

# 合成生物学助维生素生产绿色高效

## 聚焦食品生物技术③

◎本报记者 张佳星

随着生命科学研究的进步,维生素对于机体的作用正在不断被刷新。一些研究表明,某些维生素的大量使用,在机体细胞通路中能起到意想不到的效果。日前《柳叶刀》子刊发表的一项研究显示,维生素D的药用使用或有利于糖尿病前期患者预防肌肉减少症。

“维生素是人体自身不能合成或者合成量不足,必须从外界摄取的小分子化合物。”中国科学院天津工业生物技术研究所研究员张大伟告诉科技日报记者,维生素对于人体的生长代谢非常重要,而且是不可替代的。

根据不同性质和功能,维生素在食品中可用作酸味剂、抗氧化剂、营养强化剂和膳食补充剂等。在食品产业中,维生素可改善加工过程、提高食品质量与营养价值,满足人体的日常需求。生物制造技术的发展推动了维生素制造的迭代创新。在生物技术的引领下,维生素生产方式正稳步升级。

## 微生物发酵合成是维生素制造的重要方向

维生素包括维生素A、B、C、D等多个种类,由于都被叫作维生素,很多人认为它们的功能非常相似。事实上并非如此。“维生素A又叫视黄醇,维生素B1叫硫胺素,维生素B11就是孕妇需要补充的叶酸……”张大伟说,生育酚、钴胺素、吡哆醛等其实都是维生素。它们的名字五花八门,化学结构也形态各异。

既然它们如此不同,为什么都会被归为维生素一类呢?张大伟解释,因为它们有个共同特点,就是当机体缺乏它们时,代谢活动就会异常。而且,已知的大多数维生素,都是酶的辅酶或辅基团的组成成分。换句话说,缺了它们的辅助,一些生命活动中的关键蛋白质(酶)就会不工作或者乱工作。

“现在的维生素常作为食品、饮料添加剂,也会用于化妆品、保健品等一系列产品中。”国药控股星鲨制药生命科学研究院执行院长喻喜华说。

“传统的维生素生产方法包括化学提取法和化学合成法。前者是从植物或者其他富含该维生素的来源中,用化学溶剂等来提取;后者是根据维生素的化学结构,通过化学反应进行合成。”国药控股星鲨制药软胶囊剂车间主任苏志伟介绍。

此外,一些微生物具备合成某些维生素的能力。因此生产维生素还有微生物发酵法,通过发酵培养进而实现维生素工业化生产。

微生物发酵合成是维生素制造的重要方向。生物制造技术的应用可以有效实现节能、减排和降耗,是实现维生素制造绿色发展的重要突破口。例如传统的维生素B6



图为脂溶性维生素制剂。受访单位供图

生产主要依赖化学法合成,合成过程中要用到强腐蚀性的三氯氧磷和有毒溶剂苯等,且副产物处理难度较大,存在安全隐患,污染环境。“生物发酵方法相对而言比较温和,反应温度大多在30—37摄氏度,不需要高温高压。”张大伟说,生物发酵方法使用的原材料大多没有有毒化学试剂,在能耗、排放和环保等方面,更加符合绿色发展要求。

## 改造“细胞工厂”提高维生素生产效率

随着生活水平的不断提高,人们对于维生素食品的需求日益增长。为支撑相关食品产业发展,维生素生产工艺需要进一步改良、升级和转型。

维生素B5的生产就经历了从化学合成法到微生物发酵法的蝶变。此前维生素B5需使用甲醛、异丁醛和丙烯腈等易燃易爆原料合成,生产过程中会产生有毒的含氧废水。中国科学院微生物所研究员温廷益团队对野生大肠杆菌进行了近30轮代谢工程改造,大幅提高了维生素B5的生产效率。2023年4月,该成果经过转化后建成产量达2500吨的全球首条维生素B5生物发酵绿色生产线。

在信息技术、生物技术的加持下,当前维生素生产和分环节不断向高效化方向迈进。

包括基因编辑在内的生物技术,能够在生产菌内部有目标地增强维生素合成路径,使菌株的生产能力更强。喻喜华说,菌种改良可以让“细胞工厂”更加高效。它们只需利用廉价易得的原材料,比如玉米淀粉、木质纤维素等,就可以通过发酵实现目标产物的高效转化。

合成生物学技术被认为是改变未来生产方式的颠覆性技术,也契合了“双碳”目标和可持续发展的理念。此前,中国科学院院士邓子新团队就利用合成生物学技术,成功开发出一种低成本、高效率、高收益、低污染生产维生素E的方法,使中国一跃成为维生素E的生产大国。

张大伟介绍,有一些维生素的天然“生产者”难以满足工业化生产要求,需要通过合成生物学的新方法加以改造。比如当前维生素B12相对昂贵,就是由于其天然“生产者”苜蓿中华根瘤菌虽然含有维生素B12的全部合成基因,但用它生产维生素B12方法复杂,生产周期很长。

苜蓿中华根瘤菌要在苜蓿的根部才能找到生长的最优环境,而工业生产中难以满足这样的条件。且苜蓿中华根瘤菌的同源重组效率低,缺乏有效的基因编辑工具,严重限制了菌种的改造。张大伟说,为此他和团队开发出适用于苜蓿中华根瘤菌的基因“剪刀”,实现了对基因组多基因编辑和大片段高效插入。

团队还在大肠杆菌细胞中成功组装、调控了维生素B12的从头合成,将合成途径长、结构复杂的维生素B12“生产线”,搬进成熟的“细胞工厂”大肠杆菌中,全新菌种及体外多酶体系合成维生素B12的周期都大幅缩短。张大伟说,如果技术能够得到实际应用,将进一步提升维生素B12的生产效能。

中国工程院院士郑裕国表示,我国维生素市场规模不断扩大,合成生物学技术的崛起与进步给维生素产业的发展带来新机遇。在合成生物学技术快速发展的推动下,维生素生产呈现从化学法向绿色低碳生物法发展的趋势。随着合成生物学技术的进一步升级与工程化应用,多个品种的维生素有望实现对原有生产路线的替代。

## 研究进展

## 全球首个海洋生物空间单细胞图谱绘制

科技日报讯(记者罗云鹏 宋迎迎)4月8日记者获悉,中国海洋大学联合青岛华大基因研究院利用时空组学技术,结合单细胞转录组测序,以柄海鞘内柱器官为研究对象,绘制出全球首个海洋生物空间单细胞图谱,并从该图谱解析出海洋动物咽部器官的细胞类型和潜在功能特征,为揭示脊椎动物咽部器官的潜在演化起源提供了重要信息。相关研究成果发表在《科学进展》上。

据悉,团队在柄海鞘内柱器官中首次发现类血淋巴区域的细胞类群,并鉴定出位于内柱致密组织区的类毛细胞类群,该细胞类群与脊椎动物内耳毛细胞的表达特征具有高度相似性。同时,团队揭示了内柱类甲状腺区域不同成熟状态细胞共存的特征。此外,研究人员将柄海鞘单细胞图谱与脊椎动物的相关单细胞转录组数据进行比较。结果显示,柄海鞘作为脊索动物,其内柱与多种脊椎动物的咽器官存在基因特征相似性。

研究成果为了解多种具有重要演化地位的生物类群的组织器官,以及海洋独特生物类群的组织器官提供了方法学参考与借鉴,也为进一步理解咽部器官起源提供了高质量数据支撑和新见解。

## 呕吐毒素合成“开关”发现

科技日报讯(记者马爱平)记者4月8日从中国农业科学院获悉,该院植物保护研究所粮食作物真菌病害监测与防控创新团队研究发现了呕吐毒素的合成“开关”,为科学绿色防控禾谷镰孢菌病害、治理真菌毒素污染提供了新靶点和理论支撑。相关研究成果日前发表在《自然·遗传学》(基因组生物学)上。

论文通讯作者、中国农业科学院植物保护研究所研究员刘文德告诉记者,禾谷镰孢菌能够侵染玉米、小麦等粮食作物,引起玉米穗腐病、茎基腐病和小麦赤霉病等重大真菌病害,造成粮食严重减产。同时,该病菌可产生真菌毒素脱氧雪腐镰刀菌烯醇。由于这种毒素具有引发动物呕吐的特征,因此也被称为呕吐毒素。但作为重要的致病因子,呕吐毒素的调控方式与作用机理至今尚不清楚。

该研究借助蛋白质组学、遗传学及生物化学等相关技术手段,鉴定到禾谷镰孢菌组蛋白甲基化修饰阅读器蛋白,这是一种在禾谷镰孢菌中鉴定出的特定阅读器蛋白。在此基础上,研究团队进一步通过生物学信息分析,发现该阅读器蛋白包含2个无序序列。他们利用细胞生物学动态定位观察和生化实验验证,发现该阅读器蛋白在禾谷镰孢菌正常生长条件下会发生液-液相分离。

“这意味着,这种阅读器蛋白在禾谷镰孢菌中通过蛋白相分离的方式,控制了呕吐毒素等致病基因的合成,从而影响禾谷镰孢菌的致病能力。这一发现为我们更深入地理解禾谷镰孢菌的致病机理,以及寻找新的防控策略提供了重要线索。”刘文德说。

## 噬藻体与蓝藻互作机制找到

科技日报讯(记者吴长锋)4月8日,记者从中国科学技术大学获悉,该校生命科学与医学部教授周从照课题组利用冷冻电镜单颗粒技术,解析侵染模式蓝藻鱼腥藻PCC 7120的肌尾噬藻体A-1(L)尾部机器的完整三维结构,揭示了噬藻体A-1(L)与其特异性宿主蓝藻相互作用的结构基础和分子机制。相关成果日前在线发表于《自然·通讯》。

频繁的人类活动引起水生生态系统中氮磷的输入量急剧增加,导致严重的水体富营养化,蓝藻大量繁殖形成水华。噬藻体作为特异性侵染蓝藻的噬菌体,与宿主相互作用可引发宿主细胞裂解或代谢重编程,参与水生生态系统的能量流和物质循环、蓝藻种群密度和丰度调节等。然而,噬藻体通常具有极强的宿主特异性,且目前对噬藻体的研究主要集中在海洋噬藻体,对淡水噬藻体与宿主之间相互作用的深入研究仍然较少,极大限制了噬藻体的工程化改造。

鱼腥藻PCC 7120是一种丝状固氮蓝藻,是研究蓝藻的理想模式生物。A-1(L)是一种肌尾噬藻体,能够特异性侵染鱼腥藻PCC 7120。因此,噬藻体A-1(L)与鱼腥藻PCC 7120可作为研究噬藻体和蓝藻相互作用的理想模型。

在前期工作的基础上,研究人员进一步解析噬藻体A-1(L)三组分尾部机器的结构,包括颈部、尾部和附着的纤维。通过结构分析结合生化实验,研究进一步鉴定了基板中心蛋白的双重水解活性和两种尾纤的受体结合活性。该研究有助于人们深入理解噬藻体与宿主蓝藻相互作用的分子机制,为将来开发环境友好型底盘噬藻体奠定理论基础。

## 全国蚊虫病毒组特征揭示

科技日报讯(记者罗云鹏)4月8日记者获悉,中山大学、深圳华大生命科学研究院与复旦大学研究团队合作,揭示了不同生境下蚊虫病毒的多样性、传播分布的影响因素及地理谱系特征,在多尺度上为研究蚊虫病毒组提供了重要新见解。相关成果发表在《自然·生态与演化》上。

研究团队历时5年,收集了来自全国82个市县的2438只蚊虫个体。这些蚊虫个体来自不同的生态环境。基于此,团队通过华大自主研发的T系列测序平台,对单个蚊虫进行宏转录组测序,成功构建了迄今个体数最多、地域跨度最大的蚊虫病毒组数据资源,并从中鉴定出393种蚊虫相关病毒,其中63%为潜在新种。

团队进一步分析了蚊虫携带的病毒类型及数量,发现蚊虫个体和种群水平的病毒组成与宿主系统发育、气候、土地利用等因素密切相关。据此,团队发现病毒多样性的热点宿主有骚扰阿蚊、白纹伊蚊,热点地区主要集中在温度适宜、降雨丰富且哺乳动物多样性较高的地区;并首次量化描述了蚊虫病毒与其宿主专一性的对应关系。此外,研究还发现,不同地区蚊虫种群的遗传相似度与种群间共享的病毒物种数高度相关。

“我们希望携手全球科学家一起对自然疫源的病原体进行持续研究。目前,项目已经完成约2万5千份样本测序。”论文共同通讯作者、全球病原数据库项目负责人王达希说,团队将持续构建病原数据库平台,汇集多种病原、媒介和生态等多维度信息,为生物安全防控和自然疫源疫病监测预警提供大数据保障。

## 浙江大学方群团队

# 打造解码单细胞蛋白质的“全自动流水线”

◎洪恒飞 孔晓睿  
本报记者 江耘

将一根细长的探针放进样品容器,依托机器视觉系统识别,20秒内就能对单个细胞精准吸取,并将其注入纳升级反应器。通过一旁显微镜的传输画面,记者看到,在探针视角下,容器中各个细胞如棋子般分布,位置清晰可见。

日前,由浙江大学杭州国际科创中心生物与分子智造研究院教授方群团队研制的全自动单细胞蛋白质组分析平台正式发布。方群介绍,这个分析平台就像一个强大的“细胞阅读器”,能以单个细胞为单位,精确检测其蛋白质的表达情况,从而揭示细胞间的共性和差异。这项研究为理解细胞生长发育、疾病发生发展以及药物研发提供了全新视角和工具。

## 挑战单细胞组学研究的“硬骨头”

人体内的各种细胞组成成分复杂,包

含DNA、RNA、蛋白质、代谢物等。其中,蛋白质是细胞功能的直接执行者。细胞通过蛋白质及其翻译后修饰,可以感知并响应外在和内在刺激,从而影响整个生命体的功能和状态。

“细胞具有异质性。比如同样是肿瘤细胞,个体间也有所不同,有的容易发生转移,有的对药物比较敏感。”方群解释,传统的分析方法是把很多细胞放到一个容器内进行分析,细胞的个体化信息就会被细胞群体的平均化结果掩盖。

由此,单细胞分析技术应运而生。该技术可以对细胞进行逐个分析,测定细胞中各组分的组成和含量,鉴定细胞的状态和功能,并进一步确定组织中存在的各种细胞类型。通过对细胞间异质性的研究,人们可以更好地理解细胞在生物体中的作用,以及它们参与生命活动的机制。

按照基因组、转录组、蛋白质组等具体分析目标细分,单细胞分析技术可分为不同路线。由于蛋白质无法在体外进行扩增,相较单细胞基因组学和转录组学技术而言,单细胞蛋白质组学技术发

展相对滞后。在一个细胞中,蛋白质的总含量约为0.2纳克,质量仅相当于一只蚂蚁的千万分之一。而且组成这0.2纳克蛋白质的是近2万种不同种类的蛋白质,在单细胞水平上进行蛋白质组分析的难度可想而知。

方群介绍,在单细胞水平上对细胞内表达的全部蛋白质(蛋白质组)进行定性和定量分析,是揭示细胞类型及其状态必不可少的工具,在肿瘤异质性、干细胞分化、生殖细胞发育、神经细胞分析等领域有重要应用价值。此前,单细胞蛋白质组分析技术已有基因编辑荧光蛋白标记法、基于抗体或核酸适体的标记法等手段,但这些手段在单细胞蛋白质鉴定深度方面均存在较大局限性。

“样品准备是蛋白质组分析的关键步骤。”该研究团队成员、浙江大学杭州国际科创中心王宇博士说,传统的单细胞样本前处理操作大多在微升级反应器中进行,在样品处理和转移过程中会出现明显的样品损失,导致单细胞蛋白质组分析的鉴定深度显著降低。

## 利用微流控技术提升样本纯度

王宇介绍,想要提升单细胞蛋白质组分析的鉴定深度有两种策略。一是在体积足够小的微反应器中进行样品前处理,利用微尺度效应提高反应效率;二是将所有操作整合在一起,降低样品损失。但这两种策略对技术与设备的要求都比较高。

多年来,方群团队致力于微流控单细胞蛋白质组分析技术的研究。所谓微流控,指的是在微米级结构中操控微量液体的技术手段。此次研究中,该团队基于前期研制的纳升级微流控液滴操控机器人和“点取式”单细胞蛋白质组分析工作流程,建立了全自动单细胞蛋白质组分析平台。该平台由机器人负责样品转运,平台集成

细胞分选与捕获、纳升级体积样品前处理、色谱进样和分离、质谱检测和数据分等操作流程。方群介绍,应用微流控技术能显著提升反应效率,降低样本损失。在该平台工作流程下,单份样品进行样品前处理中的液体体积,是常规手段下的几十分之一。

传统蛋白质组分析技术仅能在每个细胞中鉴定1000种左右的蛋白质,这在单细胞分析领域显得有些“力不从心”。而应用该平台,团队目前对单个哺乳动物细胞蛋白质鉴定数最高已超过3000种,约占人类基因组编码蛋白质总数(约2万种)的15%。

记者了解到,相较于传统的单细胞蛋白质组分析系统,该平台可完成单细胞蛋白质组分析全部流程操作自动化,包括单细胞的定向捕获、多步骤预处理、自动进样、色谱分离和质谱检测等操作,显著拓展了单细胞分析的信息深度和维度,提高了分析效率和可靠性。

“一款抗癌新药在临床试验阶段,如果患者产生耐药性,有哪些蛋白质会发生变化?如何在发生耐药之前进行逆转?这些问题让临床医生比较头疼。”浙江省肿瘤医院I期临床试验病房主任宋正波说,全自动单细胞蛋白质组分析平台的发布,或将帮助临床医生解决这些问题。

西湖大学生命科学学院特聘研究员、西湖实验室智能蛋白质组中心主任郭天南认为,学科交叉融合,为蛋白质组学研究带来新血液,该平台走向产业化值得期待。在实际应用中,该平台在通量提升、成本控制等方面还有持续改进空间。

方群说,接下来,团队将进一步提高单细胞蛋白质组分析的鉴定深度和通量,以持续推进该技术的实用化水平。他们还将与生物医学专家合作,拓展该技术在生物学、医学和药学等领域的深度应用,推动单细胞蛋白质组学技术的快速发展和应用普及。



图为探针识别并捕捉目标细胞进入纳升级反应器。洪恒飞摄