

特约评述

DOI: 10.12211/2096-8280.2026-019

微生物合成烃类四萜化合物：路径优化与底盘改造策略的研究进展

方越^{1, 2, 3}, 贾斌^{1, 2}, 肖文海^{2, 3, 4}, 王颖^{1, 2, 3}, 姚明东^{1, 2, 3}

(¹ 天津大学合成生物与生物制造学院, 天津 300072; ² 天津大学合成生物技术全国重点实验室和合成生物学前沿科学中心(教育部), 天津 300072; ³ 天津大学合成生物前沿研究院, 天津 301700; ⁴ 天津大学生命科学学院, 天津 300072)

摘要：以番茄红素和 β -胡萝卜素为代表的烃类四萜化合物，因具有着色、抗氧化、营养供给、免疫调节等作用，被广泛应用于食品、医药及化妆品等行业。目前，烃类四萜化合物获取方法主要有天然提取、化学合成和微生物合成。其中，天然提取受限于原料供应和提取效率，化学合成则存在副产物多、环境不友好等问题。随着合成生物学的快速发展，微生物合成烃类四萜化合物的生产效率得到显著提高，并且具有低碳绿色、环境友好等优点，推动了烃类四萜化合物生物制造的产业化进程。本文总结了微生物合成烃类四萜化合物的相关技术策略和研究成果，主要从路径优化和底盘改造两方面对这些研究进行归纳分析，并展望了未来微生物合成烃类四萜化合物的研究前景，如AI辅助酶定向进化、机器学习整合多组学数据、构建荧光报告系统耦合烃类四萜化合物产量。以期进一步推动其生物合成的效能。

关键词：烃类四萜化合物；底盘改造；路径优化；生物合成；合成生物学

中图分类号：TQ 920.6 **文献标志码：**A

Microbial Synthesis of Hydrocarbon Tetraterpenoids: Research Progress on Pathway Optimization and Chassis Engineering Strategies

FANG Yue^{1, 2, 3}, JIA Bing^{1, 2}, XIAO Wenhai^{2, 3, 4}, WANG Ying^{1, 2, 3}, YAO Mingdong^{1, 2, 3}

(¹School of Synthetic Biology and Biomanufacturing, Tianjin University, Tianjin 300072, China; ²State Key Laboratory of Synthetic Biology and Frontier Science Center for Synthetic Biology, Tianjin University, Tianjin 300072, China; ³Synthetic Biology Frontier Research Institute, Tianjin University, Tianjin 301700, China; ⁴School of Life Sciences, Tianjin University, Tianjin 300072, China)

Abstract: Hydrocarbon tetraterpenoids, such as lycopene and β -carotene, possess diverse physiological functions including pigmentation, antioxidant activity, nutritional support, and immunomodulation. Owing to these properties, they are extensively used in the food, pharmaceutical, and cosmetic industries. Current production methods include

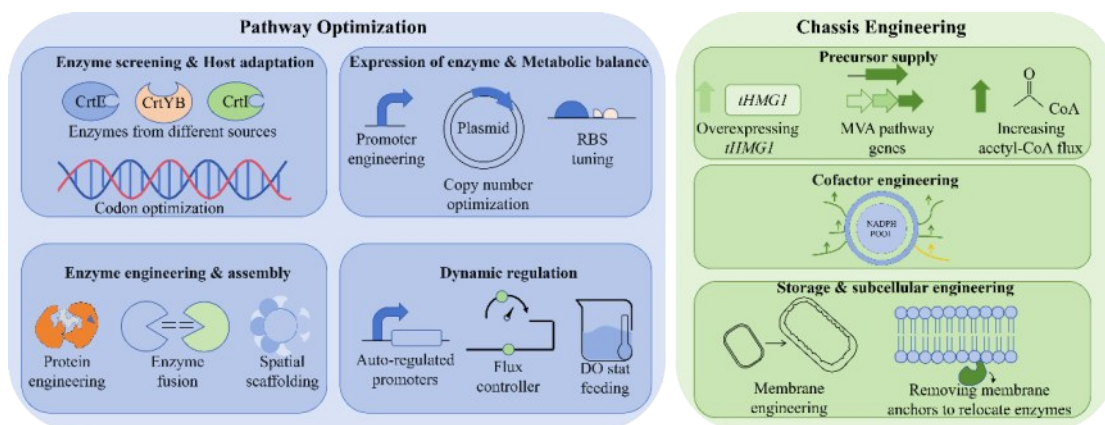
收稿日期: 2026-03-27 修回日期: 2026-05-25

基金项目: 国家重点研发计划项目(2023YFF1103701)

引用本文: 方越, 贾斌, 肖文海, 王颖, 姚明东. 微生物合成烃类四萜化合物: 路径优化与底盘改造策略的研究进展[J]. 合成生物学, 2026, 7. DOI: 10.12211/2096-8280.2026-019

Citation: FANG Yue, JIA Bing, XIAO Wenhai, WANG Ying, YAO Mingdong. Microbial Synthesis of Hydrocarbon Tetraterpenoids: Research Progress on Pathway Optimization and Chassis Engineering Strategies[J]. Synthetic Biology Journal, 2026, 7. DOI: 10.12211/2096-8280.2026-019

natural extraction, chemical synthesis, and microbial synthesis. Natural extraction is constrained by limited raw material availability, seasonal variation, and low extraction efficiency, making large-scale production difficult. Chemical synthesis, while capable of high yields, often generates undesirable by-products and relies on non-renewable resources and organic solvents, raising environmental concerns regarding pollution and chemical residues. With the rapid advances in synthetic biology, microbial synthesis has emerged as a highly promising and sustainable alternative. It offers significantly improved production efficiency, mild reaction conditions, a low carbon footprint, and environmental friendliness, thereby accelerating the industrialization of tetraterpenoid biomanufacturing. This article systematically reviews recent technical strategies and research progress in the microbial synthesis of hydrocarbon tetraterpenoids, with an emphasis on two complementary aspects: pathway optimization and chassis engineering. Regarding pathway optimization, key strategies include the screening and rational engineering of rate-limiting enzymes, redirection of metabolic flux toward the target pathway, and disruption of competing branches. For example, heterologous enzymes from different sources are often subjected to codon optimization, site-directed mutagenesis, or subcellular relocalization to enhance their activity and substrate specificity. Pathway balancing via promoter engineering or modular assembly further improves product titers. In terms of chassis engineering, effective approaches involve the selection of appropriate host strains, cofactor balancing to support redox demands, optimization of regulatory elements, and engineering of efflux systems to relieve product toxicity and feedback inhibition. Additionally, adaptive laboratory evolution and transcriptome-guided target discovery have enabled the identification of non-pathway genes that significantly enhance production. Finally, this article discusses future directions for further improving the efficiency of hydrocarbon tetraterpenoid synthesis. Emerging technologies such as dynamic metabolic regulation, high-throughput screening of enzyme variants, biosensor-based strain development, and cell-free biosynthesis systems hold great potential. These advances will provide theoretical guidance and technical support for sustainable green biomanufacturing in the field of natural product synthesis.



Keywords: Hydrocarbon tetraterpenoids; chassis engineering; pathway optimization; biosynthesis; synthetic biology

引言

烃类四萜化合物如番茄红素和 β -胡萝卜素等是一类只含碳和氢的四萜化合物。它们是自然界中最普遍存在的天然色素之一，属于天然化合物家族，存在于红色、橙色和深绿色的蔬菜和水果

中。烃类四萜化合物作为强抗氧化剂，能够淬灭单线态氧^[1]和清除自由基使细胞免受氧化损伤^[2]。因具有着色、抗氧化和营养增强等功能^[3, 4]，被广泛应用于食品、饲料、医药及化妆品等工业领域^[5-7]。2025年，全球烃类四萜化合物市场规模为12.36亿美元，预计到2034年将增长至18.02亿美

元, 复合年增长率为4.28%。

随着烃类四萜化合物的市场规模不断扩大, 人们对烃类四萜化合物的需求也在不断提高^[8]。目前, 用于得到烃类四萜化合物的方法有天然产物萃取法、化学合成法及微生物合成法^[9]。天然产物萃取法是最传统的方法, 直接从植物或藻类中提取烃类四萜化合物, 但原料中烃类四萜化合物含量低, 提取工艺复杂, 导致生产成本高昂, 难以满足大规模工业化需求^[1]。化学合成法通过化工原料进行复杂的化学反应来合成。但化学合成存在反应步骤多, 副产物生成等问题, 以及产品毒性等问题^[10, 11]。而微生物发酵法得到的产品是天然构型, 生理活性高, 生产成本低, 生产周期短, 不受季节和原料限制, 环境友好。微生物发酵法因其平衡了成本与天然性的优势, 正成为学术界和工业界研发的热点, 代表着未来的发展方向。

近年来, 随着合成生物学的高速发展, 其核心工具如代谢工程、基因编辑使得研究人员能够精准改造微生物, 将其转化为高效的烃类四萜化合物生产者^[12, 13]。微生物合成烃类四萜化合物主要依赖于两类底盘: 以大肠杆菌为代表的原核系统和以酿酒酵母、解脂耶氏酵母为代表的真核系统^[14, 15]。目前已在多种微生物中实现了烃类四萜化合物的异源合成, 但普遍存在前体代谢流竞争^[16, 17]、异源酶与宿主适配性差^[18, 19]、脂溶性产物储存受限^[20]、中间代谢物累积毒性以及底物抑制等问题^[16, 21], 严重阻碍了产量突破。

为突破上述瓶颈, 近年来的研究策略逐渐聚焦于两大维度: 一是合成路径的精细优化, 包括筛选高活性酶^[22]、利用启动子文库和拷贝数优化途径酶的表达量^[23]、以及通过定向进化改造关键酶以消除产物抑制^[24, 25]; 二是底盘细胞的代谢重构, 即从宿主全局出发, 强化乙酰辅酶A或丙酮酸的供给^[26], 平衡NADPH等辅因子^[27, 28], 或通过调控脂质合成来扩大产物的储存空间^[29, 30], 从根本上提升底盘对异源途径的支持能力。

本文将从微生物合成烃类四萜化合物的生物合成途径与限速步骤、路径优化策略、底盘的适配性改造三方面展开论述。其中微生物合成烃类四萜化合物的生物合成途径与限速步骤方面包括

烃类四萜化合物合成途径, 关键限速步骤与竞争路径; 路径优化策略方面包括关键酶的筛选与适配, 路径酶基因的表达和代谢平衡, 酶的改造优化和组装, 合成路径的动态调控; 底盘的适配性改造方面包括增加前体供给, 辅因子工程, 储存空间与亚细胞工程。并根据本文综述内容和目前研究情况做了总结和展望。

1 微生物合成烃类四萜化合物的生物合成途径与限速步骤

1.1 烃类四萜化合物合成途径

1.1.1 上游模块: 前体供应途径

烃类四萜化合物(C40)合成路径通常分为上游前体供应与下游异源模块两部分^[31], 上游途径通过甲基赤藓醇磷酸(methyl erythritol phosphate, MEP)或甲羟戊酸(mevalonic acid, MVA)途径合成异戊二烯焦磷酸(isopentenyl pyrophosphate, IPP)和二甲基丙烯焦磷酸(dimethylallyl diphosphate, DMAPP)^[32, 33], 其中MVA途径存在于大多数真核微生物如酿酒酵母、解脂耶氏酵母以及部分古菌和细菌中^[34], 该途径以乙酰辅酶A为起始底物, 经多步反应生成IPP^[35], IPP在异戊烯基二磷酸异构酶(isopentenyl diphosphate isomerase, IDI)的催化下异构化为DMAPP; MEP途径存在于大多数细菌如大肠杆菌以及植物质体中^[14], 该途径以丙酮酸和甘油醛-3-磷酸为底物, 经1-脱氧-D-木酮糖-5-磷酸合酶(1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate synthase, DXS)、脱氧木酮糖磷酸盐还原异构酶(1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate reductoisomerase, DXR)催化生成MEP, 随后MEP在多种酶催化生成IPP和DMAPP(图1)。在不同宿主中往往有不同的途径选择策略, 酵母内源MVA途径完整, 且易于通过过表达途径基因来提升IPP通量, 因此选择保留并强化内源MVA途径。而大肠杆菌内源MEP途径产量较低且调控复杂, 工业上通常引入外源的MVA途径来获得更高的IPP通量。

1.1.2 下游模块: 烃类四萜化合物特异性合成途径

IPP和DMAPP在法尼基焦磷酸合酶(farnesyl

pyrophosphate synthase, ERG20) 催化下缩合生成香叶基焦磷酸 (geranyl pyrophosphate, GPP), 并进一步生成法尼基焦磷酸 (farnesyl pyrophosphate, FPP), 从 FPP 到终产物 β -胡萝卜素, 需要经过四步反应, 首先由香叶基香叶基焦磷酸合酶 (geranylgeranyl pyrophosphate synthase, GGS1/CrtE) 催化生成香叶基香叶基焦磷酸 (geranylgeranyl pyrophosphate, GGPP)。随后八氢番茄红素合酶 (phytoene synthase, CrtB) 催化两分子 GGPP 发生缩合反应, 生成八氢番茄红素, 这一步标志着烃类四萜化合物特异性结构的形成^[36]。八氢番茄红素脱氢酶 (phytoene desaturase, CrtI) 在八氢番茄红素分子上连续引入多个双键, 通过一系列中间产物如六氢番茄红素、 ζ -胡萝卜素等, 最终生成番茄红素, CrtI 是一种多步脱氢酶, 不同微生物来源的 CrtI 催化脱氢步数不同, 例如荚膜红细菌来源的 CrtI 主要催化 3 步连续脱氢反应生成链孢红素^[37], 欧文氏菌来源的 CrtI 主要催化 4 步连续脱氢反应生成番茄红素^[38], 而粗糙脉孢菌来源的 CrtI 则能催化 5 步连续脱氢反应生成 3, 4-脱氢番茄红素^[39]。因此它是番茄红素合成的限速酶和产量决定因素之一^[40]。最后由番茄红素环化酶 (lycopene cyclase, CrtY) 催化番茄红素两端的末端基团环化, 生成具有商业价值和维生素 A 原活性的橙黄色 β -胡萝卜素^[41, 42] (图 1), 这一步的成功与否直接决定了最终产物是停留在番茄红素,

还是进一步转化为 β -胡萝卜素^[43, 44]。

1.2 关键限速步骤与竞争路径

尽管已在多种微生物中成功构建烃类四萜化合物异源合成途径, 但其产量仍受制于前体供应、中间代谢物积累、竞争途径分流、产物反馈抑制和储存空间限制^[45] 等多个层面的瓶颈因素^[46, 47], 且合成途径中存在多个限速节点 (图 1)。

1.2.1 前体供应途径的限速节点

在酵母等真核微生物中, MVA 途径是 IPP/DMAPP 的唯一来源。作为甲羟戊酸途径的核心酶, 有研究表明羟甲基戊二酰辅酶 A 合成酶 (hydroxymethylglutaryl-CoA synthase, ERG13) 通过乙酰辅酶 A 和辅酶 A 的竞争性抑制, 直接控制进入烃类四萜化合物合成的代谢总通量^[48]。3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶 (hydroxymethylglutaryl-CoA reductase, HMGR) 则被公认为该途径的重要限速酶^[49, 50], 其催化 MVA 途径中第一个不可逆反应: 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A (hydroxymethylglutaryl-CoA, HMG-CoA) 向甲羟戊酸的转化, 该步骤的代谢通量最小, 是整条路径的瓶颈。其 N-末端截短的形式为 tHMG1。研究表明, 过表达 *tHMG1* 可显著提升酿酒酵母和解脂耶氏酵母中的萜类产量^[51]。*tHMG1* 表达不足会导致 HMG-CoA 积累, 使流向番茄红素和 β -胡萝卜素

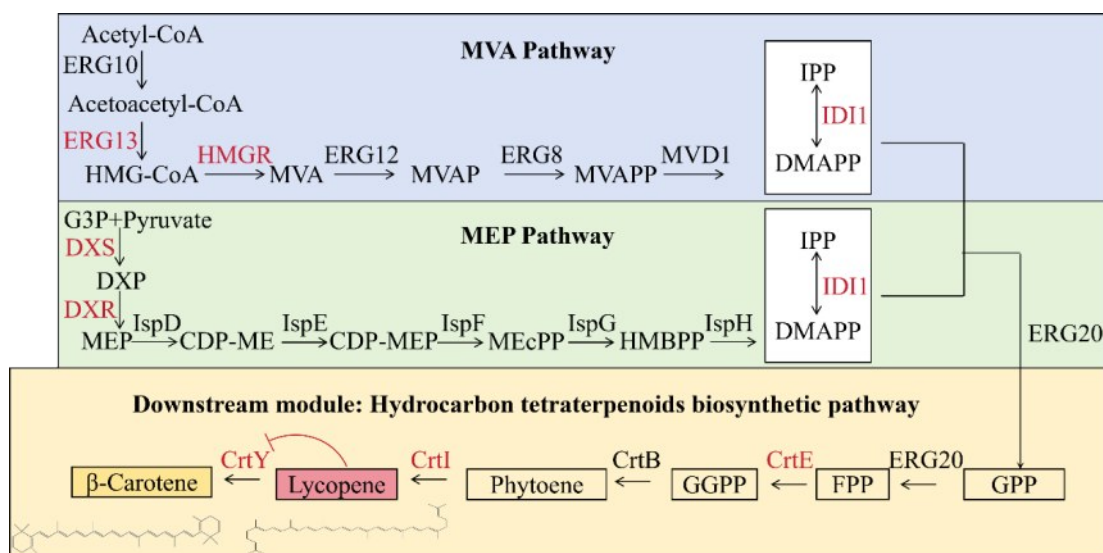


图 1 烃类四萜化合物的生物合成路径和限速酶。红色字体表示限速酶。

Fig. 1 Biosynthetic pathway and rate-limiting enzymes of hydrocarbon tetraterpenoids. Red font indicates rate-limiting enzymes.

的碳流减少^[52]。

在大肠杆菌等原核宿主中，MEP途径负责前体供应。DXS催化MEP途径的第一步反应，也是第一个不可逆反应，决定了进入整个途径的碳通量。IDI催化IPP和DMAPP的互相转化，它通过控制产物比例和供给速率，直接影响了整个下游萜类化合物的合成能力。早期研究已证实DXS和IDI是该途径的关键限速酶^[53]。

1.2.2 烃类四萜化合物合成途径的限速节点

下游途径的限速酶同样重要，CrtE/GGS1负责将FPP转化为GGPP，是连接上游前体供应与下游烃类四萜化合物合成的关键节点^[54]。FPP是萜类合成的关键分支节点，除流向GGPP合成烃类四萜化合物外，还参与甾醇、泛醌、萜醇、角鲨烯等多种产物的合成^[55, 56]。研究表明，GGS1表达不足会导致FPP积累，使流向烃类四萜化合物的碳流减少^[52]。CrtI催化八氢番茄红素向番茄红素的多步脱氢反应，不同微生物来源的CrtI催化脱氢步数不同，常被视为途径的限速酶^[57]。有研究指出，在CrtI催化效率不足的情况下，八氢番茄红素在脂滴中大量储存，无法有效转化为下游产物^[58]。CrtY则催化番茄红素环化生成 β -胡萝卜素，番茄红素对CrtY存在底物抑制作用。

2 路径优化策略

异源合成途径自身的催化效率与表达平衡是制约烃类四萜化合物产量的关键因素。针对外源基因适配性差、多基因表达失衡、关键酶活性不足及静态调控带来的代谢负担等问题，研究者分别从基因筛选与适配、表达平衡、蛋白工程和动态调控四个层面优化路径，实现烃类四萜化合物的高效合成（表1）。

2.1 关键酶的筛选与适配

异源酶的筛选和组合适配是合成途径构建的首要环节。不同生物来源的酶在催化效率、底物亲和力及宿主适配性上存在显著差异^[75]，因此高性能酶的筛选和底盘适配是路径优化的基础[图2(a)]。同时四萜类化合物的合成路径长，关键路

径酶的性能和多个路径酶的协同催化适配成为生物合成的重要瓶颈。

对此，Verwaal等人在酿酒酵母中筛选并组合表达了红法夫酵母来源的路径酶基因*crtE*与*crtYB*、*crtI*，并进一步过表达关键限速酶基因*tHMG1*和*crtI*，提高了前体供给和转化，使 β -胡萝卜素产量提高到5.9 mg/g^[61]。进一步地，Chen等人在酿酒酵母中系统比较了多个来源的CrtI，发现三孢布拉氏霉来源的CrtI（BtCrtI）表现最优，其催化底物八氢番茄红素的脱氢产物转化率高达80%，是番茄红素合成的关键限速酶；通过结构分析还揭示了S311位点对酶活的关键作用，为酶的理性改造提供了靶点^[76]。Watcharawipas等人发现在酿酒酵母中*Sporidiobolus pararoseus*来源的*crt*变体表现出最高的烃类四萜化合物生产活性，在番茄红素生产能力上，SpCrtI比三孢布拉氏霉来源的BtCrtI的活性高出四倍。与红法夫酵母来源的组合酶相比，当SpCrtE、SpCrtYB、SpCrtI组合表达时， β -胡萝卜素产量提高了7倍^[59]。

密码子优化也是基因适配的重要手段，Li等人通过对*crtI*和*crtYB*的特定位置进行优化，合理突变*crtI*的五个密码子和*crtYB*的八个密码子，使酿酒酵母中 β -胡萝卜素的产量提高了约200%，并引入异源的HMG-CoA还原酶，最终 β -胡萝卜素产量达到390 μ g/g^[62]。这些研究表明，通过跨物种基因筛选高活性同源酶，并结合密码子优化提升异源表达效率，是构建高效烃类四萜化合物合成途径的首要步骤。

2.2 路径酶基因的表达和代谢平衡

路径基因表达平衡是代谢途径优化的核心环节。外源合成途径通常包含多个基因（如*crtE*、*crtB*、*crtI*、*crtY*），各基因的表达强度需要精细匹配，以避免中间代谢物积累或代谢流失衡^[77, 78]。启动子工程是实现表达平衡的常用策略。近期，Li等人在酿酒酵母中开发了多重位点特异性反转系统Rci51-5/multi-*sfxa101*，对 β -胡萝卜素合成途径中的*crtE*、*crtYB*、*crtI*三个外源基因进行启动子替换，系统评估了*pTDH3*、*pTEF1*等10个不同强度启动子的组合效果，并通过qPCR验证了表达水平

表1 路径优化策略合成烃类四萜化合物

Table 1 Pathway optimization strategies for the synthesis of hydrocarbon tetraterpenoids

菌株	优化策略	产物	产量	来源
酿酒酵母	•筛选不同来源的 <i>crt</i> 变体并组合表达	番茄红素	232.9 mg/L	[59]
酿酒酵母	• <i>CrtI</i> 的定点突变	番茄红素	476 mg/L	[60]
酿酒酵母	•筛选并组合表达了红法夫酵母来源的路径酶 •过表达关键限速酶	β -胡萝卜素	5.9 mg/g	[61]
酿酒酵母	•对 <i>crtI</i> 和 <i>crtYB</i> 进行密码子优化 •引入异源的 HMG-CoA 还原酶	β -胡萝卜素	390 μ g/g	[62]
酿酒酵母	•开发多重位点特异性反转系统并对 β -胡萝卜素合成途径中多个基因启动子进行替换和优化	β -胡萝卜素	1.4 μ g/mg	[63]
酿酒酵母	• <i>CrtI</i> 重定位: 从内质网定位到胞质	β -胡萝卜素	79 mg/g	[58]
酿酒酵母	•构建 <i>CrtI</i> 、 <i>CrtB</i> 、 <i>CrtY</i> 三结构域融合酶	β -胡萝卜素	\	[64]
解脂耶氏酵母	•26S rDNA 介导的多拷贝随机整合表达番茄红素合成基因 •非同源末端连接(NHEJ)介导的多轮迭代转化过表达 MVA 合成关键基因	番茄红素	430.5 mg/L	[65]
解脂耶氏酵母	•构建特征工程驱动的机器学习框架来采集 β -胡萝卜素合成过程中前体供应、产物合成、产物储存的关系并预测产量	β -胡萝卜素	1.3 g/L	[66]
解脂耶氏酵母	•降低 HMG-CoA 和 FPP 的积累 •提高 <i>CarRA</i> 和 <i>CarB</i> 的表达水平	β -胡萝卜素	1.7 g/L	[52]
解脂耶氏酵母	•DO-stat 补料发酵	β -胡萝卜素	2.1 g/L	[67]
解脂耶氏酵母	•模拟结构, 理性设计改造 <i>CarRP</i> •开发 GGPPS 介导的流量控制器	β -胡萝卜素	39.5 g/L	[68]
大肠杆菌	•开发多拷贝整合方法, 计算代谢途径基因的最佳拷贝数组合 •通过非重复序列提高菌株遗传稳定性	番茄红素	118 mg/L	[69]
大肠杆菌	•IPP 生物合成途径的关键酶组装到基于 α -羧酶体改造的蛋白笼外表面	番茄红素	12.6 mg/g	[70]
大肠杆菌	•定向进化结合 RBS 优化限速酶	β -胡萝卜素	136.76 mg/L	[71]
大肠杆菌	•自调控启动子 P_{mc} 动态调控 <i>mvaE</i> •膜耐受性改造和前体模块优化	β -胡萝卜素	3.93 g/L	[72]
毕赤酵母	•开发了基于甾醇响应启动子的动态调控系统来调节角鲨烯合酶的表达	番茄红素	8.4 g/L	[73]
枯草芽孢杆菌	•建立 <i>bsBETTER</i> 多位点碱基编辑系统对关键基因进行核糖体结合位点强度调控	番茄红素	4.21 mg/L	[74]

与产量的相关性, 使 β -胡萝卜素的产量增加超过 7 倍 [图 2(b)], 为多基因协同优化提供了高通量工具 [63]。

此外, 拷贝数优化同样关键。Du 等人开发了多拷贝整合方法 (Targeted Integration of Multicopy Systems, TIMS), 利用机器学习理性计算代谢途径基因的最佳拷贝数组合, 通过非重复序列构建高遗传稳定性的大肠杆菌番茄红素细胞工厂, 使番茄红素产量提高 9.5 倍 [69], 实现快速、稳定、高性能的工业菌株构建。Liu 等人通过降低 FPP 积累水平, 提高 *CarRA* 和 *CarB* 的表达水平来降低八氢番茄红素和番茄红素的积累量从而提高 β -胡萝卜素产量, 最终 β -胡萝卜素产量达到 1.7 g/L [52]。Luo 等人利用 26S rDNA 介导的多拷贝随机整合策略, 在过表达 *HMG1* 和 *GGS1* 的背景下表达番茄红素合

成关键基因 *crtE*、*crtB* 和 *crtI*; 进一步通过非同源末端连接 (NHEJ) 介导的多轮迭代转化, 过表达 MVA 合成关键基因使番茄红素产量达到 430.5 mg/L, 在 5L 补料发酵系统中产量为 121 mg/g DCW [65]。

RBS 文库和组合优化则为精细调控提供了新思路。Liu 等人建立 *bsBETTER* 多位点碱基编辑系统, 在染色体原位对番茄红素合成途径的 12 个关键基因同时进行核糖体结合位点强度调控, 每个位点获得高达 256 种理论组合中的 255 种变体, 高通量筛选鉴定出的变体在番茄红素产量上相较于对照组提高了 6.2 倍 [74], 这种方法虽非直接改变拷贝数, 但通过原位调控实现了等效于多拷贝优化的代谢通量重编程。

此外, 多模块协同调控也是表达平衡的重要维度。Tu 等人以产油酵母解脂耶氏酵母为底盘,

创新性地构建了一套特征工程驱动的机器学习框架来采集 β -胡萝卜素合成过程中前体供应（甲羟戊酸途径）、产物合成（ β -胡萝卜素基因簇）与产物储存（脂质合成）三大模块之间既协同又竞争的复杂关系，并基于基因组合预测 β -胡萝卜素产量，通过系统性地多轮基因整合构建工程菌株，使 β -胡萝卜素产量提高了7倍^[66]。

2.3 酶的改造优化和组装

蛋白工程与定向进化是突破关键酶活性瓶颈、改善底物抑制和空间组织问题的核心手段^[79, 80]。针对番茄红素和 β -胡萝卜素合成途径中的限速酶，研究者发展了多种改造策略。Liang等人通过构建CrtI突变体文库并进行系统筛选，成功确认了两个能够显著调控催化特异性的关键突变位点H136和H453，通过主成分分析（PCA）和k-means对H136和H453的饱和突变体的功能进行了聚类。根据聚类结果，对CrtI的定点突变实现对烃类四萜化合物合成的特异性调控^[81]，这项研究丰富了酶进化理论，并指导了烃类四萜化合物合成路径酶CrtI的功能优化，其中最优CrtI突变体（Y160F/N576S），使番茄红素的产量提高到476 mg/L^[60] [图2(c)]。

另外，在烃类四萜化合物合成中解除酶的底物抑制也是一种重要策略。Ma等人在解脂耶氏酵母中首次发现，番茄红素环化酶存在底物抑制效应：高浓度番茄红素强烈抑制酶活，成为 β -胡萝卜素合成的关键瓶颈。为解除底物抑制，研究者利用Transform-restrained Rosetta（TrRosetta）平台模拟了CarRP的R结构域模型，通过Position Specific Scoring Matrix（PSSM）确定突变位置，使用PAM30和凝聚聚类对突变体进行聚类和细分序列，最终获得50个突变体，其中突变体Y27R完全解除底物抑制且不降低酶活性，使 β -胡萝卜素产量显著增加，选择性达98% [图2(d)]，同时建立流量控制器策略，最终产量达到39.5 g/L，是目前报道的最高水平^[68]。作者在结构未知的情况下，基于计算生物学工具预测三维结构，并进行理性改造，成功消除了酶的底物抑制效应。

此外，定向进化结合翻译调控也取得了显著

进展。Liu等人在大肠杆菌中通过易错PCR构建了crtY基因的突变库，基于颜色强度进行高通量表型筛选获得三个单点突变体，随后组合突变产生的双突变体CrtY（F49Y/T271I）有最好的 β -胡萝卜素合成能力，结合RBS优化，使 β -胡萝卜素产量提升3.4倍，为后续视黄醛的高效合成奠定了基础^[71]。作者通过非理性的随机突变结合高通量筛选成功获得高性能突变体。

酶亚细胞定位改造是近年来的新策略。Arhar等人发现，酿酒酵母中八氢番茄红素储存在脂滴中，而催化其转化的CrtI位于内质网，这种空间隔离限制了催化效率。通过去除CrtI的C端膜锚定结构域，使其定位于胞质，显著改善了底物可及性， β -胡萝卜素含量达79 mg/g细胞干重，较起始菌株提升76倍，揭示了细胞器间转运对萜类四萜化合物合成的重要影响^[58]。

酶融合策略为代谢通量优化提供了另一思路。Zhou等人将IPP生物合成途径的三个关键酶（ScCK、AtIPK、MxanIDI）组装到基于 α -羧酶体改造的蛋白笼外表面，形成IPP合成纳米笼。将该纳米笼与CrtE/CrtB/CrtI在大肠杆菌中共表达使番茄红素产量比对照菌株提高1.7倍；证明了多酶空间共定位对代谢通量提升的有效性^[70]。Rabeharindranto等人利用酶的空间邻近性高效传递代谢物从而减少中间代谢物的积累，他们将CrtI、CrtB、CrtY构建为三结构域融合酶，通过优化结构域顺序和连接肽，使 β -胡萝卜素产量翻倍，同时减少中间代谢物积累，证明酶融合可以有效改善代谢通量^[64]。从进化视角看，BBA综述系统阐述了烃类四萜化合物途径的起源与多样性，指出基因突变改变酶的底物和产物特异性是途径多样化的根本原因，这为理性设计酶的底物谱和反应特异性提供了理论指导^[82]。

2.4 合成路径的动态调控

动态调控是解决“细胞生长与产物合成的代谢竞争”的关键策略，通过实时响应细胞状态或环境信号，在适当时机开启或调整合成途径，避免前期代谢负担过重^[83, 84]。实现这一策略的核心在于设计可编程的动态调控元件，常见的设计方法包

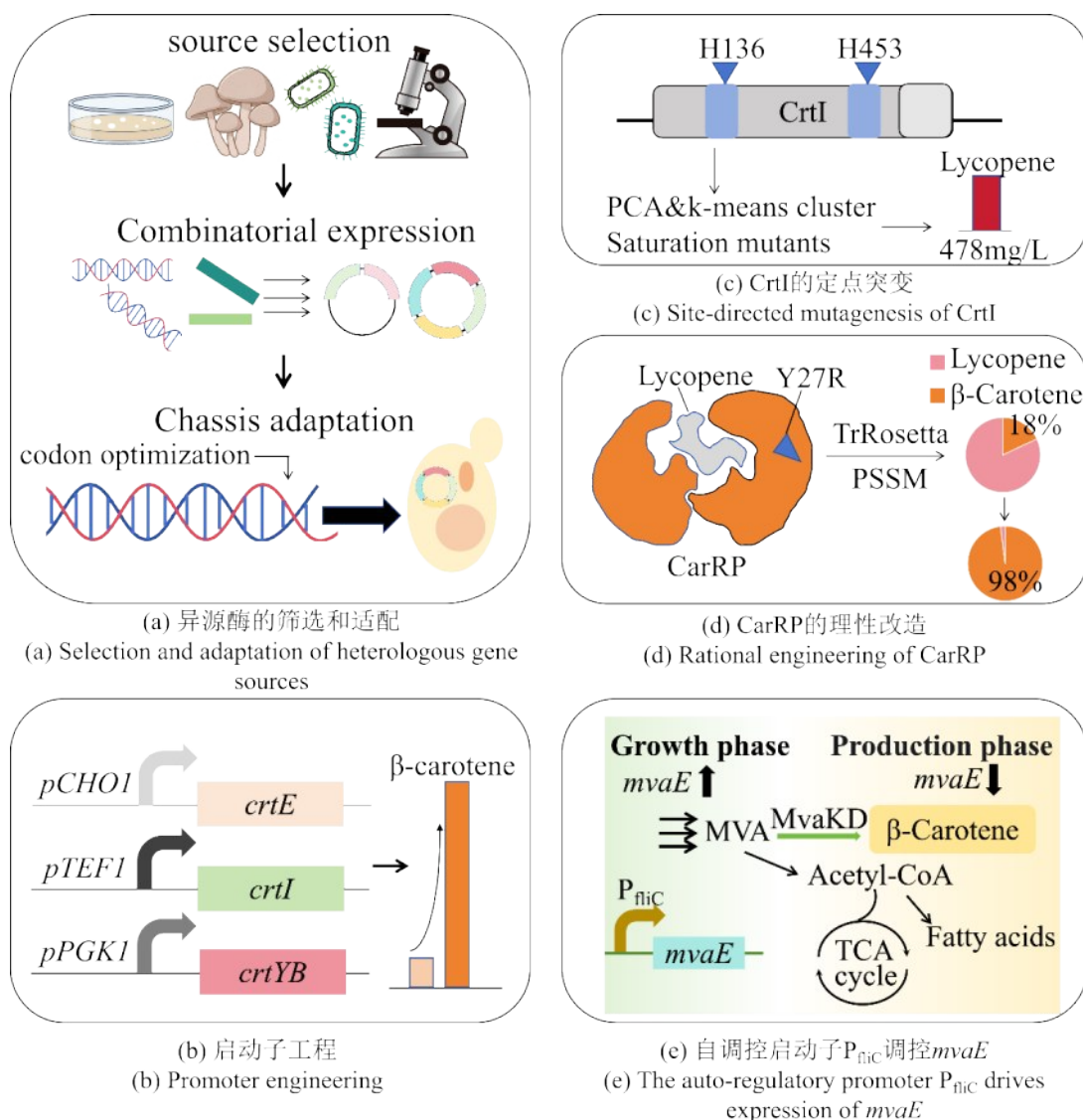


图2 路径优化提高烃类四萜化合物产量

Fig. 2 Pathway optimization increases hydrocarbon tetraterpenoids production

括利用合成转录因子或调控 RNA 如核糖开关、CRISPRi/dCas9 系统构建人工感应模块,实现对代谢通路的可预测调节;在蛋白质水平上设计别构调控或蛋白酶靶向降解系统,以实现更快速的代谢流响应。其调控原理往往借鉴控制论中的前馈策略:通过底物或中间代谢物信号提前调整通量,避免有害中间体的积累;基于天然响应启动子如环境 pH、温度、溶氧、代谢物浓度等的理性改造,例如将甾醇响应启动子用于角鲨烯合酶的动态控制。

在大肠杆菌中, Ji 等人开发了针对 *mvaE* 基因的动态调控策略,使用自调控启动子 P_{nic} 调控

mvaE, 在对数生长期高表达 *mvaE*, 推动甲羟戊酸积累和 β -胡萝卜素快速合成;在对数后期至稳定期下调 *mvaE* 表达,使过量的甲羟戊酸被 *MvaKD* 转化为 β -胡萝卜素,同时将乙酰辅酶 A 分流向 TCA 循环和脂肪酸合成,增强细胞膜完整性和对 β -胡萝卜素的耐受性 [图 2(e)]。实现了对乙酰辅酶 A 进入 MVA 途径和甲羟戊酸合成的同步控制,使 β -胡萝卜素产量提升 45.75%,同时细胞生长提升 11.43%。结合膜耐受性改造和前体模块优化,最终在“瞬态”连续发酵中产量达 3.93 g/L,为目前大肠杆菌中 β -胡萝卜素的最高报道之一^[72]。该研究还采用两阶段温度控制发酵,在生长阶段维持

适宜温度促进生物量积累，在生产阶段切换温度诱导合成，有效平衡了生长与生产。

Ma 等人在解脂耶氏酵母中针对番茄红素环化酶的底物抑制效应，创新性地建立了香叶基香叶基焦磷酸合酶介导的流量控制器。该策略通过调控代谢流量限制番茄红素合成速率，将其浓度控制在抑制水平之下，同时确保足够代谢流量用于β-胡萝卜素合成，最终产量达 39.5 g/L，与蛋白质工程策略同等有效^[68]。Zhou 等人在毕赤酵母中开发了基于甾醇响应启动子的动态调控系统，用于调节角鲨烯合酶的表达。该策略通过感知细胞内甾醇水平变化，自动平衡细胞生长与番茄红素合成之间的代谢流分配，避免因完全阻断竞争途径而导致的生长缺陷，番茄红素产量达到 8.4 g/L^[73]。此外，Lv 等人通过 DO-stat 补料发酵以特定速率补料来控制溶解氧（DO）浓度恒定，该策略基于 DO 值的在线反馈，当底物完全耗尽时，DO 值往往会升高，从而指示向发酵罐自动补加葡萄糖，DO-stat 补料发酵减少了 Crabtree 效应，提高了 ATP 和 NADPH 水平，并促进了β-胡萝卜素合成相关基因的表达，β-胡萝卜素产量提升到 2.01 g/L^[67]。

3 底盘的适配性改造

在优化烃类四萜化合物合成路径后，我们还要面对所有底盘细胞中都存在的基础瓶颈：前体供应不足，无论是 MVA 途径还是 MEP 途径，其固有的低通量以及来自中心碳代谢的碳流竞争，都严重限制了 IPP/DMAPP 的生成，进而制约下游烃类四萜化合物的合成。因此，中心碳代谢的重定向成为底盘改造中首要且最通用的任务，通过重构宿主的核心代谢网络，将更多碳流导向烃类四萜化合物前体合成途径，为后续的辅因子平衡和空间工程奠定物质基础（表 2）。

3.1 增加前体供给

烃类四萜化合物合成前体通过 MEP 或 MVA 途径提供。酵母中的 HMGR 和 ERG20，大肠杆菌中的 DXS 和 IDI 是途径内的限速酶，影响前体合成。在明确了合成途径的限速步骤后，研究者们首先从宏观角度出发，致力于底盘细胞的代谢重构[图 3(a)]，Lin 等人强化了甲羟戊酸（MVA）途

表 2 底盘适配性改造合成烃类四萜化合物
Table 2 Chassis engineering strategies for the synthesis of hydrocarbon tetraterpenoids

菌株	优化策略	产物	产量	来源
酿酒酵母	•ARTP 诱变结合适应性实验室定向进化	番茄红素	530 mg/L	[60]
酿酒酵母	•强化 MVA 途径	β-胡萝卜素	34.93 mg/L	[85]
酿酒酵母	•CrtI 重定位：从内质网定位到细胞质	β-胡萝卜素	79 mg/g	[58]
解脂耶氏酵母	•引入异源的非氧化糖酵解(NOG)途径	β-胡萝卜素	776.9 mg/L	[86]
	•木糖和乙酸的共利用			
解脂耶氏酵母	•推动磷酸戊糖途径通量	β-胡萝卜素	809.2 mg/L	[87]
	•引入 NADP ⁺ 依赖的甘油醛-3-磷酸脱氢酶			
解脂耶氏酵母	•强启动子和多基因拷贝	β-胡萝卜素	4 g/L	[88]
	•利用天然存储优势			
解脂耶氏酵母	•通过删除 <i>Mhy1</i> 和 <i>Cla4</i> 基因构建具有酵母样形态的底盘	β-胡萝卜素	47.36 mg/g	[51]
	•过表达编码限速酶的基因 <i>GGS1</i> 和 <i>tHMG1</i>			
大肠杆菌	•构建番茄红素与β-丙氨酸的协同联产系统	番茄红素	3.61 g/L	[89]
	•辅因子工程将氧化还原流从 NADH 转向 NADPH			
大肠杆菌	•敲除 <i>zwf</i> 基因阻断磷酸戊糖途径、删除 <i>ptsHlcr</i> 操纵子使磷酸转移酶系统失活	β-胡萝卜素	266.4 mg/L	[90]
	•删除 <i>yjgB</i> 并过表达 <i>nadK</i>			
大肠杆菌	•改造基因靶点增加前体供应	β-胡萝卜素	619.8 mg/L	[72]
大肠杆菌	•过表达膜弯曲蛋白和膜合成途径基因	β-胡萝卜素	19.6 mg/g	[91]
大肠杆菌	•IspG 和 IspH 的平衡激活	β-胡萝卜素	41.6 mg/g	[92]
枯草芽孢杆菌	•过表达编码限速酶的基因 <i>dxs</i>	番茄红素	55 mg/L	[93]
	•筛选不同来源的 GGPPS 酶			

径, 过表达 *IDII*、*ERG20*、*tHMG1* 基因并进一步增加编码限速酶的基因 *tHMG1* 的拷贝数使酿酒酵母中 β -胡萝卜素产量提高至 34.93 mg/L^[85]; Xu 等人通过过表达编码限速酶的基因 *GGSI* 和 *tHMG1*, 使解脂耶氏酵母中的 β -胡萝卜素产量相比对照菌株提升了 45.32 倍^[94]。Rehman 等人在枯草芽孢杆菌中构建异源番茄红素合成途径, 通过系统代谢工程筛选高效多功能香叶基香叶基焦磷酸合酶, 并过表达 MEP 途径中编码限速酶的基因 *dxs*, 证实 DXS 是 MEP 途径的主要限速酶, 过表达 *dxs* 使番茄红素产量提高 5 倍^[93]。

此外, Li 等人的系统研究表明, MEP 途径中其他基因同样构成重要瓶颈。通过构建启动子文库调控 *dxr*、*ispD*、*ispE*、*ispG* 和 *ispH* 的表达, 发现 *ispG* 基因表达量与细胞生长及 β -胡萝卜素产量呈反比关系。进一步研究发现, *IspG* 活性过高会导致其中间代谢物羟基甲基丁烯基-4-磷酸 (HMBPP) 积累, 这是一种有毒代谢物, 会显著下调核酸和蛋白合成相关基因的表达, 抑制细胞生长。过表达 *ispG* 下游的 *ispH* 基因可以避免 HMBPP 积累, 解除生长抑制, 并将 β -胡萝卜素产量提高 73%。这一发现表明, *ispG* 和 *ispH* 需要协同表达才能发挥作用, 是 MEP 途径中另一个重要的限速步骤^[92]。

中心碳代谢的重定向是提升前体供应的另一重要策略, 如何让更多的碳流量流向乙酰辅酶 A (酵母) 或丙酮酸/甘油醛-3-磷酸 (大肠杆菌) 成为研究的重要方向。Zhou 等人在酿酒酵母生产菌株中, 通过 ARTP 诱变结合适应性实验室定向进化提高了萜烯类产物上游平台化合物乙酰辅酶 A 的供给, 分析和挖掘了提高前体供给的内源靶点, 提升了番茄红素前体 GGPP 的代谢通量^[60]。这种底盘细胞进化与酶工程协同的策略有效打破了目标产物合成的天花板, 对烃类四萜化合物的合成具有重要借鉴意义。

有研究者通过改造基因靶点来增加前体供给, 如在大肠杆菌中, Ji 等人为增加 β -胡萝卜素前体的供应, 对 16 个基因靶点进行了改造, 以加强乙酰辅酶 A、IPP/DMAPP、FPP 和 GGPP 节点的代谢流, 从而使 β -胡萝卜素达到 619.79 mg/L^[72]。在酵母底盘尤其是解脂耶氏酵母中, 策略更为多样化。

Lee 等人通过在解脂耶氏酵母中推动磷酸戊糖途径通量并引入 NADP⁺ 依赖的甘油醛-3-磷酸脱氢酶, 实现了碳流和氧化还原平衡的双重优化, β -胡萝卜素最终产量达到 809.2 mg/L^[87]。此外, 引入异源的非氧化糖酵解 (NOG) 途径, 并结合木糖和乙酸的共利用, 被证明可以重塑中心碳代谢网络, 显著提升 β -胡萝卜素的产量^[86]。Liu 等人在视黄醛的合成研究中, 证实了多水平工程策略包括重布线中心碳代谢对萜类化合物高效合成的必要性^[71]。

3.2 辅因子工程

烃类四萜化合物的生物合成是高度还原的过程, 每分子烃类四萜化合物需要消耗大量的 NADPH^[95], 如合成 1 分子番茄红素需要消耗 16 分子的 NADPH, 因此辅因子供给成为合成效率的关键限制因素之一。研究者们开发了多种策略来增强胞内 NADPH 的可用性 [图 3(b)]。

在大肠杆菌中, 一种直接有效的策略是敲除竞争性旁路途径并过表达 NADPH 生成酶。Wu 等敲除 *zwf* 基因阻断磷酸戊糖途径、删除 *ptsHlcrr* 操纵子使磷酸转移酶系统失活, 并基于比较转录组和还原辅因子的分析, 评估了几种增加 NADPH 供应的策略以增强 β -胡萝卜素的产量, 通过删除 *yjgB* 并过表达 NAD 激酶 *nadK*, 最终摇瓶中的 β -胡萝卜素产量达到 266.4 mg/L^[90]。Wang 等人构建番茄红素与 β -丙氨酸的协同联产系统, 利用番茄红素生物合成消耗脂肪酸氧化和 β -丙氨酸合成过程中产生的过量 NADH 和 FADH₂。进一步通过辅因子工程将氧化还原流从 NADH 转向 NADPH, 动态管理细胞内的氧化还原平衡, 番茄红素产量提高 74.43%^[89]。

在酵母体系中, Lee 等人通过在解脂耶氏酵母中通过戊糖磷酸途径推动通量 [图 3(c)] 以及引入 NADP⁺ 依赖的甘油醛-3-磷酸脱氢酶增加 NADPH 的再生并降低 ATP 的消耗, 同时提高了脂质生物合成通路的通量以更好地适应增加的 β -胡萝卜素库, 最终产量达到 809.2 mg/L^[87]。Shi 等人在酿酒酵母中通过过表达线粒体 NADP 激酶 *POS5Δ17* (缺乏线粒体靶信号) 增强 NADPH 库, 使 β -胡萝卜素及其下游产物维生素 A 的产量显著提升了

46%，充分证明了辅因子工程在萜类合成中的潜力^[96]，可为 β -胡萝卜素生物合成提供有效策略。

3.3 储存空间与亚细胞工程

烃类四萜化合物是强疏水性分子，储存在细胞膜或脂质体中会饱和，导致反馈抑制，其高效合成不仅需要充足的前体供应，还需要足够的胞内储存空间以及合理的酶-底物空间分布^[97-99]。针对这一问题，研究者发展了多种策略。在大肠杆菌中，Wu等人开创性地提出了膜工程策略，通过过表达膜弯曲蛋白和膜合成途径基因，使细胞内膜向内堆积，显著增加了 β -胡萝卜素的储存空间[图3(d)]，产量提升2.9倍，首次从实验上证实了细胞膜是疏水萜类的主要储存场所^[91]。

在酵母体系中，空间组织问题更为复杂。Arhar等人发现，酿酒酵母中 β -胡萝卜素的中间体八氢番茄红素储存在脂滴中，而催化其转化的酶CrtI位于内质网，这种空间分离限制了催化效率。通过去除CrtI的膜锚定结构域使其定位于胞质[图3(e)]，成功改善了底物可及性，使产量提升76倍^[58]。

针对终产物的储存，Gao等人在解脂耶氏酵母中证实， β -胡萝卜素主要储存在脂滴中，利用产油酵母丰富的脂滴作为天然“仓库”，实现了4 g/L的高产^[88]。Hao等人通过在不同酵母株中删除CLN3（G1周期蛋白）实现了G1期的调控。细胞体积增加83%，细胞的脂含量和膜组分显著增加，为脂溶性胡萝卜素产物的胞内积累提供更好的载体，研究结果显示四萜化合物产量增加41%，为烃类四萜化合物生物合成提供优良的底盘改造方案^[100]。

进一步的策略是动态调控储存细胞器。Lin等人的研究工作中，针对 β -胡萝卜素储存于脂滴而裂解酶位于胞质的催化隔离的问题，设计了时序性脂滴降解策略：先在发酵前期让 β -胡萝卜素在脂滴中充分积累，随后诱导表达脂滴降解基因TGL3/TGL4，释放 β -胡萝卜素供酶催化，使萜类化合物产量提升10倍以上^[101]。这类脂滴降解时序调控策略对 β -胡萝卜素合成具有重要借鉴意义。此外，通过内质网工程扩大酶附着表面也是提升膜

结合酶催化效率的有效途径^[102]。

在底盘改造过程中，研究人员主要通过过表达限速酶、底盘细胞进化、底盘靶基因的改造等策略使得底盘细胞内的代谢流发生改变，从而使底盘细胞更加适配烃类四萜化合物的生产。烃类四萜化合物合成过程中需要消耗大量的NADPH。大肠杆菌中合成NADPH的途径有磷酸戊糖途径、TCA循环和NADH的转化^[103]。而酿酒酵母和解脂耶氏酵母主要通过磷酸戊糖途径和线粒体合成NADPH。推动磷酸戊糖途径和过表达NADPH激酶是提高底盘细胞NADPH积累的常用策略，未来可聚焦于TCA循环和NADH的转化。增加底盘细胞中烃类四萜化合物的存储空间或是底盘改造促进底物与酶的接触也是提高烃类四萜化合物产量的有效策略。

针对不同的底盘细胞要采取不同的设计原则，大肠杆菌作为一种不含内膜系统的原核生物，缺乏产物合成所需的天然疏水储存区室。因此核心设计原则是通过膜形态改造、膜合成途径强化以及细胞膜组成优化来创造并扩展疏水界面以容纳产物。酿酒酵母拥有完整的细胞内膜系统，但酶与底物之间存在空间隔离且内源的甾醇合成途径会与产物合成途径争夺前体FPP，其核心设计原则是重构代谢流与区室化精准调控。解脂耶氏酵母具备卓越的脂质积累能力，其核心设计原则是放大天然优势，通过脂质合成途径强化和全局碳流与辅因子再平衡协同脂质代谢与产物合成。理解这些设计差异，对于选择合适的宿主平台、构建高效的 β -胡萝卜素细胞工厂至关重要。

4 总结与展望

尽管微生物合成烃类四萜化合物已取得显著进展，许多产量已达克级水平，甚至高达39.5 g/L，但距离工业化大规模生产仍面临以下挑战：目前多数改造策略仍基于静态调控，难以实时响应胞内代谢状态的变化。动态调控虽有尝试，但可用的代谢物响应启动子有限，且调控的精准性和鲁棒性仍有待提升。烃类四萜化合物合成涉及多个外源基因，各基因的最佳表达强度并非简单叠加。研究表明，单基因筛选的最优强度未必是组

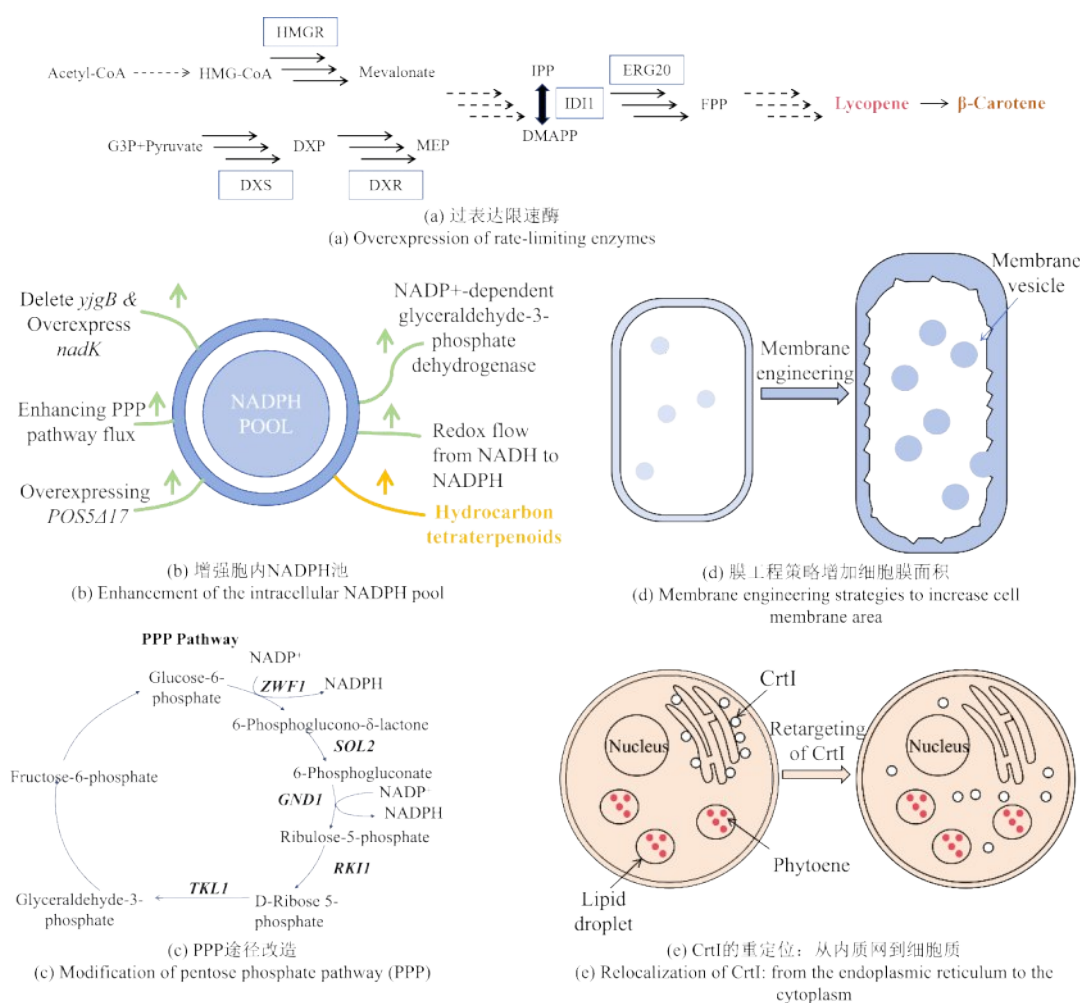


图3 底盘适配性改造提高烃类四萜化合物产量

Fig. 3 Chassis adaptability modification increases hydrocarbon tetraterpenoids yield

合调控的最优强度，多基因协同优化需要高通量筛选工具的支持。此外，烃类四萜化合物虽为细胞自身代谢产物，但过高浓度的积累可能干扰膜结构完整性或引发氧化应激反应。产物耐受性机制尚不明确，限制了产量进一步提升的空间。不同宿主底盘存在局限性，大肠杆菌作为原核宿主，缺乏细胞器和脂质储存结构，疏水产物储存能力受限；酿酒酵母虽具脂滴，但内源甾醇合成与烃类四萜化合物途径竞争前体；解脂耶氏酵母脂质积累能力强，但遗传操作工具相对有限。最后是发酵工艺与代谢工程的脱节，多数研究聚焦于菌株构建，对发酵工艺的优化关注不足。DO-stat、两阶段培养等动态发酵策略虽被证实有效，但与代谢工程的协同设计仍待深入。在工业生产方面同样存在关键瓶颈：发酵放大培养方面，烃类四

萜化合物的合成属于典型的高耗氧过程，工业发酵中局部溶氧低于临界值时会显著抑制细胞生长和产物合成，而且大型发酵罐中葡萄糖的梯度分布易导致局部碳溢流和乙酸积累，抑制菌体活性；产物碳产率方面，以 β -胡萝卜素为例，从乙酰辅酶A出发的理论质量产率约0.27 g/g 葡萄糖。然而，实际发酵液中的碳产率通常远低于理论值。碳流失主要发生在三羧酸循环中的 CO_2 释放、细胞生长与维持代谢、副产物生成；产物毒性方面，烃类四萜化合物积累到一定浓度时会对细胞产生毒性效应，如通过插入细胞膜改变膜流动性和通透性从而影响质子驱动力和底物转运，或者诱发细胞氧化损伤。分离纯化方面，烃类四萜化合物通常积累于细胞内，高压匀浆或珠磨法的破壁效率、能耗及对产物的降解影响需平衡，产物疏水

性强,常用溶剂如乙酸乙酯、己烷等存在安全与环保压力,类胡萝卜素同分异构体分离困难,纯度要求高时成本陡增。基于上述工业化瓶颈的分析和当前技术的快速发展,烃类四萜化合物的微生物法生产正站在产业化的门槛上。

面向未来,微生物合成烃类四萜化合物的研究将向智能化、系统化、经济化方向发展:随着蛋白质结构预测和机器学习算法的快速发展,AI辅助的酶定向进化将成为突破关键酶活性瓶颈的有力工具。对于促进前体增强的基因靶点,可以通过基因的验证和组合优化,对底盘细胞进行更精准的适配性改造,促进烃类四萜化合物的高效合成。同时,机器学习可整合多组学数据,预测最优代谢网络改造方案,实现从“试错法”到“预测设计”的跨越。微流控、液滴微反应器与流式细胞分选技术的结合,将极大加速“设计-构建-测试-学习”循环。通过构建荧光报告系统耦合烃类四萜化合物产量,可在单细胞水平实现百万级文库的高通量筛选,快速获得最优的启动子组合、RBS强度和突变体。开发更多可响应胞内代谢物浓度如FPP、番茄红素的生物传感器,构建精细的动态调控回路。为降低生产成本,利用木质纤维素水解液、甘油、乙酸等廉价碳源合成烃类四萜化合物成为重要方向。通过代谢工程拓展底物谱,使工程菌株能够利用农业废弃物等可再生资源,是实现绿色制造和循环经济的关键。 β -胡萝卜素下游衍生物如虾青素、玉米黄质、维生素A等具有更高的附加值。在高效 β -胡萝卜素平台菌株基础上,引入裂解双加氧酶或羟化酶,可构建“即插即用”的模块化平台,实现多种高值产物的灵活生产。针对产物毒性,利用适应性实验室进化与全基因组测序鉴定关键耐受基因,结合CRISPR介导的定向进化,构建具有高产物耐受性的工业底盘菌。开发与发酵耦合的渗透萃取、膜分离或两相发酵,实现产物连续移除,缓解产物抑制和细胞毒性,同时简化下游处理流程。设计基于代谢状态或产物浓度的自适应负反馈回路,实时调节碳流向生长与生产之间的分配,提升碳产率并减少副产物积累。整合低能耗破壁技术与绿色溶剂萃取,建立连续化、低排放的分离纯化流程。未来3-5年,通过代谢通路的系统优化和发酵工艺的

迭代升级,预计 β -胡萝卜素和番茄红素在工业发酵罐中的产量能达到30~50 g/L,成本压缩至50-80元/千克,使其从高附加值保健品原料逐步向食品添加剂、饲料添加剂等大宗应用领域拓展。综上所述,微生物合成烃类四萜化合物的研究已从单一途径优化走向多维度系统整合。未来,随着合成生物学工具库的持续丰富和智能化技术的深度渗透,构建高效、鲁棒、经济的烃类四萜化合物细胞工厂将不再是遥不可及的目标,烃类四萜化合物产业的绿色制造格局有望全面实现。

参 考 文 献

- [1] POLYAKOV N E, MAGYAR A, KISPERS L D. Photochemical and optical properties of water-soluble xanthophyll antioxidants: aggregation vs complexation[J]. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2013, 117(35): 10173-10182.
- [2] HEYMANN T, HEINZ P, GLOMB M A. Lycopene inhibits the isomerization of β -carotene during quenching of singlet oxygen and free radicals[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2015, 63(12): 3279-3287.
- [3] SAUD GANY S L, CHIN K Y, TAN J K, et al. Preventative and therapeutic potential of tocotrienols on musculoskeletal diseases in ageing[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2023, 14: 1290721.
- [4] SUI J, GUO J, PAN D, et al. The efficacy of dietary intake, supplementation, and blood concentrations of carotenoids in cancer prevention: insights from an umbrella meta-analysis[J]. *Foods*, 2024, 13(9): 1321.
- [5] WANG L, LIU Z, JIANG H, et al. Biotechnology advances in β -carotene production by microorganisms[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2021, 111: 322-332.
- [6] YANG J Q, ZHANG Y L, NA X N, et al. β -Carotene supplementation and risk of cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials[J]. *Nutrients*, 2022, 14(6): 1284.
- [7] CALNIQUER G, KHANIN M, OVADIA H, et al. Combined effects of carotenoids and polyphenols in balancing the response of skin cells to UV irradiation[J]. *Molecules*, 2021, 26(7): 1931.
- [8] 池豪铭, 鄂丽影, 刘天罡. 萜类化合物高效发现与产业化制造[J]. *中国科学院院刊*, 2025, 40(1): 47-66.
CHI H M, E L Y, LIU T G. Efficient discovery and industrial manufacturing of terpenoids[J]. *Bulletin of the Chinese Academy of Sciences*, 2025, 40(1): 47-66.
- [9] SINGH R V, SAMBYAL K. An overview of β -carotene production: current status and future prospects[J]. *Food Bioscience*, 2022, 47: 101717.

- [10] WANG J N, MA W Q, MA W X, et al. Strategies for the efficient biosynthesis of β -carotene through microbial fermentation[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2024, 40(5): 160.
- [11] GUO L, YAO H, CHEN W, et al. Natural products of medicinal plants: biosynthesis and bioengineering in post-genomic era[J]. Horticulture Research, 2022, 9: uhac223.
- [12] WANG L, GOU L B, LIU D, et al. Engineering a robust and versatile terpenoid production platform in *Serratia marcescens* HBQA7[J]. Chemical Engineering Journal, 2025, 524: 169601.
- [13] MIAO J, ZOU X, KE Y, et al. Developing *Ogataea parapolymorpha* as a novel platform for β -carotene production via global metabolic engineering[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2026, 74(3): 2951-2962.
- [14] HU Y, YUAN Z, WANG Q, et al. Expanding the terpene universe: synthetic biology and non-natural chemistry in engineered microorganisms[J]. Molecules, 2025, 30(20): 4065.
- [15] HOU Y, GUAN A, FAN X, et al. Harnessing synthetic biology for tetraterpenoid astaxanthin production: recent advances and challenges[J]. Synthetic and Systems Biotechnology, 2026, 11: 309-316.
- [16] RINALDI M A, FERRAZ C A, SCRUTTON N S. Alternative metabolic pathways and strategies to high-titre terpenoid production in *Escherichia coli*[J]. Natural Product Reports, 2022, 39(1): 90-118.
- [17] YANG Y X, LI D X, WANG R Y, et al. Recent advances and multiple strategies for the synthesis of terpenoid fragrances and flavors in model microorganisms[J]. Biotechnology Advances, 2025, 83: 108646.
- [18] WANG J, JI X, YI R, et al. Heterologous biosynthesis of terpenoids in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Biotechnology Journal, 2025, 20(1): e202400712.
- [19] BIBI A, 苏立秋, 戴宗杰, 等. 萜类化合物微生物合成中酶工程的研究进展与展望[J]. 生物工程学报, 2024, 40(8): 2473-2488.
- BIBI A, SU L Q, DAI Z J, et al. Research progress and prospects of enzyme engineering in microbial synthesis of terpenoids[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(8): 2473-2488.
- [20] ZHENG Y, CAO H, BI J, et al. Green biosynthesis of terpenoid-derived flavor and fragrance compounds: advances and strategic perspectives[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2026, 74(8): 6569-6592.
- [21] LIU Y, MA X, LIANG H, et al. Monoterpenoid biosynthesis by engineered microbes[J]. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 2021, 48(9/10): kuab065.
- [22] HAGE-HÜLSMANN J, KLAUS O, LINKE K, et al. Production of C20, C30 and C40 terpenes in the engineered phototrophic bacterium *Rhodobacter capsulatus*[J]. Journal of Biotechnology, 2021, 338: 20-30.
- [23] KIRBY J, GEISELMAN G M, YAEGASHI J, et al. Further engineering of *R. toruloides* for the production of terpenes from lignocellulosic biomass[J]. Biotechnology for Biofuels, 2021, 14(1): 101.
- [24] FURUBAYASHI M, UMENO D. Use of directed enzyme evolution to create novel biosynthetic pathways for production of rare or non-natural carotenoids[J]. Methods in Enzymology, 2022, 671: 351-382.
- [25] KRUBASIK P, SANDMANN G. Molecular evolution of lycopene cyclases involved in the formation of carotenoids with ionone end groups[J]. Biochemical Society Transactions, 2000, 28(6): 806-810.
- [26] ZHU J, KANG J L, LIU M, et al. Engineering a non-oxidative glycolysis pathway in industrial *Bacillus licheniformis* for carbon-efficient production of acetyl-CoA derived biochemicals [J]. Chemical Engineering Journal, 2026, 534: 175024.
- [27] LIU Z, HUANG M, CHEN H, et al. Metabolic engineering of *Yarrowia lipolytica* for high-level production of squalene[J]. Bioresource Technology, 2024, 394: 130233.
- [28] WANG J, ZHOU X, LI K, et al. Systems metabolic engineering for efficient violaxanthin production in yeast[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2024, 72(18): 10459-10468.
- [29] MOSER S, LEITNER E, PLOCEK T J, et al. Engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for the production of (+)-ambrein[J]. Yeast, 2020, 37(1): 163-172.
- [30] LU Z, WANG Y, LI Z, et al. Combining metabolic engineering and lipid droplet storage engineering for improved α -bisabolene production in *Yarrowia lipolytica*[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2023, 71(30): 11534-11543.
- [31] SHAN Y, JIN S. Biosynthetic machinery to abiotic stress-driven emission: decoding multilayer regulation of volatile terpenoids in plants[J]. Antioxidants (Basel), 2025, 14(6): 673.
- [32] WHITEHEAD J N, LEFERINK N G H, HAY S, et al. Determinants of product outcome in two sesquiterpene synthases from the thermotolerant bacterium *Rubrobacter radiotolerans*[J]. ChemBioChem, 2025, 26(1): e202400672.
- [33] WAGNER N, BADE F, STRAUBE E, et al. In vivo implementation of a synthetic metabolic pathway for the carbon-conserving conversion of glycolaldehyde to acetyl-CoA [J]. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2023, 11: 1125544.
- [34] ZHOU T G, PARK Y K, LEDESMA-AMARO R. Advances in the biosynthesis of β -carotene and its derivatives in yeast[J]. Bioresource Technology, 2025, 435: 132936.
- [35] YAN X, HE Q, GENG B, et al. Microbial cell factories in the bioeconomy era: from discovery to creation[J]. BioDesign Research, 2024, 6: 0052.
- [36] IWATA-REUYL D, MATH S K, DESAI S B, et al. Bacterial phytoene synthase: molecular cloning, expression, and characterization of *Erwinia herbicola* phytoene synthase[J]. Biochemistry, 2003, 42(11): 3359-3365.

- [37] RAISIG A, BARTLEY G, SCOLNIK P, et al. Purification in an active state and properties of the 3-step phytoene desaturase from *Rhodobacter capsulatus* overexpressed in *Escherichia coli*[J]. Journal of Biochemistry, 1996, 119(3): 559-564.
- [38] SCHMIDT-DANNERT C, UMENO D, ARNOLD F H. Molecular breeding of carotenoid biosynthetic pathways[J]. Nature Biotechnology, 2000, 18(7): 750-753.
- [39] HAUSMANN A, SANDMANN G. A single five-step desaturase is involved in the carotenoid biosynthesis pathway to beta-carotene and torulene in *Neurospora crassa*[J]. Fungal Genetics and Biology, 2000, 30(2): 147-153.
- [40] FELIX-CASTRO M B, ARREDONDO-VEGA B O, ROJAS M, et al. Synthesis of β -carotene in *Dunaliella*: from genome analysis to metabolic engineering[J]. Algal Research-Biomass Biofuels and Bioproducts, 2023, 72: 103135.
- [41] 金应福, 韩莉, 张莎莎, 等. 通过优化番茄红素环化酶构建高产 β -胡萝卜素菌株[J]. 生物工程学报, 2017, 33(11): 1814-1826.
- JIN Y, HAN L, ZHANG S, et al. Construction of high-yield strain by optimizing lycopene cyclase for β -carotene production [J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2017, 33(11): 1814-1826.
- [42] GUAN S, YAO Z, LIU C, et al. A review of transcriptional control and adaptive functions in terpenoid biosynthesis: focus on MYB regulatory networks[J]. Plant Science, 2026, 364: 112920.
- [43] ZHANG C Q, CHEN X X, TOO H P. Microbial astaxanthin biosynthesis: recent achievements, challenges, and commercialization outlook[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2020, 104(13): 5725-5737.
- [44] BASIONY M, OUYANG L M, WANG D N, et al. Optimization of microbial cell factories for astaxanthin production: biosynthesis and regulations, engineering strategies and fermentation optimization strategies[J]. Synthetic and Systems Biotechnology, 2022, 7(2): 689-704.
- [45] JIN K, XIA H, LIU Y, et al. Compartmentalization and transporter engineering strategies for terpenoid synthesis[J]. Microbial Cell Factories, 2022, 21(1): 92.
- [46] LI S, ZHOU Z, LI Y, et al. Construction of a high-efficiency GjCCD4a mutant and its application for de novo biosynthesis of five crocins in *Escherichia coli*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 277(Pt 2): 133985.
- [47] CHEN L, XIAO W, YAO M, et al. Compartmentalization engineering of yeasts to overcome precursor limitations and cytotoxicity in terpenoid production[J]. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2023, 11: 1132244.
- [48] ELIZONDO B R, SAA P A. Complex kinetic models predict β -carotene production and reveal flux limitations in recombinant *Saccharomyces cerevisiae* strains[J]. ACS Synthetic Biology Journal, 2025, 14(9): 3457-3472.
- [49] LIU D, CHEN Z, GUO Z, et al. Construction of a globally modular recombinant *Saccharomyces cerevisiae* chassis for ginkgolide precursor levopimaradiene production[J]. Synthetic and Systems Biotechnology, 2026, 13: 154-162.
- [50] TAN J C, HU Q, SCRUTTON N S. A growth-coupling strategy for improving the stability of terpenoid bioproduction in *Escherichia coli*[J]. Microbial Cell Factories, 2024, 23 (1): 279.
- [51] XU S, ZHANG X, ZHANG Y, et al. Concomitant production of erythritol and β -carotene by engineered *Yarrowia lipolytica* [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2023, 71(30): 11567-11578.
- [52] LIU L, QU Y L, DONG G R, et al. Elevated β -carotene production using codon-adapted CarRA&B and metabolic balance in engineered *Yarrowia lipolytica*[J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 627150.
- [53] LI C, SWOFFORD C A, SINSKEY A J. Modular engineering for microbial production of carotenoids[J]. Metabolic Engineering Communications, 2020, 10: e00118.
- [54] ARORA N, PRITAM P. Unlocking yeast's palette: leveraging metabolomics and gene editing approaches for cost effective carotenoid production[J]. Blue Biotechnology, 2025, 2(1): 5.
- [55] PARADISE E M, KIRBY J, CHAN R, et al. Redirection of flux through the FPP branch-point in *Saccharomyces cerevisiae* by down-regulating squalene synthase[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2008, 100(2): 371-378.
- [56] 石彬, 邓小敏. 生物技术合成番茄红素的研究进展[J]. 华中农业大学学报, 2023, 42(4): 244-253.
- SHI B, DENG X M. Research progress in biotechnological synthesis of lycopene[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2023, 42(4): 244-253.
- [57] DE RIDDER E, VANDAMME P, WILLEMS A. Carotenoid biosynthesis in bacteria: the crt gene products and their functional roles in the carotenogenic pathways[J]. Critical Reviews in Microbiology, 2026, 52(1): 64-83.
- [58] ARHAR S, PFALLER R, ATHENSTAEDT K, et al. Retargeting of heterologous enzymes results in improved β -carotene synthesis in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Journal of Applied Microbiology, 2024, 135(9): 1xac224.
- [59] WATCHARAWIPAS A, SANSATCHANON K, PHITHAKROTCHANAKOON C, et al. Novel carotenogenic gene combinations from red yeasts enhanced lycopene and beta-carotene production in *Saccharomyces cerevisiae* from the low-cost substrate sucrose[J]. FEMS Yeast Research, 2021, 21 (8): foab062.
- [60] ZHOU K, YU C, LIANG N, et al. Adaptive evolution and metabolic engineering boost lycopene production in *Saccharomyces cerevisiae* via enhanced precursors supply and utilization[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2023, 71(8): 3821-3831.
- [61] VERWAAL R, WANG J, MEIJNEN J P, et al. High-level production of beta-carotene in *Saccharomyces cerevisiae* by

- successive transformation with carotenogenic genes from *Xanthophyllomyces dendrorhous*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(13): 4342-4350.
- [62] LI Q, SUN Z, LI J, et al. Enhancing beta-carotene production in *Saccharomyces cerevisiae* by metabolic engineering[J]. FEMS Microbiology Letters, 2013, 345(2): 94-101.
- [63] LI J Y, GONG S M, MA Y, et al. Creation of a eukaryotic multiplexed site-specific inversion system and its application for metabolic engineering[J]. Nature Communications, 2025, 16(1): 1918.
- [64] RABEHARINDRANTO H, CASTAÑO-CEREZO S, LAUTIER T, et al. Enzyme-fusion strategies for redirecting and improving carotenoid synthesis in *S. cerevisiae*[J]. Metabolic Engineering Communications, 2019, 8: e00086.
- [65] LUO Z, SHI J T, CHEN X L, et al. Iterative gene integration mediated by 26S rDNA and non-homologous end joining for the efficient production of lycopene in *Yarrowia lipolytica*[J]. Bioresources and Bioprocessing, 2023, 10(1): 83.
- [66] TU W M, XU J B, MA Y S, et al. Machine learning-driven optimization of metabolic balance for β -carotene production[J]. Metabolic Engineering, 2026, 94: 192-201.
- [67] LV P J, QIANG S, LIU L, et al. Dissolved-oxygen feedback control fermentation for enhancing β -carotene in engineered *Yarrowia lipolytica*[J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 17114.
- [68] MA Y S, LIU N, GREISEN P, et al. Removal of lycopene substrate inhibition enables high carotenoid productivity in *Yarrowia lipolytica*[J]. Nature Communications, 2022, 13(1): 572.
- [69] DU F, LI Z J, LI X, et al. Optimizing multicopy chromosomal integration for stable high-performing strains[J]. Nature Chemical Biology, 2024, 20(12): 1670-1679.
- [70] ZHOU Y, YAO Y, ZHANG F, et al. Enhancement of lycopene biosynthesis using self-assembled multi-enzymic protein cages [J]. Microorganisms, 2025, 13(4): 747.
- [71] LIU C L, XU G B, FORDJOUR E, et al. Efficient biosynthesis of retinal from *Escherichia coli* by metabolic engineering[J]. Bioresource Technology, 2026, 440: 133501.
- [72] JI Y Q, YUE J Y, HUANG Y H, et al. A combinatorial stress-alleviation strategy for efficient β -carotene production in *Escherichia coli*[J]. Bioresource Technology, 2026, 439: 133336.
- [73] ZHOU W, LING R J, YANG Y C, et al. Engineering *Komagataella phaffii* to produce lycopene sustainably from glucose or methanol[J]. Metabolic Engineering, 2025, 90: 141-153.
- [74] LIU Y, CAO X, WANG X, et al. Multiplex base editing of RBSs rewires *Bacillus subtilis* metabolism for lycopene overproduction[J]. Metabolic Engineering, 2026, 93: 169-183.
- [75] 李晓东, 杨成帅, 王平平, 等. 构建酿酒酵母细胞工厂从头合成倍半萜类化合物 α -新丁香三环烯和 β -石竹烯[J]. 合成生物学, 2021, 2(5): 792-803.
- LI X D, YANG C S, WANG P P, et al. De novo synthesis of sesquiterpenoids α -neoclovene and β -caryophyllene by engineered *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Synthetic Biology, 2021, 2(5): 792-803.
- [76] 陈琛, 王颖, 刘宏, 等. 影响多步脱氢酶CrtI功能的关键结构特征探索[J]. 化工学报, 2019, 70(1): 189-198.
- CHEN C, WANG Y, LIU H, et al. Exploration of key structural features affecting the function of multistep desaturase CrtI[J]. Chinese Journal of Chemical Engineering, 2019, 70(1): 189-198.
- [77] 陈玉杨, 邵怡璐, 王洁, 等. 三孢布拉氏霉类胡萝卜素完整合成途径关键基因的分子克隆与原核表达解析[J]. 现代食品科技: 1-10.
- CHEN Y Y, SHAO Y L, WANG J, et al. Molecular cloning and prokaryotic expression analysis of key genes in the complete carotenoid biosynthesis pathway of *Blakeslea trispora*[J]. Modern Food Science and Technology: 1-10.
- [78] 王思懿, 张悦, 王燕燕, 等. 酿酒酵母中高效积累 β -胡萝卜素的代谢途径构建[J]. 微生物学杂志, 2023, 43(4): 10-17.
- WANG S Y, ZHANG Y, WANG Y Y, et al. Construction of metabolic pathway for efficient accumulation of β -carotene in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Journal of Microbiology, 2023, 43(4): 10-17.
- [79] LI G, LIANG H, GAO R, et al. Yeast metabolism adaptation for efficient terpenoids synthesis via isopentenol utilization[J]. Nature Communications, 2024, 15(1): 9844.
- [80] SU L Q, LIU P, LIU W D, et al. Computational design-enabled divergent modification of monoterpene synthases for terpenoid hyperproduction[J]. ACS Catalysis, 2024, 14(23): 17699-17715.
- [81] LIANG N, CHEN C, WANG Y, et al. Exploring catalysis specificity of phytoene dehydrogenase CrtI in carotenoid synthesis[J]. ACS Synthetic Biology, 2020, 9(7): 1753-1762.
- [82] SANDMANN G. Origin and evolution of yeast carotenoid pathways[J]. Biochimica et Biophysica Acta Molecular and Cell Biology of Lipids, 2025, 1870(2): 159586.
- [83] ZHANG Y, MA Z, LI W, et al. Dynamic regulation and enhancement of synthetic network for efficient biosynthesis of monoterpene α -pinene in yeast cell factory[J]. Bioresource Technology, 2025, 419: 132064.
- [84] LIU X Q, LIU N H, LUO J H, et al. Rewiring energy homeostasis in *Yarrowia lipolytica* enables efficient terpenoid biosynthesis[J]. Chemical Engineering Journal, 2026, 527: 171676.
- [85] LIN P, ZHANG L P, DU G C, et al. Construction of *Saccharomyces cerevisiae* platform strain for the biosynthesis of carotenoids and apocarotenoids[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2025, 73(15): 9187-9196.
- [86] LIN R T, MA Y Y, ZHANG G H, et al. Enhanced β -carotene production in *Yarrowia lipolytica* via co-utilization of xylose and acetic acid[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,

- 2025, 73(46): 29662-29673.
- [87] LEE H, SONG J, SEO S W. Engineering *Yarrowia lipolytica* for the production of β -carotene by carbon and redox rebalancing[J]. Journal of Biological Engineering, 2025, 19 (1): 6.
- [88] GAO S L, TONG Y Y, ZHU L, et al. Iterative integration of multiple-copy pathway genes in *Yarrowia lipolytica* for heterologous β -carotene production[J]. Metabolic Engineering, 2017, 41: 192-201.
- [89] WANG X, MIAO Y, LIU W, et al. Synergistic production of lycopene and β -alanine through engineered redox balancing in *Escherichia coli*[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2025, 26(14): 6727.
- [90] WU Y Q, YAN P P, LI Y, et al. Enhancing β -carotene production in *Escherichia coli* by perturbing central carbon metabolism and improving the NADPH supply[J]. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2020, 8: 585.
- [91] WU T, YE L J, ZHAO D D, et al. Membrane engineering - a novel strategy to enhance the production and accumulation of β -carotene in *Escherichia coli*[J]. Metabolic Engineering, 2017, 43: 85-91.
- [92] LI Q Y, FAN F Y, GAO X, et al. Balanced activation of IspG and IspH to eliminate MEP intermediate accumulation and improve isoprenoids production in *Escherichia coli*[J]. Metabolic Engineering, 2017, 44: 13-21.
- [93] REHMAN E, BIRLA SINGH H, NGUYEN M P, et al. Enhancing lycopene production in *Bacillus subtilis* by overcoming a critical enzymatic bottleneck[J]. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2025, 13: 1670015.
- [94] XU S, ZHANG X Y, ZHANG Y, et al. Concomitant production of erythritol and β -carotene by engineered *Yarrowia lipolytica* [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2023, 71(30): 11567-11578.
- [95] LUO Z S, LIU N, LAZAR Z, et al. Enhancing isoprenoid synthesis in *Yarrowia lipolytica* by expressing the isopentenol utilization pathway and modulating intracellular hydrophobicity[J]. Metabolic Engineering, 2020, 61: 344-351.
- [96] SHI Y, LU S H, ZHOU X, et al. Systematic metabolic engineering enables highly efficient production of vitamin A in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Synthetic and Systems Biotechnology, 2025, 10(1): 58-67.
- [97] WU T, JIANG J, ZHANG H, et al. Transcending membrane barriers: advances in membrane engineering to enhance the production capacity of microbial cell factories[J]. Microbial Cell Factories, 2024, 23(1): 154.
- [98] WENGER E S, SCHULTZ K, MARMORSTEIN R, et al. Engineering substrate channeling in a bifunctional terpene synthase[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2024, 121(41): e2408064121.
- [99] PERAMUNA A, BAE H, QUIÑONERO LÓPEZ C, et al. Connecting moss lipid droplets to patchoulol biosynthesis[J]. Public Library of Science ONE, 2020, 15(12): e0243620.
- [100] HAO H, YAO M, WANG Y, et al. Extending the G1 phase improves the production of lipophilic compounds in yeast by boosting enzyme expression and increasing cell size[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2024, 121(47): e2413486121.
- [101] LIN J Y, BU X, LAN Y B, et al. Combined metabolic engineering and lipid droplets degradation to increase vitamin A production in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Microbial Cell Factories, 2024, 23(1): 317.
- [102] WANG D, LI W, MA X, et al. Enhanced production of santalols by engineering the cytochrome P450 enzyme to the peroxisomal surface in yeast[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2025, 73(32): 20307-20316.
- [103] LI M, HOU F, WU T, et al. Recent advances of metabolic engineering strategies in natural isoprenoid production using cell factories[J]. Natural Product Reports, 2020, 37(1): 80-99.



通讯作者: 王颖(1983—),女,英才副教授,博士生导师。研究方向为合成生物学、生物制造、萜烯类细胞工厂的精准构建与精细调控等。

E-mail: ying.wang@tju.edu.cn



共同通讯作者: 姚明东(1981—),男,副研究员,博士生导师。研究方向为合成生物学、细胞工厂、酶工程等。

E-mail: mingdong.yao@tju.edu.cn



第一作者: 方越(2001—),男,硕士研究生。研究方向为酿酒酵母合成 β -胡萝卜素。

E-mail: 2637885467@qq.com