

特约评述

DOI: 10.12211/2096-8280.2024-084

酵母基因组规模模型进展及发展趋势

李永珠^{1,2}, 陈禹¹

(¹ 中国科学院深圳先进技术研究院, 定量合成生物学全国重点实验室, 深圳合成生物学创新研究院, 广东 深圳 518055; ² 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 酵母作为常用的真核模式生物, 在合成生物学和系统生物学研究中的重要地位。然而, 由于其代谢系统较为复杂, 进行代谢网络研究和设计时存在一定困难, 因此, 研究人员提出了基因组规模的建模方法, 利用基因组序列及注释信息, 整合细胞内复杂的代谢反应和细胞过程, 模拟细胞系统各部分的相互作用, 得到对应的表型、功能和行为, 辅助寻找代谢工程改造靶点, 为理解复杂细胞系统提供了强有力的工具。本文介绍了基因组规模模型中传统代谢模型及整合多种生理学约束和多种细胞过程的模型的构建和分析方法, 回顾了酵母属中多种酵母基因组规模模型的发展历程及主要应用, 并基于此分析了当前酵母基因组规模模型研究中面临的主要问题, 提出了提升模型准确率以及未来进一步优化模型的方法和趋势。

关键词: 基因组规模模型; 酵母; 代谢工程; 细胞代谢; 通量分析

中图分类号: Q819 文献标志码: A

Advances and prospects in genome-scale models of yeast

LI Yongzhu^{1,2}, CHEN Yu¹

(¹ State Key Laboratory of Quantitative Synthetic Biology, Shenzhen Institute of Synthetic Biology, Shenzhen Institutes of Advanced Technology, Chinese Academy of Sciences, Shenzhen 518055, Guangdong, China; ² University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: Yeasts, particularly *Saccharomyces cerevisiae*, are widely used eukaryotic organisms with relatively clear cellular structures and metabolic networks, and their cellular processes exhibit a certain degree of conservation among eukaryotes. These organisms play a crucial role in research with synthetic biology and systems biology as well. However, due to the complexity of their metabolic networks and the variability of cellular activities, study and design of pathways for yeasts still present considerable challenges. To address these issues, researchers have developed genome-scale models, which are mathematical framework that integrates genomic, biochemical, and physiological data to simulate cellular processes and predict the relationship between genotype and phenotype, which are further used to simulate cellular functions and predict cell behaviors under different conditions, providing a systematic approach for understanding and engineering biological systems. This review introduces methods for building and analyzing genome-

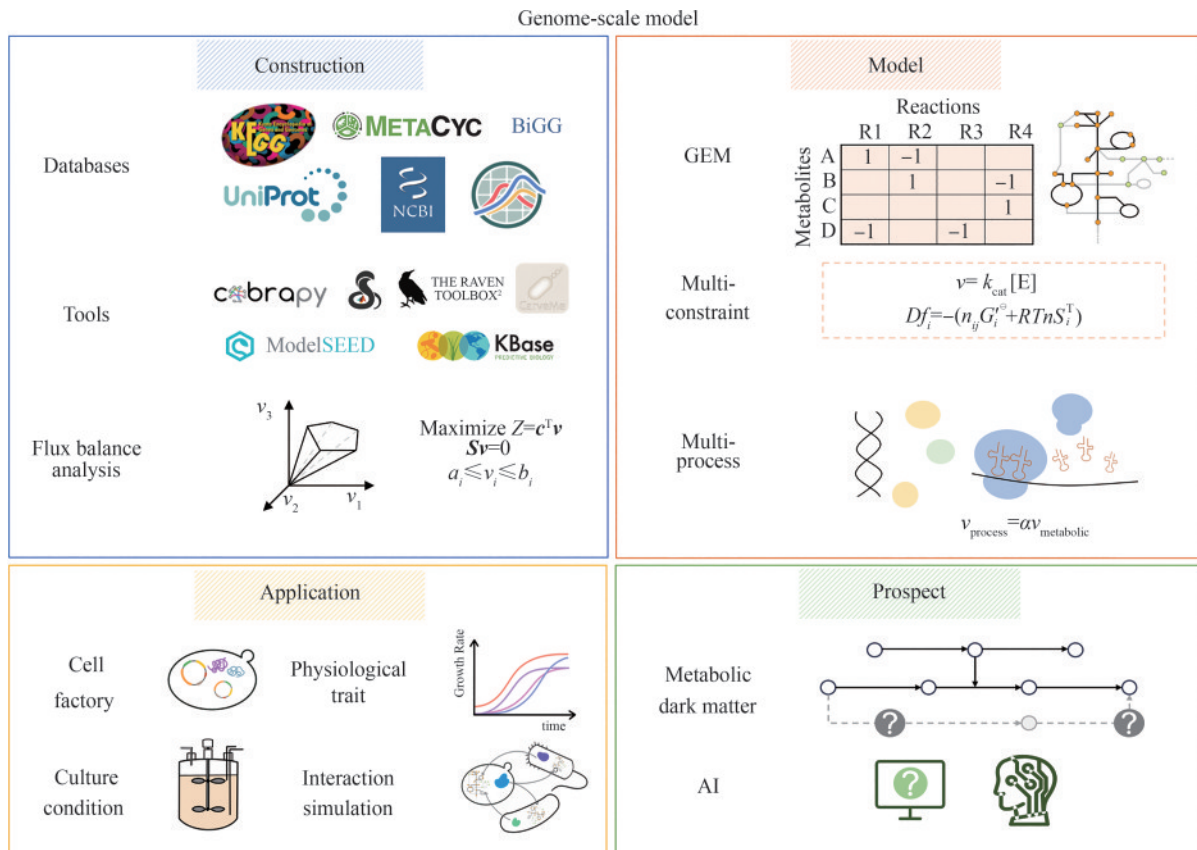
收稿日期: 2024-12-02 修回日期: 2025-02-20

基金项目: 国家重点研发计划 (2023YFA0913900)

引用本文: 李永珠, 陈禹. 酵母基因组规模模型进展及发展趋势[J]. 合成生物学, 2025, 6(3): 585-602

Citation: LI Yongzhu, CHEN Yu. Advances and prospects in genome-scale models of yeast[J]. Synthetic Biology Journal, 2025, 6(3): 585-602

scale models of yeasts, including traditional metabolic models and their derived multi-constraint and multi-process models. It also traces the development of yeast models over time. Furthermore, this article discusses recent applications of yeast models in areas such as designing yeasts as cell factories for producing valuable compounds, studying microbial physiology, optimizing cultivation conditions, and simulating microbial community interactions. These models also provide insights into identifying potential metabolic engineering targets for optimizing cellular functions. Despite the advantages of the genome-scale models, their development and application are still limited in several aspects, such as incomplete data on metabolic pathways, limited focus on secondary metabolism, and high barriers to use, particularly for users without programming backgrounds. This review proposes several strategies to address these challenges. To enhance the development of traditional models, it is crucial to incorporate more comprehensive datasets, with a particular emphasis on secondary metabolism and metabolic dark matters. Additionally, improving the accessibility of models requires the development of user-friendly platforms, the provision of clear and standardized tutorials. These strategies can lower barriers for users, and promote applications of the genome-scale models.



Keywords: genome-scale model; yeast; metabolic engineering; cellular metabolism; flux analysis

酵母是真核生物中最常用的一类模式生物，其中酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 是第一个被完整测序和注释基因组的真核生物^[1]，具有典型的真核生物代谢特征，细胞结构相对简洁，基因操作技术成熟，培养条件易于控制^[2-3]。因

此，酵母已作为细胞工厂被广泛用于生产各种化合物，包括药物、天然产物、工业化学品和香料等^[4]。除酿酒酵母外，其他酵母也因独特的代谢特性受到了广泛关注。这些酵母能够用于更多元化的培养条件，例如高于 30 °C^[5] 或低于 10 °C^[6]

的温度、酸性^[7]或碱性^[8]环境、高糖或高盐等高渗透压环境^[9]，以及木糖、乳糖或甘油等碳源^[10]，也因此逐渐成为合成生物学领域中重要的底盘生物。

然而，微生物胞内代谢活动高度复杂，在利用它们作为底盘构建细胞工厂时，无法进行全局调控或精准预测细胞内发生的变化。传统的研究多依赖于专家经验和反复试错，耗时长且成本高，难以实现高效构建。为此，研究人员提出了基因组规模模型（genome-scale model），可在基因组全局水平通过计算定量描述目标生物基因型和表型的关系，系统研究细胞活动，并预测代谢工程改造的靶点。现有的基因组规模模型主要有基因组规模代谢模型（genome-scale metabolic model, GEM）和多约束多过程模型两大类。

基因组规模的数据通常包括代谢、基因表达与调控、信号传导及蛋白质相互作用等方面。其中，代谢相关的数据积累相对丰富，且拥有完善的数据库，成为构建模型的可靠支持。因此，GEM目前是最成熟的一类基因组模型。GEM涵盖了从基因到代谢物的完整通路，能够模拟细胞代谢过程，计算特定条件下所有代谢反应的通量分布。与代谢数据相比，其他基因组规模数据的引入较为复杂。近年来，越来越多的研究通过将多种生物学约束（如酶约束）和细胞过程（如基因表达过程）融入GEM，逐步引入代谢之外的基因组规模数据，构建了更加精确的多约束多过程模型。

本文将介绍基因组规模模型的构建和分析方法，梳理酵母模型发展历程，总结酵母模型的主要应用，分析当前存在的问题，并对未来的发展进行展望。

1 基因组规模代谢模型

GEM的概念最早由Palsson团队在1999年提出^[11]，他们针对流感嗜血杆菌（*Haemophilus influenzae*）构建了第一个基于全基因组数据的代谢模型，根据基因注释和生化数据，整合了343种代谢物及其参与的488个代谢反应和运输过程，并提出了模型的分析方法。该模型的建立开启了代

谢网络研究的新阶段，使研究人员能够从基因组规模分析理解代谢机制，推动了系统生物学和合成生物学的发展。

1.1 基因组规模代谢模型的构建方法

GEM可由人工手动构建得到。通过广泛检索文献获取实验测得的代谢反应和途径的生化信息，同时从KEGG^[12]、NCBI、UniProt、MetaCyc^[13]、PID（the Pathway Interaction Database）^[14]等数据库中收集整理基因组序列及注释、蛋白质序列和功能信息、代谢途径和生化反应等，得到每个代谢反应涉及的基因-蛋白质-反应（gene-protein-reaction, GPR）关系。整个构建过程涉及大量人为校准，耗时耗力，并且通常只适用于数据积累丰富的物种。

与手动构建相对的自动构建，主要依赖于自动化工具，基于基因组序列和注释信息，可自动生成目标物种的GEM。目前常用的自动化工具有COBRA^[15-16]、RAVEN^[17]、Path2Models^[18]、CarveMe^[19]、Model SEED^[20]、KBase^[21]等，这些工具主要基于Python和MATLAB平台。然而，自动构建的模型可能包含错误的GPR关系以及质量或电荷不平衡的反应。因此需要在使用这些工具进行自动构建后再人工检查和调整，这是目前常用的半自动构建方法。通过修正不平衡反应，删除网络中由已知反应产生但没有消耗，或被反应消耗但没有途径产生的代谢物（也称“死端代谢物”）^[22-23]，或根据已知生物学知识添加或删除特定反应，并对反应在细胞中发生的位置进行设定^[24]，能够逐步提升模型质量。目前已建立了多个可检索和共享已有代谢模型的数据库，如BiGG^[25]、BioModels^[26]等，为研究人员提供了便捷的资源获取方式。

1.2 基因组规模代谢模型的分析方法

构建完成的GEM一方面可以作为该物种的代谢知识库，另一方面可以使用计算方法对其进行定量分析。这些计算方法通常利用模型的化学计量数信息，将代谢反应转化为化学计量矩阵，使模型成为可计算的数学形式，计算不同条件下代

谢途径的通量，进而分析代谢网络。

通量平衡分析 (flux balance analysis, FBA)^[27]是最常用的计算方法，通过设定约束条件和目标函数来求解最优的代谢通量分布情况：

$$\text{Maximize}(Z) \quad (1)$$

$$Z = \mathbf{c}^T \mathbf{v} \quad (2)$$

$$\mathbf{S}\mathbf{v} = \mathbf{0} \quad (3)$$

$$a_i \leq v_i \leq b_i \quad (4)$$

式中， \mathbf{S} 为化学计量矩阵； \mathbf{v} 是反应通量向量； v_i 表示反应 i 的通量； a_i 和 b_i 分别为通量的上下限（通常是实验测得）； Z 为目标函数； \mathbf{c} 为权重向量，表示每个反应在目标函数中的权重。通过求解线性方程组，可以得到目标函数的最优解以及代谢网络中各反应的通量分布。FBA常用于预测细胞比生长速率或产物比合成速率，以及计算基因组规模的代谢通量分布。相关计算可以通过多种工具包（如COBRA Toolbox、COBRAPy等）完成。

GEM从最初的人工构建发展到如今结合多种计算机工具的自动化构建，其对代谢反应的覆盖范围和预测准确度不断提升。然而，自动建模过程中仍存在数据质量不均、注释错误和反应冗余等问题，需要耗费大量人力进行校验和修正。此外，常用的FBA方法因其假设条件，忽略了代谢活动在时间和空间上的动态变化。因此，规范模型构建流程、开发智能化校正工具以及探索新的计算方法，仍是未来有待解决的难题。

2 多约束多过程模型

传统GEM仅关注代谢层面，反应通量只受限于化学计量数和人为预先设定的上下限约束^[28]，虽然这种模型能够有效描述简单的代谢过程，但由于未充分纳入细胞内部复杂的生理调控，在模拟和预测涉及多层次生物过程的复杂表型时，其准确性往往受到限制^[29]。为更精确地描述这些过程间的相互作用及其对代谢活动的影响，研究者在GEM的基础上逐步加入更多的生理学约束和细胞过程^[30-31]。这些扩展使得模型可以整合多层次的信息^[32-33]，从而更全面地呈现细胞的真实生理状态。相比之下，多约束多过程模型不仅能够更精准地模拟代谢网络，还能同时考虑基因表达、蛋

白质合成和酶活性等复杂生物过程的交互作用，因此更接近细胞的实际生理响应。

目前已有将各种约束和细胞过程整合到传统GEM的方法，例如能够整合酶约束^[34]的GECKO^[31, 35]、MOMENT^[36]和ECMPy^[37]，能够整合酶约束和热力学约束的ETGEMs^[38]和Model Tool^[39]，能够整合多细胞过程的COBRAME^[40]、RBAPy^[41]和ETFL^[38, 42]。下面将分别介绍多约束模型和多过程模型。

2.1 多约束模型

2.1.1 酶约束模型

目前主流的多约束模型是酶约束模型 (enzyme-constrained model, ecModel)。鉴于酶是代谢网络中不可或缺的催化剂，其数量、合成成本和动力学特性对代谢通量有直接的影响，因此研究人员从酶入手，将酶资源的有限性考虑为约束引入模型^[31]。

构建和分析ecModel的方法已经比较成熟。例如，GECKO工具箱能够将传统GEM转化为对应的酶约束模型，而其最新版GECKO 3.0以详细教程的形式发表在*Nature Protocols*期刊^[35]，进一步降低了模型构建和使用门槛。酶的约束主要体现在对酶浓度和酶周转数 (turnover number) 进行限制：酶浓度可以利用蛋白组数据获取或直接对总酶量进行限制，而酶周转数能够从BRENDA^[43]等数据库中获取或利用深度学习工具DLKcat^[44]等预测。

ecModel的主要约束可表示为：

$$v_i = k_{\text{cat}, i} [\mathbf{E}]_i \quad (5)$$

式中， $k_{\text{cat}, i}$ 为酶 i 的周转数； $[\mathbf{E}]_i$ 为酶 i 的浓度。

2.1.2 酶和热力学约束模型

酶约束能够限制细胞内代谢反应的速率，而热力学约束可以确定代谢反应发生的方向。在酶约束模型的基础上引入热力学约束^[38-39]，可以预测更符合生物学意义的代谢通量分布^[38]。代谢反应的热力学信息通常基于吉布斯自由能变化 (ΔG) 获取。热力学的主要约束为：

$$\Delta_r G'_i - \Delta_r G_i^{\ominus} - RT \sum_{i=1}^m \eta_i C_i = 0 \quad (6)$$

式中, r 为模型中的总反应数; m 为总代谢物数; $\Delta_r G'_j$ 表示 j 反应在实际条件下的吉布斯自由能变化; $\Delta_r G_i^{\ominus}$ 表示 j 反应在标准条件下的吉布斯自由能变化; $RT \sum_{i=1}^m \eta_i C_i$ 表示由代谢物浓度引起的自由能修正; R 为气体常数; T 为温度; η_i 为反应 j 中代谢物 i 的化学计量数; C_i 表示代谢物 i 的浓度。该公式综合考虑了标准吉布斯自由能、温度、气体常数以及代谢物的浓度, 使得热力学驱动力计算更加精确。

2.2 多过程模型

多过程模型指在 GEM 中添加更多细胞过程的模型, 能够考虑多种细胞过程之间的相互影响^[32, 45]。与多约束模型不同, 多过程模型需要明确写出所添加细胞过程的反应方程式。例如, 代谢和基因表达模型 (genome-scale model of metabolism and gene expression, ME-model) 不仅包含了代谢反应, 而且包含了基因表达过程的反应方程式, 如从氨基酸生成蛋白质等^[46]。

通过共同代谢物 (如氨基酸、核苷酸等) 及各个细胞过程特定的耦合约束公式, 可以将代谢反应和不同的细胞过程利用反应速率进行关联。基本公式为:

$$v_{\text{process}} = \alpha v_{\text{metabolic}} \quad (7)$$

式中, α 为耦合系数, 包含关键酶或分子机器的催化效率以及其降解和稀释常数。

多种生理约束和细胞过程的引入能够提升模型的性能和应用范围, 然而, 随着模型复杂度的增加, 数据需求量和建模难度也显著提高。人工智能技术的引入能够在一定程度上弥补数据缺失的问题, 而构建包含尽可能多的细胞过程的模型也成为了一个发展趋势, 能够为模型的开发提供重要的参考依据。

3 酵母基因组规模模型的发展历程

酵母是较为简单的真核生物, 其基因组较小、代谢网络明确且易于研究。同时, 酵母的许多代谢途径和细胞过程在其他真核生物中高度保守。例如, 酵母的中心代谢途径, 如糖酵解、三羧酸

循环和氧化磷酸化等, 以及关键的细胞过程, 如基因的转录和蛋白质的翻译等, 均具有高度的相似性和可比性^[47]。通过构建酵母的基因组规模模型, 不仅可以为复杂生物模型的构建提供理论依据^[48], 而且能够将酵母模型构建过程中开发的计算方法和工具应用于其他生物的建模工作^[49]。

3.1 基因组规模代谢模型

3.1.1 酿酒酵母

2003 年, Förster 等构建了第一个酿酒酵母 GEM, 命名为 *iFF708*^[50]。作为首个真核生物 GEM, 该模型模拟真核生物的细胞结构, 引入三个细胞区室, 将所有反应定位在胞质、线粒体和胞外, 并在模型中添加了胞质与线粒体之间、胞外与胞质之间的运输机制, 使用带有位置信息的运输反应表示物质转运过程。图 1 展示了酵母 GEM 的完整发展历程。

之后的五年中, 研究人员基于 *iFF708* 相继构建了 *iND750*、*iLL672* 和 *iIN800*。*iND750* 进一步细化了细胞区室, 除了胞质和线粒体以外, 加入过氧化物酶体、细胞核、高尔基体、液泡和内质网五个区室, 形成了当时的“完全区室化模型”^[51]。*iLL672* 则更关注模型内容的准确性, 删除了错误或重复添加的冗余反应, 修正了“死端代谢物”^[22]。之后的 *iIN800*^[52] 补充了缺失反应, 包括线粒体和细胞质中脂肪酸合成、脂肪酸延长、 β -氧化、鞘脂合成、磷脂和三酰甘油合成等反应, 同时引入新的菌体合成反应以便模拟不同生长条件下细胞大分子组成的变化。后续模型的发展也大致遵循这三个方向进行, 即对细胞区室的细化、对细胞反应的修正和对更多 GPR 关系的挖掘和引入^[53-56]。

然而, 由于模型构建者的数据来源和建模习惯不同, 酿酒酵母模型在更新换代过程中会使用不同的规则对模型元素命名, 不仅不利于其他研究者的阅读和使用, 而且难以开展跨模型比较研究。因此研究人员在 2006 年的 Yeast Systems Biology Network 会议上提出构建共识化的酿酒酵母模型, 并于 2008 年发布了第一代共识模型^[53], 其基于 *iLL672* 统一了代谢物命名和注释的方式, 并持续更新至今。表 1 总结了每个共识模型版本的

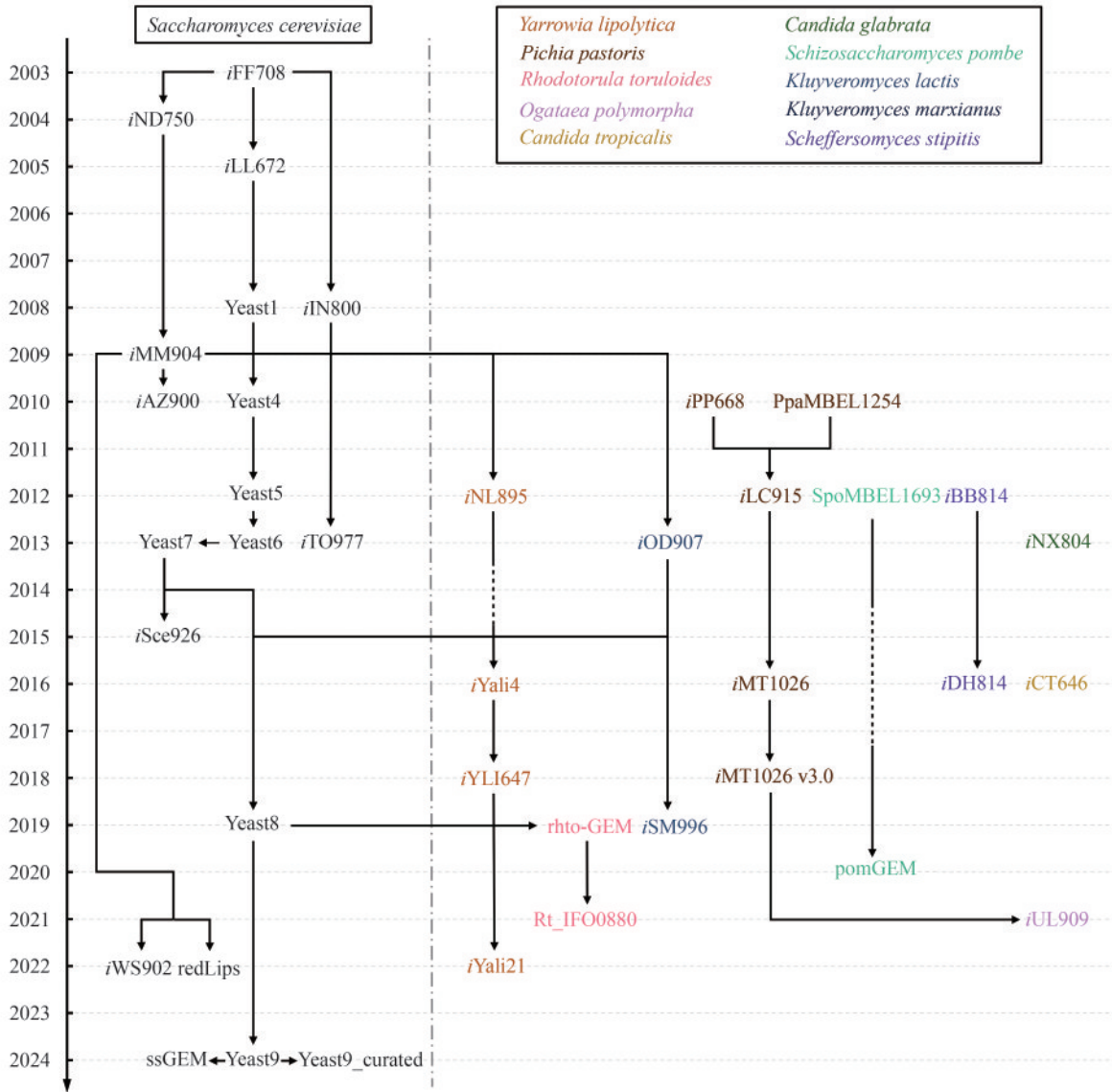


图1 酵母基因组规模代谢模型发展历程

[图中展示了2003—2024年酿酒酵母(黑色)以及其他酵母(彩色)的GEM发展历程; 箭头和连线表示各模型之间的关系, 实线表示直接继承关系, 虚线表示连线间存在模型的省略]

Fig. 1 Development of yeast GEMs

[The figure shows the development of GEMs from 2003 to 2024 for *S. cerevisiae* (black) and other yeasts (colored). The arrows and lines indicate the relationships between different GEMs, where solid lines indicate direct inheritance, and dashed lines signify omissions of intermediate models between connections.]

优化点与存在的问题^[34, 55, 57-60]。

酿酒酵母共识模型每个版本均在基因、代谢物和反应的覆盖范围上有所扩展。最新的Yeast9囊括1162个基因、2805个代谢物和4130个反应, 补充了反应吉布斯自由能信息, 通过与数据库的多轮手动比对添加并修正了多个GPR关系, 并以此

构建了1229个酿酒酵母基因敲除突变体的ssGEM。随后, Han等^[61]通过结合酿酒酵母的营养缺陷数据, 进一步优化了Yeast9, 提高了模型对于营养缺陷突变体表型的预测准确度, 其基因-化合物配对预测准确率从63.27%提升至79.59%, 从而模拟酵母在特定营养条件下的生长行为。

表1 酿酒酵母共识模型各版本的更新信息

Table 1 Summary of consensus models developed for *S. cerevisiae*

模型版本	反应数	代谢物数	基因数	主要优化点	存在的问题	年份	参考文献
Yeast1	1857	1168	832	第一代共识模型,统一代谢物注释	网络缺乏完整性、连通性,代谢反应覆盖率低	2008	[53]
Yeast4	2030	1481	924	增加脂质代谢反应,提高网络连通性	代谢反应覆盖率低	2010	[58]
Yeast5	2110	1655	918	增加鞘脂代谢反应,更新GPR关系	存在一定“阻塞反应”,引入假反应连通网络,不符合实际	2012	[55]
Yeast6	1888	1458	900	移除无明确功能或无参考来源的代谢物	模拟无氧生长存在问题,仍有一定“阻塞反应”	2013	[59]
Yeast7	3493	2218	916	修正脂肪酸、甘油酯和甘油磷脂代谢,显著减少“阻塞反应”占比	基因数过少,无法充分整合多组学数据	2013	[60]
Yeast8	3949	2680	1133	对基因和反应进行大规模扩展,可引入蛋白质结构数据	反应质量和电荷不平衡,同工酶注释冗余,缺乏热力学约束	2019	[34]
Yeast9	4130	2805	1162	新增标准吉布斯自由能数据,提升反应准确性	无法精确表现细胞器代谢活动,多组学综合分析准确率较低	2024	[57]

Note: This table summarizes the iterative updates of consensus genome-scale metabolic models for *S. cerevisiae*, from Yeast1 to Yeast9. It provides detailed records of the number of reactions, metabolites, and genes in each version. It also highlights key improvements and existing challenges in each iteration.

在共识模型这条“主线”不断发展的同时,也有一些“支线”模型诞生。例如,2009年Mo等构建的*iMM904*^[62],它在*iND750*的基础上扩展了脂质代谢、碳水化合物代谢和相应物质在区室间的转运过程。该模型在后续根据Yeast7.11进行了更新,并因其完备的中心碳代谢途径,成为了除共识模型外使用频率最高的模型,为后续酵母模型的构建打下了基础。

基于*iMM904*,redLips^[63]模型完善了脂质代谢的相关反应信息,区分了八种脂质类别,并移除了与脂质代谢关联较小的区室,在保证模型连通性的同时减小模型体量。同样基于此框架的模型还有*iWS902*^[64],扩展了芳香族物质的代谢途径,添加了杂醇合成途径、链脂肪酸合成途径和硫还原途径,便于研究酿酒过程中酵母对葡萄酒香气形成的影响。*iAZ900*^[54]借助自动化工具对*iMM904*进行修正,针对模型中基因必需性和合成致死性预测与实验数据不一致的部分,补充遗漏的代谢反应,修正反应的方向性,提高其预测精度。同样关注基因必需性和合成致死性的还有*iSce926*^[65],该模型探究Yeast7的预测结果与实验产生差异的原因,修改了50多个GPR关系。

2013年的*iTO977*也是模型发展中的一个重要

进展^[56]。该模型合并了共识Yeast1和包含脂质代谢途径的*iIN800*,大幅扩展了基因、代谢物和反应的覆盖范围。为了提高预测的稳健性,模型仅保留了四个区室,减少了因代谢物区室信息不确定性导致的预测误差,与同期发布的Yeast5相比具有更高的准确性。

3.1.2 其他酵母

除酿酒酵母外,目前关注度最高的酵母之一是巴斯德毕赤酵母(*Komagataella phaffii*,旧称*Pichia pastoris*)^[8,66],其GEM的发展历程可以追溯到2010年,由Sohn等^[67]首次构建了*PpaMBEL1254*,模型包括1254个反应和1147种代谢物,分布在八个细胞区室中。该模型模拟了不同条件下毕赤酵母异源蛋白的生产情况,探究了氧气对蛋白产量的影响。同年,Chung等^[68]基于此开发了*iPP668*,细化了其中的细胞区室,侧重提高预测细胞利用其他类型碳源的能力。之后,Caspeta等^[69]发布了*iLC915*模型,显著提高菌株在甲醇和甘油等碳源下生长的预测能力。2016年Tomàs-Gamisans等通过整合*PpaMBEL1254*、*iPP668*和*iLC915*构建了共识*iMT1026*模型^[70],对各个模型中的代谢信息进行修正、统一和补充,显著提升了预测精度,并在2018年发布了3.0版本^[71]。

解脂耶氏酵母 (*Yarrowia lipolytica*) 是一种产油酵母, 能够利用烃类和脂类物质作为碳源^[9]。2012年, Loira等^[72]参考其基因组信息, 从酿酒酵母 *i*N800、*i*MM904 和 *Yeast4* 中提取了同样存在于解脂耶氏酵母内的代谢信息, 构建了第一个解脂耶氏酵母 GEM, 即 *i*NL895。基于 *i*NL895、*Yeast7* 和解脂耶氏酵母的其他 GEM, Kerkhoven等^[73]构建了更全面的 *i*Yali4, 整合其他模型中的特有反应, 结合当时最新的文献数据和基因组注释信息, 显著提升了模型的覆盖范围和准确性。2018年, Mishra等^[10]发布了 *i*YLI647, 此模型在 *i*NL895 和其他模型的基础上进行了大幅扩展, 整合更多脂肪酸代谢相关反应, 进一步提升了模型在目的产物合成预测上的准确性, 更适用于代谢工程和工业应用。2022年, Guo等^[74]基于解脂耶氏酵母的基因组信息, 构建了更全面的 *i*Yli21。在 *i*Yali4 的基础上, *i*Yli21 添加了更详细的脂肪酸代谢、甘油酯代谢、氨基糖代谢和核苷酸糖代谢等途径, 可模拟不同碳源条件下的代谢流量分布, 在预测营养利用率方面准确度可达 85.7%。

另一种产油酵母圆红冬孢酵母 (*Rhodospiridium toruloides*)^[75] 的首个 GEM 由 Tiukova等^[76]在 2019 年发布, *rhto*-GEM 基于酿酒酵母 *Yeast8* 和解脂耶氏酵母 *i*Yali4, 使用 RAVEN 工具包构建, 能够对葡萄糖、木糖和甘油等碳源下的菌体生长进行准确预测, 并确定了提高亚麻酸、三酰甘油和类胡萝卜素产量的潜在靶点。随后, Kim等^[77]通过从多个模式生物 GEM 中提取同源反应, 结合多组学数据并进行人工校正, 构建了更为精细的 *Rt_IFO0880*, 补充五碳糖和芳香化合物代谢路径, 高效模拟其对木质纤维素的利用。

多形汉逊酵母 (*Ogataea polymorpha*) 是具有高生长速率、耐高温和硝酸固定能力的甲基营养型酵母^[5], 其首个 GEM 为 Liebal等^[78]构建的 *i*UL909, 该模型基于 *i*MT1026 v3.0, 替换了对应基因, 并对细胞在 190 种碳源下的生长情况进行预测, 与表型微阵列实验数据相比正确率为 77%, 并通过摇瓶培养实验检验预测异常的碳源, 进一步修正模型。

热带假丝酵母 (*Candida tropicalis*) 具有独特的 ω -氧化途径, 能够将 α -脂肪酸的末端碳氧化成不

同长度的 α, ω -二羧酸 (α, ω -dicarboxylic acids, DCA)。Mishra等^[79]构建了该酵母的模型 *i*CT646, 模拟其在不同环境下的代谢活动, 预测生产 DCA 的关键代谢途径, 辅助优化工业菌株设计。

同属假丝酵母属的还有光滑假丝酵母 (*Candida glabrata*), 它具有多条丙酮酸合成途径, 可以在多种维生素缺陷条件下积累丙酮酸。*i*NX804^[80]是其首个 GEM, 能有效预测其在不同碳源和氮源下的代谢活动, 进而指导提升丙酮酸的合成能力。

粟酒裂殖酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*) 常用于研究真核生物的细胞分裂和细胞周期^[81]。*SpoMBEL1693*^[82]是其首个 GEM, 对单基因敲除突变体的表型预测准确率达到 82.7%。2022 年基于 *Yeast8* 构建的 *pom*GEM^[83], 删除了在酿酒酵母中活跃但在裂殖酵母中不存在的途径, 能够准确预测 20 种单一碳源下的生长, 在单基因敲除表型预测中其准确率达到 69.9%, 对反应必需性的预测准确率达 74.7%, 相比 *SpoMBEL1693* (61.2%) 提高了约 13.5%。

乳酸克鲁维酵母 (*Kluyveromyces lactis*) 广泛用于乳制品的发酵, 在生物制药和酶制剂的开发领域有很大应用潜力^[84]。*i*OD907^[85]是该酵母的首个 GEM, 包含胞外、胞质、线粒体和内质网四个细胞区室, 能够模拟乳酸克鲁维酵母在不同环境和碳源下的代谢活动。

马克斯克鲁维酵母 (*Kluyveromyces marxianus*) 是一种耐热酵母, 能够在较高温度下利用乳糖、木糖、阿拉伯糖和菊粉等多种非常规碳源。Marcišauskas等^[86]基于 *i*OD907、*Yeast7.6* 构建了该酵母的首个 GEM, 即 *i*SM996。该模型包含多种芳香族化合物的合成途径, 能够预测大多数已报道碳源和氮源下的细胞生长, 并与转录组数据结合, 进一步模拟细胞在各种生长温度下的代谢活动。

树干毕赤酵母 (*Scheffersomyces stipitis*) 能够高效发酵木糖进而生成乙醇^[87]。它的第一个 GEM 是由 Balagurunathan等^[88]基于基因组注释、实验数据及生理学信息从头构建的 *i*BB814, 该模型能够预测树干毕赤酵母在不同碳源、氮源、磷源和硫源上的生长, 并对木糖的生物合成需求进行分析。2018 年 Hilliard等^[89]发布了 *i*DH814, 该模型

能够准确预测木糖限制性发酵过程中木糖醇的产生情况,通过研究树干毕赤酵母在氧气限制条件下的代谢过程,揭示了其通过还原力转移来应对环境中氧气供应减少的方式。

综上,酿酒酵母的GEM更新更为频繁且完善,这主要得益于其作为经典模型生物,研究历史长、数据积累多,有广泛的工业应用需求。相比之下,其他酵母的研究起步较晚,数据积累相对不足,整体应用范围较为局限,因此研究和模型开发的需求较低,现有精准模型的数量较少。但近年来随着组学技术的快速发展,更多酵母的基因组被测序和注释,研究关注度逐步提高,同时工业需求不断增长,预计未来其他酵母的GEM开发也将逐渐增加。

3.2 多约束多过程模型

3.2.1 酿酒酵母

酿酒酵母的多约束多过程模型在近几年内得到广泛开发。研究人员基于Yeast7和Yeast8,利用GECKO工具构建了相应的酶约束模型^[31, 34]。通过引入酶浓度和周转数,这些模型可以预测溢流代谢(Crabtree效应)、应激反应和在非典型碳源下的代谢情况。ecYeast7作为第一个酿酒酵母的ecModel,在模拟不同碳源和培养基条件下的最大比生长速率时,平均相对误差仅为8%。

基于ecYeast7, Li等^[90]引入温度参数,使用贝叶斯学习方法推断酶在不同温度下的催化活性,构建了利用温度信息约束的etcYeast7.6,该模型能够模拟酵母在温度变化时的代谢适应性,准确预测高于最佳温度培养时生长受限的情况,并识别出关键限制酶。

考虑到酶辅因子对酶活性的影响, Chen等^[91]构建了CofactorYeast模型。该模型在Yeast8的基础上添加了铁硫簇合成反应、金属离子的运输和交换反应、蛋白质合成反应以及酶与辅因子结合反应。CofactorYeast能够预测在不同生长条件下细胞对金属离子的需求量以及细胞工厂生产产品对铁的高度依赖。

yETFL和pcYeast7.6均是整合了酿酒酵母代谢和基因表达过程的模型。前者在Yeast8中加入新陈

代谢、RNA转录和蛋白质翻译过程,并通过估算代谢反应的标准吉布斯自由能确定了反应方向性^[42];而后者除了加入基因表达过程的反应之外,还考虑了蛋白在细胞不同区室中的分配方式,使得模型处理涉及细胞区室的条件时具有很好的预测能力^[92]。

pcSecYeast模型^[93]在酿酒酵母代谢网络中整合了蛋白质合成、修饰、运输和降解的详细过程,因此不仅能够准确预测蛋白质分泌的瓶颈,还提供了提高重组蛋白产量的潜在靶点。该模型展现了在工业生产应用中的广泛前景,并进一步加强了基因组规模模型对复杂表型的预测能力。

3.2.2 其他酵母

除了酿酒酵母之外,其他一些酵母也有相应的多约束多过程模型。使用GECKO 2.0, Domenzain等^[94]对解脂耶氏酵母和马克斯克鲁维酵母分别基于*iYali4*^[73]和*iSM996*^[86]构建了酶约束模型ec*iYali*和ec*iSM996*,在模拟比生长速率和气体交换(如CO₂和O₂)的通量上表现出较高的准确性。

对于圆红冬孢酵母, Reķēna等^[95]在rhto-GEM模型的基础上,使用RAVEN工具箱替换了木糖同化途径,使用GECKO生成了酶约束模型ecRhtoGEM。优化后的模型能够精确预测不同碳源条件下的NADPH分配,于是发现在氮源限制条件下有更高比例的NADPH被用于脂质合成。

此外, Li等^[44]发布的深度学习DLKcat,能够通过蛋白质序列和底物结构预测酶周转数,并基于此构建了343种酵母和真菌的酶约束模型。在进行多轮优化后,模型在生长速率和蛋白质产量的预测上都表现出更高的准确性。

针对裂殖酵母, Grigaitis等在pomGEM的基础上借鉴pcYeast7.6的框架^[92],构建了整合代谢和蛋白合成过程的模型pcPombe^[83],将代谢过程与相应的蛋白质需求相耦合。研究人员利用pcPombe探究裂殖酵母在不同比生长速率下的资源分配策略,为理解裂殖酵母在不同环境下的代谢调控机制提供了关键见解。同样,对于克鲁维毕赤酵母, Battjes等^[96]基于pcYeast8^[97]构建了pcPichia模型,进一步比较Crabtree阳性酵母和阴性酵母的差异,并确定了导致这种代谢差异的原因。

相比于GEM,多约束模型和多过程模型的产生较晚且数量较少,主要原因在于这类模型构建

时更为复杂，不仅需要基因组数据，还需要更复杂的生物物理和生化参数，而这些参数的获取和整合存在一定困难。但随着高通量、自动化实验技术及多组学数据的获得和整合方法的不断发展，其发展潜力不容忽视。

4 酵母基因组规模模型的应用

随着各类酵母基因组规模模型的成功构建和不断完善，这些模型已经在合成生物学和系统生物学等领域得到广泛应用，主要包括细胞工厂设计、微生物生理特性研究、发酵条件优化以及多物种相互作用研究等方面（图2）。

4.1 细胞工厂设计

利用基因组规模模型全面解析代谢网络，为细胞工厂设计提供了更为系统的指导。研究人员

通过构建特定生物的基因组规模模型，模拟并识别出影响目标产物生成的关键代谢途径和基因靶点，这些信息为后续的基因编辑和代谢重组操作提供了重要参考，有助于高效优化目的产物产量。

Choi等^[98]通过引入多个乳酸脱氢酶基因，删除影响代谢的关键基因，初步提高了酿酒酵母利用木质纤维素水解物生产L-乳酸的能力，随后使用GECKO工具箱^[35]构建了对应工程菌株的酶约束模型，利用模型进行基因的过表达、敲除和敲低等模拟，进一步预测新的代谢工程靶点。基于模型预测结果，通过调节氧化还原平衡和代谢通量分配，提高了乳酸的生产效率，并揭示了氧气对乳酸产量的影响，即氧气受限时通过降低氧化磷酸化途径通量可以有效提高乳酸产量。最终，研究团队在使用木糖作为碳源时，达到了93 g/L的乳酸滴度，得率为0.84 g/g；在使用木质纤维素水解物培养基时，得率为0.75 g/g。

Qin等^[99]致力于通过增加CO₂固定量提高酿酒酵母中3-羟基丙酸（3-hydroxypropionic acid，

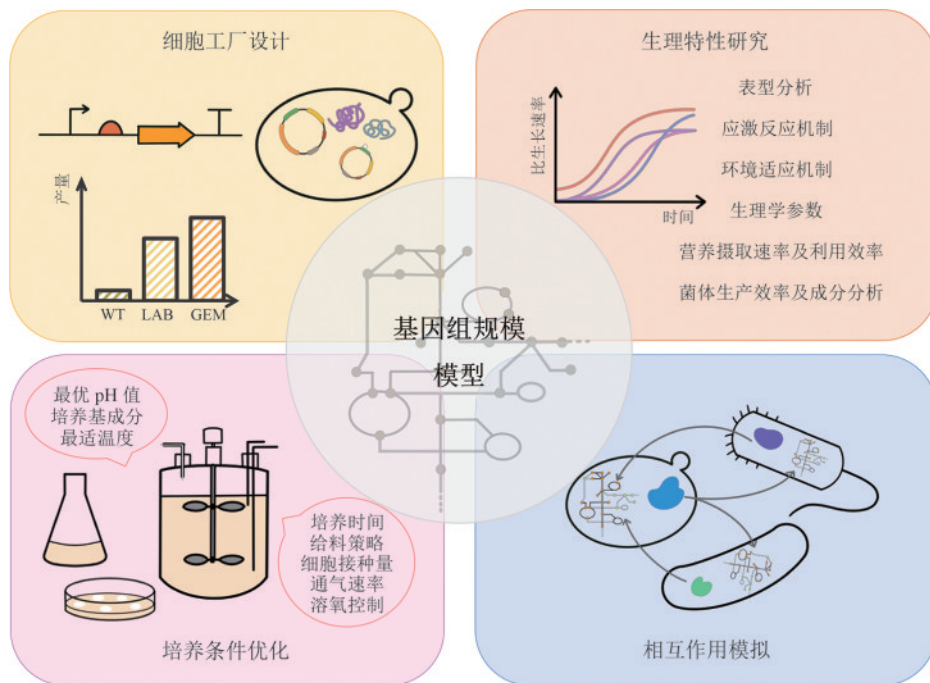


图2 酵母基因组规模模型的应用

（图中展示了基因组规模模型在指导细胞工厂设计并提升目的产物产量、辅助探究细胞在不同环境下的生理特性、优化培养基成分及温度等细胞培养条件和模拟共培养细胞群落间代谢交换等相互作用）

Fig. 2 Applications of the genome-scale models

(The figure shows the applications of the genome-scale models in guiding cell factory design to enhance the yield of target products, assisting in the exploration of cellular physiological traits under different environments, optimizing cell culture conditions such as medium composition and temperature, and simulating metabolic exchanges and interactions within co-cultured microbial communities.)

3-HP)的产率,通过使用Yeast8对3-HP合成途径中的代谢瓶颈进行发掘,最终聚焦于碳酸氢盐的浓度限制。基于模拟结果,研究团队在工程菌株中引入多种碳酸氢盐吸收方式,并将其消耗途径通量降低,成功将3-HP产量从0.14 g/L提升至11.25 g/L。

Ishchuk等^[100]关注酿酒酵母血红素生产能力,采用Yeast8及ecYeast8分析工程菌株,通过FBA筛选出84个影响血红素生产的关键基因靶点,模拟多种基因组合策略对血红素产量的影响,最终构建了包含11个基因修饰的工程菌株,其血红素合成能力为野生菌株的70倍。

Bernat-Camps等^[101]为解决甲醇对巴斯德毕赤酵母的毒性负担问题,开发了无甲醇表达系统,使用iMT1026 v3.0进行反应模拟和参数优化,预测目标产物的合成瓶颈,确定了最优生产策略,成功在无甲醇条件下生产重组蛋白,产率相比于传统启动子系统提高3.6倍。

Wefelmeier等^[102]基于iUL909添加了生产苹果酸、丙酮和异戊二烯所需的异源代谢途径,构建了iOpo123,通过阻断或激活反应,模拟并优化多形汉逊酵母利用甲醇生产C₃、C₄和C₅化合物的能力,发现减少三羧酸循环通量可优化苹果酸的生成,基于此引入了关键代谢酶,实现了13 g/L的苹果酸产量。

da Veiga Moreira等^[103]力图优化解脂耶氏酵母线粒体活性以提高柠檬酸产量,通过利用iYali4模拟不同生长阶段柠檬酸分泌和脂质积累情况,识别关键优化靶点,使柠檬酸产量从10.9 g/L提升至20.5 g/L。

目前代谢工程应用中大多数研究使用的仍是GEM。尽管多约束多过程模型在理论上比GEM预测性能更好,但其应用推广面临诸多阻碍,特别是目前对于多约束多过程模型的算法和计算工具尚不完善,且相比于GEM,其使用过程更为复杂,对算力也有更高的要求。随着计算机科学和生物信息学工具的进步,也将逐渐开发高效且用户友好的算法,多约束多过程模型有望在未来细胞工厂设计等领域中成为主流工具。

4.2 生理特性研究

基因组规模模型可以在细胞层面上解析不同

环境因子对生理特性和代谢路径的具体影响。这类研究揭示了微生物在特殊条件下的生长代谢机制,进一步辅助揭示了尚未被充分研究的生理特性。

Scott等^[104]提出,由于实验条件的局限性,葡萄酒发酵等低氧环境下的酵母代谢行为通常难以精准模拟,这也导致相关代谢机制尚未得到充分解析,而借助GEM则能很好地解决这一问题。通过使用Yeast8,他们对四种商业酵母菌株(Uvaferm、R2、Opale和Elixir)在典型酿酒发酵条件下不同生长阶段的代谢通量变化进行分析,表征其在24 h、58 h和144 h的代谢状态,以及对于挥发性有机化合物生成的影响,揭示代谢通量与菌株特有的香气特征之间的关系,为葡萄酒酵母菌株的选择和优化提供了指导策略。

具有耐寒特性的库尔德酵母(*Saccharomyces kudriavzevii*)目前已作为工业酿酒中传统酵母的良好替代,可以在较低温度下表现出更好的性能,然而其耐寒机制尚不清楚。Henriques等^[6]利用Yeast8模拟低温发酵时的动态代谢变化,将模型预测的代谢通量分布变化与其耐寒特征相关联,并基于实验验证揭示了库尔德酵母适应不同温度胁迫时的代谢策略,为改良工业菌株的耐寒性提供了潜在的代谢靶点。

4.3 培养条件优化

研究人员利用基因组规模模型,可以模拟不同营养供给、温度和溶氧水平等培养条件对目标物种的代谢效率及产物合成的影响,获得最佳培养策略,提高生产效率和产品质量。这一优化方式大幅缩短实验周期,降低生产成本,为工业应用提供了理论支持和实践方案。

Mesquita等^[105]使用iND750,模拟了不同氧气与底物通量对乙醇、CO₂、甘油和生物量的影响,确定了最大化乙醇通量时的氧气和底物供给范围。基于预测结果,动态调整氧气供给速率和葡萄糖的补料速率。与传统发酵条件和完全厌氧条件下的发酵相比,基于预测的微曝气条件,使乙醇生产效率达到了7.0 g/L,明显优于对照组。

Boojari等^[106]利用iMT1026 v3.0,结合转录组

学数据, 模拟不同补料策略下优化巴斯德毕赤酵母的代谢活动, 增加甲醇的利用效率, 从而指导开发补料分批发酵策略。通过采用混合碳源(即甲醇与甘油)补料方式, 动态调整碳源比例, 将重组人类生长激素滴度从800 mg/L提高到928 mg/L。

此外, Melo等^[107]对巴斯德毕赤酵母在不同氧气供应条件下的代谢行为进行探究, 特别关注甘油作为碳源时连续培养和分批发酵中乳酸及其副产物的生成情况。通过改变氧气浓度和底物稀释速率, 详细评估了代谢产物的生成情况, 表明在低氧条件下乳酸产量为常氧条件的5倍, 且随着甘油浓度的增加, 乳酸和阿拉伯糖醇的产量也显著增加, 并确定了最适生产条件, 为改善工业发酵工艺提供了重要参考。

4.4 相互作用模拟

代谢建模为微生物群落模拟提供了有效方法。通过整合多种微生物的基因组规模模型, 研究人员能够探究在共生、竞争或合作关系中各物种的代谢活动, 从而揭示微生物群落的动态变化及其对外部环境的响应机制, 为开发新型微生物组合或混合发酵过程提供了理论基础。

Fernández-Niño等^[108]深入研究了精致风味可发酵的工业过程, 旨在揭示其中微生物的相互作用及其对风味化合物生成的影响。研究选取四种在发酵过程中占主导地位的微生物, 即酿酒酵母、枯草芽孢杆菌、发酵黏液乳杆菌和醋酸菌, 整合相应GEM, 得到了一个包含各菌株代谢信息的“社区模型”, 识别与生产关键代谢物和风味前体相关的反应。研究团队使用该模型进一步揭示微生物之间的代谢依赖和资源共享机制, 为改进发酵过程和优化微生物群落利用提供了有效方案。

Ponomarova等^[109]通过整合酿酒酵母和两种乳酸菌的GEM, 构建了社区模型, 模拟不同成员间氮源的交换过程。通过模型预测得到, 酵母会在氮源充足时分泌谷氨酰胺等氨基酸支持乳酸菌的生长, 并进一步利用实验验证, 揭示了酵母在共培养环境中的代谢支持机制。

此前的其他综述也对酵母基因组规模模型的应用进行了介绍^[110-112]。除了以上四个主要方面外,

基因组规模模型还可用于研究种内及种间的进化关系^[22, 113-115], 以及启发新算法的开发^[116-120]等。

5 总结与展望

本文全面概述了基因组规模代谢模型及其衍生的多约束多过程模型的构建和分析方法, 回顾了酵母模型的发展历程及其在多个领域中的应用情况。基因组规模模型作为一种重要的系统生物学工具, 能够模拟不同条件下细胞活动, 为优化生产工艺、设计代谢工程策略提供了理论支持。随着建模技术的不断进步, 模型的预测能力和应用范围也在不断扩展, 推动了基础生物学研究和工业生物技术的发展。

然而, 尽管基因组规模模型已展现出诸多优点, 其发展和应用仍面临一定挑战。目前, 基础代谢相关的研究已相对成熟, 传统模型的改进空间有限, 要进一步提高模型的预测准确性和应用范围, 需引入更多新元素。此外, 现有模型仍有一定使用门槛, 限制了其受众群体, 难以实现广泛普及。

5.1 酵母共识模型的更新瓶颈

共识模型作为酵母最全面的基因组规模代谢模型, 已广泛用于多项研究, 然而随着模型的不断完善, 其更新速度也有所放缓。通过回顾共识模型的发展历程可以发现, 早期模型版本的更新间隔较短, 而从Yeast7到Yeast9的更新则经历了长达十年的时间。

在早期版本中, 许多代谢反应的缺失或错误更容易被发现和更正, 随着模型不断更新, 剩余优化空间逐渐缩小, 所增加的改进也显得更加有限。此外, GEM的更新也依赖于新的生物化学数据、文献信息和数据库的更新^[57]。对于酿酒酵母这类模式生物, 其常规代谢相关的研究已经相对全面, 而由于技术受限, 剩余的大量代谢暗物质仍未被充分理解或注释^[121], 新代谢反应的发现速度逐渐放缓, 这也导致了模型更新频率的降低^[122]。

尽管如此, 酵母共识模型仍然有许多值得探索的优化方向。例如:

(1) 目前模型多关注研究充分的主要代谢网

络，如初级代谢，而次级代谢途径（如次级代谢产物的合成途径）尚未充分挖掘与整合^[123]。另外，由于部分代谢物浓度极低，化学性质不稳定，难以通过常规技术进行检测，且复杂的代谢系统会导致许多反应难以表征，从而导致功能未知或未被检测的代谢暗物质大量存在^[124]，限制了模型的发展。目前，已有一些方法能够对代谢暗物质进行预测，Wu等^[125]利用人工智能技术，对酿酒酵母的代谢暗物质进行挖掘，预测未知基因的功能及其可能参与的代谢反应和途径。将基因组规模模型与这类方法结合，能够进一步扩充细化模型所包含的代谢反应，进一步提升模型的预测能力，并同时对这些发掘方法进行验证^[126]。

(2) 模型主要基于代谢反应的化学计量关系，在预测准确性上存在一定局限，特别是忽略了调控机制，例如转录、翻译以及代谢层面的调控等。为了提升模型对动态生物过程的模拟能力，未来可以引入更多组学数据，构建更综合的生物调控代谢模型^[127]，建立更丰富的评估框架^[128]。

(3) 为了提高模型的构建和更新效率，可以结合人工智能进一步开发自动化的模型修正和扩展工具，自动从文献中挖掘并更新代谢反应信息^[129]，通过高通量数据自动校正模型参数，或自动对代谢网络的缺口进行预测填补^[130]。

5.2 提高普及率和使用率的策略

基因组规模模型虽然展现了广泛的应用潜力，但普及率和使用率仍然有限。一个主要原因是模型的构建和分析过程较为复杂，对用户的编程技能有一定要求。为降低模型的使用门槛，研究人员可从以下几个方面入手：

(1) 开发用户友好的软件工具和界面。目前大多数基因组规模模型的构建或修改工具（如COBRA、RAVEN等）虽然为研究者提供了便利，但需要一定的编程经验。开发简洁且带有明确指引的软件或集成开发环境，可以大幅降低非计算机背景人员的使用难度。

(2) 提供标准化的使用教程。2010年，Palsson团队^[131]发表了题为“A protocol for generating a high-quality genome-scale metabolic reconstruction”的文章，

详细讲解了构建及使用GEM的96个步骤，为模型构建的各个阶段提供了指导，推动了GEM在不同领域的普及，使其从专业的研究工具走向更广泛的应用场景。之后，Chen等^[35]同样关注于降低初学者的使用门槛，在2024年发表了GECKO Toolbox 3.0及其详细的使用说明。这类使用说明能够大幅降低用户的使用门槛，方便不同层次的研究人员进行操作。

总而言之，随着合成生物学和系统生物学的快速发展，基因组规模模型对于理解和调控复杂生物系统方面存在巨大的应用潜力。为了充分发挥这一潜力，研究人员应进一步关注降低模型的使用门槛和操作难度，提供清晰的教程和指导，推进标准化与自动化建模平台的创建，使得更多的使用者，尤其是非计算机背景的用户，也能够充分利用模型进行设计分析。

参 考 文 献

- [1] GOFFEAU A, BARRELL B G, BUSSEY H, et al. Life with 6000 genes[J]. Science, 1996, 274(5287): 546-567.
- [2] BERNARD A, ROSSIGNOL T, PARK Y K. Biotechnological approaches for producing natural pigments in yeasts[J]. Trends in Biotechnology, 2024, 42(12): 1644-1662.
- [3] LIAN J Z, MISHRA S, ZHAO H M. Recent advances in metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae*: new tools and their applications[J]. Metabolic Engineering, 2018, 50: 85-108.
- [4] ZHANG Y W, YANG J J, QIAN F H, et al. Engineering a xylose fermenting yeast for lignocellulosic ethanol production[J]. Nature Chemical Biology, 2025, 21(3): 443-450.
- [5] IGUCHI H, YURIMOTO H, SAKAI Y. Interactions of methylotrophs with plants and other heterotrophic bacteria[J]. Microorganisms, 2015, 3(2): 137-151.
- [6] HENRIQUES D, MINEBOIS R, DOS SANTOS D, et al. A dynamic genome-scale model identifies metabolic pathways associated with cold tolerance in *Saccharomyces kudriavzevii* [J]. Microbiology Spectrum, 2023, 11(3): e03519-22.
- [7] HASSAN Y, CHEW S Y, THAN L T L. *Candida glabrata*: pathogenicity and resistance mechanisms for adaptation and survival[J]. Journal of Fungi, 2021, 7(8): 667.
- [8] BERNAUER L, RADKOHLE A, LEHMAYER L G K, et al. *Komagataella phaffii* as emerging model organism in fundamental research[J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 11: 607028.
- [9] CAVALLO E, CHARREAU H, CERRUTTI P, et al. *Yarrowia lipolytica*: a model yeast for citric acid production[J]. FEMS

- Yeast Research, 2017, 17(8): fox084.
- [10] MISHRA P, LEE N R, LAKSHMANAN M, et al. Genome-scale model-driven strain design for dicarboxylic acid production in *Yarrowia lipolytica*[J]. BMC Systems Biology, 2018, 12(S2): 12.
- [11] EDWARDS J S, PALSSON B O. Systems properties of the *Haemophilus influenzae* Rd metabolic genotype[J]. Journal of Biological Chemistry, 1999, 274(25): 17410-17416.
- [12] KANEHISA M, GOTO S. KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes[J]. Nucleic Acids Research, 2000, 28(1): 27-30.
- [13] KARP P D, RILEY M, SAIER M, et al. The EcoCyc and MetaCyc databases[J]. Nucleic Acids Research, 2000, 28(1): 56-59.
- [14] SCHAEFER C F, ANTHONY K, KRUPA S, et al. PID: the pathway interaction database[J]. Nucleic Acids Research, 2009, 37 (Database issue): D674-D679.
- [15] HEIRENDT L, ARRECKX S, PFAU T, et al. Creation and analysis of biochemical constraint-based models using the COBRA Toolbox v.3.0[J]. Nature Protocols, 2019, 14(3): 639-702.
- [16] EBRAHIM A, LERMAN J A, PALSSON B O, et al. COBRApy: CONstraints-based reconstruction and analysis for python[J]. BMC Systems Biology, 2013, 7: 74.
- [17] WANG H, MARCIŠAUSKAS S, SÁNCHEZ B J, et al. RAVEN 2.0: a versatile toolbox for metabolic network reconstruction and a case study on *Streptomyces coelicolor*[J]. PLoS Computational Biology, 2018, 14(10): e1006541.
- [18] BÜCHEL F, RODRIGUEZ N, SWAINSTON N, et al. Path2Models: large-scale generation of computational models from biochemical pathway maps[J]. BMC Systems Biology, 2013, 7: 116.
- [19] MACHADO D, ANDREJEV S, TRAMONTANO M, et al. Fast automated reconstruction of genome-scale metabolic models for microbial species and communities[J]. Nucleic Acids Research, 2018, 46(15): 7542-7553.
- [20] HENRY C S, DEJONGH M, BEST A A, et al. High-throughput generation, optimization and analysis of genome-scale metabolic models[J]. Nature Biotechnology, 2010, 28(9): 977-982.
- [21] ARKIN A P, COTTINGHAM R W, HENRY C S, et al. KBase: the United States department of energy systems biology knowledgebase[J]. Nature Biotechnology, 2018, 36(7): 566-569.
- [22] KUEPFER L, SAUER U, BLANK L M. Metabolic functions of duplicate genes in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Genome Research, 2005, 15(10): 1421-1430.
- [23] MACKIE A, KESELER I M, NOLAN L, et al. Dead end metabolites: defining the known unknowns of the *E. coli* metabolic network[J]. PLoS One, 2013, 8(9): e75210.
- [24] ORTH J D, CONRAD T M, NA J, et al. A comprehensive genome-scale reconstruction of *Escherichia coli* metabolism: 2011[J]. Molecular Systems Biology, 2011, 7: 535.
- [25] KING Z A, LU J, DRÄGER A, et al. BiGG Models: a platform for integrating, standardizing and sharing genome-scale models [J]. Nucleic Acids Research, 2016, 44(D1): D515-D522.
- [26] CHELLIAH V, LAIBE C, NOVÈRE N L. BioModels database: a repository of mathematical models of biological processes [M/OL]//DUBITZKY W, WOLKENHAUER O, CHO K H, et al. Encyclopedia of systems biology. New York: Springer, 2013: 134-138. (2013-04-25) [2024-12-01]. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-450-0_10.
- [27] ORTH J D, THIELE I, PALSSON B Ø. What is flux balance analysis?[J]. Nature Biotechnology, 2010, 28(3): 245-248.
- [28] MACGILLIVRAY M, KO A, GRUBER E, et al. Robust analysis of fluxes in genome-scale metabolic pathways[J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 268.
- [29] O'BRIEN E J, MONK J M, PALSSON B O. Using genome-scale models to predict biological capabilities[J]. Cell, 2015, 161(5): 971-987.
- [30] COVERT M W, XIAO N, CHEN T J, et al. Integrating metabolic, transcriptional regulatory and signal transduction models in *Escherichia coli*[J]. Bioinformatics, 2008, 24(18): 2044-2050.
- [31] SÁNCHEZ B J, ZHANG C, NILSSON A, et al. Improving the phenotype predictions of a yeast genome-scale metabolic model by incorporating enzymatic constraints[J]. Molecular Systems Biology, 2017, 13(8): 935.
- [32] THIELE I, JAMSHIDI N, FLEMING R M T, et al. Genome-scale reconstruction of *Escherichia coli*'s transcriptional and translational machinery: a knowledge base, its mathematical formulation, and its functional characterization[J]. PLoS Computational Biology, 2009, 5(3): e1000312.
- [33] PATIL K R, NIELSEN J. Uncovering transcriptional regulation of metabolism by using metabolic network topology[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2005, 102(8): 2685-2689.
- [34] LU H Z, LI F R, SÁNCHEZ B J, et al. A consensus *S. cerevisiae* metabolic model Yeast8 and its ecosystem for comprehensively probing cellular metabolism[J]. Nature Communications, 2019, 10(1): 3586.
- [35] CHEN Y, GUSTAFSSON J, TAFUR RANGEL A, et al. Reconstruction, simulation and analysis of enzyme-constrained metabolic models using GECKO Toolbox 3.0[J]. Nature Protocols, 2024, 19(3): 629-667.
- [36] ADADI R, VOLKMER B, MILO R, et al. Prediction of microbial growth rate versus biomass yield by a metabolic network with kinetic parameters[J]. PLoS Computational Biology, 2012, 8(7): e1002575.
- [37] MAO Z T, ZHAO X, YANG X, et al. ECMpy, a simplified workflow for constructing enzymatic constrained metabolic network model[J]. Biomolecules, 2022, 12(1): 65.
- [38] YANG X, MAO Z T, ZHAO X, et al. Integrating thermodynamic

- and enzymatic constraints into genome-scale metabolic models[J]. *Metabolic Engineering*, 2021, 67: 133-144.
- [39] BI X Y, CHENG Y, XU X H, et al. etiBsu1209: a comprehensive multiscale metabolic model for *Bacillus subtilis*[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2023, 120(6): 1623-1639.
- [40] LLOYD C J, EBRAHIM A, YANG L, et al. COBRAme: a computational framework for genome-scale models of metabolism and gene expression[J]. *PLoS Computational Biology*, 2018, 14(7): e1006302.
- [41] BULOVIĆ A, FISCHER S, DINH M, et al. Automated generation of bacterial resource allocation models[J]. *Metabolic Engineering*, 2019, 55: 12-22.
- [42] OFTADEH O, SALVY P, MASID M, et al. A genome-scale metabolic model of *Saccharomyces cerevisiae* that integrates expression constraints and reaction thermodynamics[J]. *Nature Communications*, 2021, 12(1): 4790.
- [43] JESKE L, PLACZEK S, SCHOMBURG I, et al. BRENDA in 2019: a European ELIXIR core data resource[J]. *Nucleic Acids Research*, 2019, 47(D1): D542-D549.
- [44] LI F R, YUAN L, LU H Z, et al. Deep learning-based keat prediction enables improved enzyme-constrained model reconstruction[J]. *Nature Catalysis*, 2022, 5(8): 662-672.
- [45] O'BRIEN E J, LERMAN J A, CHANG R L, et al. Genome-scale models of metabolism and gene expression extend and refine growth phenotype prediction[J]. *Molecular Systems Biology*, 2013, 9: 693.
- [46] FANG X, LLOYD C J, PALSSON B O. Reconstructing organisms *in silico*: genome-scale models and their emerging applications[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2020, 18(12): 731-743.
- [47] MAN O, PILPEL Y. Differential translation efficiency of orthologous genes is involved in phenotypic divergence of yeast species[J]. *Nature Genetics*, 2007, 39(3): 415-421.
- [48] DUARTE N C, BECKER S A, JAMSHIDI N, et al. Global reconstruction of the human metabolic network based on genomic and bibliomic data[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104(6): 1777-1782.
- [49] VANDERWAEREN L, DOK R, VOORDECKERS K, et al. *Saccharomyces cerevisiae* as a model system for eukaryotic cell biology, from cell cycle control to DNA damage response [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(19): 11665.
- [50] FÖRSTER J, FAMILI I, FU P, et al. Genome-scale reconstruction of the *Saccharomyces cerevisiae* metabolic network[J]. *Genome Research*, 2003, 13(2): 244-253.
- [51] DUARTE N C, HERRGÅRD M J, PALSSON B Ø. Reconstruction and validation of *Saccharomyces cerevisiae* iND750, a fully compartmentalized genome-scale metabolic model[J]. *Genome Research*, 2004, 14(7): 1298-1309.
- [52] NOOKAEW I, JEWETT M C, MEECHAI A, et al. The genome-scale metabolic model iN800 of *Saccharomyces cerevisiae* and its validation: a scaffold to query lipid metabolism[J]. *BMC Systems Biology*, 2008, 2: 71.
- [53] HERRGÅRD M J, SWAINSTON N, DOBSON P, et al. A consensus yeast metabolic network reconstruction obtained from a community approach to systems biology[J]. *Nature Biotechnology*, 2008, 26(10): 1155-1160.
- [54] ZOMORRODI A R, MARANAS C D. Improving the iMM904 *S. cerevisiae* metabolic model using essentiality and synthetic lethality data[J]. *BMC Systems Biology*, 2010, 4: 178.
- [55] HEAVNER B D, SMALLBONE K, BARKER B, et al. Yeast5- an expanded reconstruction of the *Saccharomyces cerevisiae* metabolic network[J]. *BMC Systems Biology*, 2012, 6: 55.
- [56] ÖSTERLUND T, NOOKAEW I, BORDEL S, et al. Mapping condition-dependent regulation of metabolism in yeast through genome-scale modeling[J]. *BMC Systems Biology*, 2013, 7: 36.
- [57] ZHANG C Y, SÁNCHEZ B J, LI F R, et al. Yeast9: a consensus genome-scale metabolic model for *S. cerevisiae* curated by the community[J]. *Molecular Systems Biology*, 2024, 20(10): 1134-1150.
- [58] DOBSON P D, SMALLBONE K, JAMESON D, et al. Further developments towards a genome-scale metabolic model of yeast[J]. *BMC Systems Biology*, 2010, 4: 145.
- [59] HEAVNER B D, SMALLBONE K, PRICE N D, et al. Version 6 of the consensus yeast metabolic network refines biochemical coverage and improves model performance[J]. *Database*, 2013, 2013: bat059.
- [60] AUNG H W, HENRY S A, WALKER L P. Revising the representation of fatty acid, glycerolipid, and glycerophospholipid metabolism in the consensus model of yeast metabolism[J]. *Industrial Biotechnology*, 2013, 9(4): 215-228.
- [61] HAN S Y, WU K, WANG Y H, et al. Auxotrophy-based curation improves the consensus genome-scale metabolic model of yeast[J]. *Synthetic and Systems Biotechnology*, 2024, 9(4): 861-870.
- [62] MO M L, PALSSON B Ø, HERRGÅRD M J. Connecting extracellular metabolomic measurements to intracellular flux states in yeast[J]. *BMC Systems Biology*, 2009, 3: 37.
- [63] TSOUKA S, HATZIMANIKATIS V. redLips: a comprehensive mechanistic model of the lipid metabolic network of yeast[J]. *FEMS Yeast Research*, 2020, 20(2): foaa006.
- [64] SCOTT W T JR, SMID E J, NOTEBAART R A, et al. Curation and analysis of a *Saccharomyces cerevisiae* genome-scale metabolic model for predicting production of sensory impact molecules under enological conditions[J]. *Processes*, 2020, 8(9): 1195.
- [65] CHOWDHURY R, CHOWDHURY A, MARANAS C D. Using

- gene essentiality and synthetic lethality information to correct yeast and CHO cell genome-scale models[J]. *Metabolites*, 2015, 5(4): 536-570.
- [66] ATA Ö, ERGÜN B G, FICKERS P, et al. What makes *Komagataella phaffii* non-conventional? [J]. *FEMS Yeast Research*, 2021, 21(8): foab059.
- [67] SOHN S B, GRAF A B, KIM T Y, et al. Genome-scale metabolic model of methylotrophic yeast *Pichia pastoris* and its use for *in silico* analysis of heterologous protein production [J]. *Biotechnology Journal*, 2010, 5(7): 705-715.
- [68] CHUNG B K, SELVARASU S, CAMATTARI A, et al. Genome-scale metabolic reconstruction and *in silico* analysis of methylotrophic yeast *Pichia pastoris* for strain improvement [J]. *Microbial Cell Factories*, 2010, 9: 50.
- [69] CASPETA L, SHOAI S, AGREN R, et al. Genome-scale metabolic reconstructions of *Pichia stipitis* and *Pichia pastoris* and *in silico* evaluation of their potentials[J]. *BMC Systems Biology*, 2012, 6: 24.
- [70] TOMÀS-GAMISANS M, FERRER P, ALBIOL J. Integration and validation of the genome-scale metabolic models of *Pichia pastoris*: a comprehensive update of protein glycosylation pathways, lipid and energy metabolism[J]. *PLoS One*, 2016, 11(1): e0148031.
- [71] TOMÀS-GAMISANS M, FERRER P, ALBIOL J. Fine-tuning the *P. pastoris* iMT1026 genome-scale metabolic model for improved prediction of growth on methanol or glycerol as sole carbon sources[J]. *Microbial Biotechnology*, 2018, 11(1): 224-237.
- [72] LOIRA N, DULERMO T, NICAUD J M, et al. A genome-scale metabolic model of the lipid-accumulating yeast *Yarrowia lipolytica*[J]. *BMC Systems Biology*, 2012, 6: 35.
- [73] KERKHOVEN E J, POMRANING K R, BAKER S E, et al. Regulation of amino-acid metabolism controls flux to lipid accumulation in *Yarrowia lipolytica*[J]. *NPJ Systems Biology and Applications*, 2016, 2: 16005.
- [74] GUO Y F, SU L Q, LIU Q, et al. Dissecting carbon metabolism of *Yarrowia lipolytica* type strain W29 using genome-scale metabolic modelling[J]. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 2022, 20: 2503-2511.
- [75] ZHU Z W, ZHANG S F, LIU H W, et al. A multi-omic map of the lipid-producing yeast *Rhodospiridium toruloides*[J]. *Nature Communications*, 2012, 3: 1112.
- [76] TIUKOVA I A, PRIGENT S, NIELSEN J, et al. Genome-scale model of *Rhodotorula toruloides* metabolism[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2019, 116(12): 3396-3408.
- [77] KIM J H, CORADETTI S T, KIM Y M, et al. Multi-omics driven metabolic network reconstruction and analysis of lignocellulosic carbon utilization in *Rhodospiridium toruloides* [J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2021, 8: 612832.
- [78] LIEBAL U W, FABRY B A, RAVIKRISHNAN A, et al. Genome-scale model reconstruction of the methylotrophic yeast *Ogataea polymorpha*[J]. *BMC Biotechnology*, 2021, 21(1): 23.
- [79] MISHRA P, PARK G Y, LAKSHMANAN M, et al. Genome-scale metabolic modeling and *in silico* analysis of lipid accumulating yeast *Candida tropicalis* for dicarboxylic acid production[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2016, 113(9): 1993-2004.
- [80] XU N, LIU L M, ZOU W, et al. Reconstruction and analysis of the genome-scale metabolic network of *Candida glabrata*[J]. *Molecular BioSystems*, 2013, 9(2): 205-216.
- [81] VYAS A, FREITAS A V, RALSTON Z A, et al. Fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*: a unicellular "micromammal" model organism[J]. *Current Protocols*, 2021, 1(6): e151.
- [82] SOHN S B, KIM T Y, LEE J H, et al. Genome-scale metabolic model of the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe* and the reconciliation of *in silico/in vivo* mutant growth[J]. *BMC Systems Biology*, 2012, 6: 49.
- [83] GRIGAITIS P, GRUNDEL D A J, VAN PELT-KLEINJAN E, et al. A computational toolbox to investigate the metabolic potential and resource allocation in fission yeast[J]. *mSystems*, 2022, 7(4): e0042322.
- [84] SPOHNER S C, SCHAUM V, QUITMANN H, et al. *Kluyveromyces lactis*: an emerging tool in biotechnology[J]. *Journal of Biotechnology*, 2016, 222: 104-116.
- [85] DIAS O, PEREIRA R, GOMBERT A K, et al. iOD907, the first genome-scale metabolic model for the milk yeast *Kluyveromyces lactis*[J]. *Biotechnology Journal*, 2014, 9(6): 776-790.
- [86] MARCIŠAUSKAS S, JI B Y, NIELSEN J. Reconstruction and analysis of a *Kluyveromyces marxianus* genome-scale metabolic model[J]. *BMC Bioinformatics*, 2019, 20(1): 551.
- [87] PAPINI M, NOOKAEW I, UHLÉN M, et al. *Scheffersomyces stipitis*: a comparative systems biology study with the Crabtree positive yeast *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Microbial Cell Factories*, 2012, 11: 136.
- [88] BALAGURUNATHAN B, JONNALAGADDA S, TAN L, et al. Reconstruction and analysis of a genome-scale metabolic model for *Scheffersomyces stipitis*[J]. *Microbial Cell Factories*, 2012, 11: 27.
- [89] HILLIARD M, DAMIANI A, HE Q P, et al. Elucidating redox balance shift in *Scheffersomyces stipitis*' fermentative metabolism using a modified genome-scale metabolic model[J]. *Microbial Cell Factories*, 2018, 17(1): 140.
- [90] LI G, HU Y T, ZRIMEC J, et al. Bayesian genome scale modelling identifies thermal determinants of yeast metabolism [J]. *Nature Communications*, 2021, 12(1): 190.
- [91] CHEN Y, LI F R, MAO J W, et al. Yeast optimizes metal utilization based on metabolic network and enzyme kinetics[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2021, 118(12): e2101118.

- States of America, 2021, 118(12): e2020154118.
- [92] ELSEMMAN I E, RODRIGUEZ PRADO A, GRIGAITIS P, et al. Whole-cell modeling in yeast predicts compartment-specific proteome constraints that drive metabolic strategies[J]. *Nature Communications*, 2022, 13(1): 801.
- [93] LI F R, CHEN Y, QI Q, et al. Improving recombinant protein production by yeast through genome-scale modeling using proteome constraints[J]. *Nature Communications*, 2022, 13(1): 2969.
- [94] DOMENZAIN I, SÁNCHEZ B, ANTON M, et al. Reconstruction of a catalogue of genome-scale metabolic models with enzymatic constraints using GECKO 2.0[J]. *Nature Communications*, 2022, 13(1): 3766.
- [95] REKĚNA A, PINHEIRO M J, BONTURI N, et al. Genome-scale metabolic modeling reveals metabolic trade-offs associated with lipid production in *Rhodotorula toruloides*[J]. *PLoS Computational Biology*, 2023, 19(4): e1011009.
- [96] BATTJES J, GRIGAITIS P, HOVING M, et al. Mitochondrial efficiency determines Crabtree effect across yeasts[EB/OL]. *bioRxiv*, 2024: 2024.11.01.621473. (2024-11-03)[2024-11-15]. <https://doi.org/10.1101/2024.11.01.621473>.
- [97] GRIGAITIS P, VAN DEN BOGAARD S L, TEUSINK B. Elevated energy costs of biomass production in mitochondrial respiration-deficient *Saccharomyces cerevisia*[J]. *FEMS Yeast Research*, 2023, 23: foad008.
- [98] CHOI B, TAFUR RANGEL A, KERKHOVEN E J, et al. Engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for enhanced metabolic robustness and L-lactic acid production from lignocellulosic biomass[J]. *Metabolic Engineering*, 2024, 84: 23-33.
- [99] QIN N, LI L Y, WAN X Z, et al. Increased CO₂ fixation enables high carbon-yield production of 3-hydroxypropionic acid in yeast[J]. *Nature Communications*, 2024, 15(1): 1591.
- [100] ISHCHUK O P, DOMENZAIN I, SÁNCHEZ B J, et al. Genome-scale modeling drives 70-fold improvement of intracellular heme production in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2022, 119(30): e2108245119.
- [101] BERNAT-CAMPS N, EBNER K, SCHUSTERBAUER V, et al. Enabling growth-decoupled *Komagataella phaffii* recombinant protein production based on the methanol-free P_{DH} promoter[J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2023, 11: 1130583.
- [102] WEFELMEIER K, SCHMITZ S, KÖSTERS B J, et al. Methanol bioconversion into C₃, C₄, and C₅ platform chemicals by the yeast *Ogataea polymorpha*[J]. *Microbial Cell Factories*, 2024, 23(1): 8.
- [103] DA VEIGA MOREIRA J, JOLICOEUR M, SCHWARTZ L, et al. Fine-tuning mitochondrial activity in *Yarrowia lipolytica* for citrate overproduction[J]. *Scientific Reports*, 2021, 11(1): 878.
- [104] SCOTT W T JR, SMID E J, BLOCK D E, et al. Metabolic flux sampling predicts strain-dependent differences related to aroma production among commercial wine yeasts[J]. *Microbial Cell Factories*, 2021, 20(1): 204.
- [105] MESQUITA T J B, SARGO C R, FUZER NETO J R, et al. Metabolic fluxes-oriented control of bioreactors: a novel approach to tune micro-aeration and substrate feeding in fermentations[J]. *Microbial Cell Factories*, 2019, 18(1): 150.
- [106] BOOJARI M A, GHALEDARI F R, MOTAMEDIAN E, et al. Developing a metabolic model-based fed-batch feeding strategy for *Pichia pastoris* fermentation through fine-tuning of the methanol utilization pathway[J]. *Microbial Biotechnology*, 2023, 16(6): 1344-1359.
- [107] TAMIREZ MOREIRA MELO N, PONTES G C, PROCÓPIO D P, et al. Evaluation of product distribution in chemostat and batch fermentation in lactic acid-producing *Komagataella phaffii* strains utilizing glycerol as substrate[J]. *Microorganisms*, 2020, 8(5): 781.
- [108] FERNÁNDEZ-NIÑO M, RODRÍGUEZ-CUBILLOS M J, HERRERA-ROCHA F, et al. Dissecting industrial fermentations of fine flavour cocoa through metagenomic analysis[J]. *Scientific Reports*, 2021, 11(1): 8638.
- [109] PONOMAROVA O, GABRIELLI N, SÉVIN D C, et al. Yeast creates a niche for symbiotic lactic acid bacteria through nitrogen overflow[J]. *Cell Systems*, 2017, 5(4): 345-357.e6.
- [110] ÖSTERLUND T, NOOKAEW I, NIELSEN J. Fifteen years of large scale metabolic modeling of yeast: developments and impacts[J]. *Biotechnology Advances*, 2012, 30(5): 979-988.
- [111] GU C D, KIM G B, KIM W J, et al. Current status and applications of genome-scale metabolic models[J]. *Genome Biology*, 2019, 20(1): 121.
- [112] DOMENZAIN I, LI F R, KERKHOVEN E J, et al. Evaluating accessibility, usability and interoperability of genome-scale metabolic models for diverse yeasts species[J]. *FEMS Yeast Research*, 2021, 21(1): foab002.
- [113] MAHADEVAN R, LOVLEY D R. The degree of redundancy in metabolic genes is linked to mode of metabolism[J]. *Biophysical Journal*, 2008, 94(4): 1216-1220.
- [114] DEUTSCHER D, MEILJSON I, KUPIEC M, et al. Multiple knockout analysis of genetic robustness in the yeast metabolic network[J]. *Nature Genetics*, 2006, 38(9): 993-998.
- [115] CHEN L F, VITKUP D. Predicting genes for orphan metabolic activities using phylogenetic profiles[J]. *Genome Biology*, 2006, 7(2): R17.
- [116] RAZAGHI-MOGHADAM Z, BABADI F S, NIKOLOSKI Z. Harnessing the optimization of enzyme catalytic rates in engineering of metabolic phenotypes[J]. *PLoS Computational Biology*, 2024, 20(11): e1012576.
- [117] SÁNCHEZ B J, LI F R, KERKHOVEN E J, et al. SLIMER: probing flexibility of lipid metabolism in yeast with an improved constraint-based modeling framework[J]. *BMC Systems Biology*,

- 2019, 13(1): 4.
- [118] DE MOURA FERREIRA M A, WENDERING P, AREND M, et al. Accurate prediction of *in vivo* protein abundances by coupling constraint-based modelling and machine learning[J]. *Metabolic Engineering*, 2023, 80: 184-192.
- [119] BURGARD A P, NIKOLAEV E V, SCHILLING C H, et al. Flux coupling analysis of genome-scale metabolic network reconstructions[J]. *Genome Research*, 2004, 14(2): 301-312.
- [120] SMALLBONE K, SIMEONIDIS E, SWAINSTON N, et al. Towards a genome-scale kinetic model of cellular metabolism [J]. *BMC Systems Biology*, 2010, 4: 6.
- [121] MOHAMMADIPEYHANI H, HAFNER J, SVESHNIKOVA A, et al. Expanding biochemical knowledge and illuminating metabolic dark matter with ATLASx[J]. *Nature Communications*, 2022, 13(1): 1560.
- [122] NIELSEN J, KEASLING J D. Engineering cellular metabolism [J]. *Cell*, 2016, 164(6): 1185-1197.
- [123] CROWE S A, LIU Y Z, ZHAO X X, et al. Advances in engineering nucleotide sugar metabolism for natural product glycosylation in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *ACS Synthetic Biology*, 2024, 13(6): 1589-1599.
- [124] LERMA-ORTIZ C, JEFFRYES J G, COOPER A J L, et al. ‘Nothing of chemistry disappears in biology’: the top 30 damage-prone endogenous metabolites[J]. *Biochemical Society Transactions*, 2016, 44(3): 961-971.
- [125] WU K, LIU H, SUN M, et al. Yeast-MetaTwin for systematically exploring yeast metabolism through retrobiosynthesis and deep learning[EB/OL]. *bioRxiv*, 2024: 2024.09.02.610684. (2024-09-02)[2024-11-01]. <https://doi.org/10.1101/2024.09.02.610684>.
- [126] NIELSEN J C, NIELSEN J. Development of fungal cell factories for the production of secondary metabolites: Linking genomics and metabolism[J]. *Synthetic and Systems Biotechnology*, 2017, 2(1): 5-12.
- [127] LU H Z, KERKHOVEN E J, NIELSEN J. Multiscale models quantifying yeast physiology: towards a whole-cell model[J]. *Trends in Biotechnology*, 2022, 40(3): 291-305.
- [128] SEN P, OREŠIČ M. Integrating omics data in genome-scale metabolic modeling: a methodological perspective for precision medicine[J]. *Metabolites*, 2023, 13(7): 855.
- [129] GUO J, IBANEZ-LOPEZ A S, GAO H Y, et al. Automated chemical reaction extraction from scientific literature[J]. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 2022, 62(9): 2035-2045.
- [130] BESSELL B, LOECKER J, ZHAO Z Y, et al. COMO: a pipeline for multi-omics data integration in metabolic modeling and drug discovery[J]. *Briefings in Bioinformatics*, 2023, 24(6): bbad387.
- [131] THIELE I, PALSSON B Ø. A protocol for generating a high-quality genome-scale metabolic reconstruction[J]. *Nature Protocols*, 2010, 5(1): 93-121.



通讯作者: 陈禹(1990—),男,研究员,博士生导师。研究方向为系统生物学和定量合成生物学,致力于结合代谢网络建模和生物数据分析加速合成生物系统理性设计。

E-mail: y.chen3@siat.ac.cn



第一作者: 李永珠(2001—),女,硕士研究生。研究方向为代谢网络建模。

E-mail: yz.li4@siat.ac.cn