茄的成熟果实中。

本版图片除标注外由视觉中国提供

◎本报记者 马爱平

昆虫是如何通过气味来寻找合适的产卵地点的?中国农业科学院深圳农业基因组研究所研究员王桂荣团队等从棉铃虫产卵的独特行为入手,揭示了其选择产卵地点背后的化学感受机制,有望为棉铃虫这一世界重大农业害虫的绿色防治提供新思

路和新策略。该研究由中国农业科学院深圳农业基因组研究所、中国农业科学院植物保护研究所、挪威科技大学等机构合作完成,相关研究成果近日发表于国际期刊《当代生物学》。

棉铃虫具有迁飞距离远、繁殖能力强等特性,对棉花、玉米、小麦等300多种农作物都有严重危害性。其对化学杀虫剂易产生抗药性,防治难度大。因此,开发绿

色、针对性强的棉铃虫防治方法,对保障国家粮食安全具有重要意义。

从怀孕的那一刻开始,棉铃虫雌虫便踏上了寻找“产房”的漫漫长途。为了找到适合后代生存的环境,雌虫需要进行实地考察,主要通过气味来寻找合适的产卵地点。然而,气味纷繁复杂,究竟是哪种气味对雌虫选择产卵地点起主导作用呢?

针对昆虫行为的过往研究显示,棉铃虫雌虫产卵后,虫卵会释放出一种特殊的气味,可以阻止其他雌虫在相同的地方产卵,这种独特的行为被称为“昆虫产卵忌避行为”。但是,这种气味如何引起昆虫的忌避行为,其中的机制一直不明确。

为了探究这背后的机制,王桂荣团队设计了一组有趣的实验。他们将交配后的雌虫放入一个长20厘米、宽14厘米、高8厘米的盒子中,在盒子顶部一侧放置未做任何处理的纱布,另一侧放置用产卵忌避素浸透过的纱布。产卵忌避素是能够调控棉铃虫产卵行为的特殊化合物。实验发现,棉铃虫对两侧产卵地点的首次访问率

没有显著差异,但不会在有产卵忌避素的纱布上久留。

接着,研究人员模拟了雌虫寻找产卵地点的真实情况,将植株分为两组,一组涂有产卵忌避素混合物,一组不涂。结果显示,雌虫更倾向于在未涂混合物的植株上产卵。通过气相色谱质谱法,研究团队利用气相色谱-触角电位联用仪,在棉铃虫卵表面鉴定出三个具有生物活性的长链脂肪酸甲酯。实验表明,这三种卵表化合物及其混合物都能够显著引起棉铃虫的产卵忌避行为,即阻止棉铃虫在特定区域产卵。同时,团队在棉铃虫触角的神经节中找到了能够识别这些气味的基因。

“这意味着我们从分子和神经水平上,掌握了昆虫产卵忌避行为背后的化学感受机制,解析了卵表挥发物忌避雌虫产卵的机制,为雌虫特异嗅觉通路介导产卵生殖提供了证据和实例。”王桂荣说,基于该研究,科研人员下一步有望研制出针对棉铃虫产卵行为的调控剂,用更加绿色的方法阻止棉铃虫在特定的田地里产卵,有效保护农作物。



图为棉铃虫。