

特约评述

DOI: 10.12211/2096-8280.2022-005

微藻光驱固碳合成技术的发展现状与未来展望

崔金玉^{1,2,3}, 张爱娣^{1,4}, 栾国栋^{1,2,3}, 吕雪峰^{1,2,3}

(¹ 中国科学院青岛生物能源与过程研究所, 中国科学院生物燃料重点实验室, 山东 青岛 266101; ² 山东能源研究院, 山东 青岛 266101; ³ 青岛新能源山东省实验室, 山东 青岛 266101; ⁴ 中南林业科技大学, 生命科学与技术学院, 湖南 长沙 410004)

摘要: 发展CO₂的高效资源化利用技术可同时缓解迫切的环境和能源压力, 是实现“双碳”目标的重要途径。微藻是重要的光合固碳微生物, 是生物圈初级生产力的主要来源, 也是研究光合作用的重要模式体系。近年来, 微藻又被视为极具潜力的新型微生物光合平台, 具有将太阳能和CO₂直接转化为各种生物基产品的潜力, 该生产模式被称为光驱固碳合成技术, 可以同时起到固碳减排和绿色合成的效果, 是有望助力“双碳”战略目标实现的新型生物制造技术路线。微藻光驱固碳合成技术本质上是通过微藻光合代谢网络重塑实现CO₂的资源化利用, 对该方面本文系统总结了“拆盲盒”“挤海绵”“动刀子”3种基本开发模式的研究进展、重要突破和代表性应用示范。而微藻光合代谢网络的深度重塑, 又有效扩展了基于微藻光驱固碳合成过程的技术应用场景, 在这一方面, 本文着重总结微藻生物技术与生物医学、生物光伏、生物航天技术等新型应用场景和技术领域的交叉融合。最后, 还针对微藻光驱固碳合成技术在应用中面临的挑战, 提出应该重点从合成生物学工具箱开发、高效光合平台开发、规模化培养防污染和防逃逸策略开发等环节进行攻关, 以加强微藻光驱固碳合成过程的可控制性和可应用性。

关键词: 微藻; 光驱固碳; 细胞工厂; 合成生物学; 开发模式

中图分类号: Q815 文献标志码: A

Engineering microalgae for photosynthetic biosynthesis: progress and prospect

CUI Jinyu^{1,2,3}, ZHANG Aidi^{1,4}, LUAN Guodong^{1,2,3}, LYU Xuefeng^{1,2,3}

(¹Key Laboratory of Biofuels, Qingdao Institute of Bioenergy and Bioprocess Technology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266101, Shandong, China; ²Shandong Energy Institute, Qingdao 266101, Shandong, China; ³Qingdao New Energy Shandong Laboratory, Qingdao 266101, Shandong, China; ⁴College of Life Science and Technology, Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410004, Hunan, China)

Abstract: The development of highly efficient CO₂ utilization technologies can alleviate the urgent pressure on the environment and energy, playing a vital role in achieving the goal of “carbon peak and neutrality”. Microalgae are an

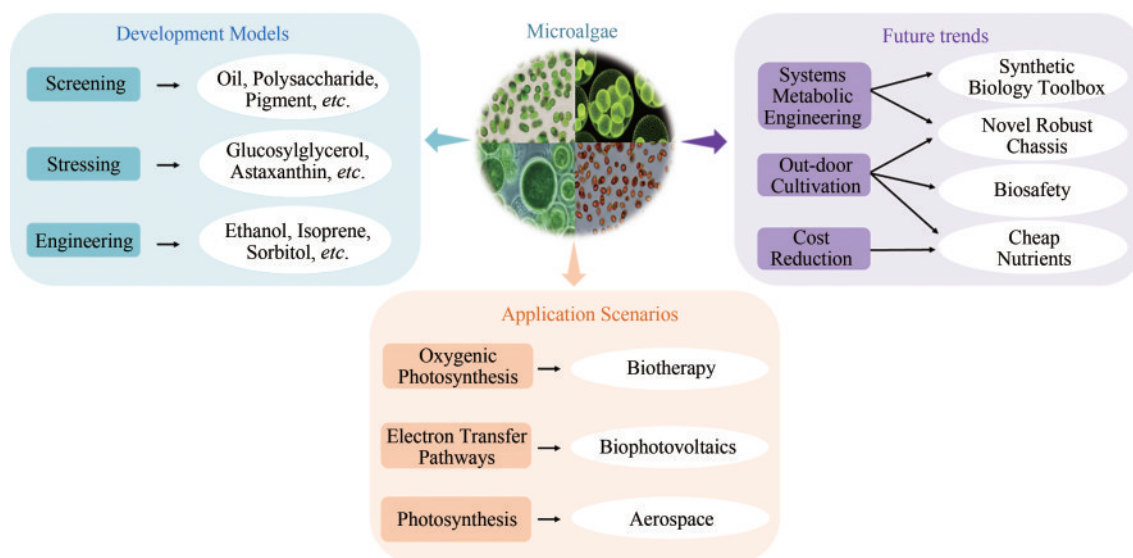
收稿日期: 2022-01-19 修回日期: 2022-03-31

基金项目: 国家重点研发计划 (2021YFA0909700); 中国博士后科学基金第70批面上项目 (2021M703320)

引用本文: 崔金玉, 张爱娣, 栾国栋, 吕雪峰. 微藻光驱固碳合成技术的发展现状与未来展望[J]. 合成生物学, 2022, 3(5): 884-900

Citation: CUI Jinyu, ZHANG Aidi, LUAN Guodong, LYU Xuefeng. Engineering microalgae for photosynthetic biosynthesis: progress and prospect[J]. Synthetic Biology Journal, 2022, 3(5): 884-900

important group of photoautotrophic microorganisms, providing the main source of primary productivity in the biosphere, and also serving as important model organisms for photosynthesis research. In recent years, microalgae have also been considered as promising chassis for photosynthetic biosynthesis, directly converting solar energy and carbon dioxide into various bio-based products. This technological route is called photosynthetic biomanufacturing, which possesses the advantages of simultaneous carbon fixation and clean production. This review focuses on the perspectives of development models and application scenarios, and suggests trends related to the further development of photosynthetic biomanufacturing. Regarding the efforts to harness and utilize photosynthetic carbon flow in microalgae cells, we summarized and compared three widely adopted strategies, including novel species screening, environmental perturbations, and genetic engineering. The research progress, significant breakthrough, and representative application demonstration of development models were systematically summarized. In the future, the combination of promising chassis cells with desired industrial properties, systematic metabolic engineering to remodel the native metabolism, and specific environmental treatments to maximize synthesis capacities could be expected to generate next-generation advanced microalgae cell factories. The optimized microalgae cell factories with desired photosynthesis and biosynthesis properties could be expected to play important roles in the areas of biomedical therapy, biophotovoltaics, and bioastronautics through interdisciplinary technology cooperation and integrations. Microalgal synthetic biology is also expected to focus on solving emerging problems rising from new application scenarios and larger application scales, including the development and optimization of the synthetic biology toolboxes, engineering chassis cells toward more efficient photosynthesis, the development of anti-biocontamination and biosafety strategies for large-scale cultivation. Taken together, this review provides useful and updated information to facilitate the development of photosynthetic biosynthesis route with carbon fixation and clean production, providing certain feasible solutions for the "carbon peak and neutrality".



Keywords: microalgae; photosynthetic biomanufacturing; cell factory; synthetic biology; development mode

气候变化是当今人类面临的重大挑战，应对气候变化已经成为全球共识。而气候变化的潜在重要原因之一是碳的过量排放，其会导致地球气

候变暖、温室效应以及出现极端恶劣天气。中国作为世界人口最多的国家，也是世界最大的碳排放国。长期以来，中国积极参与全球治理，将温

室气体减排任务纳入国家五年规划和2035远景目标,力争CO₂的排放量于2030年前达到峰值,努力争取在2060年前实现碳中和^[1]。碳达峰、碳中和既是我国应对全球变化的庄严承诺,也是我国实现社会绿色、可持续发展的必由之路。发展CO₂的高效资源化利用技术可同时缓解迫切的环境和能源压力,是实现“双碳”目标的重要途径。微藻是一类具有单细胞或简单多细胞结构的原核或真核生物,原核微藻主要指蓝藻(蓝藻科),真核微藻主要包括绿藻(绿藻科)和硅藻(硅藻科)^[2]。微藻作为重要的光合固碳微生物,是生物圈初级生产力的主要来源,贡献了全球范围内50%以上的生物固碳,同时还参与全球氮、氧、磷等多种物质循环。微藻是研究光合作用机制的重要模式体系,也是极具潜力的新型微生物光合平台。利用微藻光合固碳过程,将太阳能和CO₂直接转化为重要生物基产品的模式被称为光驱固碳合成技术。微藻光驱固碳合成技术具有以下优势:(1)微藻拥有高效的光合系统,光合速率高,例如蓝藻光能利用率是陆生植物的数倍(蓝藻3%~9%,陆生植物0.25%~3%)^[3-4]。(2)微藻的生长营养需求低,不需要有机碳源,且其可以利用废弃的水、气和边际土地资源,可以有效降低生产成本并提高过程综合收益^[5];同时,微藻以大气中的温室气体CO₂作为碳源,具有显著的生态效益;据估计,生产1 kg藻类生物量需要1.83 kg CO₂^[6],也即意味着微藻培养可以起到固碳减排和绿色合成的效果。(3)微藻生长比植物快,培养周期短,生长密度高;同时,其自身含有丰富的蛋白质、脂类和多糖等高附加价值化合物,可作为生产各种生物制品的直接原料^[7]。(4)微藻广泛分布于全球各种生态环境中,具有极为丰富的种质、遗传、代谢和生理多样性,为多样化的光驱固碳合成技术路线开发提供了宝贵的资源基础;例如,微藻中含有多不饱和脂肪酸、色素、碳水化合物、肽、维生素、多酚、植物甾醇和激素等多种生物活性物质,在食品、营养品、药物和化妆品等领域具有广阔的应用空间^[8]。综上所述,微藻生物技术的发展应用有望成为“碳达峰、碳中和”战略目标实现的有力手段,为全球的绿色低碳进程提供部分可行性解决方案。

微藻的天然光合代谢本质上是为了维持生存、促进生长和实现增值,而光驱固碳合成技术的核心目标是为了实现CO₂的定向利用,让更多的碳流向高附加价值化合物的合成。近20年来,以合成生物学为代表的交叉学科的发展,使得人工设计、合成新型微藻光合细胞工厂成为现实,有效促进了光合代谢的深度重塑与光合碳流的精确调控,使CO₂在太阳能驱动下向各种天然和非天然目标产物的定制化转化。针对特定培养体系和应用需求进行微藻复杂细胞表型的人工设计和改造也成为可能。另外,通过对光合微藻代谢特性(如固碳放氧)的理解和改造,合成生物学技术还极大拓展了微藻的应用空间和潜力,使其可以通过与其他学科和技术的融合而执行新型的任务;而新型应用场景开发过程中也存在一定挑战,微藻的遗传、生理和代谢特性还需要针对工程放大和靶向应用过程中特定的体系、条件和环境进行适配性的设计、改造和优化。本文将结合典型案例的介绍,重点对合成生物技术、系统生物技术和人工智能等新科技浪潮的驱动下,微藻光驱固碳合成技术在基本开发模式、新颖应用场景以及发展动向方面的新变化和发展趋势进行总结和展望。

1 微藻光驱固碳合成技术的基本开发模式

光驱固碳合成技术从本质上分析是人工对微藻细胞光合作用固定CO₂过程的应用和改造,在具体过程上则是通过设备、技术、环境条件对光驱碳流转化路线的引导、强化和重定向。本文从微藻光合代谢活动的利用和改造模式上,将光驱固碳合成技术的基本开发模式总结为“拆盲盒”“挤海绵”和“动刀子”3种模式(图1),下面将对其技术流程和特点进行梳理并介绍相关研究进展、重要突破和代表性应用示范。

1.1 “拆盲盒”——挖掘天然微藻种质资源

微藻广泛分布于陆地、海洋、淡水、极地等各种生态环境中,需要适应盐、pH、温度、光照等各种极端环境条件及其动态变化,与之相对应

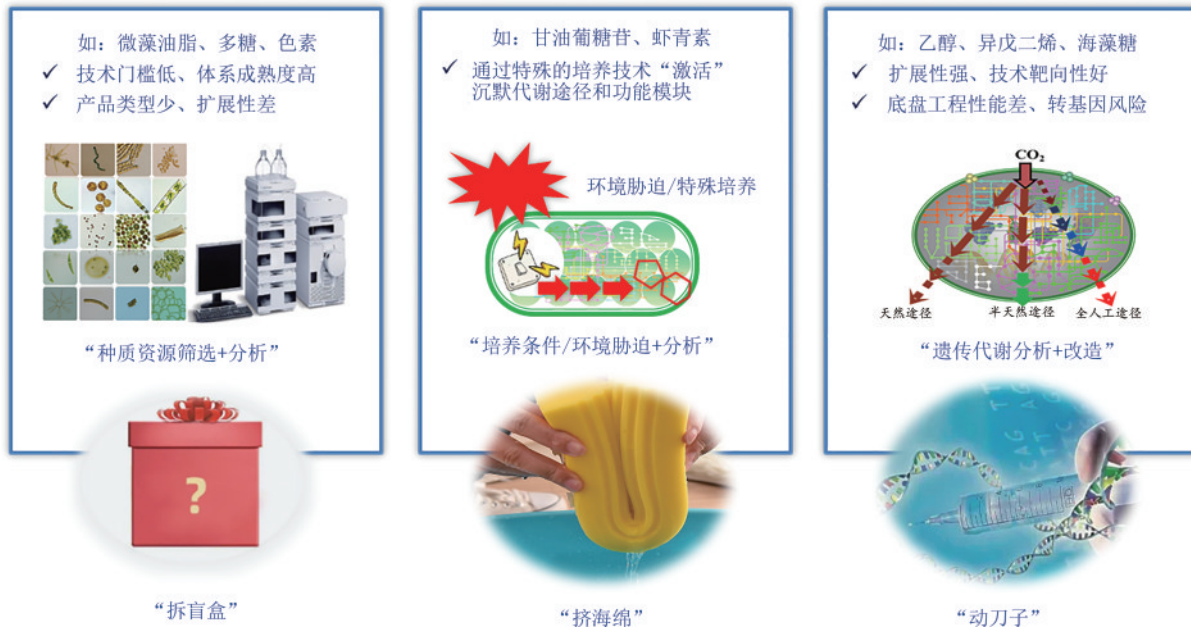


图1 微藻光驱固碳合成技术的开发模式

Fig. 1 The development models of microalgae photosynthetic biomanufacturing

的则是微藻类群极高的生理和代谢多样性，以及类型广泛的代谢产物（主要包括油脂、多糖、不饱和脂肪酸、蛋白质、色素类以及各种小分子代谢物等）。通过对微藻种质资源进行广泛采集和筛选，对其胞内代谢物进行分析和鉴定，挖掘高附加值化合物的微藻光驱固碳合成路线开发模式，被称为“拆盲盒”，具有技术门槛相对较低、体系成熟度高等特点，迄今为止仍然是微藻生物工程领域的主要研究方向。

针对天然微藻种质资源挖掘和分析等相关内容，此前已有相关综述进行了详细的总结，在此仅做简要介绍^[8-9]。以微藻油脂合成研究为例，迄今为止研究人员已经发现了多种可用于合成油脂的微藻，具有代表性的包括三角褐指藻（*Phaeodactylum*）、杜氏藻属（*Dunaliella*）和微拟球藻属（*Nannochloropsis*）等^[10]。在氮限制条件下，上述微藻胞内积累大量甘油三酯，其结构与普通蔬菜油甘油三酯的结构类似，具有食用油替代产品的潜力；同时，微藻油脂还可以通过酯化转变为生物柴油（脂肪酸甲酯等），被视为第3代可再生燃料的重要产品^[11]。近年来，一类新型产油微藻——真眼点藻（*Eustigmatos*）逐渐引起关注，其具有生长速率快、积累高含量微藻油和二十碳五烯酸（eicosapentaenoic acid, EPA）等特

性，总脂和中性油脂的含量分别达到干重的63.4%和56.8%，EPA则可占干重的2.4%，在医药健康领域具有可观的开发潜力^[12-14]。油脂类产品之外，微藻多糖也因具有抗肿瘤、抗氧化、抗衰老、抗病毒和抗辐射等特性，而被视为具有广阔的应用前景的微藻产品^[15]。例如，纤细裸藻（*Euglena gracilis*）可积累大量的贮藏多糖β-1,3-葡聚糖，其可占干重的80%以上^[16-17]。

基于天然微藻藻株的产业化应用尝试中，雨生红球藻（*Haematococcus pluvialis*）合成虾青素的技术最为成功。雨生红球藻天然可以进行虾青素的胞内合成和积累（最高可达细胞生物质干重的6%）^[18-20]，且其合成的天然虾青素（左旋3S、3'S构象），具有比人工合成虾青素更高的生物活性^[21]。近几年，雨生红球藻产业发展势头十分迅猛，预计到2024年全球市场产值将达到3.5亿美元，中国市场产值达到2.3亿美元；目前国内天然虾青素生产企业集中分布于云南省，在健康产业蓬勃发展的大背景下表现出良好的发展态势。“拆盲盒”式的开发策略主要以对微藻生物资源的挖掘为基础，其产品类型上也仅限于微藻的天然代谢产物，无论是产物合成能力还是胞内积累容量都受到微藻天然代谢模式的约束，提升空间有限。同时，所挖掘到的天然微藻资源，在培养、采收、

产物提取等环节上都存在各种不确定性,同时也在一定程度上限制了技术成功放大应用的潜力。

1.2 “挤海绵”——激活微藻代谢合成潜力

对天然微藻种质资源的开发,除了大规模新种质筛选以挖掘藻株和产品外,柔性的环境(物理、化学、生物)条件诱导“激活”也是重要的手段。通过特殊的培养条件和策略“激活”微藻沉默代谢途径和功能模块,结合组学分析技术,探究胞内代谢物的变化,实现环境响应型高附加化合物积累的模式,被称为“挤海绵”。相比简单的“拆盲盒”模式,该模式将有效拓展对微藻代谢网络的认识和利用。目前广泛应用的“挤海绵”策略包括逆境胁迫、化学调节剂添加以及共培养等手段。调节培养基成分和培养条件,以优化微藻和其他微生物细胞中特定代谢产物含量,已成为广泛应用的生物工程技术。例如, Yang等^[22]在2015年报道称,小球藻(*Chlorella minutissima* UTEX 2341)的培养体系中在添加镉离子和铜离子后,细胞油脂含量分别显著提高了21.07%和93.90%。近年来,在常规培养组分和条件之外,进一步引入具有特殊生理和代谢活性的代谢调节剂,成为调控微藻代谢合成的新策略,其中植物激素类物质的使用已表现出可观的潜力。2020年, Chen等^[23]发现,在绿球藻(*Chromochloris zofingiensis*)培养体系中添加多种植物激素类物质进行筛选后,发现吡啶丙酸(10 mg/L)可以有效刺激其虾青素与脂类的共合成,总脂占细胞干重的含量比例达到64.5%,合成速率达到445.7 mg/(L·d),与此同时虾青素在细胞干重中的积累量也达到13.1 mg/g,比对照菌株提高48.9%,为该藻株中已报道的最高水平。天然微藻藻株中,虾青素的合成是作为抵抗高温、高光等逆境胁迫因素的防御机制而存在的,植物激素类物质的加入可以直接或间接(激活第二信使等)对其调控和代谢途径进行扰动,从而促进虾青素的积累。

蓝藻中相容性物质的合成和积累是另一个典型的逆境胁迫激发特定产物合成的例子^[24]。针对特定蓝藻藻株,通过调节其培养基中的盐浓度,即可引发胞内特定类型相容性物质的积累。而蓝

藻相容性物质已被证明具有广泛的用途,例如:海藻糖和甘油葡糖苷可作为食品和化妆品添加剂,具有保湿、抗氧化等功效,可作为商业蛋白稳定剂等^[25-27];甜菜碱具有保湿、清洁、促进代谢、抗肿瘤、降血压、抗消化性溃疡等作用,在人类营养、动物饲料、农业、医药和化妆行业具有广阔的开发空间^[28-29]。近期,中国科学院青岛生物能源与过程研究所科研团队利用螺旋藻这一特点开发了螺旋藻制备甘油葡糖苷技术,并在国际上率先实现螺旋藻合成甘油葡糖苷技术的产业化应用和产品商业化销售。

在物理和化学扰动之外,在生物学层面应用共培养策略同样可以对微藻光驱固碳合成过程产生显著调节效果,利用菌-藻/藻-藻之间的共生关系来提高微藻生物物质和高附加价值化合物的生产正在引起关注^[30]。例如, Wu等^[31-32]将莱茵衣藻与慢生型大豆根瘤菌(*Bradyrhizobium japonicum*)或圆褐固氮菌(*Azotobacter chroococcum*)进行混合培养生产氢气,氢气产率分别达到0.42 μmol/h和0.36 μmol/h,已达到莱茵衣藻产氢速率的17倍。2021年, Ouyang等^[33]研究发现,纤细裸藻(*Euglena. gracilis*)与需钠弧菌(*Vibrio natriegens*)的共培养能够显著提高纤细裸藻的干重(15%)、叶绿素(23.75%)和淀粉含量(12%)。另外,在共培养策略中,一些异养菌可以通过改变光合微生物生长环境中的营养物质或小分子成分来间接影响光合微生物的基因表达^[34]。例如,蓝藻进行光合作用容易产生活性氧,其在培养基中大量积累会抑制蓝藻的生长。Li等^[35]在研究聚球藻(*Synechococcus elongates* PCC 7942,下文简称PCC 7942)和黏红酵母(*Rhodotorula glutinis*)组成的人工混菌体系时,发现*R. glutinis*的存在可有效清除体系内的活性氧物质从而解除蓝藻的生长抑制。

1.3 “动刀子”——重塑微藻细胞代谢网络

随着合成生物学工具的开发和应用,通过代谢途径人工设计重构和微藻天然代谢网络修饰,将光合碳流重定向至天然或非天然代谢产物的微藻光驱固碳合成技术开发模式引起越来越多的关

注，这种基于人工设计和理性改造的开发模式可称为“动刀子”。该模式主要是通过对微藻的遗传背景和代谢网络进行分析，进而根据目标产物合成途径构建需求，引入外源基因并对内源途径进行修饰和改造，很明显该模式具有靶向性强、拓展性好的特点。“动刀子”开发模式在原核蓝藻和真核微藻中都取得了巨大的进展。原核蓝藻是地球上最早出现的能够进行放氧型光合作用的微生物^[36]，与真核微藻相比，其具有结构简单、生长快速、易于进行遗传操作的优势^[37-38]。因此，合成生物学和代谢工程技术的发展应用首先在蓝藻遗传改造中取得显著成效^[39]。1999年，Deng和Coleman等^[40]首次报道，在PCC 7942中利用*rbcL*启动子控制来源于*Zymomonas mobilis*的丙酮酸脱羧酶和醇脱氢酶II，成功实现了乙醇合成，乙醇产量约为5 mmol/L (0.23 g/L)，为首次报道的人工设计构建合成非天然代谢产物的微藻光合细胞工厂。以此为基础，在此后20年间，蓝藻光驱固碳合成乙醇技术又取得了长足的发展，通过系统的酶工程、代谢工程、底盘工程、过程工程优化，现阶段蓝藻细胞工厂的乙醇产量已达到5~10 g/L的水平，合成速率也达到200~300 mg/(L·d)的水平，表现出一定的工程应用潜力^[41]。美国藻醇Algenol生物燃料技术公司曾经针对蓝藻光驱固碳合成乙醇技术的发展和工程应用展开了全面系统的研究，通过筛选具有良好逆境适应能力（高光、高碳、过氧化等）的新型蓝藻底盘，进而对乙醇合成途径进行过量表达，获得了可以利用海水和工业废气进行培养并稳定生产乙醇的产醇藻株，并进行了3000组反应器规模的工程应用示范，该技术还于2015年获得美国总统绿色化学奖。而整体经济成本测算显示，如果能够将产醇之后剩余蓝藻生物质进行精炼制备生物柴油等其他产品，该技术在整体成本上已经具备初步经济可行性。当然，随着石油价格近年持续走低，该技术的规模化应用尚未取得实质性推动，Algenol公司的发展重点也逐渐转向高值藻类营养品的开发。除乙醇外，应用合成生物学和代谢工程技术，蓝藻光合细胞工厂合成糖、酸、脂、烃、醛、酮和芳香族化合物等数十种重要产品的技术路线也已打通。例如，2016年，Gao等^[42]通过改造磷酸甲基赤藓

糖醇代谢途径，使得工程菌株将约40%的光合固定碳定向到异戊二烯生物合成途径，异戊二烯产量达到1.26 g/L。2020年，Qiao等^[25]通过引入来自鱼腥藻的海藻糖合成途径与沉睡摇蚊来源的海藻糖转运蛋白TRET1，成功构建直接固定CO₂，高效合成和分泌海藻糖的聚球藻细胞工厂，胞外海藻糖产量可达5.7 g/L。

“动刀子”模式除了能够实现非天然产物的光驱固碳合成外，还能够通过微藻代谢网络的调控，实现天然类代谢产物的高产和品控。1996年，美国国家可再生能源实验室首次通过控制脂质积累的关键酶（乙酰辅酶A羧化酶）基因的高效表达，提高小环藻的脂质含量，为高油脂藻种培育开辟了一条新技术途径^[43]。2014年，Hamilton等^[44]首次报道关于 ω -3长链多不饱和脂肪酸合成的转基因藻株，在三角褐指藻中通过异源表达酰基辅酶A依赖型 Δ 6-去饱和酶和 Δ 5-延长酶增加二十二碳六烯酸（DHA）的含量。2017年，Xin等^[45]探究了微拟球藻中一系列内源II型二酰甘油酰基转移酶（DGAT2）的分工与合作机制，通过人为控制DGAT2A、DGAT2D与DGAT2C三者间转录本的相对丰度，实现了藻油中饱和脂肪酸、单不饱和脂肪酸与多不饱和脂肪酸比重的理性设计，从而生产出了饱和度“定制化”的藻油，将微藻细胞工厂推入“藻油品质定制化”时代。2021年，Jeon等^[46]在微拟球藻中通过过量表达内源性NADP-依赖型苹果酸酶NsME1提高油脂和脂肪酸甲酯产量，使其产量比对照菌株分别提高38%和47%。通过遗传操作进行靶向性代谢调控和重塑，可以实现对光合碳流的理性重定向，有效增加分配给目标产物合成的代谢流；但需要注意的是，该技术模式目前更多应用于遗传操作体系完善、代谢和生理背景清楚的模式藻株中，而模式藻株因为生长速度、固碳效率、胁迫耐受性等工程性状的不足，在工程放大过程中往往会遇到困难和瓶颈。在未来，这一问题有望通过两种策略的应用得到解决：①挖掘鉴定具有良好工业应用属性（生长速度快、固碳效率高、高温高光耐受能力强、采收性能好）的非常规微藻藻株，进行底盘化开发，系统解析其遗传、代谢和生理背景，开发并完善其遗传操作体系，在此基础上开发新一

代光合细胞工厂；②针对各种工业应用场景，系统挖掘、优化、设计通用型功能元件和模块，并应用于对已有基于模式底盘的微藻光合细胞工厂的改造，针对性地提升其工业过程的适配性，推动技术放大应用。

研究人员在利用“拆盲盒”“挤海绵”和“动刀子”单种模式开发和挖掘高附加价值化学品方面做了深入研究。前期研究人员系统总结了蓝藻固碳合成生物燃料和化学品产量（0.6 mg/L~5 g/L），大部分产量低于异源模式微生物如大肠杆菌和酿酒酵母^[39,47]，产量相对较高的乙醇，有大规模培养的应用潜力，但大规模培养过程中关于不同来源CO₂、不同环境对微藻生长和代谢的影响，需要在未来研究中继续探索。另外，未来可以通过选取抗逆和速生菌株，利用两种或多种模式互补的策略优化异源合成途径与底盘适配性，进一步提高藻株底盘性能和产力。例如，将基因工程改造菌株进行胁迫条件培养优化，提高目标化合物产量。2019年，Liu等^[48]在集胞藻（*Synechocystis* sp. PCC 6803，下文简称PCC 6803）中表达雨生红球藻来源的β-胡萝卜素酮酶基因**bkt**和类胡萝卜素羟化酶基因**crtR-B**，实现异源合成虾青素，产量达1.12 mg/g±0.01 mg/g，并且通过缺氮胁迫培养优化，虾青素产量提高达到4.81 mg/g±0.06 mg/g。在未来研究中，将3种策略进行组合，发挥协同作用，有望在新型化合物的合成及产量优化过程中发挥重要作用。

2 微藻光驱固碳合成过程的新颖应用场景拓展

现代生物技术的发展驱动着微藻光合代谢网络的深度重塑，也有效扩展了基于微藻光驱固碳合成过程的技术应用场景。通过与界面技术、材料技术和电化学技术等手段的交叉融合，微藻光驱固碳合成在进行生物基产品合成之外，也在生物医学、生物光伏以及航天和生命维持等领域表现出巨大的应用潜力。

2.1 微藻光合放氧的生物医学应用

乏氧是多数肿瘤的特征，其具有促进血管

形成、肿瘤扩散、维持肿瘤微环境及引起耐药性等特点^[49]。光动力治疗（photodynamic therapy, PDT）是肿瘤治疗的潜在手段之一，其通过光敏剂和特定波长的激发光催化O₂生成细胞毒性活性氧（reactive oxygen species, ROS）来抑制肿瘤扩散^[50]，因具有选择性好、毒性低、创伤和抵抗力小等特点而备受关注^[51]。然而，它的作用受到乏氧的限制，反过来又因消耗O₂而加剧乏氧。因此，围绕如何增加光动力治疗过程中的氧补充这一问题，研究者们开发了各种策略，包括直接递送O₂进入肿瘤、酶催化产氧及响应型材料原位产氧递送等^[52]。然而，上述缓解乏氧的策略仍面临氧补充不足、原位产氧的化学反应复杂/不可控和潜在的生物安全性问题等挑战，阻碍了相关技术进一步的临床转化。

微藻作为一类光合放氧的微生物，可以利用水作为电子供体将CO₂还原为有机物，并不断释放氧气。受此启发，近年来已经成功开发了微藻与不同光敏剂结合构建的递送系统，可极大改善病灶部位乏氧环境，在增强PDT治疗、抑制肿瘤耐药性等领域具有良好的应用前景^[53-60]。2020年，Huo等^[54]构建了一种光敏剂二氢卟吩e6（Ce6）与PCC 7942的杂化功能系统（CeCyan），可用于在光激发条件下通过光合放氧来增强靶向肿瘤的PDT治疗。蓝藻只能吸收420~660 nm范围内的波长进行光合作用，而光敏剂Ce6可以在660 nm下激活，因此，这一光敏细菌能够实现在单一光源激发下（660 nm）的光合作用及光敏剂活化，使得敏化后的Ce6能够迅速与分子氧发生三线态湮灭生成单线态氧物种（¹O₂），为克服II型光敏剂的氧依赖提供一种基于生物放氧的增效方案[图2(a)]。另外，Sun等^[55]将聚球藻*S. elongatus* UTEX 2973与可控光敏剂吡咯菁绿（indocyanine green, ICG）结合制成可注射型水凝胶以缓解乏氧效应。使用640 nm和808 nm激光照射包装好的水凝胶，蓝藻细胞将通过光合作用持续产生O₂并产生大量的ROS，其在体外和体内均表现出有效的肿瘤生长抑制效应。2021年，Wang等^[61]利用海藻酸钙凝胶包裹小球藻形成“Chlorella-Gel”，进而将其与全氟化碳（perfluorocarbon, PFC）荷载光敏剂Ce6的纳米粒（PFC-NPs）构成增氧给药系统。采用原位注射方式将Chlorella-Gel递送到小鼠肿瘤部位，

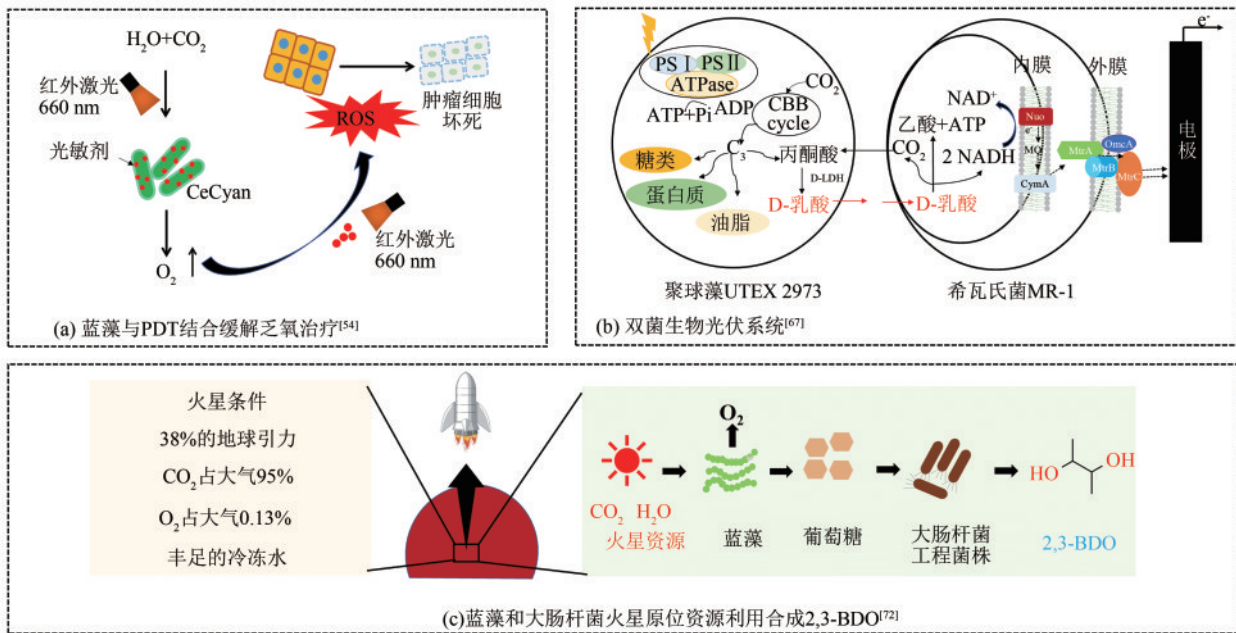


图2 微藻光驱固碳合成过程新颖应用场景

Fig. 2 Schematic illustration of new application scenarios of microalgae with desired photosynthesis and biosynthesis properties [(a) The oxygenic photosynthesis and PDT process using CeCyan cells. These photosensitive CeCyan cells serve as the Ce6 carrier, delivering the photosensitizers to the tumor cells for potential photosynthesis-enhanced PDT under laser irradiation^[54]; (b) The engineered strain UTEX 2973, equipped with the photosynthetic machinery and a D-lactate synthesis pathway. The engineered strain *S. oneidensis*, equipped with a D-lactate oxidation pathway and the extracellular electron transport machinery, releases electrons from D-lactate and transfers them to the anode for electricity production^[67]; (c) The bioproduction of a Mars-specific rocket propellant, 2,3-BDO, from CO₂, sunlight and water on Mars. Photosynthetic cyanobacteria convert Martian CO₂ into sugars that are upgraded by engineered *Escherichia coli* into 2,3-BDO^[72].]

PS I—photosystem I; PS II—photosystem II; ATPase—adenosine triphosphate synthases; CBB cycle—Calvin-Benson-Bassham cycle

再将PFC-NPs静脉注射到小鼠体内，小球藻经激光照射后进行光合作用产生的氧气被PFC吸收，PFC作为储氧罐将氧气存储起来，供给光敏剂转化为单线态氧，起到了高效的肿瘤细胞杀伤效果。目前，微藻递送系统在临床应用中仍然存在诸多挑战，如光敏剂不良反应、光源波长穿透能力、微藻存活时间和生物安全性等问题，但微藻递送系统为改善乏氧PDT治疗开辟了一条全新的思路，随着纳米医学、合成生物学和光学学科等交叉学科的发展与融合，这些问题有望逐步得以解决。

微藻光合放氧除了应用于肿瘤治疗外，在心血管疾病治疗、大脑供氧强化和抗类风湿关节炎等领域也能起到作用。2017年，研究人员将聚球藻注射到活的大鼠的缺血性心肌中，当进行光照时，蓝藻产生氧气，起到了保护心肌代谢、增强心输出量的效果^[62]。但是，蓝藻在组织中只能短暂存活，大多数注射的细胞在24 h后从组织中清除。因此，在急性心肌梗死后血运重建需要暂

时供养的情况下，这种治疗才具有一定应用潜力。2021年，Özugur等^[63]将绿藻（衣藻属）或PCC 6803注入蝌蚪的心脏，随着心跳，微藻细胞缓慢地穿过血管，最终到达大脑。通过监测头部神经活动和氧气水平，发现在光照条件下所输入的微藻细胞可以持续稳定产生O₂。在严重缺氧环境，当神经元活动完全停止时，光合作用产O₂可以激发神经元活动的重新启动。上述两个应用均为直接注射蓝藻，在进行光照时，存在不同波长对于皮肤穿透性不同的局限性，有研究者针对这一局限性，将蓝藻与可控光敏剂结合，构建近红外光响应时空可控的蓝藻递送系统，可吸收808 nm近红外光并转化为蓝藻可吸收的蓝光，能够深层穿透组织，保证了光合产氧量，抑制缺氧诱导因子-1α表达，增加抗炎巨噬细胞数量，与甲氨蝶呤协同抗炎，表现出良好的抗类风湿PDT治疗效果^[57]。除了这种“天然”光合作用最终产物O₂，蓝藻暗反应过程中合成的糖类物质，也可以供给宿主，成为第

2类有益的副产品。另外,在不久的未来,通过合成生物学策略,改造蓝藻合成各种可释放的物质,例如可合成促进血管内皮生长因子VEGF生成的物质,有望在增强血管通透性等方面发挥功能。脊椎动物和光合微藻嵌合体的产生将促进一些光合产氧代谢基本原理的揭示,但更重要的是,其也为生物医疗领域的开辟了新的创新思路和发展模式。

2.2 基于微藻光驱固碳合成的新型生物光伏开发策略

发展和利用可再生能源是人类社会实现可持续发展的必由之路。作为地球上最丰富的可再生能源,太阳能利用的基础和应用研究具有重大的科学和现实意义。光伏(photovoltaics, PV)发电是利用半导体界面的光生伏特效应而将光能直接转变为电能的一种技术,是太阳能利用领域不可忽视的重要方向。但是部分光伏材料含有毒元素,废弃太阳能电池板总量大且难以回收等问题引发了人们对环境的担忧^[64]。近几年,利用光合微藻产生物电的生物光伏(biophotovoltaic, BPV)技术^[65],因其具有碳中性、良好的环境相容性和潜在低成本等特点而引起关注^[66]。BPV过程可以分为产电和放电两个阶段。在产电阶段,太阳光子首先被光系统吸收并产生激发电子储存在高能中间体或由碳固定合成的有机化合物中,然后将捕获的电子从细胞内部输出到外部电路,从而产生电流,即放电阶段^[66]。传统的BPV系统主要将光合细胞固定在阳极上,直接用于细胞外电子传递,输出功率较低,比半导体光伏技术低3个数量级以上。其主要原因是微藻细胞虽然具有很高的捕光能力,但胞内产电和胞外电子传递能力极弱^[67]。

围绕以上问题,近几年不同研究者从混合产电微生物菌群,微藻胞内电子合成强化和胞外电子传递强化等方面展开研究。

(1) 构建双菌生物光伏系统 2019年,Zhu等^[68]通过产D-乳酸的工程蓝藻与高效利用D-乳酸产电的希瓦氏菌混养,搭建了具有可以进行定向电子流生成的合成微生物组。在上述双菌系统中,蓝藻吸收光能并固定CO₂来合成能量载体D-乳酸,希瓦氏菌则氧化D-乳酸产电,由此形成一条从光子到D-乳酸再到电能的定向电子流,完成从光能

到化学能再到电能的能量转化过程。通过在遗传、环境和装置层面的设计、改造和优化,双菌生物光伏系统实现了高效、稳定的功率输出,其最大功率密度达到150 mW/m²。采用连续流加培养方式,该双菌生物光伏系统可稳定实现长达40 d以上的功率输出,且平均功率密度达到135 mW/m²的较高水平[图2(b)]。

(2) 胞内电子合成强化 2021年,Firoozabadi等^[69]搭建并且优化了由PCC 6803喂养的BPV装置,通过通量平衡分析(flux balance analysis, FBA)寻找PCC 6803提高产电量的关键步骤,进一步预测关键反应的调节化合物。结果表明,在PCC 6803的BG-11悬浮液中添加调节化合物NH₄Cl,使最大功率密度达到148.27 mW/m²,是未添加对照组的40.5倍以上。

(3) 胞外电子传递强化 细胞色素蛋白是电子跨越绝缘细胞膜的高速通道,连接了胞内电子生成系统与胞外电子传递系统,同时也是直接电子传递和间接电子传递两种电子传递机制的交汇点^[70]。2016年,Sekar等^[71]将*Geobacter*的外膜色素蛋白OmcS引入PCC 7942,外膜色素蛋白的引入显著提升了PCC 7942的胞外电子传递速率,使得BPV的电子生成能力提升了9倍。

未来可以进一步利用合成生物学策略优化蓝藻及其他微藻的胞内代谢提高产电能力;进一步设计、优化微藻的细胞色素蛋白系统,使得电子流更多流向与电极相关联的色素蛋白;优化电解质的电子传递效率,通过改善微藻外周的电化性能改变电子在外部环境的传递速率,提升微生物燃料电池的功率输出。

2.3 微藻光驱固碳合成在航天和生命维持系统中的应用

在航空航天和生命维持领域,基于微藻放氧型光合作用开发并应用生命维持系统,有着长期的研究历史。理论上,微藻可以固定空间工作人员呼出的CO₂并供应其呼吸所需氧气;在美国宇航局(NASA)和欧空局的相关报告和展望中,都强调了未来空间技术乃至行星探测过程中,微藻将起到不可替代的作用。近期,利用微藻在空间航行和地外行星探索过程中合成供给航空燃料,成

为一种新的微藻航天应用场景。NASA“毅力号”、我国的“祝融号”等火星探测器已经成功登陆火星并能执行各种预定任务，在此基础上进一步实现由火星返回地球甚至未来以火星为基地进一步进行外太空探索的过程中，如何有效地生产和供应航天燃料将成为新的课题。

从地球发射离开火星的火箭发动机目前以甲烷和液氧(LOX)为燃料。但是，火星上并不存在这两种物质，这意味着首先需要从地球运来这些燃料，然后再为返回航天器提供动力进入火星轨道。考虑到火星和地球之间的引力和大气差异，为回程运送LOX从技术和经济上都是难度极大甚至不可行的。因此，研究人员提出利用CO₂、水和阳光，通过生物技术支持的原位资源利用(Bio-ISRU)在火星上合成火箭推进剂——2,3-丁二醇(2,3-butanediol, 2,3-BDO)[图2(c)]^[72]。蓝藻将火星CO₂转化为糖类，这些糖类通过工程改造的大肠杆菌转化成2,3-BDO。Bio-ISRU合成2,3-BDO与传统的化学催化合成2,3-BDO策略相比，能量降低32%，需要有效载荷质量高2.8倍，并产生44 t的氧气用于殖民。通过模型指导对生物和材料优化后，使Bio-ISRU耗能降低59%，有效载荷质量降低13%，同时还能产生20 t多余氧气。上述研究为推动行星际空间的旅行做出了开创性的积极探索，在未来可以进一步探究火星环境对蓝藻及大肠杆菌等生理代谢的影响，并通过合成生物学等策略优化目标产物产量。

3 微藻合成生物技术发展的新方向展望

如上所述，随着合成生物学等现代生物技术和生物工程的快速发展，微藻光驱固碳代谢网络和技术应用范围都得到极大拓展^[5, 10]。而随之产生的问题是，微藻的遗传、生理和代谢特性与全新的场景和过程中往往并不适配，通常需要针对工程放大和靶向应用过程中特定的工艺和环境进行设计、改造和优化。

3.1 微藻合成生物学工具箱的开发和优化

高效的合成生物学工具和策略，在微生物异源合成高附加值化合物技术的开发中具有无法

替代的重要性。但是大多数微藻中合成生物学工具箱的开发仍明显滞后于异养模式菌株，对目标蛋白、途径和功能模块丰度的动态靶向调控能力存在很多欠缺。因此，微藻中合成生物学工具箱的发展完善对微藻光驱固碳合成技术发展有着重要的推动意义。目前，在各种生物体系中蓬勃发展应用的CRISPR相关技术，在微藻中通常都有着良好的应用效果，各类微藻菌株中已经建立了一系列基因编辑CRISPR(基于规律成簇的间隔短回文重复)系统^[73-77]。例如，2020年，Choi等^[76]在蓝藻中开发了一种dCas12a介导的CRISPR干扰系统(CRISPRi-dCas12a)，通过CRISPR-RNA(crRNA)和19nt同向重复序列有效阻断了转录起始，导致53%~94%的基因抑制。在不降低抑制强度的情况下，也成功实现了对单个crRNA阵列中多个基因的抑制[图3(a)]。此外，2021年，本实验室的Zhang等^[78]在PCC 7942中开发了蛋白可控降解系统，在PCC 7942里用茶碱依赖型表达系统表达大肠杆菌来源的ClpXP_{Ec}蛋白降解酶和SspB辅助蛋白，并将ssrA_{DAS}蛋白降解标签与GFP融合表达，实现了对含有ssrA_{DAS}标签的目标蛋白GFP的有效降解，该系统是蓝藻最早报道的翻译后水平的调控工具之一，具有响应快、调控范围广和调控效果好的优点，并在此基础上进一步构建了OR Gate遗传回路，实现了对胞内GlgC表达和糖原积累的调控。在未来研究中，可以进一步评估在其他物种中建立的多种合成生物学工具，并将其应用于微藻中。

3.2 开发高效光合平台

选择优良底盘性能的微藻对光驱固碳合成技术的工程化应用具有重要作用。而目前广泛采用的策略包括：

(1) 自然界中分离和筛选具有速生和抗逆特性的候选藻株^[79]。最近，有两株新分离的聚球藻，第1个是聚球藻PCC 11801，具有天然转化能力，生长速度快，耐高光、高温、CO₂和海盐浓度的特性^[80-81]。第2个是新发现的海洋蓝藻聚球藻PCC 11901，具有自然转化、2 h倍增时间、在高光和高盐下生长的特性，每升累积的干细胞重约为

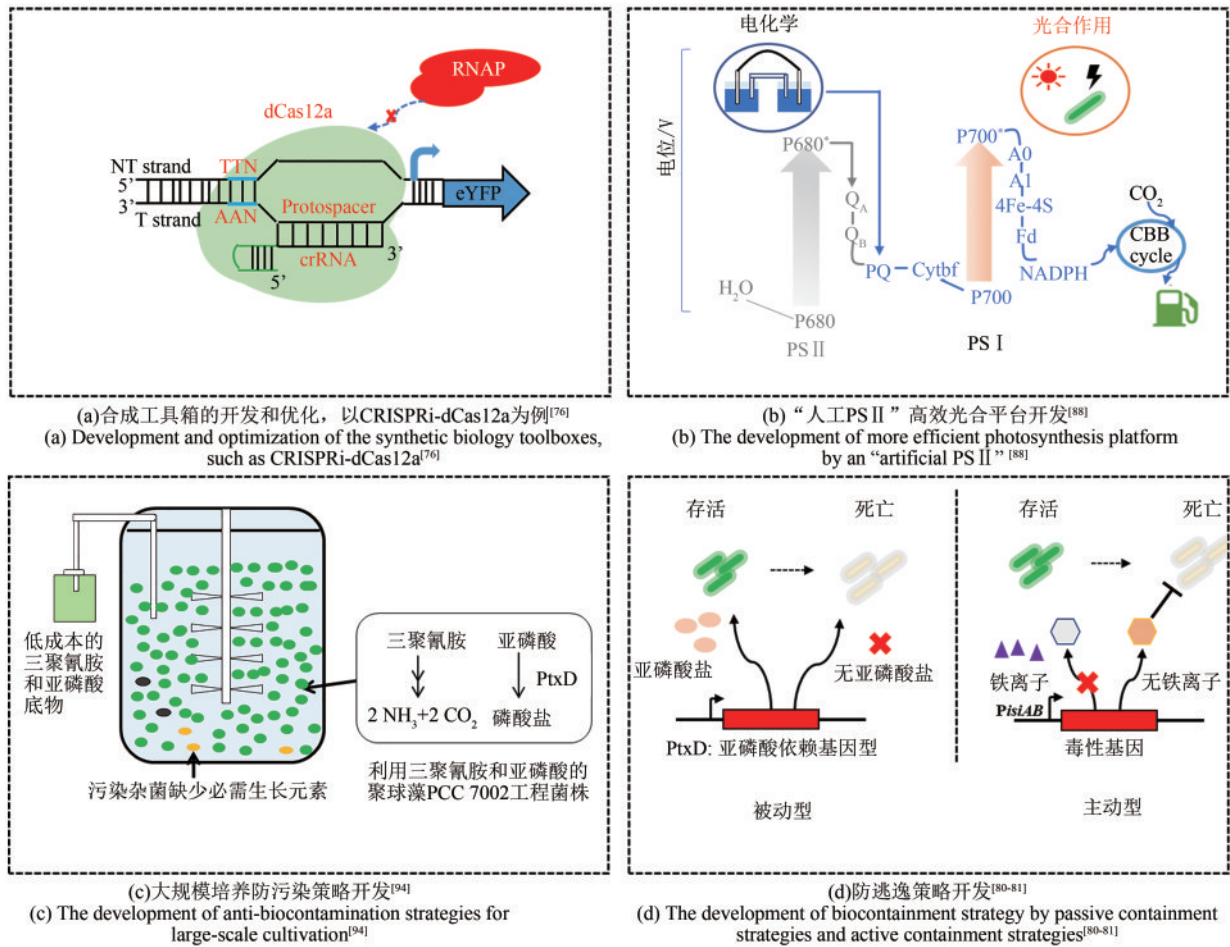


图3 开发新应用场景和规模化培养中面临问题的策略

Fig. 3 Strategies for solving emerging problems rising from new application scenarios and larger application scales

PQ—plastoquinone; Cytbf—cytochrome b_6f complex; A_0 —special chlorophyll; A_1 —vitamin K; 4Fe-4S—iron-sulfur centers; Fd—ferredoxin

33 g^[82]。最近，从盐碱湖中分离出的耐盐固氮菌株念珠藻 *Desmonostoc*，比模式菌株念珠藻 PCC 7120 生长速度快 2 倍^[83]。

(2) 选取基因型稳定的宿主。在大规模长期培养过程中，菌株基因组稳定性问题非常重要。在未来研究中，首先可以通过降低宿主自发突变率、删除冗余基因，构建最小基因组等策略提高宿主基因组稳定性。其次，将产物合成途径与宿主代谢网络高度结合，使得合成的产物有利于菌株的生长。合成产物工程菌株，对细胞生长产生一定的负担，通过基因编辑等手段降低产物对细胞生长的影响，将有利于降低工程菌株回复突变^[84]。

(3) 发展新型合成生物学工具和策略，拓宽微藻对太阳光的捕集波段、提高其对太阳光的捕集效率和光能的传递效率，相关内容已有综述论

文进行了详细介绍^[79, 85-87]，本文不做详细展开。

针对自然光合效率低的问题，2021 年，美国国家可再生能源实验室的研究人员，在 PCC 6803 构建“人工 PS II”，从外部直接向光合作用电子转移链 (photosynthetic electron transfer chain, PETC) 供电，再利用蓝藻光系统 I 驱动 CO_2 高效还原^[88]。这种结构的阴极在电化学上与缺乏光系统 II 活性且不能独立进行光合作用的蓝藻细胞结合 [图 3(b)]。通过光系统 I，阴极照明将电子从外部电路传输到细胞内的 PETC，最终推动蓝藻将 CO_2 转化为 CO_2 还原性产物。目前已经实现了乙烯的光电生产，估算其第 8 天时乙烯效价可达 0.365 mmol/(L·OD₇₃₀)，平均外源电子利用率为 74.9%。这种新的光合作用概念，相比于自然光合作用，有望提高生产光驱固碳合成燃料化学品能力的理论上限，这无疑对

于光合生物制造平台具有重要意义。这种基于技术交叉应用, 跨越式提升微藻底盘能量利用效率的策略在未来将起到更重要的作用。

3.3 规模化培养过程中防污染策略开发

严苛的工业过程和环境条件是实现微藻光驱固碳技术规模化、稳定化应用的严重挑战。要在户外大规模条件实现高效、稳定的微藻光驱固碳过程, 需多维度和多视角地改造微藻藻株, 使其适应多样性逆境条件。前期有相关综述系统总结了优化光合微藻在逆境胁迫下的工作稳定性, 开发能够适应规模化应用需求的抗逆型微藻藻株和工程藻株以及优化藻株的大规模收集性能和裂解提取工艺等^[85]。虽然以螺旋藻为代表的一些微藻能够在户外高盐、高碱的严苛培养基中稳定生长, 对周边环境微生物的入侵有较好的抵抗能力^[89], 但是生物污染仍然是大规模生产大多数微藻的关键挑战之一^[90-91]。通过灭菌或添加抗生素能够一定程度上降低微藻培养的染菌率, 但无疑将极大增加生产成本和抗生素滥用、污染的风险^[92]。近几年, 研究人员提出利用低成本的异型生物质(如三聚氰胺)作为大量营养素, 结合对培养藻类代谢能力的改造, 可以在不添加抗生素情况下就对工程藻株进行选择压力筛选。2019年, Selão等^[93]将三聚氰胺降解途径引入到聚球藻(*Synechococcus* sp. PCC 7002)中, 利用实验室适应性进化技术提高工程菌对三聚氰胺的利用率, 同时表达亚磷酸脱氢酶(PtxD: 将亚磷酸转化为磷酸盐)使得聚球藻PCC 7002具有在亚磷酸盐上生长的能力。由于环境中大多数微生物不具备利用三聚氰胺和亚磷酸盐的能力, 以此可对此两类非常规营养物质的利用能力作为一个选择标签用于突变株的筛选[图3(c)]。在未来研究中, 需进一步利用合成生物学拓展底物的利用范围, 在节约成本的同时降低杂菌的污染。

3.4 开发高效的防逃逸技术提高人工遗传改造生命体的可控性

尽管合成生物学的发展应用计划彻底变革了微藻光驱固碳合成技术的发展模式, 展现出令

人兴奋的应用前景, 但转基因藻株意外释放到环境中的风险无疑也引发了严重的生物安全担忧^[94]。例如, 许多蓝藻具有自然转化的能力, 当转基因蓝藻释放到自然界中, 可能会通过基因水平转移的方式将重组基因在自然群体间传播^[95-96]。因此, 需要开发高效的防逃逸技术提高人工遗传改造生命的可控性。目前, 防逃逸策略主要有被动和主动控制两种[图3(d)]^[92,97]。2018年, Motomura等^[98]基于营养缺陷被动型防逃逸策略, 使PCC 7942的生长和生存依赖于亚磷酸盐(H_3PO_3), 降低了其在自然界的生存能力。2019年, Zhou等^[99]在PCC 7942和*S. elongatus* UTEX 2973中开发了铁离子诱导毒性蛋白表达的主动控制系统, 逃逸测试结果表明, 经过3 d的处理细胞的逃逸率低于检测监测最低限 10^{-9} 。另外, 遗传法则的正交化也是一种可行、高效的防逃逸策略。其主要通过利用人造的编码单元和编码原理(包括非天然核苷酸、非天然氨基酸以及正交化的DNA复制、转录与翻译过程)实现遗传中心法则的正交化, 构建正交化的人工生命体, 其必须完全依靠实验室或者人工制造环境中的特殊营养供给才能维持活性, 一旦进入自然环境则无法繁衍增殖^[100]。该策略为开发微藻防逃逸技术提供了一种潜在的方向。

4 总结

在全面推动“碳达峰、碳中和”任务实施的大背景下, 开发高效、低成本绿色环保的新技术具有重要的战略意义。微藻光驱固碳合成技术因其具有利用太阳能直接将二氧化碳转化为重要生物基产品的优势而得到广泛关注。得益于合成生物技术的蓬勃发展, 对微藻天然光合代谢网络重塑的深度和广度都在不断加强, 越来越多的生物燃料和生物基化学品的微藻光驱固碳合成路线都已成功打通。微藻种质资源的大规模挖掘和高通量分选、微藻遗传和代谢机制的系统解析与动态模拟以及蓬勃发展的合成生物技术, 正在全面重塑微藻在生物技术和生物工程领域的发展模式和应用场景。本文将微藻光驱固碳合成技术开发总结为“拆盲盒”“挤海绵”和“动刀子”3种基本模式, 并对其研究

进展、重要突破和代表性应用示范进行了介绍。在可见的未来,针对持续增长的微藻种质资源库,在全面的“扫描性”种质评价和基因组测序的基础上,结合环境扰动与人工改造的多维手段,充分激发微藻光合代谢潜力,深度拓展微藻固碳合成网络,必将极大加强对微藻光合碳流的人工设计和驾驭能力。在代谢与合成之外,合成生物学技术手段还使得改变微藻细胞生理和代谢行为的时空限定成为可能,有望实现特定时间、特定环境、特定信号响应性的微藻放氧、固碳、产电等设定活动,从而推动微藻生物技术与生物医学、生物光伏、航空航天技术等全新场景和技术领域的交叉融合。当然,随着微藻生物技术应用深度和广度的全面拓展,微藻的遗传、生理和代谢特性还需要针对工程放大和靶向应用过程中特定的体系、条件和环境进行适配性的设计、改造和优化。目前,大多数微藻中合成生物学工具箱的开发仍明显滞后于异养模式菌株,加强微藻合成生物学工具箱的开发和优化对微藻光驱固碳合成技术发展有着重要的推动意义。选择优良底盘性能的微藻对扩大化培养具有重要意义,除了筛选速生和抗逆底盘菌、增强菌株稳定性,还可通过合成生物学策略拓宽微藻对太阳光的捕集波段、提高其对太阳光的捕集效率和光能的传递效率等。扩大化培养过程中,生物污染仍然是大规模生产大多数微藻的关键挑战之一,拓展底物利用范围,既可以降低生产成本,也可以抑制杂菌污染。无论是传统的遗传操作还是新兴的代谢工程与基因组工程,其潜在的生物安全风险都需要引起重视并针对性地进行限制策略的开发,而高效的防逃逸技术将提高人工遗传改造生命体的可控性。“双碳”目标引导下社会经济发展模式转型的大背景为微藻生物技术和生物工程发展提供了广阔的平台,而微藻合成生物技术的蓬勃发展无疑正成为该领域的全新发展动力,随着越来越多高效、稳定、安全的人工合成微藻光合细胞工厂的开发应用,微藻光驱固碳合成技术的发展将获得更多的助力,相关产业落地应用也必将不再遥远。

参 考 文 献

- [1] 王永中. 碳达峰、碳中和目标与中国的新能源革命[J]. 人民论坛·学术前沿, 2021(14): 88-96.
WANG Y Z. The targets of carbon peak and carbon neutralization and China's new energy revolution[J]. Frontiers, 2021(14): 88-96.
- [2] LI Y Q, HORSMAN M, WU N, et al. Biofuels from microalgae[J]. Biotechnology Progress, 2008, 24(4): 815-820.
- [3] DISMUKES G C, CARRIERI D, BENNETTE N, et al. Aquatic phototrophs: efficient alternatives to land-based crops for biofuels[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2008, 19(3): 235-240.
- [4] GUPTA R S. Molecular signatures for the main phyla of photosynthetic bacteria and their subgroups[J]. Photosynthesis Research, 2010, 104(2/3): 357-372.
- [5] TORRES-TIJI Y, FIELDS F J, MAYFIELD S P. Microalgae as a future food source[J]. Biotechnology Advances, 2020, 41: 107536.
- [6] KHAN M, SALMAN M, ANSARI J, et al. Joint external evaluation of IHR core capacities of the Islamic Republic of Pakistan, 2016[J]. International Journal of Infectious Diseases, 2018, 73: 36-37.
- [7] GOUVEIA L. Microalgae as a feedstock for biofuels[M]// GOUVEIA L. Microalgae as a Feedstock for Biofuels. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2011: 1-69.
- [8] LEVASSEUR W, PERRÉ P, POZZOBON V. A review of high value-added molecules production by microalgae in light of the classification[J]. Biotechnology Advances, 2020, 41: 107545.
- [9] GROENDAHL S, KAHLERT M, FINK P. The best of both worlds: a combined approach for analyzing microalgal diversity via metabarcoding and morphology-based methods[J]. PLoS One, 2017, 12(2): e0172808.
- [10] FU W Q, NELSON D R, MYSTIKOU A, et al. Advances in microalgal research and engineering development[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2019, 59: 157-164.
- [11] KUMAR M, SUN Y Q, RATHOUR R, et al. Algae as potential feedstock for the production of biofuels and value-added products: opportunities and challenges[J]. Science of the Total Environment, 2020, 716: 137116.
- [12] ZHANG J J, WAN L L, XIA S, et al. Morphological and spectrometric analyses of lipids accumulation in a novel oleaginous microalga, *Eustigmatos* cf. *polyphem* (Eustigmatophyceae)[J]. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2013, 36(8): 1125-1130.
- [13] GAO B Y, XIA S, LEI X Q, et al. Combined effects of different nitrogen sources and levels and light intensities on growth and fatty acid and lipid production of oleaginous eustigmatophycean microalga *Eustigmatos* cf. *polyphem*[J]. Journal of Ap-

- plied Phycology, 2018, 30(1): 215-229.
- [14] XU J, LI T, LI C L, et al. Lipid accumulation and eicosapentaenoic acid distribution in response to nitrogen limitation in microalga *Eustigmatos vischeri* JHsu-01 (Eustigmatophyceae)[J]. Algal Research, 2020, 48: 101910.
- [15] RAPOSO M F, DE MORAIS R M, BERNARDO DE MORAIS A M. Bioactivity and applications of sulphated polysaccharides from marine microalgae[J]. Marine Drugs, 2013, 11(1): 233-252.
- [16] GISSIBL A, SUN A, CARE A, et al. Bioproducts from *Euglena gracilis*: synthesis and applications[J]. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2019, 7: 108.
- [17] SUN A, HASAN M T, HOBBA G, et al. Comparative assessment of the *Euglena gracilis* var. *saccharophila* variant strain as a producer of the β -1, 3-glucan paramylon under varying light conditions[J]. Journal of Phycology, 2018, 54(4): 529-538.
- [18] CHOI S A, JEONG Y, LEE J Y, et al. Biocompatible liquid-type carbon nanodots (C-paints) as light delivery materials for cell growth and astaxanthin induction of *Haematococcus pluvialis*[J]. Materials Science and Engineering: C, 2020, 109: 110500.
- [19] WANG F F, GAO B Y, WU M M, et al. A novel strategy for the hyper-production of astaxanthin from the newly isolated microalga *Haematococcus pluvialis* JNU35[J]. Algal Research, 2019, 39: 101466.
- [20] YANG Z B, CHENG J, LI K, et al. Optimizing gas transfer to improve growth rate of *Haematococcus pluvialis* in a raceway pond with chute and oscillating baffles[J]. Bioresource Technology, 2016, 214: 276-283.
- [21] AMBATI R R, PHANG S M, RAVI S, et al. Astaxanthin: sources, extraction, stability, biological activities and its commercial applications-a review[J]. Marine Drugs, 2014, 12(1): 128-152.
- [22] YANG J S, CAO J, XING G L, et al. Lipid production combined with biosorption and bioaccumulation of cadmium, copper, manganese and zinc by oleaginous microalgae *Chlorella minutissima* UTEX2341[J]. Bioresource Technology, 2015, 175: 537-544.
- [23] CHEN J H, WEI D, LIM P E. Enhanced coproduction of astaxanthin and lipids by the green microalga *Chromochloris zofingiensis*: selected phytohormones as positive stimulators[J]. Bioresource Technology, 2020, 295: 122242.
- [24] HAGEMANN M. Molecular biology of cyanobacterial salt acclimation[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2011, 35(1): 87-123.
- [25] QIAO Y, WANG W H, LU X F. Engineering cyanobacteria as cell factories for direct trehalose production from CO₂[J]. Metabolic Engineering, 2020, 62: 161-171.
- [26] CUI J Y, SUN T, CHEN L, et al. Salt-tolerant *Synechococcus elongatus* UTEX 2973 obtained via engineering of heterologous synthesis of compatible solute glucosylglycerol[J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 650217.
- [27] TAN X M, DU W, LU X F. Photosynthetic and extracellular production of glucosylglycerol by genetically engineered and gel-encapsulated cyanobacteria[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2015, 99(5): 2147-2154.
- [28] LEVER M, SLOW S. The clinical significance of betaine, an osmolyte with a key role in methyl group metabolism[J]. Clinical Biochemistry, 2010, 43(9): 732-744.
- [29] DAY C R, KEMPSON S A. Betaine chemistry, roles, and potential use in liver disease[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects, 2016, 1860(6): 1098-1106.
- [30] RAY A, NAYAK M, GHOSH A. A review on co-culturing of microalgae: a greener strategy towards sustainable biofuels production[J]. Science of the Total Environment, 2022, 802: 149765.
- [31] XU L L, LI D Z, WANG Q X, et al. Improved hydrogen production and biomass through the co-cultivation of *Chlamydomonas reinhardtii* and *Bradyrhizobium japonicum*[J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2016, 41(22): 9276-9283.
- [32] XU L L, CHENG X L, WU S X, et al. Co-cultivation of *Chlamydomonas reinhardtii* with *Azotobacter chroococcum* improved H₂ production[J]. Biotechnology Letters, 2017, 39(5): 731-738.
- [33] OUYANG Y, CHEN S Y, ZHAO L Q, et al. Global metabolomics reveals that *Vibrio natriegens* enhances the growth and paramylon synthesis of *Euglena gracilis*[J]. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2021, 9: 652021.
- [34] 张丽, 宋馨宇, 陈磊, 等. 光合微生物混菌体系的应用和研究进展[J]. 生物工程学报, 2020, 36(4): 652-665.
- ZHANG L, SONG X Y, CHEN L, et al. Recent progress in photosynthetic microbial co-culture systems[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2020, 36(4): 652-665.
- [35] LI T T, LI C T, BUTLER K, et al. Mimicking lichens: incorporation of yeast strains together with sucrose-secreting cyanobacteria improves survival, growth, ROS removal, and lipid production in a stable mutualistic co-culture production platform[J]. Biotechnology for Biofuels, 2017, 10: 55.
- [36] STANIER R Y, COHEN-BAZIRE G. Phototrophic prokaryotes: the cyanobacteria[J]. Annual Review of Microbiology, 1977, 31: 225-274.
- [37] SUN T, LI S B, SONG X Y, et al. Toolboxes for cyanobacteria: recent advances and future direction[J]. Biotechnology Advances, 2018, 36(4): 1293-1307.
- [38] SANTOS-MERINO M, SINGH A K, DUCAT D C. New applications of synthetic biology tools for cyanobacterial metabolic engineering[J]. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2019, 7: 33.
- [39] GAO X Y, SUN T, PEI G S, et al. Cyanobacterial chassis engi-

- neering for enhancing production of biofuels and chemicals[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2016, 100(8): 3401-3413.
- [40] DENG M D, COLEMAN J R. Ethanol synthesis by genetic engineering in cyanobacteria[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1999, 65(2): 523-528.
- [41] GAO Z X, ZHAO H, LI Z M, et al. Photosynthetic production of ethanol from carbon dioxide in genetically engineered cyanobacteria[J]. Energy & Environmental Science, 2012, 5(12): 9857-9865.
- [42] GAO X, GAO F, LIU D, et al. Engineering the methylerythritol phosphate pathway in cyanobacteria for photosynthetic isoprene production from CO₂[J]. Energy & Environmental Science, 2016, 9(4): 1400-1411.
- [43] DUNAHAY T G, JARVIS E E, DAIS S S, et al. Manipulation of microalgal lipid production using genetic engineering[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 1996, 57/58(1): 223-231.
- [44] HAMILTON M L, HASLAM R P, NAPIER J A, et al. Metabolic engineering of *Phaeodactylum tricoratum* for the enhanced accumulation of ω-3 long chain polyunsaturated fatty acids[J]. Metabolic Engineering, 2014, 22: 3-9.
- [45] XIN Y, LU Y D, LEE Y Y, et al. Producing designer oils in industrial microalgae by rational modulation of co-evolving type-2 diacylglycerol acyltransferases[J]. Molecular Plant, 2017, 10(12): 1523-1539.
- [46] JEON S, KOH H G, CHO J M, et al. Enhancement of lipid production in *Nannochloropsis salina* by overexpression of endogenous NADP-dependent malic enzyme[J]. Algal Research, 2021, 54: 102218.
- [47] DAVIES F K, WORK V H, BELIAEV A S, et al. Engineering limonene and bisabolene production in wild type and a glyco-gen-deficient mutant of *Synechococcus* sp. PCC 7002[J]. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2014, 2: 21.
- [48] LIU Y M, CUI Y L, CHEN J, et al. Metabolic engineering of *Synechocystis* sp. PCC6803 to produce astaxanthin[J]. Algal Research, 2019, 44: 101679.
- [49] MUZ B, DE LA PUENTE P, AZAB F, et al. The role of hypoxia in cancer progression, angiogenesis, metastasis, and resistance to therapy[J]. Hypoxia, 2015, 3: 83-92.
- [50] DOLMANS D E J G J, FUKUMURA D, JAIN R K. Photodynamic therapy for cancer[J]. Nature Reviews Cancer, 2003, 3(5): 380-387.
- [51] HU T T, WANG Z D, SHEN W C, et al. Recent advances in innovative strategies for enhanced cancer photodynamic therapy[J]. Theranostics, 2021, 11(7): 3278-3300.
- [52] CHEN Q, FENG L Z, LIU J J, et al. Intelligent albumin-MnO₂ nanoparticles as pH-/ H₂O₂-responsive dissociable nanocarriers to modulate tumor hypoxia for effective combination therapy[J]. Advanced Materials, 2016, 28(33): 7129-7136.
- [53] LIU L L, HE H M, LUO Z Y, et al. *In situ* photocatalyzed oxygen generation with photosynthetic bacteria to enable robust immunogenic photodynamic therapy in triple-negative breast cancer[J]. Advanced Functional Materials, 2020, 30(10): 1910176.
- [54] HUO M F, WANG L Y, ZHANG L L, et al. Photosynthetic tumor oxygenation by photosensitizer-containing cyanobacteria for enhanced photodynamic therapy[J]. Angewandte Chemie (International Ed in English), 2020, 59(5): 1906-1913.
- [55] SUN T, ZHANG Y Y, ZHANG C N, et al. Cyanobacteria-based bio-oxygen pump promoting hypoxia-resistant photodynamic therapy[J]. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2020, 8: 237.
- [56] ZHANG Y H, LIU H F, DAI X Y, et al. Cyanobacteria-based near-infrared light-excited self-supplying oxygen system for enhanced photodynamic therapy of hypoxic tumors[J]. Nano Research, 2021, 14(3): 667-673.
- [57] GUO M M, WANG S C, GUO Q L, et al. NIR-responsive spatiotemporally controlled cyanobacteria micro-nanodevice for intensity-modulated chemotherapeutics in rheumatoid arthritis[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2021, 13(16): 18423-18431.
- [58] LEE C, LIM K, KIM S S, et al. Chlorella-gold nanorods hydrogels generating photosynthesis-derived oxygen and mild heat for the treatment of hypoxic breast cancer[J]. Journal of Controlled Release, 2019, 294: 77-90.
- [59] 孙晨凯, 陈鑫, 程皓, 等. 增氧型纳米递送系统用于光动力治疗的研究进展[J]. 中国药科大学学报, 2021, 52(4): 387-397.
- SUN C K, CHEN X, CHENG H, et al. Advances of research on oxygen-enhancing nano-delivery system for photodynamic therapy[J]. Journal of China Pharmaceutical University, 2021, 52(4): 387-397.
- [60] HU H, QIAN X Q, CHEN Y. Microalgae-enabled photosynthetic alleviation of tumor hypoxia for enhanced nanotherapies[J]. Science Bulletin, 2020, 65(22): 1869-1871.
- [61] WANG H R, GUO Y F, WANG C, et al. Light-controlled oxygen production and collection for sustainable photodynamic therapy in tumor hypoxia[J]. Biomaterials, 2021, 269: 120621.
- [62] COHEN J E, GOLDSTONE A B, PAULSEN M J, et al. An innovative biologic system for photon-powered myocardium in the ischemic heart[J]. Science Advances, 2017, 3(6): e1603078.
- [63] ÖZUGUR S, CHÁVEZ M N, SANCHEZ-GONZALEZ R, et al. Green oxygen power plants in the brain rescue neuronal activity[J]. iScience, 2021, 24(10): 103158.
- [64] POLMAN A, KNIGHT M, GARNETT E C, et al. Photovoltaic materials: present efficiencies and future challenges[J]. Science, 2016, 352(6283): aad4424.
- [65] GREENMAN J, GAJDA I, IEROPOULOS I. Microbial fuel cells (MFC) and microalgae; photo microbial fuel cell (PMFC) as complete recycling machines[J]. Sustainable Energy & Fuels, 2019, 3(10): 2546-2560.

- [66] MCCORMICK A J, BOMBELLI P, BRADLEY R W, et al. Biophotovoltaics: oxygenic photosynthetic organisms in the world of bioelectrochemical systems[J]. *Energy & Environmental Science*, 2015, 8(4): 1092-1109.
- [67] LEA-SMITH D J, BOMBELLI P, VASUDEVAN R, et al. Photosynthetic, respiratory and extracellular electron transport pathways in cyanobacteria[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 2016, 1857(3): 247-255.
- [68] ZHU H W, MENG H K, ZHANG W, et al. Development of a longevous two-species biophotovoltaics with constrained electron flow[J]. *Nature Communications*, 2019, 10: 4282.
- [69] FIROOZABADI H, MARDANPOUR M M, MOTAMEDIAN E. A system-oriented strategy to enhance electron production of *Synechocystis* sp. PCC6803 in bio-photovoltaic devices: experimental and modeling insights[J]. *Scientific Reports*, 2021, 11: 12294.
- [70] 赵贞尧, 张保财, 李锋, 等. 产电细胞的合成生物学设计构建[J]. *化工学报*, 2021, 72(1): 468-482.
- ZHAO Z Y, ZHANG B C, LI F, et al. Design and construction of exoelectrogens by synthetic biology[J]. *CIESC Journal*, 2021, 72(1): 468-482.
- [71] SEKAR N, JAIN R, YAN Y J, et al. Enhanced photo-bioelectrochemical energy conversion by genetically engineered cyanobacteria[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2016, 113(3): 675-679.
- [72] KRUYER N S, REALFF M J, SUN W T, et al. Designing the bioproduction of Martian rocket propellant *via* a biotechnology-enabled *in situ* resource utilization strategy[J]. *Nature Communications*, 2021, 12: 6166.
- [73] WENDT K E, UNGERER J, COBB R E, et al. CRISPR/Cas9 mediated targeted mutagenesis of the fast growing cyanobacterium *Synechococcus elongatus* UTEX 2973[J]. *Microbial Cell Factories*, 2016, 15(1): 115.
- [74] UNGERER J, PAKRASI H B. Cpf1 is a versatile tool for CRISPR genome editing across diverse species of cyanobacteria[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 39681.
- [75] LIU D, JOHNSON V M, PAKRASI H B. A reversibly induced CRISPRi system targeting photosystem II in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803[J]. *ACS Synthetic Biology*, 2020, 9(6): 1441-1449.
- [76] CHOI S Y, WOO H M. CRISPRi-dCas12a: a dCas12a-mediated CRISPR interference for repression of multiple genes and metabolic engineering in cyanobacteria[J]. *ACS Synthetic Biology*, 2020, 9(9): 2351-2361.
- [77] BADIS Y, SCORNET D, HARADA M, et al. Targeted CRISPR-Cas9-based gene knockouts in the model brown alga *Ectocarpus*[J]. *The New Phytologist*, 2021, 231(5): 2077-2091.
- [78] ZHANG M Y, LUO Q, SUN H L, et al. Engineering a controllable targeted protein degradation system and a derived ORGATE-type inducible gene expression system in *Synechococcus elongatus* PCC 7942[J]. *ACS Synthetic Biology*, 2022, 11(1): 125-134.
- [79] CUI J Y, SUN T, CHEN L, et al. Engineering salt tolerance of photosynthetic cyanobacteria for seawater utilization[J]. *Biotechnology Advances*, 2020, 43: 107578.
- [80] JAISWAL D, SENGUPTA A, SOHONI S, et al. Genome features and biochemical characteristics of a robust, fast growing and naturally transformable cyanobacterium *Synechococcus elongatus* PCC 11801 isolated from India[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8: 16632.
- [81] PRASANNAN C B, JAISWAL D, DAVIS R, et al. An improved method for extraction of polar and charged metabolites from cyanobacteria[J]. *PLoS One*, 2018, 13(10): e0204273.
- [82] WŁODARCZYK A, SELÃO T T, NORLING B, et al. Newly discovered *Synechococcus* sp. PCC 11901 is a robust cyanobacterial strain for high biomass production[J]. *Communications Biology*, 2020, 3: 215.
- [83] DE ALVARENGA L V, LUCIUS S, VAZ M G M V, et al. The novel strain *Desmonostoc salinum* CCM-UFV059 shows higher salt and desiccation resistance compared to the model strain *Nostoc* sp. PCC7120[J]. *Journal of Phycology*, 2020, 56(2): 496-506.
- [84] DU W, BURBANO P C, HELLINGWERF K J, et al. Challenges in the application of synthetic biology toward synthesis of commodity products by cyanobacteria *via* “direct conversion”[J]. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 2018, 1080: 3-26.
- [85] LUAN G D, LU X F. Tailoring cyanobacterial cell factory for improved industrial properties[J]. *Biotechnology Advances*, 2018, 36(2): 430-442.
- [86] LUAN G D, ZHANG S S, LU X F. Engineering cyanobacteria chassis cells toward more efficient photosynthesis[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2020, 62: 1-6.
- [87] PATHANIA R, SRIVASTAVA A, SRIVASTAVA S, et al. Metabolic systems biology and multi-omics of cyanobacteria: perspectives and future directions[J]. *Bioresource Technology*, 2022, 343: 126007.
- [88] LI Z D, WU C, GAO X, et al. Exogenous electricity flowing through cyanobacterial photosystem I drives CO₂ valorization with high energy efficiency[J]. *Energy & Environmental Science*, 2021, 14(10): 5480-5490.
- [89] MARY LEEMA J T, KIRUBAGARAN R, VINITHKUMAR N V, et al. High value pigment production from *Arthrospira (Spirulina) platensis* cultured in seawater[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(23): 9221-9227.
- [90] TOULOUPAKIS E, CICCHI B, BENAVIDES A M S, et al. Effect of high pH on growth of *Synechocystis* sp. PCC 6803 cultures and their contamination by golden algae (*Poteroioochromonas* sp.) [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2016, 100(3): 1333-1341.

- [91] ZHU Z, LUAN G D, TAN X M, et al. Rescuing ethanol photo-synthetic production of cyanobacteria in non-sterilized outdoor cultivations with a bicarbonate-based pH-rising strategy[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2017, 10: 93.
- [92] SHAW A J, LAM F H, HAMILTON M, et al. Metabolic engineering of microbial competitive advantage for industrial fermentation processes[J]. *Science*, 2016, 353(6299): 583-586.
- [93] SELÃO T T, WŁODARCZYK A, NIXON P J, et al. Growth and selection of the cyanobacterium *Synechococcus* sp. PCC 7002 using alternative nitrogen and phosphorus sources[J]. *Metabolic Engineering*, 2019, 54: 255-263.
- [94] LÉVESQUE B, GERVAIS M C, CHEVALIER P, et al. Prospective study of acute health effects in relation to exposure to cyanobacteria[J]. *Science of the Total Environment*, 2014, 466/467: 397-403.
- [95] PORTER R D. Transformation in cyanobacteria[J]. *CRC Critical Reviews in Microbiology*, 1986, 13(2): 111-132.
- [96] JIA B, QI H, LI B Z, et al. Orthogonal ribosome biofirewall[J]. *ACS Synthetic Biology*, 2017, 6(11): 2108-2117.
- [97] LOERA-QUEZADA M M, LEYVA-GONZÁLEZ M A, VELÁZQUEZ-JUÁREZ G, et al. A novel genetic engineering platform for the effective management of biological contaminants for the production of microalgae[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2016, 14(10): 2066-2076.
- [98] MOTOMURA K, SANO K, WATANABE S, et al. Synthetic phosphorus metabolic pathway for biosafety and contamination management of cyanobacterial cultivation[J]. *ACS Synthetic Biology*, 2018, 7(9): 2189-2198.
- [99] ZHOU Y Q, SUN T, CHEN Z X, et al. Development of a new biocontainment strategy in model cyanobacterium *Synechococcus* strains[J]. *ACS Synthetic Biology*, 2019, 8(11): 2576-2584.
- [100] 孟凡康, 娄春波. 人工遗传改造生命体的防逃逸技术研究进展[J]. *有机化学*, 2018, 38(9): 2231-2242.
- MENG F K, LOU C B. Research progress in biocontainment of genetically modified organisms[J]. *Chinese Journal of Organic Chemistry*, 2018, 38(9): 2231-2242.



通讯作者: 吕雪峰(1974—),男,博士,研究员,博士生导师。主要从事合成生物学与绿色生物制造领域的研究,在光驱固碳产能蓝细菌的人工设计与构建及真菌天然产物药物等方面取得系列学术成果。

E-mail: lvxf@qibebt.ac.cn



第一作者: 崔金玉(1989—),女,博士,博士后。主要从事光合蓝细菌代谢工程相关研究,包括利用合成生物学和系统生物学等策略开发高附加价值化学品和优化底盘菌株抗逆性能。

E-mail: cuijinyu@qibebt.ac.cn