

特约评述

DOI: 10.12211/2096-8280.2026-010

母乳结构脂的生物合成研究进展：从酶法催化到微生物细胞工厂合成

刘芮存, 陈晓艳, 赵健, 蔡佩言, 吴若男, 毛跃建, 尹升明

(内蒙古蒙牛乳业(集团)股份有限公司全球研发创新中心, 呼和浩特 011500, 内蒙古)

摘要: 母乳中的脂肪是婴幼儿营养的核心, 其营养功能不仅取决于脂肪酸组成, 更依赖脂肪酸在甘油骨架上的立体特异性分布。实现其立体结构的精准重构, 是实现母乳脂肪功能模拟的关键科学前提。酶法催化凭借脂肪酶优异的位置选择性, 是目前合成母乳结构脂 (human milk fat substitutes, HMFS) 的主流技术, 但在结构精准性、原料依赖和规模化成本等方面仍面临挑战。合成生物学的发展为 HMFS 的创制提供了新的路径, 通过构建高效微生物细胞工厂, 实现以廉价碳源为原料的结构脂肪可编程合成。本文系统性比较了不同技术路线在结构精准性、工艺复杂度与产业化潜力方面的优势与局限, 探讨了人工智能等新兴工具的应用潜力, 并对未来 HMFS 生物制造的发展方向做出分析与展望。借助合成生物学及人工智能技术, 设计并构建高效细胞工厂, 有望将 HMFS 的生产推入精准、高效、可持续的生物制造新阶段, 为婴幼儿营养健康提供更优质的解决方案。

关键词: 母乳结构脂; 微生物细胞工厂; 甘油三酯; 合成生物学; 生物制造

中图分类号: Q81 **文献标志码:** A

Advances in the Biosynthesis of Human Milk Fat Substitutes: From Enzymatic Catalysis to Microbial Cell Factories

LIU Ruicun, CHEN Xiaoyan, ZHAO Jian, CAI Peiyan, WU Ruonan, MAO Yuejian, YIN Shengming

(Global R&D Innovation Center, Inner Mongolia Mengniu Dairy (Group) Co. Ltd., Hohhot 011500, Inner Mongolia, China)

Abstract: Human milk fat (HMF) serves as a primary energy source and a vital nutritional component for infant development. Its physiological functions are determined not only by its diverse fatty acid composition but, more critically, by the stereospecific positional distribution patterns of these fatty acids on the glycerol backbone. Specifically, fatty acid profiles with sn-2 preference are a key feature of triacylglycerols (TAG). In particular, the predominance of palmitic acid at the sn-2 position is a hallmark of HMF, facilitating optimal calcium absorption and intestinal health in neonates. Therefore, the precise reconstruction of these stereospecific structures represents a

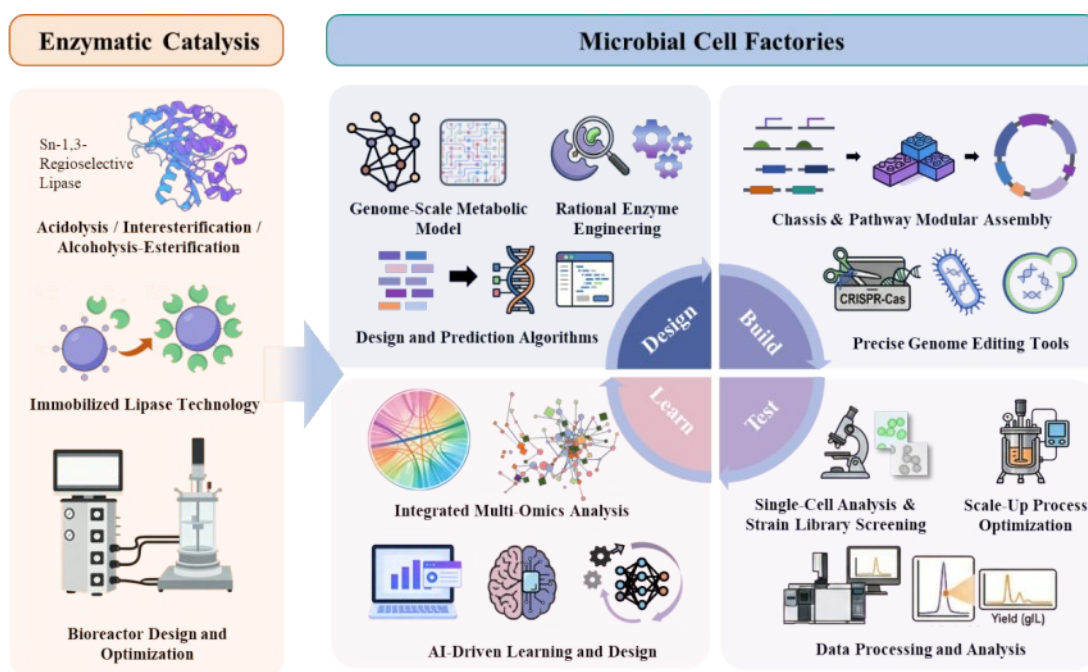
收稿日期: 2026-03-03 修回日期: 2026-05-22

基金项目: 内蒙古自治区自然科学基金项目青年基金项目(2025QN03074)

引用本文: 刘芮存, 陈晓艳, 赵健, 蔡佩言, 吴若男, 毛跃建, 尹升明. 母乳结构脂的生物合成研究进展: 从酶法催化到微生物细胞工厂合成[J]. 合成生物学, 2026, 7. DOI: 10.12211/2096-8280.2026-010

Citation: LIU Ruicun, CHEN Xiaoyan, ZHAO Jian, CAI Peiyan, WU Ruonan, MAO Yuejian, YIN Shengming. Advances in the Biosynthesis of Human Milk Fat Substitutes: From Enzymatic Catalysis to Microbial Cell Factories[J]. Synthetic Biology Journal, 2026, 7. DOI: 10.12211/2096-8280.2026-010

fundamental scientific prerequisite for achieving functional mimicry of human milk in infant formulas. Historically, enzymatic catalysis, leveraging the excellent positional selectivity of lipases, was the pioneering technology for synthesizing human milk fat substitutes (HMFS). It remains the current mainstream approach; however, it still faces challenges in structural precision, feedstock dependence, and scaling costs. The emergence of synthetic biology offers a transformative paradigm shift for the de novo synthesis of HMFS. By constructing efficient microbial cell factories, researchers can achieve programmable synthesis of structured lipids from inexpensive carbon sources, such as glucose or lignocellulosic biomass. This review systematically compares the advantages and limitations of different technical routes regarding structural fidelity, engineering complexity, and industrial potential. Within the framework, we highlight systematic engineering strategies for microbial lipid synthesis, ranging from the selection and adaptation of optimal chassis cells to the elucidation of endogenous metabolic pathways and the rational redesign of key enzymes, to achieve desired outcomes. We also explore the potential applications of emerging tools, such as artificial intelligence, and provide an outlook on the future development of HMFS biomanufacturing. By leveraging synthetic biology and AI-assisted design to construct efficient cell factories, it is expected that HMFS production will enter a new era of precise, efficient, and sustainable biomanufacturing, offering improved nutritional solutions for infant health.



Keywords: human milk fat substitutes; microbial cell factories; triacylglycerol; synthetic biology; biomanufacturing

1 引言

脂质是母乳中重要的组成成分，约占母乳的3%-5%，为婴幼儿提供50%的生命活动所需能量。人母乳脂质（human milk fat, HMF）成分复杂，包含甘油三酯、磷脂和固醇等，其中甘油三酯（triacylglycerol, TAG）的含量占总脂质的98%，

是HMF的核心成分与能量载体^[1]。TAG的结构多样性既取决于脂肪酸的链长与不饱和度，也与脂肪酸在甘油骨架上的位置分布密切相关，其结构特征直接决定了在婴幼儿体内的消化吸收模式与营养功效^[2]。研究表明，在人母乳脂肪中超过70%的棕榈酸稳定酯化于TAG的sn-2位，这一结构特征可显著降低钙皂形成，提高脂肪消化效率，

促进脂溶性维生素及矿物质的吸收,从而对婴幼儿的早期代谢发育与长期健康产生深远影响^[3-5]。鉴于sn-2位棕榈酸富集的关键营养优势,如何在工业层面精准复现这一分子构型,即制备母乳结构脂(human milk fat substitute, HMFS),已成为现代婴幼儿营养科学及食品制造领域的重要课题^[6]。

目前HMFS的合成主要通过化学法和酶法实现。化学法在反应步骤上相对简化,但反应随机性强、副产物多,且下游分离与质量控制的成本较高,难以满足HMFS立体结构特异性的要求^[7-9]。相比之下,酶法催化技术凭借脂肪酶的优异位置选择性,可在温和条件下实现酰基的定向转移,逐步成为合成结构明确、营养适配的HMFS的主流工艺^[10-13]。然而,因其对高纯度原料的依赖、高昂的催化剂成本以及复杂冗长的分离工艺,酶法合成在大规模产业化应用中受限于显著的成本瓶颈。

近年来,合成生物学、代谢工程与人工智能等前沿领域的交叉融合推动生物制造模式发生深刻变革^[14-16]。通过理性设计与系统重构,构建能够直接利用葡萄糖、甘油或木质纤维素水解液等可再生碳源,并定向合成结构明确、功能特定的油脂的高效微生物细胞工厂,已成为脂肪研究的重要研究方向^[17]。该策略不仅有望摆脱对天然油脂原料的依赖,简化下游分离工艺,更能通过模块化途径设计与动态代谢调控,实现产物结构与组成的可编程控制。

本文系统梳理了HMFS的组成特征与营养功能,在简要回顾酶法催化技术研究进展的基础上,重点围绕合成生物学路径展开综述,剖析其在微生物细胞工厂构建、代谢通路重构及关键酶元件设计等方面的最新进展,以期为该领域实现高效、精准与可持续发展提供系统性参考。综合来看,酶法催化目前是产业化的主导技术,而微生物从头合成路径则展现出更为长远的应用前景。生物合成效率、工艺成本控制以及法规监管体系的协同突破,是该领域从实验室走向产业化的关键所在,也是未来研究的核心命题。

2 母乳脂肪的组成与结构特征

母乳是满足婴儿早期生长发育需求的理想天

然食物,母乳中的脂质则是婴儿膳食能量的重要来源^[1-3]。人母乳脂肪成分复杂,仅TAG就超过100种,还包括磷脂、胆固醇及微量游离脂肪酸等成分。TAG作为人母乳脂肪的主要组成部分,由1个甘油分子和3个脂肪酸分子构成,在能量供给和乳脂肪球结构的稳定性上发挥核心作用^[18]。

母乳中的脂肪酸种类繁多,主要分为饱和脂肪酸、单不饱和脂肪酸与多不饱和脂肪酸。棕榈酸(C16:0)是母乳脂肪中最丰富的饱和脂肪酸,其含量占总脂肪酸的20-30%,其在甘油骨架上的特异性分布更是决定母乳脂质营养优势的关键因素。单不饱和脂肪酸以油酸(C18:1)为主,在调节脂质流动性和能量代谢中扮演重要角色^[19]。多不饱和脂肪酸主要包括亚油酸(C18:2)、 α -亚麻酸(C18:3),以及由亚油酸延伸合成的花生四烯酸(ARA)和二十二碳六烯酸(DHA)等长链多不饱和脂肪酸,这些长链多不饱和脂肪酸对婴儿神经发育及视觉功能具有关键作用^[20]。值得注意的是,不同哺乳阶段、母亲膳食结构及遗传背景均会影响母乳中各类脂肪酸的含量与比例。

甘油三酯的生理功能不仅取决于脂肪酸的链长与饱和度,更与其在甘油骨架上的空间排布密切相关。TAG分子由甘油骨架和分别连接于sn-1、sn-2与sn-3位点上的三个脂肪酸分子构成(图1a)。母乳TAG的脂肪酸在空间上的分布并非随机,而是具有显著的位置特异性,最具代表性的结构特征是棕榈酸在sn-2位点的高度富集。研究表明,约70% - 75%的棕榈酸特异性地酯化于sn-2位点,而sn-1和sn-3位点则主要被油酸等不饱和脂肪酸占据,形成典型的1,3-二油酸2-棕榈酸甘油三酯(OPO,图1b)^[21]。与此同时,1-油酸-2-棕榈酸-3-亚油酸甘油三酯(OPL,图1c)也是母乳中含量较为丰富的TAG构型之一。这种独特的sn-2位棕榈酸富集模式可显著减少肠腔内钙皂的形成,提高脂肪水解效率,并促进脂溶性维生素及矿物质的吸收,从而赋予OPO与OPL在促进脂肪消化吸收、提高矿物质生物利用度及支持婴幼儿生长发育等方面的独特营养学优势^[22, 23]。目前,这两种结构脂质已成为母乳脂质研究及婴幼儿配方脂质设计的重点关注对象。

在无法实现母乳喂养的情况下,婴儿通常需



图1 甘油三酯、OPO与OPL的分子结构

(a) 甘油三酯 (TAG) 的分子结构, R₁、R₂、R₃ 分别代表 sn-1、sn-2 及 sn-3 位点上的脂肪酸酰基链; (b) 1,3-二油酸-2-棕榈酸甘油三酯 (OPO) 的分子结构; (c) 1-油酸-2-棕榈酸-3-亚油酸甘油三酯 (OPL) 的分子结构。

Fig. 1 Molecular structures of triacylglycerol, OPO and OPL.

(a) Molecular structure of triacylglycerol (TAG). R₁, R₂ and R₃ denote the fatty acyl chains esterified at the sn-1, sn-2 and sn-3 positions, respectively. (b) Molecular structure of 1,3-diacylglycerol (OPO). (c) Molecular structure of 1-oleoyl-2-palmitoyl-3-linoleoylglycerol (OPL).

要依赖母乳替代品来满足营养需求。然而,目前市售婴幼儿配方奶粉的脂肪酸组成和 TAG 结构与母乳仍存在差异,尚不能实现母乳中关键甘油三酯(如 OPO、OPL)的精准构建^[24, 25]。例如,研究人员通过对 10 种不同品牌婴幼儿配方奶粉的脂肪酸组成进行检测,发现不同品牌间的脂肪酸含量差异显著,棕榈酸含量介于 14.77% 与 35.72% 之间,亚油酸含量介于 4.68 % 与 27.07% 之间,且与母乳相比仍有明显差距^[26];此外,母乳中约 70% 的棕榈酸酯化于 TAG 的 sn-2 位,而配方奶粉中这一比例通常偏低。这种结构上的差异是造成配方脂质营养功能不足的主要原因,进而凸显了在分子结构层面精准模拟母乳 TAG 合成路径的必要性^[27]。

3 基于酶法催化的母乳结构脂制备合成

目前, HMFS 的制备依赖于化学合成与酶法合成两大技术路线。传统的化学合成法(如甲醇钠

催化的酯交换)通常在高温与强化学催化剂下进行,反应随机性强,难以在分子结构层面精准复现母乳脂肪的立体特征,同时存在副产物多、能耗高等局限^[7-9]。相比之下,酶法催化合成凭借脂肪酶的优异位置选择性,能够在温和条件下实现脂肪酸在甘油骨架上的定向重构,是当前 HMFS 制备中最为成熟且已实现产业化应用的技术路径^[10-13]。为系统比较不同技术路线的特点与差异,表 1 对化学法、酶法(酸解、酯交换、多步法)及微生物合成法进行了多维度对比。

酶法合成的核心是利用高特异性脂肪酶作为“分子剪刀”与“装配工具”。脂肪酶不仅能催化甘油三酯的水解,也能在疏水环境中催化 TAG 的逆反应酯化,从而介导酸解、酯交换及醇解等多种酰基转移反应,构建特定立体结构的脂质。根据对甘油骨架上酰基位置的选择性,脂肪酶催化特性主要分为 sn-1, 3 位点特异性与非特异性两类:前者优先催化 sn-1 和 sn-3 位的酰基酯键,适用于需保留 sn-2 位原有脂肪酸的结构脂定向合成;

表1 不同技术路线在母乳结构脂生产中的比较

Table 1 Comparison of different technological routes for the production of human milk fat substitutes.						
技术路线		反应条件	生产成本	原料依赖	生产效率	生产安全性
化学法 ^[7, 8, 28]		高温、强碱； 条件苛刻	催化成本低；能耗 高；批次生产	无特殊要求	sn-2 位棕榈酸控制随机分布，sn-2 位保留 率低；产物易降解，副产物多	存在化学试剂 与金属残留风险
酶法 ^[10-13]	酸解	条件温和； 酶催化	脂肪酶成本高；但 能耗低；可连续生产	需 sn-2 位棕榈 酸富集油脂	可较好保留 sn-2 位棕榈酸；得率较高 (OPO 及 OPL 占比可达 70 %)；会产生副产 物游离脂肪酸等	无溶剂体系， 安全性高
	酯交换	条件温和； 酶催化	脂肪酶成本高；但 能耗低；可连续生产	需 sn-2 位棕榈 酸富集油脂	易发生酰基随机重排，sn-2 位棕榈酸保留 率低；得率中等(OPO 及 OPL 占比一般为 50 %)；游离脂肪酸少，产物易分离纯化	无溶剂体系， 安全性高
	多步法	条件温和； 酶催化；但 工艺复杂	脂肪酶成本高；多 步分离能耗高	需高纯度 sn-2 棕榈酸单甘酯	可精准控制 sn-2 位棕榈酸生成；得率高 (OPO 及 OPL 占比可达 80 % 以上)；工艺复 杂、成本高、放大潜力低	反应多涉及有 机溶剂，需严格 控制溶剂残留
微生物 合成法	底物 依赖型 ^[29-31]	温和；发酵； 周期较长	底物成本高；发酵 成本中等；技术投入 较高	依赖油脂	sn-2 位保留率较高；得率较高(OPO 及 OPL 占比可达 70 %)；改造周期长；下游提 取和纯化工艺仍需优化	需考虑宿主菌 株安全性
	从头 合成型 ^[32-34]	温和；发酵； 周期较长	底物成本低(葡萄 糖等)；发酵成本中 等；技术投入较高	葡萄糖、甘油 等廉价碳源	sn-2 位棕榈酸控制能力潜力高(设计空间 大)；当前产量较低(mg/L 级)；底盘微生物改 造周期长；下游提取和纯化工艺仍需优化	需考虑宿主菌 株安全性

后者则无位置选择性，易导致酰基随机重排。然而，天然脂肪酶在实际应用中仍面临热稳定性不足、催化效率有限等问题。为此，蛋白质工程策略（包括定向进化与理性设计）被广泛用于脂肪酶分子的精准改造，以增强其热稳定性、催化活性及位点选择特异性。同时，基于介孔二氧化硅或聚合树脂等载体的酶固定化技术，结合搅拌式、填充床式等反应器的优化设计，可显著提高脂肪酶的重复使用性与操作稳定性，为结构脂质的规模化制备奠定基础^[35-38]。

目前，HMFS 的酶法合成已形成酸解、酯交换及多步酶法等主要技术路径（图 2），为不同原料条件和产物需求提供了灵活的选择空间。

酸解法是目前应用最为广泛的酶法合成策略（图 2a）。该策略通常以富含 sn-2 位棕榈酸的油脂（如三棕榈酸甘油酯、棕榈硬脂、猪油分提物等）为酰基受体，以油酸或高油酸植物油的游离脂肪酸为酰基供体，在 sn-1, 3 位点特异性脂肪酶催化下引入油酸等不饱和脂肪酸，实现 TAG 结构重构。目前已有多项研究通过优化反应温度、底物摩尔比和酶负载量，实现了较高的 sn-2 位棕榈酸保留率和 OPO/OPL 得率^[39-41]，例如 Wang 等采用分提棕榈硬脂与游离油酸、亚油酸的方法进行单步酶促酸解，OPO 与 OPL 总产率为 69.26%^[39]；Gu 等利

用米曲霉脂肪酶通过一步酸解法合成 OPO 含量较高的 TAG，油脂中 sn-2 位棕榈酸的比例达 57.46%^[40]；Qin 等采用程序降温联合酶法酸解策略，逐步将猪板油中 OPO 含量提升至 43.72%^[41]。总体来看，酸解法工艺流程相对简单、易于放大，但对高纯度 sn-2 位棕榈酸前体油脂的依赖限制了其在成本控制方面的竞争力。

酯交换法的原理是利用 sn-1, 3 位点特异性脂肪酶催化不同 TAG 之间或 TAG 与脂肪酸酯之间的酰基交换反应（图 2b）。相较于酸解法，酯交换法避免了游离脂肪酸的使用，副反应较少，更易于产物的纯化。例如，Sun 等人基于中国人群母乳的特定脂肪酸组成，通过选择性酯交换实现了 OPO 与 OPL 的同步合成，产物中两者含量分别达 23.1% 和 26.2%^[42]。然而由于反应过程中酰基随机重排难以避免，酯交换法在结构精准性方面通常不及多步酶法。

多步酶法通过将醇解、酯化或转酯化反应进行分步控制，显著提高 sn-2 位棕榈酸保留率和目标结构脂的纯度。其中，“醇解-酯化”二步法是应用较为广泛的策略（图 2c）。首先利用 sn-1, 3 位点特异性脂肪酶对富含 sn-2 棕榈酸的油脂进行醇解，高特异性生成 sn-2 棕榈酸单甘酯；再以 sn-2 棕榈酸单甘酯为酰基骨架，与油酸或油酸乙酯在脂

肪酶催化下反应, 定向构建高纯度结构化 TAG。Li 等人通过醇解获得高纯度的 2-棕榈酸单甘酯, 并以其为前体, 基于固定化脂肪酶利用一步酯化法催化合成包含 OPL、OPO 及 LPL (1,3-亚油酸-2-棕榈酸甘油三酯) 在内的甘油三酯, OPO 等目标组分的总含量达 81.5%^[43]。Zhu 等人建立了分步酶促酸解策略, 通过“先合成纯化 OPO 中间体, 再与亚油酸反应”的两步工艺, 制备出 OPL 含量达 50.49% 的母乳脂肪替代品^[44]。多步酶法在结构精准构建方面具有明显优势, 但其多步工艺和分离成本限制了大规模应用。

尽管酶法合成技术在 HMFS 的精准构建方面已取得重要进展, 但其工业化应用仍面临多重瓶颈: 在原料方面, 依赖高成本的 sn-2 位棕榈酸富集油脂; 在催化剂方面, 商业化脂肪酶价格昂贵且重复使用性有限, 现有商业化脂肪酶对复杂脂肪结构的适应性尚存在不足; 在工艺方面, 多步

反应增加了分离与能耗负担。为了突破这些限制, 研究者开始探索不依赖高纯度油脂前体的新路径, 即通过微生物代谢工程从头合成目标油脂, 这为 HMFS 的绿色生物制造提供了新的研究方向。

4 基于微生物发酵的母乳结构脂生物合成

虽然酶法在精准制造特定结构脂肪方面已趋成熟, 但其本质上仍是对天然油脂的结构重构, 且在原料层面依赖分提/纯化油脂作为前体。合成生物学的兴起正推动脂质领域的制造范式发生根本性变革。该策略旨在将微生物细胞 (如细菌、酵母等) 改造为高效的“细胞工厂”, 通过理性设计并重构其内源代谢网络, 使其能够直接利用葡萄糖、甘油等廉价碳源, 实现目标产物的从头合

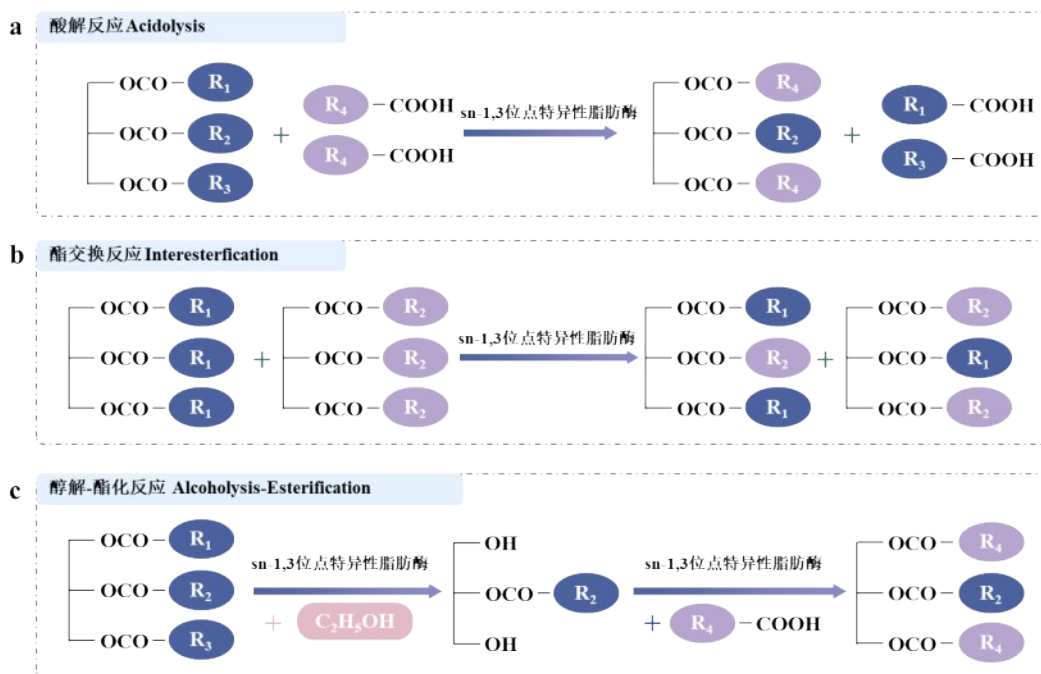


图2 sn-2 位棕榈酸结构脂的酶法合成途径

由 sn-1,3 位点特异性脂肪酶催化的三种主要反应路径。(a) 酸解反应: 甘油三酯 (TAG) 与游离脂肪酸之间直接发生酰基交换; (b) 酯交换反应: 两个不同甘油三酯分子之间进行脂肪酸的重新分布; (c) 两步法醇解-酯化反应: 首先通过醇解反应将 TAG 转化为 2-单甘油酯, 随后再与目标脂肪酸进行酯化。其中, R1、R2、R3 和 R4 代表不同的脂肪酰基链。

Fig. 2 Enzymatic synthesis of sn-2 palmitic acid-enriched structured lipids

Three representative reaction pathways catalyzed by sn-1,3-regioselective lipase. (a) Acidolysis: direct acyl exchange between triacylglycerol (TAG) and free fatty acids. (b) Interesterification: redistribution of fatty acids between two different TAG molecules. (c) Two-step alcoholysis-esterification: TAG is first converted to 2-monoacylglycerol via alcoholysis, followed by esterification with target fatty acids. R1, R2, R3 and R4 represent different fatty acyl chains.

成^[45, 46]。目前，微生物发酵法已在二十二碳六烯酸、神经酸等特定功能性脂肪酸的定制化合成方面取得成功，并开始向结构更复杂的 HMFS 的从头合成方向展开探索^[47, 48]。

4.1 微生物油脂合成途径的构建策略

实现微生物发酵合成结构脂的核心在于遵循合成生物学“设计-构建-测试-学习”的闭环逻辑，通过底盘适配、途径重构与酶元件优化，赋予微生物细胞从头合成 HMFS 的能力。下文将依次探讨底盘细胞的适配性选择、合成途径解析与关键酶重构等微生物油脂合成策略的关键环节。

4.1.1 底盘微生物的选择与适配

高效、稳定且可工程化的微生物底盘是构建“油脂细胞工厂”的物质基础。理想的底盘通常兼备以下关键特性：较强的油脂合成能力，具备较强的乙酰辅酶 A 供给与脂质积累能力；具有位置特异性酰化潜力，内源或异源表达的酰基转移酶能够支撑 sn-2 位点棕榈酸的富集；广谱底物利用能力，能够利用葡萄糖、甘油、木质纤维素水解液等廉价碳源；成熟的遗传可操作性，拥有完备的基因编辑工具；可靠的底盘安全性，底盘应具备公认的安全性，适用于食品生产场景。基于上述标准，下文对当前主流底盘微生物进行介绍，并在表 2 中对各底盘进行系统比较与筛选逻辑总结。

表 2 典型产油微生物的特征比较

Table 2 Comparison of representative oleaginous microorganisms

类型	菌种	油脂特性	基因编辑工具	底物利用谱	安全性
酵母	解脂耶氏酵母 ^[49-52]	高产油酵母,油脂含量占细胞干重约为10%-40%,优化后的工程菌株油脂含量可更高;脂肪酸以C18:2、C18:1、C16:0为主	非常成熟,具有多套基因编辑工具	广(糖类、烃类、油脂、甘油、木质纤维素水解物等)	菌株已获 GRAS 认证;产物(如甜菊糖苷)已有食品级应用先例
	圆红冬孢酵母 ^[53-55]	高产油酵母,油脂含量占细胞干重约为40%-70%;脂肪酸以C18:1、C16:0、C18:0、C18:2为主	相关研究较多,基因编辑工具相对丰富	广(葡萄糖、木糖、甘油、木质纤维素水解物等)	菌株未获相关认证;产物无食品级应用先例
	斯达氏油脂酵母 ^[52, 54, 56]	高产油酵母,油脂含量可达细胞干重的60%以上;脂肪酸以C18:1、C16:0为主	遗传改造研究较少,基因编辑工具较少	广(葡萄糖、木糖、甘油、木质纤维素水解物等)	菌株未获相关认证;产物无食品级应用先例
	产油丝孢酵母 ^[54, 57]	高产油酵母,油脂含量可达细胞干重的60%以上;以C18:1、C18:2、C16:0为主	遗传背景不清,基因编辑工具缺乏	广(葡萄糖、木糖、有机酸、甘油、木质纤维素水解物等)	菌株未获相关认证;产物无食品级应用先例
	酿酒酵母 ^[58]	油脂含量低(<10%);真核模式菌,广泛用于异源途径验证及酶元件表征	非常成熟,具有多套基因编辑工具	窄(葡萄糖、果糖、甘露糖等已糖)	菌株已列入我国食品菌种名单;产物已在国内外获批食品级应用
丝状真菌	高山被孢霉 ^[59, 60]	油脂含量占细胞干重的40%-60%;富含花生四烯酸(ARA)和γ-亚麻酸(GLA)	基因编辑工具较成熟	中等(葡萄糖、淀粉、甘油等)	菌株未获相关认证;产物(如ARA)已在国内外获批食品级应用
	卷枝毛霉 ^[61-63]	油脂含量占细胞干重20%-50%;富含γ-亚麻酸(GLA)	基因编辑工具较成熟	广(葡萄糖、乙酸等)	菌株未获相关认证;产物(脂肪酶)已获 FDA GRAS 及欧盟 EFSA 认证
微藻	裂殖壶菌 ^[64, 65]	油脂含量占细胞干重的40%-50%;富含二十二碳六烯酸(DHA)和棕榈酸	基因编辑工具较成熟	中等(自养或异养)	菌株未获相关认证;产物(如DHA)已在国内外获批食品级应用
细菌	浑浊红球菌 ^[66, 67]	油脂含量占细胞干重的20%-40%之间;富含奇链脂肪酸(C15:0、C17:0、C17:1)	遗传工具缺乏	广(糖类、烷烃及芳香烃、木质纤维素水解物)	菌株未获相关认证;产物无食品级应用先例
	大肠杆菌 ^[68]	非产油菌,脂代谢研究模型菌,推动对脂肪酸和磷脂合成的基础理解	非常成熟,具有多套基因编辑工具	较广(糖类)	菌株未获相关认证;产物(如HMOs)已在国内外获批食品级应用

酵母菌：酵母是当前研究最为深入、应用最为广泛的产油微生物类群，具备成熟的遗传工具以及广泛的底物谱。其中，解脂耶氏酵母（*Yarrowia lipolytica*）具有胁迫耐受性强、底物利用谱广、乙酰辅酶A供给充足等优势，在适宜条件下油脂含量可占细胞干重的10%-40%^[49-51]。此外，解脂耶氏酵母遗传改造技术成熟，目前已建立包括CRISPR-Cas系统在内的高效基因编辑工具箱，为精准重构代谢网络，实现油脂的高效合成提供支持^[51, 69]。降低发酵原料成本是实现工业化生产的关键诉求，这使得具有广谱碳源利用能力的酵母底盘成为研究热点。圆红冬孢酵母（*Rhodospiridium toruloides*）和斯达氏油脂酵母（*Lipomyces starkeyi*）具有广谱碳源利用能力，不仅能有效代谢木质纤维素水解液中的木糖，还能耐受并转化其中的抑制性副产物，这使得它们在以农业秸秆为原料的可持续生产工艺中极具潜力^[70, 71]。此外，丝孢酵母属（*Trichosporon sp.*）同样是一类高产油脂酵母菌属，能够利用木糖及生物柴油工业副产物等碳源。然而，其遗传操作系统尚不完善，相关研究仍处于初步阶段^[72]。

丝状真菌：丝状真菌（通常称为产油霉菌）在合成特定长链多不饱和脂肪酸方面具有不可替代的优势。例如，高山被孢霉（*Mortierella alpina*）已实现花生四烯酸（ARA）和二十碳五烯酸（EPA）的规模化生产^[59, 60]；卷枝毛霉（*Mucor circinelloides*）是一种高产油丝状真菌，因能高效积累 γ -亚麻酸等脂肪酸，已成为微生物合成领域的重要宿主^[61, 62]。尽管这类真菌的遗传操作复杂度通常高于酵母，但它们具备清晰的代谢途径和强大的前体供给能力，成为通过代谢工程定向生产高附加值特种油脂的理想对象。近年来，丝状真菌的遗传工具开发也取得了显著进展。

藻类：产油微藻是一类能够通过光合作用将二氧化碳高效转化为油脂的微型藻类，包括单细胞或丝状形态，其中以拟微球藻、小球藻和黄丝藻等为典型代表^[73, 74]。在异养培养条件下，这些微藻展现出快速生长和高密度积累油脂的能力，胞内油脂含量可达细胞干重的20%-60%。此外，裂殖壶菌（*Schizochytrium*）作为富含二十二碳六烯酸（DHA）的海洋单细胞真菌，在DHA等长链

多不饱和脂肪酸的工业化生产中同样显示出重要的应用价值^[64]。

细菌：混浊红球菌（*Rhodococcus opacus*）能够直接利用多种复杂有机化合物，合成游离脂肪酸、脂肪酸乙酯和长链烃等物质^[66]。相比之下，以大肠杆菌为代表的模式生物在生理优化与合成能力的协同增强方面更具系统性与可设计性。例如，通过通量重编程，工程化大肠杆菌的游离脂肪酸产量可达35.1 g/L，实现了脂肪酸的高滴度生产，为后续定向组装为特定TAG提供前体基础^[68]。

综上，在油脂合成方面，不同微生物底盘各具特色与适用场景，选择底盘时需综合考虑目标产物、原料成本、安全性、技术成熟度及工艺可行性，为后续代谢途径设计与细胞工厂构建确立合适起点。

4.1.2 合成途径解析与关键酶重构

微生物合成HMFS的关键在于脂肪酸前体供给体系与TAG组装途径的协同重构。不同于以“总油脂积累”为目标的常规产油工程，HMFS的生物合成核心在于实现对脂肪酸谱系及其在甘油骨架上空间分布的精准调控。这一过程主要涉及脂肪酸从头合成阶段的通量与组成控制，以及后续TAG组装过程中位点特异性酰化能力的工程化改造。

脂肪酸从头合成阶段决定了细胞内可用于TAG组装的前体池规模及组成特征。脂肪酸的从头合成以乙酰辅酶A为前体，在乙酰辅酶A羧化酶（Acetyl-CoA carboxylase, ACC）作用下生成丙二酰辅酶A，随后由脂肪酸合酶（Fatty Acid Synthase, FAS）催化完成碳链的逐次延伸。FAS系统分为I型（主要存在于动物、真菌和少数细菌中）和II型（主要存在于大多数细菌），其中II型系统由独立功能的酶和酰基载体蛋白（Acyl carrier protein, ACP）组成模块化催化体系，实现脂肪酸链的逐步延长。ACC是脂肪酸合成途径的限速酶，FAS则是脂肪酸合成的核心酶系，二者是调控通量与产物谱的关键靶点。基于对上述合成机制的理解，Haushalter等人通过重构不同来源的FAS系统，在大肠杆菌中建立了脂肪酸正交生物合成体系，实现脂肪醇等化学品的高效合成^[75]；借助对

FAS的模块化设计与重编程,在酵母中可实现碳链长度由长链向中短链(如C10/C12)的定向调控与高产^[76]。

碳链延伸的长度主要受硫酯酶(Thioesterase, TE)控制,该酶通过水解脂酰-ACP终止脂肪酸链的延伸,释放出对应链长的游离脂肪酸。不同来源的TE对不同链长的脂酰-ACP具有一定特异性。硫酯酶的理性设计与定向进化改造可显著调控其底物特异性,提高特定脂肪酸产量。例如,修饰C12硫酯酶的结合口袋位点可以将其底物偏好拓展至C14,使工程菌中C14脂肪酸的含量从10%提升至40%^[77]。

不饱和脂肪酸的合成则依赖于去饱和酶(Fatty acid desaturase, FAD)和延伸酶(Fatty acid elongase, ELO)的协同作用。二者分别引入双键和延长碳链,逐步催化形成长链多不饱和脂肪酸。基于酶工程的发展,对FAD及ELO关键位点进行修饰来定向调控其催化特异性已成为可能:将北极衣藻 ω -6去饱和酶AChFAD6第254位的缬氨酸突变为丙氨酸后,其功能即可从合成亚油酸转换为高效积累油酸^[78]。然而对于HMFS而言,脂肪酸组成的调控目标并非追求单一脂肪酸的高产,而是构建富含棕榈酸、油酸和亚油酸的前体池,满足后续OPO、OPL等特定结构TAG的组装需求。

在获得了脂肪酸前体的基础上,TAG组装过程决定了最终产物的分子结构特征^[79]。如图3所示,TAG的生物合成主要通过甘油-3-磷酸途径完成。在该途径中,甘油-3-磷酸首先在sn-1位被甘油-3-磷酸酰基转移酶(GPAT)酯化,生成溶血磷脂酸(LPA);溶血磷脂酸酰基转移酶(LPAAT)在sn-2位引入第二个脂肪酸,生成磷脂酸(PA);随后通过磷脂酸磷酸酶(PAP)去磷酸化生成sn-1,2-甘油二酯(DAG);最后经二酰甘油酰基转移酶(DGAT)或磷脂:二酰甘油酰基转移酶(PDAT)的催化下,在sn-3位点引入第三个脂肪酸,从而生成完整的TAG分子。TAG分子可被甘油三酯脂肪酶和二酰甘油脂肪酶水解,或储存于脂滴中,也可通过极低密度脂蛋白、乳糜微粒等形式分泌转运。HMFS最具代表性的特征在于甘油骨架sn-2位上高度富集了棕榈酸,因此在微生物

中实现sn-2位点的精准酰化,是从头合成OPO和OPL的核心技术挑战之一,其关键在于能否获得对棕榈酰辅酶A(C16:0-CoA)具有高底物特异性的LPAAT类酰基转移酶。目前,研究者通过异源表达偏好C16:0-CoA的酰基转移酶(拟南芥rmBnLPAT1、莱茵衣藻mCrIPAT1/2)并敲除内源竞争性基因,使得sn-2位C16:0酯化率大幅度提升^[33]。同时,DGAT作为TAG合成的限速步骤,其表达水平与底物选择性亦会影响目标结构脂的整体积累效率,因此需要在全局代谢网络中对其功能协同优化。例如,通过对酿酒酵母DGAT的结构预测与分子动力学模拟并构建突变体,使TAG积累量提升1.85倍^[34]。

4.1.3 人工智能辅助的代谢途径设计

尽管经典代谢工程在途径重构与酶蛋白改造方面已建立系统的方法,但面对复杂代谢网络的全局优化与酶蛋白多维功能设计时,传统依赖局部知识和经验试错的策略仍存在局限。近年来,人工智能(Artificial Intelligence, AI)技术在生物大数据领域中迅速发展,代谢工程正从以经验为主的实验驱动模式,逐步转向以可预测性为核心的数据驱动新范式。针对HMFS的生物合成领域,AI的应用主要体现在三个层面:酶的智能设计与优化、多酶级联协同优化和代谢网络全局调控^[80-82]。

酶的智能设计与优化:在分子水平上,AI显著提升了酶工程的设计效率与成功率。通过对大规模序列、结构与功能数据的深度学习建模,AI不仅能准确预测酶的催化活性与底物特异性,还可系统解析影响酶稳定性与选择性的关键结构特征,并从宏基因组等复杂数据中挖掘新型酶基因,从而指导突变位点的理性筛选与组合优化^[83-85]。在此基础上,机器学习的“设计-构建-测试-学习”闭环策略已在多类酶工程研究中显著缩短了优化周期,提升了改造成功率^[86, 87]。对于HMFS的生物合成而言,上述AI辅助策略为定向设计对特定脂肪酸(如C16:0、C18:1)具有底物选择性的酰基转移酶(如LPAAT、DGAT)提供了有力工具,有助于突破sn-2位点特异性酰化的关键技术瓶颈。例如,利用AI预测LPAAT底物结合口袋的体积与疏水性,可虚拟筛选出对C16:0-CoA亲和

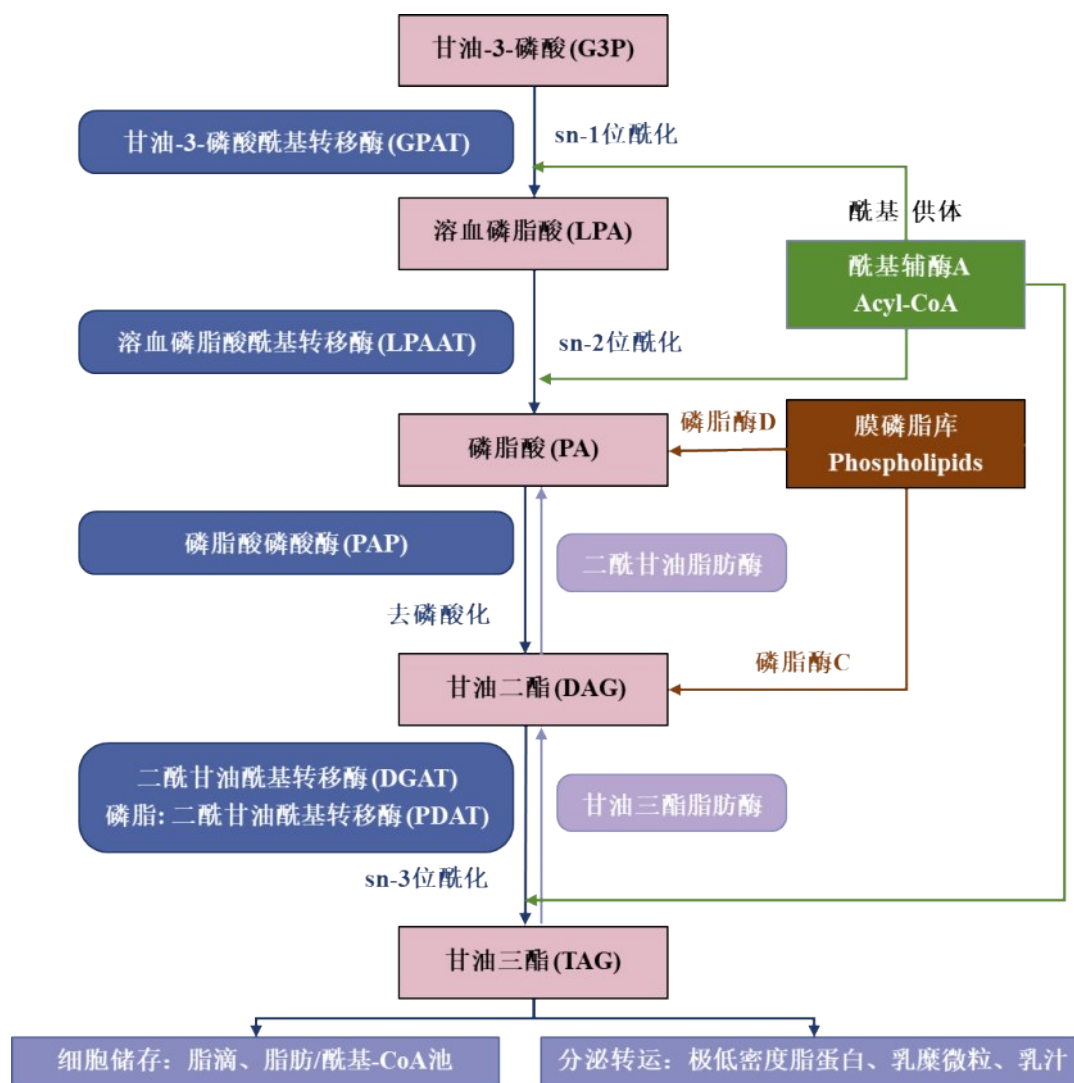


图3 甘油三酯生物合成途径

真核生物甘油三酯生物合成途径的示意图。关键酶包括：甘油-3-磷酸酰基转移酶（GPAT）、溶血磷脂酸酰基转移酶（LPAT）、磷脂酸磷酸酶（PAP）、二酰甘油酰基转移酶（DGAT）及磷脂：二酰甘油酰基转移酶（PDAT）。

Fig. 3 Biosynthetic pathway of triacylglycerol

Schematic diagram of the triacylglycerol biosynthesis pathway in eukaryotes. Key enzymes involved include: glycerol-3-phosphate acyltransferase (GPAT), lysophosphatidic acid acyltransferase (LPAT), phosphatidic acid phosphatase (PAP), diacylglycerol acyltransferase (DGAT), and phospholipid: diacylglycerol acyltransferase (PDAT).

力更高的突变体，从而突破 sn-2 位棕榈酸装配的瓶颈。

多酶级联协同优化：HMFS的合成涉及从脂肪酸前体供应到甘油三酯组装的多个酶促反应，酶的表达水平、催化速率及底物偏好性直接影响最终产物的合成效率与结构纯度。传统策略通常采用试错法调整酶基因的拷贝数，效率低下。AI技术为这一问题的解决提供了新路径^[88-90]：在黄酮类化合物甘草素五酶级联系统的研究中，研究者采

用机器学习迭代优化策略，以最少实验次数确定了5种酶的最佳比例与辅因子浓度^[88]；研究人员基于机器学习计算代谢途径中多基因的最佳拷贝数组合，成功构建了高产二十碳五烯酸的解脂耶氏酵母细胞工厂^[89]。上述研究验证了AI在预测多酶的最佳表达比例方面的应用潜力，为HMFS合成中关键酶拷贝数的协同优化提供了技术参考。

代谢网络全局调控：与多酶级联协同优化不同，代谢网络全局调控关注的是整个细胞代谢网

络通量的分配与平衡。传统代谢工程依赖局部知识逐级优化,难以应对复杂网络的全局耦合。近年来,AI驱动的代谢网络全局调控策略为这一难题提供了新思路。在代谢网络层面,AI融合多组学与代谢模型构建动态仿真系统,量化胞内通量分布并智能识别代谢瓶颈,进而通过模型反向指导关键节点改造,提升合成效率^[91, 92];在工艺控制层面,AI耦合静态代谢模型与实时发酵数据,建立参数与细胞表型之间的智能映射关系,从而实现温度、pH等关键环境因素的动态优化,为维持酶活性与代谢流稳定性提供精准调控支持^[93-95]。

总体而言,AI正通过多层面的深度融合构建从酶元件到代谢途径的智能代谢工程闭环。尽管目前仍面临训练数据有限、模型可解释性不足等挑战,但随着多模态生物数据的持续积累与算法能力的不断提升,AI驱动的代谢途径设计,有望为HMFS等复杂脂质分子的精准生物合成提供关键技术支撑。

4.2 母乳结构脂细胞工厂的工程化构建

在通用微生物油脂合成框架的基础上,HMFS合成途径的工程化构建标志着代谢工程从“提升油脂产量”阶段迈向“精准定制分子结构”阶段。以OPO和OPL为代表的HMFS对脂肪酸组成比例及其在甘油骨架上的空间分布均具有严格要求,这不仅依赖于充足且可控的脂肪酸前体供给,更要求细胞工厂具备位置特异性较高的酰化能力,尤其是在甘油骨架sn-2位富集棕榈酸、在sn-1,3位装配特定不饱和脂肪酸(如C18:1, C18:2)的结构控制能力。尽管该领域研究尚处于概念验证和初步探索阶段,但一些关键性研究已系统性验证了通过代谢工程直接合成HMFS的技术可行性。

实现位置特异性酰化的关键在于对相关酶元件的深入挖掘与功能解析。最新研究表明,莱茵衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)甘油-3-磷酸酰基转移酶(GPAT1)兼有溶血磷脂酸酰基转移酶功能,对C18:1和C16:0底物均表现出特异性偏好。通过下调GPAT1表达可引发内质网定位GPAT2的代偿性上调,从而实现OPO合成效率的

显著提升^[96]。在模式油料植物拟南芥的种子油体系中,通过改造TAG生物合成代谢途径(如表达偏好棕榈酸的异源溶血磷脂酸酰基转移酶、抑制内源竞争途径及优化脂肪酸组成等),可实现棕榈酸在sn-2位的酯化率超过80%,使TAG结构特征高度还原人母乳脂肪^[97, 98]。这些成果证明了通过调控酰基转移酶底物特异性来重塑TAG结构的可行性。然而,植物体系代谢复杂、改造周期长、分离成本高,更适用于机理验证与元件发掘,在规模化生产效率与过程可控性方面仍存在局限。

在上述研究的推动下,HMFS的微生物合成研究目前两类策略,在原料利用、代谢重构程度及产业化潜力上存在显著差异。

底物依赖型策略:以浑浊红球菌(*Rhodococcus opacus*)为代表。该策略利用微生物自身的天然代谢能力,以外源油脂为底物进行结构重组。Zhang等人以化学酯交换脂肪或油酸乙酯/棕榈酸乙酯混合物为原料,成功合成了富含OPO(47.1%)和OPL(13.9%)的微生物油脂,其中棕榈酸在sn-2位的占比高达64.7-74.5%,初步证实了该菌株组装特定结构TAG的能力^[29]。随后,研究团队进一步拓展底物范围,采用多种植物油为原料,成功制备出在脂肪酸组成和TAG结构上与中国人群母乳高度相似的替代脂肪(以OPL、OPO和LPL为主),其中sn-2位棕榈酸酯化比例高达43%-49%^[30]。Han等人系统评估了不同碳源后发现,化学酯交换油脂对不饱和脂肪酸-棕榈酸-不饱和脂肪酸(UPU)型结构脂合成的促进效果最佳,并成功在浑浊红球菌中合成了富含 α -亚麻酸的结构脂,UPU总含量达45.40%^[31]。然而,该策略仍存在明显局限:一方面,其高度依赖菌株的天然代谢能力,且相关菌株遗传工具尚不成熟,制约了代谢通路的深度优化;另一方面,该路线本质上仍属于“以油制油”策略,即依赖外源油脂底物进行结构重组,其原料成本优势并不显著。

从头合成型策略:以酵母为代表。与底物依赖型策略不同,从头合成型策略以葡萄糖、甘油等廉价碳源为原料,通过重构微生物的TAG合成途径,实现目标结构脂的自主合成,即“以糖制油”。Bhutada等人在解脂耶氏酵母中表达特定溶血磷脂酸酰基转移酶,以棕榈油为底物进行发酵,

合成了 sn-2 位棕榈酸酯化率超过 60% 的 TAG^[32]。Zhang 等人通过系统性代谢重构展现了模块化工程策略的完整闭环,在酿酒酵母中实现了 OPO 与 OPL 的从头合成^[33]。过程如图 4 所示,该研究将改造策略划分为三大模块:一是脂肪酸前体供应模块,通过表达乙酰辅酶 A 羧化酶 (ACC1) 以强化前体供给,并敲除 POX1 基因抑制 β -氧化途径;二是脂肪酸合成模块,通过替换内源去饱和酶 (OLE1) 为偏好 C18: 0 的外源 PgOLE1,并引入小鼠脂肪延长酶 MmELVOL6,优化前体脂肪酸组成;三是 TAG 组装与特异性优化模块,引入偏好棕榈酸的异源溶血磷脂酸酰基转移酶 (CrPAAT1) 和偏好油酸的甘油-3-磷酸酰基转移酶 (ATS1),同时敲除内源竞争性酶 (SCT1、ALE1、LOA1),优化 sn-1 和 sn-2 位点装配。在此基础上,研究进一步采用“推-拉”策略全局调控代谢通量,结合定向进化,过表达限速酶 DGA1 (L275V) 及 PAH1,最终使 OPO 与 OPL 产量分别达到 85.68 mg/L 和 162.30 mg/L。该研究展现了模块化工程对脂质结构的精准调控能力,但当前产量与工业化需求仍有数量级差距。此外,该团队在限速酶 DGAT 的分子机制研究上取得新突破^[34]。其通过对酿酒酵母 DGAT (ScDGA1) 的结构预测与分子动力学模拟,构建了 Q282F 突变体,使 TAG 积累量提升 1.85 倍。这一发现为进一步优化目标结构脂的合成效率提供了结构导向的工程策略。

综合来看, HMFS 的微生物合成已形成从机制验证、底物引导到全链路理性设计的发展脉络,但当前研究仍处于早期探索阶段,产物滴度低、关键酶元件缺乏及高通量筛选方法缺失等问题尚未解决,距离产业化应用仍有较大差距。在这一过程中,酵母等模式微生物底盘因其代谢途径的可控性、遗传操作的可塑性以及与可持续生物制造目标的高度适配性,正成为 HMFS 领域研究与产业化的重点方向。

5 结论、挑战与未来展望

婴幼儿配方奶粉经历了从“基础营养供给”、“功能性营养强化”到“母乳精准模拟”的演进历程,这一演进实质上是对母乳营养体系的逐级趋

同。例如, DHA、乳铁蛋白、母乳低聚糖等功能性成分已相继成功添加,显著提升了配方奶粉的营养水平。然而,在脂质层面,如何实现母乳中 sn-2 位棕榈酸富集的立体结构精准复现,仍是当前面临的核心科学问题。本文系统比较了 HMFS 合成的三条主要技术路线:化学法因反应随机性强、副产物多,已难以满足精准营养需求;酶法催化凭借脂肪酶的位置选择性,已在特定结构脂的生物合成中取得应用,但其对高纯度底物的依赖、多步反应过程及复杂分离工艺,限制了该技术的规模化发展与可持续提升。相比之下,基于合成生物学,通过系统设计和构建微生物细胞工厂,旨在实现从简单碳源到复杂结构脂的生物合成,有望从根本上突破上述限制。但从实验室走向产业化,微生物合成 HMFS 仍面临多重挑战,亟需在技术突破与产业落地之间建立有效衔接。

具体而言,其核心瓶颈集中体现在三个层面:一是技术层面,目前对 TAG 特异性组装机制的解析尚不深入,尤其是负责 sn-2 位酰化的溶血磷脂酸酰基转移等关键酶元件,普遍存在催化活性低、底物选择性不明确的问题。此外,微生物底盘对复杂代谢途径的承载能力有限,代谢流分布失衡、细胞生理负担加重等问题限制合成效率。二是经济可行性层面,虽已有研究成功在酿酒酵母中实现了 OPO 和 OPL 的从头合成,但产量仍处于 mg/L 级别,与工业化生产需求之间存在数量级差距,导致单位产物的发酵成本居高不下。同时,微生物胞内油脂的提取通常需经过细胞破壁和溶剂萃取等工序,当前缺乏针对微生物发酵来源 HMFS 的成熟低成本提取工艺,这使得下游分离纯化成本在总生产成本中占比较高,成为决定工艺经济性的核心因素。三是法规层面,目前全球范围内尚无针对微生物发酵来源 HMFS 的专门法规框架和评价标准。传统适用于化学法或酶法合成结构脂的评价指标无法覆盖新工艺带来的新风险,例如工程菌株的潜在致病性及抗生素标记基因残留、发酵过程中产生的非预期代谢产物、异源蛋白的致敏性等。为攻克上述瓶颈,未来研究可聚焦在以下三个方向。

面向母乳结构脂合成的智能酶元件挖掘与设计。 HMFS 的微生物合成涉及从脂肪酸前体供应

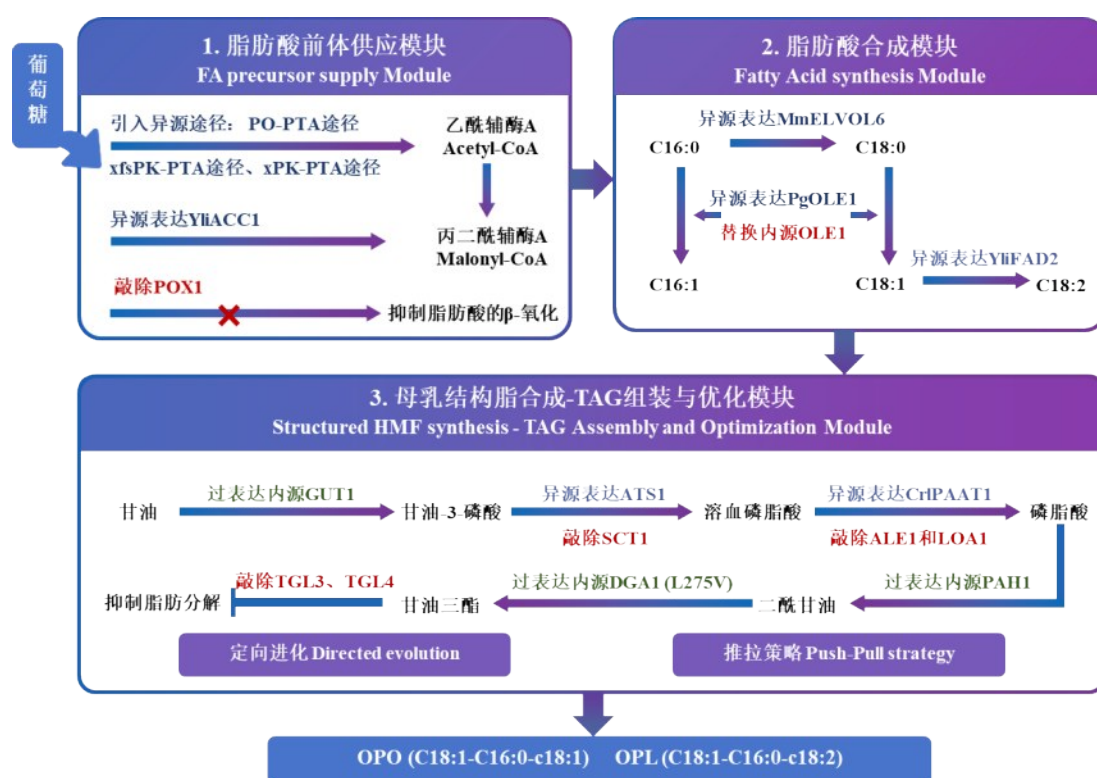


图4 酿酒酵母中从头合成OPO和OPL的代谢途径改造策略

以葡萄糖为底物，通过酵母细胞工厂合成母乳结构脂OPO和OPL的系统性代谢工程策略，主要包括三大模块：1) 脂肪酸前体供应增强；2) 脂肪酸合成与修饰调控；3) TAG组装与特异性优化。其中，PO-PTA：丙酮酸氧化酶-磷酸转乙酰酶途径，xfsPK-PTA：果糖-6-磷酸磷酸酮醇酶-磷酸转乙酰酶途径，xPK-PTA：磷酸酮醇酶-磷酸转乙酰酶途径，YliACC1：解脂耶氏酵母来源的乙酰辅酶A羧化酶，POX1：脂肪酰辅酶A氧化酶，MmELVOL6：小鼠来源的超长链脂肪酸延伸酶6，PgOLE1：禾柄锈菌来源的 $\Delta 9$ 去饱和酶，YliFAD2：解脂耶氏酵母来源的 $\Delta 12$ 去饱和酶，GUT1：甘油激酶，ATS1：拟南芥来源的3-磷酸甘油酰基转移酶，SCT1：3-磷酸甘油酰基转移酶（内源），CrPAAT1：莱茵衣藻来源的溶血磷脂酸酰基转移酶，ALE1：溶血磷脂酸酰基转移酶（内源），LOA1：溶血磷脂酸酰基转移酶（内源），PAH1：磷脂酸磷酸酶，DGA1：二酰甘油酰基转移酶，TGL3：甘油三酯脂肪酶3，TGL4：甘油三酯脂肪酶4。

Fig. 4 Metabolic engineering strategy for de novo production of OPO and OPL in *Saccharomyces cerevisiae*.

A systematic metabolic engineering strategy for producing human milk fat analogs OPO and OPL from glucose using a yeast cell factory. The strategy comprises three modules: 1) enhancement of fatty acid precursor supply; 2) regulation of fatty acid synthesis and modification; and 3) TAG assembly and regiospecific optimization. PO-PTA, pyruvate oxidase-phosphotransacetylase pathway; xfsPK-PTA, fructose-6-phosphate phosphoketolase-phosphotransacetylase pathway; xPK-PTA, phosphoketolase-phosphotransacetylase pathway; YliACC1, acetyl-CoA carboxylase from *Yarrowia lipolytica*; POX1, fatty acyl-CoA oxidase; MmELVOL6, very long-chain fatty acid elongase 6 from *Mus musculus*; PgOLE1, $\Delta 9$ desaturase from *Puccinia graminis*; YliFAD2, $\Delta 12$ desaturase from *Yarrowia lipolytica*; GUT1, glycerol kinase; ATS1, glycerol-3-phosphate acyltransferase from *Arabidopsis thaliana*; SCT1, endogenous glycerol-3-phosphate acyltransferase; CrPAAT1, lysophosphatidic acid acyltransferase from *Chlamydomonas reinhardtii*; ALE1, endogenous lysophosphatidic acid acyltransferase; LOA1, endogenous lysophosphatidic acid acyltransferase; PAH1, phosphatidic acid phosphatase; DGA1, diacylglycerol acyltransferase; TGL3, triacylglycerol lipase 3; TGL4, triacylglycerol lipase 4.

到TAG组装的完整酶促级联反应，目前具备高催化活性、高底物选择性的可用元件匮乏，制约了合成效率与结构精准度。未来应重点从宏基因组及天然产油生物中系统挖掘上述各类关键酶元件，并结合人工智能辅助的蛋白质工程对候选酶进行理性设计与定向进化，同时建立高通量筛选方法以加速“设计-构建-测试-学习”闭环迭代，创建具有强特异性和高催化效率的新型酶元件^[99, 100]。

通过这些策略，有望系统性地丰富HMFS生物合成的元件工具箱，为构建高效细胞工厂奠定基础。

微生物细胞工厂的代谢网络重构与规模化放大。破解经济可行性瓶颈需要从代谢重构与工程放大两个层面协同突破。在代谢网络层面，优化多酶级联的表达配比以维持代谢通量平衡，借助AI模型预测限速步骤与关键节点的最佳调控幅度，协同优化脂肪酸前体供给、TAG组装及动态调控

机制,平衡细胞生长与产物合成^[101, 102]。在规模化放大层面,需重点研究放大过程中代谢表型的变化规律、供氧与混合等工程科学问题,建立从摇瓶到发酵罐的逐级放大工艺包。此外,开发水酶法、超临界流体萃取等新型绿色提取技术,是降低下游分离成本、推动产业化的重要方向^[103-106]。此外, HMFS 富含不饱和脂肪酸,其在加工及储存过程中的氧化稳定性也是需要重点关注的问题^[107]。

微生物来源母乳结构脂的安全性评价与法规体系构建。从法规角度看,酿酒酵母等已列入我国《可用于食品的菌种名单》的菌株具有明确的合规基础,其产物(如酵母蛋白)也已获批为新食品原料;解脂耶氏酵母虽在欧美已获 FDA GRAS 菌株认定,但其产物在我国尚未取得食品级审批;高山被孢霉和裂殖壶菌虽未直接列入食品菌种名单,但其代谢产物已获批多年,并建立了相应的国家标准,可用于婴幼儿配方食品。更深层的问题在于,目前全球范围内尚未建立针对微生物发酵来源 HMFS 的专门法规框架,传统评价标准也难以直接套用。在安全性评价方面,需系统评估工程菌株的遗传稳定性与潜在致病性,并对终产品的外源基因残留及非预期代谢产物进行重点考察。因此,推动该技术走向应用,需借鉴现有审批经验,建立与新工艺匹配的质量标准与安全评价体系,重点涵盖菌株安全性、工艺安全性、产物安全性及氧化稳定性等关键维度,确保其相关产品产业化在法定框架下健康发展。

展望未来,酶法与微生物发酵法将形成互补发展格局。短期内,酶法仍是产业化主流,重点方向包括脂肪酶固定化技术的提升、反应器设计的优化等;中期,微生物合成需突破产量瓶颈,完成中试验证并启动安全评价;长期,随着产量与法规双重瓶颈的逐步解决,其“以糖制油”的原料优势将得以发挥,有望推动 HMFS 生物制造实现产业化落地。随着合成生物学、人工智能和绿色制造技术的深度融合,以及法规体系的逐步完善, HMFS 的生物制造有望真正实现从“高成本重构”到“低成本制造”的跨越,为婴幼儿配方奶粉提供更接近母乳脂质特征的解决方案。

参 考 文 献

- [1] WEI W, JIN Q, WANG X. Human milk fat substitutes: Past achievements and current trends [J]. *Prog Lipid Res*, 2019, 74: 69-86.
- [2] CHEN Y J, ZHOU X H, HAN B, et al. Composition analysis of fatty acids and stereo-distribution of triglycerides in human milk from three regions of China [J]. *Food Res Int*, 2020, 133: 109196.
- [3] LIU Q, ZHAO J, LIU Y, et al. Advances in analysis, metabolism and mimicking of human milk lipids [J]. *Food Chem*, 2022, 393: 133332.
- [4] INNIS S M. Human milk: maternal dietary lipids and infant development [J]. *Proceedings of the Nutrition Society*, 2007, 66: 397 - 404.
- [5] DELPLANQUE B, GIBSON R, KOLETZKO B, et al. Lipid Quality in Infant Nutrition: Current Knowledge and Future Opportunities [J]. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2015, 61(1): 8-17.
- [6] JIANG X, ZOU X, CHAO Z, et al. Preparation of Human Milk Fat Substitutes: A Review [J]. *Life (Basel)*, 2022, 12(2).
- [7] HONG C R, JEON B J, PARK K-M, et al. An Overview of Structured Lipid in Food Science: Synthesis Methods, Applications, and Future Prospects [J]. *Journal of Chemistry*, 2023, 2023(1): 1222373.
- [8] KOWALSKI B, TARNOWSKA K, GRUCZYŃSKA E. The properties of the mixture of beef tallow and rapeseed oil with a high content of tallow after chemical and enzymatic interesterification [J]. *Grasas Y Aceites*, 2005, 56: 267-75.
- [9] WANG Z, LIU L, LIU L, et al. 1, 3-Dioleoyl-2-palmitoylglycerol-rich triacylglycerol characterization by three processing methods [J]. *International Journal of Food Properties*, 2019, 22(1): 1156-71.
- [10] KIM B H, AKOH C C. Recent Research Trends on the Enzymatic Synthesis of Structured Lipids [J]. *J Food Sci*, 2015, 80(8): C1713-24.
- [11] ZHOU J, LEE Y Y, MAO Y, et al. Future of Structured Lipids: Enzymatic Synthesis and Their New Applications in Food Systems [J]. *Foods*, 2022, 11(16).
- [12] LIU Z, DAI L, LIU D, et al. Progress and perspectives of enzymatic preparation of human milk fat substitutes [J]. *Biotechnol Biofuels Bioprod*, 2022, 15(1): 118.
- [13] TACIAS-PASCACIO V G, ABELLANAS-PEREZ P, DE ANDRADES D, et al. A comprehensive review of lipase-catalyzed acidolysis as a method for producing structured glycerides [J]. *Int J Biol Macromol*, 2025, 309(Pt 3): 142878.
- [14] SHI S, WANG Z, SHEN L, et al. Synthetic biology: a new frontier in food production [J]. *Trends Biotechnol*, 2022, 40(7): 781-803.

- [15] 刘龙, 路福平, 陈坚, et al. 合成生物学与未来食品 [J]. 生物技术通报, 2025, 41(11): 1-3.
LIU L, LU F P, CHEN J, et al. Synthetic Biology and Future Food [J]. China Biotechnology, 2025, 41(11): 1-3.
- [16] 丁明珠, 李炳志, 王颖, et al. 合成生物学重要研究方向进展 [J]. 合成生物学, 2020, 1(01): 7-28.
ZHANG X B, ZHU C S, CHEN R Y, et al. Policy planning and industrial development of agricultural synthetic biology [J]. Synthetic Biology Journal, 2025, 6(5): 1224-1242.
- [17] 苏娟娟, 郑家文, 苗润泽, et al. 微生物油脂与植物油脂的合成生物制造 [J]. 合成生物学, 2025, 6(05): 1167-83.
SU J J, ZHENG J W, MIAO R Z, et al. Biosynthesis and manufacture of microbial oils and vegetable oils [J]. Synthetic Biology Journal, 2025, 6(05): 1167-1183.
- [18] ZHAO J, LIU Q, LIU Y, et al. Quantitative profiling of glycerides, glycerophosphatides and sphingolipids in Chinese human milk with ultra-performance liquid chromatography/quadrupole-time-of-flight mass spectrometry [J]. Food Chem, 2021, 346: 128857.
- [19] WANG Y H, MAI Q Y, QIN X L, et al. Establishment of an evaluation model for human milk fat substitutes [J]. J Agric Food Chem, 2010, 58(1): 642-9.
- [20] ZOU X Q, HUANG J H, JIN Q Z, et al. Model for human milk fat substitute evaluation based on triacylglycerol composition profile [J]. J Agric Food Chem, 2013, 61(1): 167-75.
- [21] YU J, YAN Z, MI L, et al. Medium- and long-chain triacylglycerols and di-unsaturated fatty acyl-palmitoyl-glycerols in Chinese human milk: Association with region during the lactation [J]. Front Nutr, 2022, 9: 1040321.
- [22] CHEN X, YANG M, WEI W, et al. A Novel Infant Formula with Medium- and Long-Chain Triacylglycerols and sn-2 Palmitate Supports Adequate Growth and Lipid Absorption in Healthy Term Infants [J]. Nutrients, 2025, 17(9).
- [23] INNIS S. Palmitic Acid in Early Human Development [J]. Critical reviews in food science and nutrition, 2015, 56.
- [24] TU A, MA Q, BAI H, et al. A comparative study of triacylglycerol composition in Chinese human milk within different lactation stages and imported infant formula by SFC coupled with Q-TOF-MS [J]. Food Chem, 2017, 221: 555-67.
- [25] YU J, WEI W, WANG F, et al. Evaluation of total, sn-2 fatty acid, and triacylglycerol composition in commercial infant formulas on the Chinese market: A comparative study of preterm and term formulas [J]. Food Chem, 2022, 384: 132477.
- [26] 戴逸, 戴智勇, 张岩春, et al. 市售婴幼儿配方乳粉中脂肪酸组成分析 [J]. 中国油脂, 2019, 44(03): 154-7.
DAI Y, DAI Z Y, ZHANG Y C, et al. Fatty acid composition in infant formula milk powder on sale [J]. China Oils and Fats, 2019, 44(03): 154-157.
- [27] ZOU X, HUANG J, JIN Q, et al. Lipid composition analysis of milk fats from different mammalian species: potential for use as human milk fat substitutes [J]. J Agric Food Chem, 2013, 61(29): 7070-80.
- [28] ALVES V, DE FIGUEIREDO F G, LUCCAS V, et al. Structuration of lipid bases zero-trans and palm oil-free for food applications [J]. Food Res Int, 2024, 192: 114683.
- [29] ZHANG L S, CHU M Y, ZONG M-H, et al. Efficient Production of 1, 3 - Dioleoyl - 2 - Palmitoylglycerol through *Rhodococcus opacus* Fermentation [J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2020, 97.
- [30] ZHANG L S, CHU M Y, ZONG M H, et al. Facile and Green Production of Human Milk Fat Substitute through *Rhodococcus opacus* Fermentation [J]. J Agric Food Chem, 2020, 68(35): 9368-76.
- [31] HAN Y, YUE K, BI Y, et al. Interesterified Fat Facilitated the Synthesis of UPU Structured Lipid Enriched With α -Linolenic Acid Through *Rhodococcus opacus* Fermentation [J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2025, 102(12): 1693-700.
- [32] BHUTADA G, MENARD G, BHUNIA R K, et al. Production of human milk fat substitute by engineered strains of *Yarrowia lipolytica* [J]. Metab Eng Commun, 2022, 14: e00192.
- [33] ZHANG C, ZHOU X, WEI W, et al. De novo production of 1, 3-olein-2-palmitin (OPO) and 1-olein-2-palmitin-3-linolein (OPL) by multiplexed reconstruction of lipid metabolism in yeasts [J]. Metab Eng, 2026, 94: 1-14.
- [34] LI Y, ZHANG C, HUANG H, et al. Engineering the substrate tunnel of diacylglycerol acyltransferase ScDGA1 enhances triacylglycerol biosynthesis in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Int J Biol Macromol, 2026, 347: 150813.
- [35] CHEN J, LEE W J, QIU C, et al. Immobilized Lipase in the Synthesis of High Purity Medium Chain Diacylglycerols Using a Bubble Column Reactor: Characterization and Application [J]. Front Bioeng Biotechnol, 2020, 8: 466.
- [36] LEE Y Y, TANG T K, CHAN E S, et al. Medium chain triglyceride and medium-and long chain triglyceride: metabolism, production, health impacts and its applications - a review [J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2022, 62(15): 4169-85.
- [37] ZHANG Z, ZHANG S, LEE W J, et al. Production of Structured Triacylglycerol via Enzymatic Interesterification of Medium-Chain Triacylglycerol and Soybean Oil Using a Pilot-Scale Solvent-Free Packed Bed Reactor [J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2020, 97(3): 271-80.
- [38] NI X, FENG T, ZHANG Y, et al. Application Progress of Immobilized Enzymes in the Catalytic Synthesis of 1, 3-Dioleoyl-2-palmitoyltriglyceride Structured Lipids [J]. Foods, 2025, 14(3).
- [39] WANG X, JIANG C, XU W, et al. Enzymatic synthesis of structured triacylglycerols rich in 1, 3-dioleoyl-2-palmitoylglycerol and 1-

- oleoyl-2-palmitoyl-3-linoleoylglycerol in a solvent-free system [J]. LWT, 2020, 118: 108798.
- [40] GU S, FENG F, LI Y, et al. Aspergillus oryzae Lipase-Catalyzed Synthesis of Dioleoyl; Palmitoyl-Rich Triacylglycerols in Two Reactors [J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2016, 93(10): 1347-54.
- [41] QIN X L, WANG Y M, WANG Y H, et al. Preparation and characterization of 1, 3-dioleoyl-2-palmitoylglycerol [J]. J Agric Food Chem, 2011, 59(10): 5714-9.
- [42] SUN D, LI S, SHANG J, et al. Process optimization of simultaneous enzymatic production of 1, 3-dioleoyl-2-palmitoylglycerol and 1-oleoyl-2-palmitoyl-3-linoleoylglycerol [J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2021, 98 (12): 1167-76.
- [43] LI Y, ZHANG Y, ZHOU Y, et al. A novel and controllable method for simultaneous preparation of human milk fat substitutes (OPL, OPO and LPL): two-step enzymatic ethanolysis-esterification strategy [J]. Food Res Int, 2023, 163: 112168.
- [44] ZHU Q, ZHU C, LI S, et al. A novel method for preparation of human milk fat substitute enriched with 1-oleoyl-2-palmitoyl-3-linoleoylglycerol: stepwise enzymatic acidolysis strategy [J]. LWT, 2025, 234: 118581.
- [45] VERMELHO A B, CARDOSO V D S, DOMINGOS L T S, et al. Advancements in Microbial Applications for Sustainable Food Production [J]. Foods, 2025, 14(19).
- [46] JEONG K J. Advancing microbial engineering through synthetic biology [J]. J Microbiol, 2025, 63(3): e2503100.
- [47] SONG X, WAN W, ZHANG Y, et al. Production of docosahexaenoic acid from corn cob residue wastes through integrated whole-cell lignocellulosic saccharification and lipid fermentation by Aurantiochytrium [J]. Bioresour Technol, 2025, 431: 132606.
- [48] LIU F, LU Z, LU T, et al. Metabolic engineering of oleaginous yeast in the lipogenic phase enhances production of nervonic acid [J]. Metab Eng, 2023, 80: 193-206.
- [49] BLAZECK J, HILL A, LIU L, et al. Harnessing Yarrowia lipolytica lipogenesis to create a platform for lipid and biofuel production [J]. Nat Commun, 2014, 5: 3131.
- [50] 徐鹏. 纪念王义翹教授:解脂耶氏酵母替代植物油脂的技术瓶颈及展望 [J]. 合成生物学, 2021, 2(04): 509-27.
- XU P. In memory of Prof. Daniel I. C. Wang: Engineering Yarrowia lipolytica for the production of plant-based lipids: technical constraints and perspectives for a sustainable cellular agriculture economy [J]. Synthetic Biology Journal, 2(04): 509-527.
- [51] LARROUDE M, ROSSIGNOL T, NICAUD J M, et al. Synthetic biology tools for engineering Yarrowia lipolytica [J]. Biotechnol Adv, 2018, 36(8): 2150-64.
- [52] BEOPOULOS A, CESCUT J, HADDOUCHE R, et al. Yarrowia lipolytica as a model for bio-oil production [J]. Prog Lipid Res, 2009, 48(6): 375-87.
- [53] XU J, ZHAO X, DU W, et al. Bioconversion of glycerol into lipids by Rhodosporidium toruloides in a two-stage process and characterization of lipid properties [J]. Eng Life Sci, 2017, 17(3): 303-13.
- [54] YANG X, JIN G, WANG Y, et al. Lipid production on free fatty acids by oleaginous yeasts under non-growth conditions [J]. Bioresour Technol, 2015, 193: 557-62.
- [55] LI Y, ZHAO Z K, BAI F. High-density cultivation of oleaginous yeast Rhodosporidium toruloides Y4 in fed-batch culture [J]. Enzyme and Microbial Technology, 2007, 41(3): 312-7.
- [56] LIN J, SHEN H, TAN H, et al. Lipid production by Lipomyces starkeyi cells in glucose solution without auxiliary nutrients [J]. J Biotechnol, 2011, 152(4): 184-8.
- [57] HU C, WU S, WANG Q, et al. Simultaneous utilization of glucose and xylose for lipid production by Trichosporon cutaneum [J]. Biotechnol Biofuels, 2011, 4(1): 25.
- [58] ZHOU Y J, BUIJS N A, ZHU Z, et al. Production of fatty acid-derived oleochemicals and biofuels by synthetic yeast cell factories [J]. Nature Communications, 2016, 7(1): 11709.
- [59] CHANG L, CHEN H, TANG X, et al. Advances in improving the biotechnological application of oleaginous fungus Mortierella alpina [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2021, 105 (16-17): 6275-89.
- [60] OKUDA T, ANDO A, NEGORO H, et al. Eicosapentaenoic acid (EPA) production by an oleaginous fungus Mortierella alpina expressing heterologous the $\Delta 17$ -desaturase gene under ordinary temperature [J]. European Journal of Lipid Science and Technology, 2015, 117(12): 1919-27.
- [61] RODRIGUES R C E, BENTO H B S, CARVALHO A K F, et al. Critical applications of Mucor circinelloides within a biorefinery context [J]. Crit Rev Biotechnol, 2019, 39(4): 555-70.
- [62] FAZILI A B A, SHAH A M, ZAN X, et al. Mucor circinelloides: a model organism for oleaginous fungi and its potential applications in bioactive lipid production [J]. Microb Cell Fact, 2022, 21(1): 29.
- [63] ZHANG X Y, LI B, HUANG B C, et al. Production, Biosynthesis, and Commercial Applications of Fatty Acids From Oleaginous Fungi [J]. Front Nutr, 2022, 9: 873657.
- [64] SAINI R K, PRASAD P, SREEDHAR R V, et al. Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids (PUFAs): Emerging Plant and Microbial Sources, Oxidative Stability, Bioavailability, and Health Benefits-A Review [J]. Antioxidants (Basel), 2021, 10(10).
- [65] 孙冠男, 任路静, 瞿亮, et al. 裂殖壶菌单细胞油脂的组分特

- 性分析 [J]. 中国油脂, 2013, 38(06): 70-3.
- SHEN Y P, CHEN S J, ZHOU X, et al. Advances in biosynthesis of microbial oils in metabolically engineered *Yarrowia lipolytica* [J]. *China Oils and Fats*, 2022, 47(10): 103-113.
- [66] KIM H M, CHAE T U, CHOI S Y, et al. Engineering of an oleaginous bacterium for the production of fatty acids and fuels [J]. *Nat Chem Biol*, 2019, 15(7): 721-9.
- [67] GIENKA I, GADASZEWSKA M, BŁAŻEJAK S, et al. Evaluation of lipid biosynthesis ability by *Rhodotorula* and *Sporobolomyces* strains in medium with glycerol [J]. *European Food Research and Technology*, 2017, 243(2): 275-86.
- [68] FANG L, HAO X, FAN J, et al. Genome-scale CRISPRi screen identifies *pcnB* repression conferring improved physiology for overproduction of free fatty acids in *Escherichia coli* [J]. *Nat Commun*, 2025, 16(1): 3060.
- [69] 沈玉平, 陈诗洁, 周迅, et al. 代谢工程改造解脂耶氏酵母生产油脂研究进展 [J]. 中国油脂, 2022, 47(10): 103-13.
- SHEN Y P, CHEN S J, ZHOU X, et al. Advances in biosynthesis of microbial oils in metabolically engineered *Yarrowia lipolytica* [J]. *China Oils and Fats*, 2022, 47(10): 103-113.
- [70] SPAGNUOLO M, YAGUCHI A, BLENNER M. Oleaginous yeast for biofuel and oleochemical production [J]. *Curr Opin Biotechnol*, 2019, 57: 73-81.
- [71] YAEGASHI J, KIRBY J, ITO M, et al. *Rhodospiridium toruloides*: a new platform organism for conversion of lignocellulose into terpene biofuels and bioproducts [J]. *Biotechnol Biofuels*, 2017, 10: 241.
- [72] YAGUCHI A, ROBINSON A, MIHEALSICK E, et al. Metabolism of aromatics by *Trichosporon oleaginosus* while remaining oleaginous [J]. *Microb Cell Fact*, 2017, 16(1): 206.
- [73] SUNDARAM T, RAJENDRAN S, GNANASEKARAN L, et al. Bioengineering strategies of microalgae biomass for biofuel production: recent advancement and insight [J]. *Bioengineered*, 2023, 14(1): 2252228.
- [74] SIVAKUMAR R, SACHIN S, PRIYADARSHINI R, et al. Sustainable production of eicosapentaenoic acid-rich oil from microalgae: Towards an algal biorefinery [J]. *J Appl Microbiol*, 2022, 132(6): 4170-85.
- [75] HAUSHALTER R W, GROFF D, DEUTSCH S, et al. Development of an orthogonal fatty acid biosynthesis system in *E. coli* for oleochemical production [J]. *Metab Eng*, 2015, 30: 1-6.
- [76] LUDIG D L, ZHAI X, RITTNER A, et al. Engineering metazoan fatty acid synthase to control chain length applied in yeast [J]. *Nat Chem Biol*, 2026.
- [77] FENG Y, WANG Y, LIU J, et al. Structural Insight into Acyl-ACP Thioesterase toward Substrate Specificity Design [J]. *ACS Chem Biol*, 2017, 12(11): 2830-6.
- [78] JUNG W, KIM E J, HAN S J, et al. Enzymatic modification by point mutation and functional analysis of an omega-6 fatty acid desaturase from Arctic *Chlamydomonas* sp [J]. *Prep Biochem Biotechnol*, 2017, 47(2): 143-50.
- [79] WENDEL A A, LEWIN T M, COLEMAN R A. Glycerol-3-phosphate acyltransferases: rate limiting enzymes of triacylglycerol biosynthesis [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1791(6): 501-6.
- [80] WATCHARAWIPAS A, RUNGUPHAN W, KHAMWACHIRAPITHAK P, et al. Integrating yeast biodiversity and machine learning for predictive metabolic engineering [J]. *FEMS Yeast Res*, 2025, 25.
- [81] GONG X, ZHANG J, GAN Q, et al. Leveraging artificial intelligence for efficient microbial production [J]. *Bioresour Technol*, 2026, 439: 133286.
- [82] 吴柯, 罗家豪, 李斐然, et al. 机器学习驱动的基因组规模代谢模型构建与优化 [J]. 合成生物学, 2025, 6(03): 566-84.
- WU K, LUO J H, LI F R, et al. Applications of machine learning in the reconstruction and curation of genome-scale metabolic models [J]. *Synthetic Biology Journal*, 2025, 6(03): 566-584.
- [83] MEDINA-ORTIZ D, KHALIFEH A, ANVARI-KAZEMABAD H, et al. Interpretable and explainable predictive machine learning models for data-driven protein engineering [J]. *Biotechnol Adv*, 2025, 79: 108495.
- [84] ERICKSON E, GADO J E, AVILÁN L, et al. Sourcing thermotolerant poly(ethylene terephthalate) hydrolase scaffolds from natural diversity [J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 7850.
- [85] WANG Y, HAN S, WANG Y, et al. Artificial Intelligence Technology Assists Enzyme Prediction and Rational Design [J]. *J Agric Food Chem*, 2025, 73(12): 7065-73.
- [86] GREENHALGH J C, FAHLBERG S A, PFLEGER B F, et al. Machine learning-guided acyl-ACP reductase engineering for improved in vivo fatty alcohol production [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 5825.
- [87] LANDWEHR G M, BOGART J W, MAGALHAES C, et al. Accelerated enzyme engineering by machine-learning guided cell-free expression [J]. *Nat Commun*, 2025, 16(1): 865.
- [88] LIU F, ZHAO S B, LIU Y H, et al. Machine learning-driving optimization and spatial assembly of a cell-free system for high-yield liquiritigenin production [J]. *Adv Biotechnol (Singap)*, 2026, 4(2).
- [89] DU F, LI Z, LI X, et al. Optimizing multicopy chromosomal integration for stable high-performing strains [J]. *Nat Chem Biol*, 2024, 20(12): 1670-9.
- [90] LI Y, RAO J, JIANG Z, et al. AI-driven engineering of EgtD enabling high-efficiency ergothioneine synthesis with a multi-enzyme cascade [J]. *Int J Biol Macromol*, 2025, 327(Pt 1):

- 147266.
- [91] GONG X, ZHANG J, GAN Q, et al. Advancing microbial production through artificial intelligence-aided biology [J]. *Biotechnol Adv*, 2024, 74: 108399.
- [92] CHOUDHURY S, NARAYANAN B, MORET M, et al. Generative machine learning produces kinetic models that accurately characterize intracellular metabolic states [J]. *Nat Catal*, 2024, 7(10): 1086-98.
- [93] RAJASEKHAR N, RADHAKRISHNAN T K, MOHAMED S N. Reinforcement learning based temperature control of a fermentation bioreactor for ethanol production [J]. *Biotechnol Bioeng*, 2024, 121(10): 3114-27.
- [94] LI G, RABE K S, NIELSEN J, et al. Machine Learning Applied to Predicting Microorganism Growth Temperatures and Enzyme Catalytic Optima [J]. *ACS Synth Biol*, 2019, 8(6): 1411-20.
- [95] ZARETCKII M, BUSLAEV P, KOZLOVSKII I, et al. Approaching Optimal pH Enzyme Prediction with Large Language Models [J]. *ACS Synth Biol*, 2024, 13(9): 3013-21.
- [96] CHEN H, MA H, YU L, et al. Functional characterization of the plastidial enzyme GPAT in microalgae and its potential role in lipid biosynthesis [J]. *Plant Physiol*, 2025, 199(1).
- [97] VAN ERP H, BRYANT F M, MARTIN-MORENO J, et al. Engineering the stereoisomeric structure of seed oil to mimic human milk fat [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, 116(42): 20947-52.
- [98] VAN ERP H, BRYANT F M, MARTIN-MORENO J, et al. Production of the infant formula ingredient 1, 3-olein-2-palmitin in *Arabidopsis thaliana* seeds [J]. *Metab Eng*, 2021, 67: 67-74.
- [99] YANG K K, WU Z, ARNOLD F H. Machine-learning-guided directed evolution for protein engineering [J]. *Nat Methods*, 2019, 16(8): 687-94.
- [100] FEEHAN R, MONTEZANO D, SLUSKY J S G. Machine learning for enzyme engineering, selection and design [J]. *Protein Eng Des Sel*, 2021, 34.
- [101] DYER J M, CHAPITAL D C, KUANG J W, et al. Metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for production of novel lipid compounds [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2002, 59(2-3): 224-30.
- [102] CHAI T, TAO Y, ZHAO C, et al. Hierarchical metabolic engineering for rewiring cellular metabolism [J]. *FEMS Microbiol Rev*, 2025, 49.
- [103] HU Y, ZHU Z, NIELSEN J, et al. Engineering *Saccharomyces cerevisiae* cells for production of fatty acid-derived biofuels and chemicals [J]. *Open Biol*, 2019, 9(5): 190049.
- [104] MATEI P L, DELEANU I, BREZIOIU A M, et al. Ultrasound-Assisted Extraction of Blackberry Seed Oil: Optimization and Oil Characterization [J]. *Molecules*, 2023, 28(6).
- [105] LIU C, WUFUER A, KONG L, et al. Organic solvent extraction-assisted catalytic hydrothermal liquefaction of algae to bio-oil [J]. *RSC Adv*, 2018, 8(55): 31717-24.
- [106] EKPENI L E N, BENYOUNIS K Y, NKEM-EKPENI F F, et al. Underlying factors to consider in improving energy yield from biomass source through yeast use on high-pressure homogenizer (hph) [J]. *Energy*, 2015, 81: 74-83.
- [107] GAO Y, DING Z, LIU Y, et al. Aqueous enzymatic extraction: A green, environmentally friendly and sustainable oil extraction technology [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2024, 144: 104315.



第一作者及通讯作者：刘芮存 (1990—)，女，博士，副研究员。研究方向为合成生物学驱动的食品生物制造研究，融合蛋白质设计与人工智能等交叉学科，推动技术成果的产业转化。
E-mail: liuruicun@mengniu.cn



共同通讯作者：尹升明 (1987—)，男，博士。研究方向为生物合成功能性新原料的创新研发与市场转化。
E-mail: yinshengming@mengniu.cn



共同通讯作者：毛跃建 (1981—)，男，博士，高级工程师。研究方向为利用微生物组学及分子生物学的方法研究益生菌的健康功效及作用机制，解析菌株功能并推动其在乳品及健康食品领域的产业化应用。
E-mail: maoyuejian@mengniu.cn