

特约评述

DOI: 10.12211/2096-8280.2026-016

食气梭菌驱动的一碳气体增值转化：进展与挑战

赵然，陆娜，乔洪刚

(巨鹏生物科技有限公司，北京 100025)

摘要：在生物制造与绿色化工领域，利用微生物细胞工厂将富含CO₂等一碳组分的工业尾气转化为高附加值生物产品，已成为实现“碳减排”与“资源循环”双重目标的前沿技术方向。以食气梭菌为代表的化能自养型微生物，凭借其独特的一碳气体同化代谢能力在这一领域展现出显著的技术优势与产业化应用潜力。自产醇梭菌 (*Clostridium autoethanogenum*)、永达尔梭菌 (*Clostridium ljungdahlii*) 等典型食气梭菌，因具备固碳效率高、代谢可塑性强、底物适应性广等特点，已成为当前气体发酵研究与工业应用中的核心底盘菌株。基于此类菌株构建的气体发酵平台技术，为钢铁、化工等行业排放的CO、CO₂等一碳废气提供了高效、绿色、可持续的资源化转化路径，对我国实现“双碳”战略目标具有重要的推动作用与可观的商业前景。本文围绕工业气体转化的实际应用需求，对一碳气体生物转化相关的化能自养底盘菌进行了系统比较，并重点聚焦于最适合工业尾气利用的食气梭菌类群，对其发现与发展历程、种类特征及生理代谢进行了系统综述。在此基础上，总结了近年来食气梭菌在代谢设计与工程改造方面的研究进展，以及人工智能技术在这类细菌中的发展与应用，概述了食气梭菌及其他部分化能自养菌的气体发酵产业化发展现状。最后，围绕食气梭菌的改造策略与工业应用需求，从菌株性能提升、工艺强化、成本控制及政策环境等方面，对其工业化应用所面临的挑战与未来发展方向进行了展望，旨在为此类固碳微生物的理性设计、工艺优化以及一碳气体生物转化技术的工程化推广提供参考。

关键词：食气梭菌；一碳气体；生理和代谢；菌株改造；工业应用

中图分类号：Q939.97 **文献标志码：**A

Advances and challenges with the valorization of C₁ gases driven by acetogenic *Clostridia*

ZHAO Ran, LU Na, QIAO Honggang

(Jupeng Biotechnology Co., Ltd., Beijing 100025, China)

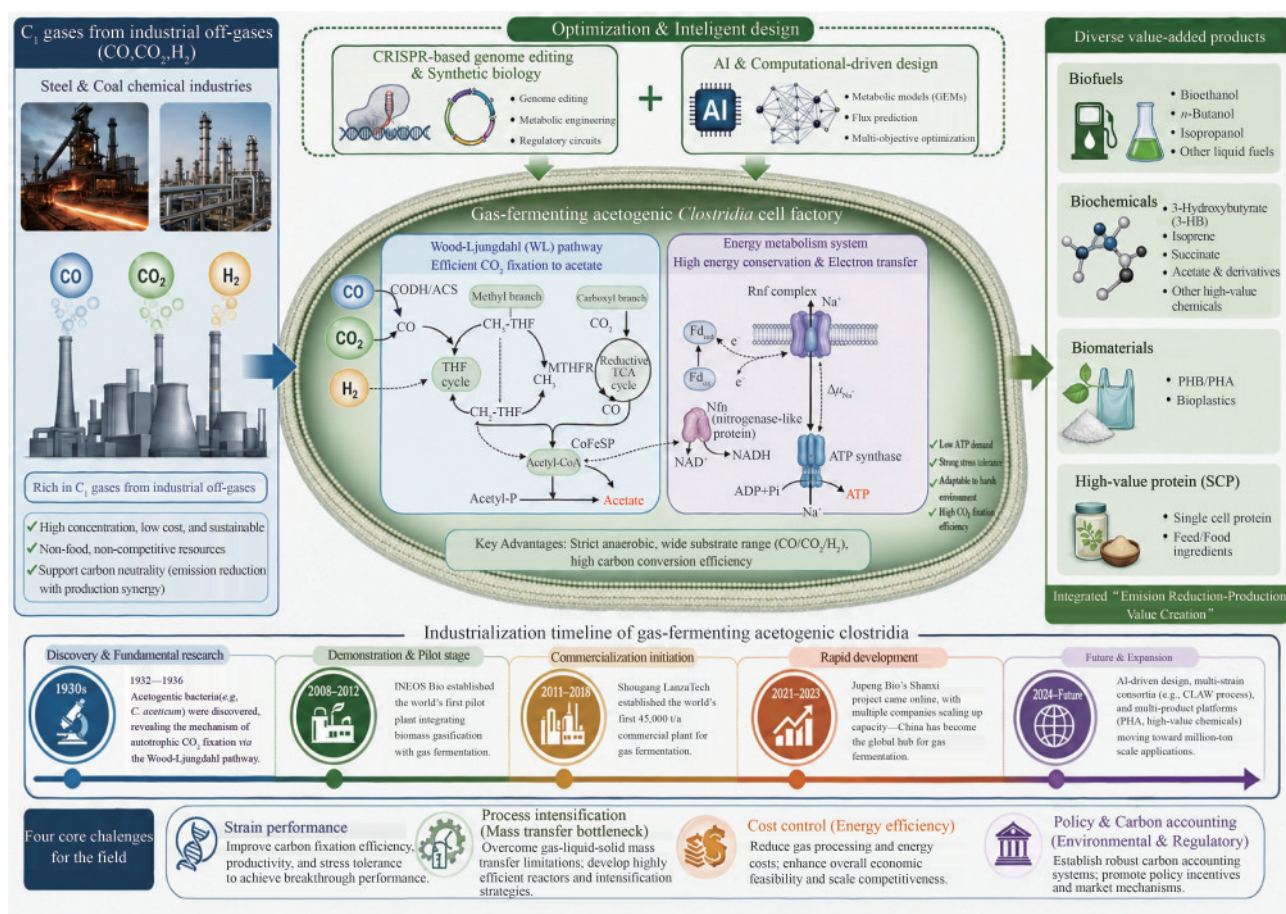
Abstract: In biomanufacturing and green chemical engineering, the conversion of industrial off-gases rich in one-carbon (C₁) components such as CO₂ into high-value bioproducts using microbial cell factories has emerged as a frontier strategy to simultaneously achieve carbon emission reduction and resource circularity. Chemolithoautotrophic

收稿日期：2026-03-11 修回日期：2026-05-27

引用本文：赵然，陆娜，乔洪刚. 食气梭菌驱动的一碳气体增值转化：进展与挑战[J]. 合成生物学, 2026, 7(3): 627-655

Citation: ZHAO Ran, LU Na, QIAO Honggang. Advances and challenges with the valorization of C₁ gases driven by acetogenic *Clostridia*[J]. Synthetic Biology Journal, 2026, 7(3): 627-655

microorganisms represented by gas-fermenting acetogenic *Clostridia* exhibit intrinsic technological advantages and industrial potentials owing to their efficient C_1 gas assimilation capability and the unique Wood-Ljungdahl carbon fixation pathway. Among them, *Clostridium autoethanogenum* and *Clostridium ljungdahlii* have become the core chassis strains for gas fermentation research and industrial deployment, attributed to their high carbon fixation efficiency, metabolic plasticity, and broad substrate adaptability. Gas fermentation platform technologies built upon these acetogenic strains provide an efficient, green, and sustainable route for the resource utilization of CO - and CO_2 -containing industrial waste gases emitted from steelmaking, chemical, and related industries, and thus hold significant promise for advancing the “dual-carbon” strategic goals of China (carbon peaking by 2030 and carbon neutrality by 2060), with considerable commercial prospects. This review compares chemolithoautotrophic chassis organisms for one-carbon gas bioconversion, with a focus on gas-fermenting acetogenic *Clostridia* for industrial off-gas valorization. Their discovery and development, species and characteristics, as well as physiological and metabolic features are summarized. Recent advances in strain engineering strategies, together with emerging applications of artificial intelligence in strain design and optimization, are also discussed. The current status of industrial gas fermentation involving acetogenic *Clostridia* and some other chemolithoautotrophs is outlined. Finally, perspectives are provided on strain engineering and process development, with emphasis on key challenges in strain performance, process intensification, cost reduction, and regulatory constraints for industrial deployment aiming to provide references for the rational design of carbon-fixing microorganisms, process optimization, and the engineering-scale deployment of C_1 gas bioconversion technologies.



Keywords: gas-fermenting acetogenic *Clostridia*; one-carbon gases; physiology and metabolism; strain engineering; industrial applications

自 18 世纪工业革命以来，煤炭、石油和天然气等化石能源逐步成为推动人类文明发展的核心动力，深刻重塑了全球能源供给与产业结构。然而，在支撑现代社会高速发展的同时，这些不可再生资源的长期高强度利用也导致温室气体持续累积，引发资源约束与环境压力的双重挑战。据国际能源署（IEA）统计，2024 年全球与能源相关的二氧化碳（CO₂）排放量已达 378 亿吨（37.8 Gt），创历史新高^[1-2]。与此同时，哥白尼气候变化服务中心报告显示，2024 年全球平均地表温度较工业化前水平已上升约 1.6 °C^[3]。世界气象组织预测未来五年内该升温趋势仍将持续^[4]。在此背景下，如何在保障能源安全的同时实现深度碳减排，已成为全球共同面临的核心议题。

面对气候治理与能源转型的双重挑战，我国率先提出“双碳”战略目标，即力争在 2030 年前实现碳达峰、2060 年前达成碳中和^[5]。这一目标的提出不仅对碳排放控制提出了明确约束，也对能源结构优化与产业体系重构提出了更高要求。在此背景下，以低碳化、循环化为特征的新型能源体系与制造模式逐渐成为未来发展的关键方向^[6]。

我国作为全球最大的能源消费国，其能源结构长期呈现“富煤、贫油、少气”的特征，煤炭在一次能源消费中占比高达 66%^[7]，并贡献了约 90% 的碳排放^[8]。据国际能源署数据，2023 年中国煤炭消费产生的 CO₂ 排放量达 87.4 亿吨^[9]。在短期内难以彻底摆脱煤基能源依赖的现实背景下，围绕煤化工、钢铁冶金及建材等高排放行业产生的大量工业尾气（主要包括 CO、CO₂ 及 H₂ 等组分），构建高效的碳资源化利用路径，成为实现减

排目标的重要突破口。这些工业尾气本质上属于富含还原性气体的一碳（C₁）资源（表 1），虽然成分复杂但具有可利用性。传统处理方式多以燃烧或直接排放为主，不仅造成碳资源浪费，也进一步加剧环境负担。因此，如何实现这些低值气体的高效转化与高值利用，成为当前能源与环境领域的研究热点。

在此背景下，以合成生物学和系统代谢工程为核心的新一代生物制造技术为工业尾气资源化提供了可行路径^[10-11]，通过构建和优化微生物碳代谢网络，能够将 CO₂、CO 等一碳气体转化为乙醇、有机酸及其他高附加值化学品^[12]，实现碳从“排放”向“生产”的转移，展现出“碳捕集-生物转化-产品合成”一体化的技术潜力。我国在“十五五”规划中也已将生物制造列为重点发展的未来产业之一，这类以气体为底物的生物转化体系，正在成为连接能源转型与绿色制造的重要桥梁。

1 化能自养微生物与气体生物转化体系

在上述以工业尾气为底物的生物制造框架下，能够直接利用一碳气体（CO、CO₂ 等）作为碳源的自养型微生物，成为实现“气体→化学品”转化的核心生物催化体系。这类微生物以无机碳为碳骨架来源，并通过外源能量驱动还原代谢完成细胞物质与目标产物的合成。根据能量获取方式，自养微生物主要分为光能自养与化能自养两类。相较于依赖光照的光能自养体系，化能自养微生物不受光传递限制，且更易与现有工业反应器体系耦合，在高气体通量与连续化生产条件下表现出更高的工程适配性^[13-14]。

表 1 典型工业尾气主要成分范围（体积分数）
Table 1 Compositions of typical industrial off-gases (by volume)

废气类型 Waste gas type	CO/%	H ₂ /%	CO ₂ /%	其他主要组分 Other components	典型气源 Typical sources
Syngas	20~60	15~60	5~30	CH ₄ (0%~10%), N ₂ (variable)	Coal/biomass gasification, natural gas reforming
Blast furnace gas (BFG)	20~25	1~5	18~22	N ₂ (50%~60%), CH ₄ (trace)	Ironmaking blast furnace
Coke oven gas (COG)	5~8	55~65	1~3	CH ₄ (20%~30%), hydrocarbons, H ₂ S (trace)	Coking process
Cement kiln exhaust gas	<1~3	trace	20~33	N ₂ (60%~70%), NO _x , SO ₂ , dust	Limestone calcination

注：气体组成会因原料类型、工艺条件以及气体净化步骤的不同而存在显著差异。
Note: Gas compositions vary significantly depending on feedstocks, process conditions, and gas purification steps.

在众多自养微生物中，能够直接参与工业尾气转化的功能类群相对有限。结合当前产业化进展与气源适配性，本文重点关注产乙酸菌（acetogen）体系，并选取核心的甲烷氧化菌（methanotroph）、氢氧化细菌（hydrogen-oxidizing bacteria）及蓝细菌（cyanobacteria）作为对比对象，对不同一碳生物制造路径进行横向分析。

1.1 一碳生物转化底盘的路径对比与工程约束

不同类型的自养微生物在碳源利用方式、能量代谢机制及工业适配性方面存在显著差异（表2）。总体而言，其核心差别可归结为碳同化路径能量效率、气体底物匹配性及过程工程约束三个方面：

首先，在碳固定与能量效率方面，蓝细菌与氢氧化细菌主要依赖卡尔文循环（Calvin-Benson-Bassham cycle, CBB 循环）进行 CO_2 同化，该过程 ATP 消耗高（通常需 $\geq 3 \text{ ATP/CO}_2$ ），整体碳转化效率受限；相比之下，产乙酸菌采用伍德-永达尔（Wood-Ljungdahl, WL）途径，其 ATP 需求显著降低（接近 $1 \text{ mol ATP/mol CO}_2$ ），是目前已知能量效率最高的生物固碳途径之一^[15-18]。这一差异直接影响了在低能量密度气体（如 CO/CO_2 混合气）条件下，不同底盘的生长与产物合成能力。

其次，在气体底物适配性方面，不同体系对工业尾气的利用能力存在本质差异。甲烷氧化菌以 CH_4 为唯一碳源和能源，适用于天然气等高纯甲烷体系，但难以直接利用富含 CO 的工业尾气；氢

表2 C_1 气体转化代表性微生物平台的关键特性对比

Table 2 Comparison of representative microbial platforms for C_1 gas bioconversion

微生物平台 Microbial platform	碳源 Carbon source	能源 Energy source	固碳途径 Carbon fixation pathway	ATP/能量需求 ATP / Energy demand (approx.)	工业气体适配度 Industrial gas compatibility	工程约束 Engineering constraints	主要代谢产物 Main products	技术成熟度 Technology readiness
Acetogens (especially gas-fermenting <i>Clostridium</i> spp.)	CO / CO_2	CO / H_2	Wood-Ljungdahl (WL) pathway	Very low (about 1 ATP per CO_2)	High (syngas, BFG, COG)	Strict anaerobic; no explosion risk	Acetate, ethanol, biomass	Commercialized
Methanotrophs	CH_4	CH_4	Ribulose monophosphate pathway (RuMP) / Serine pathway	Moderate (energy-intensive substrate activation, O_2 dependent)	Low (not compatible with CO -rich gases)	Requires O_2 ; explosion risk	Biomass, methanol	Commercial (niche applications)
Hydrogen-oxidizing bacteria	CO_2	H_2	Calvin-Benson-Bassham (CBB) cycle	High ($\geq 3 \text{ ATP per CO}_2$, strong ATP + NADPH demand)	Medium (requires high H_2 supply)	H_2/O_2 explosion risk; gas transfer limitation	PHA, biomass	Early-stage commercialization
Cyanobacteria	CO_2	Light	Calvin-Benson-Bassham (CBB) cycle	Very high (ATP + photon conversion inefficiency + CCM cost)	Low (limited compatibility with industrial gases)	Light limitation; low volumetric productivity	Biomass, metabolites	Lab to pilot stage

注：不同气体组成及工艺条件会显著影响微生物代谢行为及过程性能；ATP 需求为基于典型代谢路径的近似估算值，用于不同微生物体系间的相对比较。需要说明的是，WL 途径和 CBB 循环可在一定程度上进行 ATP/CO_2 的化学计量估算。甲烷氧化菌与蓝细菌则属于系统级能量代谢体系，其能量消耗不仅来自碳固定途径本身，还包括底物活化过程、电子传递链运行以及碳浓缩机制（carbon concentrating mechanism, CCM）等多个耦合能量模块，因此难以用单一 ATP/CO_2 值进行统一量化，仅适用于定性比较。工业气源适配性基于与合成气（syngas）、高炉煤气（BFG）及焦炉煤气（COG）等典型尾气的匹配程度进行定性评估。

Note: Gas compositions and process conditions can significantly influence microbial metabolism and process performance. ATP requirements are assessed approximately based on representative metabolic pathways for relative comparison. It should be noted that only the WL pathway and the CBB cycle allow relatively defined ATP/CO_2 stoichiometric estimation. In contrast, methanotrophs and cyanobacteria function as the system-level energy platforms, where energy demand includes not only carbon fixation but also substrate activation, electron transport, and carbon concentration mechanisms (CCM). Therefore, their energy requirements cannot be accurately represented by a single ATP/CO_2 value and are described qualitatively. Industrial gas compatibility is qualitatively evaluated based on the suitability for typical off-gases such as syngas, blast furnace gas (BFG), and coke oven gas (COG).

氧化细菌依赖 H_2 作为主要能量来源,在处理低 H_2 含量气体(如高炉煤气)时需额外补氢,显著增加过程成本。此外,该类体系通常需要在 H_2/O_2 共存条件下运行,工业放大过程中存在严格的防爆约束^[19-20]。相比之下,产乙酸菌能够同时利用 CO 、 CO_2 及 H_2 作为碳源与能量来源,天然适配合成气、高炉煤气及焦炉煤气等复杂工业气源,具备更高的原料兼容性。

最后,在过程工程与安全性约束方面,好氧体系(如甲烷氧化菌与氢氧化细菌)普遍面临气液传质效率低与爆炸极限控制等工程挑战;而产乙酸菌为严格厌氧菌,其气体发酵过程无需引入氧气,可在较高气体分压下运行,更易实现规模化连续发酵。此外,产乙酸菌代谢网络具有较强的还原性,可直接生成乙酸、乙醇等基础化学品,并可通过代谢工程进一步拓展至醇类、酮类及生物材料前体,产品谱更具延展性^[20-22]。

1.2 产乙酸菌的代谢优势与工业气源适配性

产乙酸菌作为典型的化能自养微生物,其核心优势来源于Wood-Ljungdahl途径中 CO 脱氢酶/乙酰辅酶A合成酶($CODH/ACS$)复合体的耦合反应机制。该体系能够将 CO 或 CO_2 高效还原为乙酰辅酶A,并进一步导向乙酸、乙醇等产物合成,是目前已实现工业化应用的厌氧气体固碳路径之一^[16-18]。

与其他化能自养微生物不同,产乙酸菌对 CO 具有独特的代谢适应性。多数微生物由于缺乏 CO 同化途径,且其呼吸链金属酶易受 CO 抑制,难以在富 CO 环境中生长^[23-24];而产乙酸菌不仅能够耐受较高浓度 CO ,还可将其作为电子供体直接参与能量代谢与碳固定过程^[25-26]。这一特性使其在处理钢铁、煤炭等行业尾气(如高炉煤气、转炉煤气)时具备显著优势。针对不同工业气源,产乙酸菌的代谢行为呈现出一定的底物依赖性分流特征。在富 CO 体系(如转炉气或部分合成气)中, CO 主要通过 $CODH$ 途径直接生成乙酰辅酶A,并伴随较高的还原力供给,有利于乙醇等还原性产物生成;而在以 CO_2/H_2 为主的体系中(如部分合成气或外加氢气场景),碳同化更多依赖还原型路径,整体能量效率受限但碳利用率较高。对于高炉煤

气等低 H_2 气体体系,往往需要通过工艺调控(如补氢或调节气体分压)以优化代谢流分布。

需要指出的是,目前关于“特定工业气源-菌株选择-代谢通量”的系统性定量研究仍相对有限,现有认识多来源于分散的实验与产业案例。因此,在实际应用中,菌株选择通常基于以下经验性原则:① CO 耐受性与利用效率;②对低 H_2 条件的适应能力;③目标产物导向的代谢调控潜力。代表性菌株如自产醇梭菌(*Clostridium autoethanogenum*)与永达尔梭菌(*Clostridium ljungdahlii*)已在多类工业气源条件下得到验证,并成为当前气体发酵产业化的核心底盘菌^[27-28]。

1.3 食气梭菌驱动的气体生物制造体系

基于产乙酸菌(尤其是梭菌属, *Clostridium* spp.)构建的气体发酵技术,已成为工业尾气生物转化最具代表性的实现路径。该类微生物通常被称为“食气梭菌”,不仅具备梭菌属的典型生物学特征,还具有高效利用一碳气体的独特固碳代谢能力,能够在严格厌氧条件下,将 CO 、 CO_2 及 H_2 等气体直接转化为乙醇、有机酸及多种高附加值化学品。

目前,围绕食气梭菌的气体生物制造体系已从实验室研究逐步走向产业化应用,在单细胞蛋白(single cell protein, SCP)、燃料乙醇及多种平台化学品生产方面均取得重要进展^[20-22, 29-30]。与传统以糖为原料的发酵路径相比,该体系以工业尾气为原料,不仅降低了碳源成本,还实现了碳排放的资源化利用,展现出“减排-生产”协同的技术优势。

综上,产乙酸菌,尤其是食气梭菌,凭借其高能量效率的固碳路径、对复杂工业气源的广泛适配性以及良好的工程放大潜力,已成为当前气体生物制造领域的核心底盘。基于此,本文后续将重点围绕食气梭菌的代谢机制、工程改造及产业化进展展开系统综述。

2 食气梭菌的发现历程与生理特征

食气梭菌(gas-fermenting acetogenic *Clostridia*)

作为目前一碳气体工业发酵领域的核心微生物,它的发现最早可追溯到20世纪30年代。早在1932年,研究者便首次报道了能够通过 H_2 氧化还原 CO_2 并将其代谢为乙酸的微生物^[31]。1936年,科学家成功分离出首株产乙酸菌——*Clostridium acetium*^[32],成为食气梭菌的典型代表。之后,随着实验室厌氧培养技术的发展与应用^[33],更多产乙酸菌陆续被分离与鉴定^[16]。自20世纪中叶起,一度被认为是食气梭菌的热醋穆尔氏菌(*Clostridium thermoaceticum*,现更名为*Moorella thermoacetica*^[34])成为当时研究产乙酸菌的模式菌株,在一碳代谢研究中取得了一系列里程碑式进展^[16, 35]:比如在该菌中首次系统证实了以 CO_2 为碳源、 H_2 为电子供体可以合成乙酸的自养代谢模式^[36];以该菌为研究对象,通过同位素示踪实验打破了当时的固有认知,证明了乙酸的两个碳原子均来源于 CO_2 ^[37];更重要的是,在该菌中逐步解析并纯化Wood-Ljungdahl还原乙酰辅酶A途径的关键酶体系,为该代谢途径的完整建立奠定基础^[16]。这些研究成果极大推动了产乙酸菌代谢途径与调控机制的研究。

食气梭菌广泛分布于深层土壤、湖泊沉积物、淤泥及动物肠道等厌氧生境中。由于其基因组编码多种氧敏感代谢酶,这类微生物被归类为严格厌氧菌^[16]。在自然生态中,食气梭菌不仅通过固碳作用参与全球碳循环,其代谢产物乙酸还可作为白蚁等生物的关键营养来源;此外,其较强的 H_2 氧化能力也有助于推动环境中复杂有机物的生物降解^[38],在生态系统中发挥着重要作用。

在工业应用方面,食气梭菌对传统工业气体发酵设施表现出良好的适应能力^[39],具备显著的商业化潜力,因而受到学术界与工业界的共同关注。近年来,围绕食气梭菌的基础研究与产业化应用均取得了重要进展。

2.1 食气梭菌的种类及特性

目前已成功分离并鉴定的食气梭菌约20种(表3)。这些菌株多为革兰氏阳性菌,少数为革兰氏阴性菌;其形态多呈杆状、偏好弱酸性环境、表现出嗜温特性,多数通过氧化 H_2 获取能量^[39]。

食气梭菌独特的Wood-Ljungdahl(WL)途径与它的节能代谢和厌氧属性契合,该途径与卡尔文循环、还原性三羧酸循环的固碳机制和量化对比如下:WL途径通过线性电子传递实现 CO_2/CO 向乙酰辅酶A的直接转化,其整体过程仅涉及约8个核心酶促步骤,ATP消耗约为1 mol ATP/mol CO_2 (或等价碳固定通量),并主要依赖还原铁氧还蛋白(Fd_{red})及NAD(P)H等低电位还原力驱动反应耦合^[117-119]。而其他一碳固定途径,例如卡尔文循环为典型环状固碳体系,其核心反应步骤约为13个,固定1 mol CO_2 通常需消耗约3 mol ATP及NADPH;还原性三羧酸循环(reductive tricarboxylic acid cycle, rTCA cycle)则在不同微生物中表现出一定的体系差异,其ATP需求约为0~2 mol ATP/mol CO_2 ,反应步骤约为8~11个,但多个关键羧化步骤高度依赖 Fd_{red} 驱动的不可逆反应,能量耦合主要依赖还原力输入而缺乏类似WL途径中电子生成与能量守恒的紧密耦联机制,因此对细胞内还原力供给的动态稳定性要求更高,在工程化厌氧气体体系中表现出更强的代谢敏感性。这一独特的低能耗线性固碳机制,使食气梭菌在工业尾气的生物转化中具备不可替代的基础优势。此外,进化与代谢分析表明,WL途径可能是最早演化的一碳同化系统之一,在特定生态系统中可贡献约20%的局部 CO_2 固定通量,在全球碳循环中具有重要地位^[120-122]。

Wood-Ljungdahl途径的发现与机制解析始于20世纪40年代,以当时的产乙酸模式菌株热醋穆尔氏菌为核心研究对象展开^[16, 123]。1945年,Barker团队利用同位素示踪技术,证实 CO_2 能够通过生物催化同化进入乙酸的碳骨架^[36],初步揭示了 CO_2 生物利用的可能性,但由于当时技术所限,未能明确乙酸分子中甲基与羧基碳的来源是否相同。1952年,Harland G. Wood通过同位素示踪结合质谱分析技术,揭示了乙酸中两个碳原子均源于 CO_2 ,从而确立了非卡尔文循环的完全自养固碳机制^[37]。在随后的四十多年里,H. G. Wood和L. G. Ljungdahl通过系统研究,逐步分离、纯化并鉴定了该代谢通路的所有关键酶及其功能,使该途径最终被命名为Wood-Ljungdahl途径,以纪念其开创性贡献^[16]。

表3 食气梭菌的主要种类和特点

Table 3 Species and characteristics of gas-fermenting acetogenic *Clostridia*

菌株名称 Name	来源 Source	基本特征 ^① Characteristics ^①	气体类型 Gas substrates	最适温度 和 pH ^② T_{opt} and pH_{opt}	工业应用 Industrial application	遗传改造 工具 ^③ Genetic engineering tools ^③	天然代谢产物 Natural products	异源代谢产物 Heterologous products	参考 文献 References
<i>C. autoethanogenum</i>	Rabbit feces	G ⁺ , rod	H ₂ /CO ₂ / CO H ₂ /CO ₂ CO ₂ /CO CO	37 °C, 5.8~6.0	Yes LanzaTech	Homologous recombination Transposon CRISPR/Cas ClosTron	Acetate, ethanol, 2,3- butanediol, lactate	Butanol, hexanol, acetone, isopropanol, 3- hydroxybutyrate, polyhydroxybutyrate, 3- hydroxypropionate, 1,3- propanediol, butyl- acetate, phenylethanol	[40-53]
<i>C. ljungdahlii</i>	Chicken waste	G ⁺ , rod	H ₂ /CO ₂ / CO H ₂ /CO ₂ CO ₂ /CO CO	37 °C, 5.8~6.0	Yes Jupeng bio (INEOS Bio)	Homologous recombination Transposon Integration CRISPR/Cas ClosTron	Acetate, ethanol, 2,3- butanediol, lactate	Butanol, hexanol, butyrate, acetone, isopropanol, 3- hydroxybutyrate, polyhydroxybutyrate, mevalonate, isoprene	[54-66]
<i>C. carboxidivorans</i>	Lagoon sediment	G ⁺ , rod	H ₂ /CO ₂ / CO	38 °C, 5.0~7.0	Yes Synata (Coskata) Gasgene	None	Acetate, ethanol, butyrate, butanol, caproate, hexanol	None	[67-70]
<i>C. ragsdalei</i>	Duck pond sediment	G ⁺ , rod	H ₂ /CO ₂ / CO	37 °C, 6.3	Yes Synata (Coskata)	None	Acetate, ethanol, 2,3- butanediol, lactate, acetoin	None	[40,67, 71]
<i>C. coskatii</i>	Estuary sediment	G ⁺ , rod	H ₂ /CO ₂ / CO	37 °C, 5.8~6.5	Yes Synata (Coskata)	None	Acetate, ethanol	3-hydroxybutyrate, polyhydroxybutyrate	[40,62, 67,72- 73]
<i>C. difficile</i>	Rumen	G ⁺ , rod	H ₂ /CO ₂ / CO	35~40 °C, 6.5~7.0	No	Homologous recombination Transposon CRISPR/Cas ClosTron	Acetate, ethanol, butyrate	None	[74-81]
<i>C. thermoaceticum</i>	Horse manure/soils	G ⁺ , rod	H ₂ /CO ₂ / CO H ₂ /CO ₂ CO ₂ /CO CO	55~60 °C, 6.5~7.0	No	Homologous recombination ClosTron	Acetate, ethanol	Lactate, acetone, isopropanol, acetoin	[16,82- 87]
<i>C. aceticum</i>	Soil	G ⁺ , rod	H ₂ /CO ₂ / CO	30 °C, 8.3	No	None	Acetate	Acetone	[32,88- 94]
<i>C. drakei</i>	Coal mine pond sediment	G ⁺ , rod	H ₂ /CO ₂ / CO	30~37 °C, 5.5~7.5	No	None	Acetate, ethanol, butyrate	None	[70,95]
<i>C. formicoaceticum</i>	Sewage	G ⁻ , rod	CO	37 °C, 8.1	No	None	Acetate, formate	None	[96-98]
<i>C. glycolicum</i>	Sewage/Sea- grass roots	G ⁺ , rod	H ₂ /CO ₂	37~40 °C, 7.0~7.5	No	None	Acetate	None	[99-101]
<i>C. magnum</i>	Freshwater sediment	G ⁻ , rod	H ₂ /CO ₂	30~32 °C, 7.2	No	None	Acetate	None	[102- 104]

续表

菌株名称 Name	来源 Source	基本特征 ^① Characteristics ^①	气体类型 Gas substrates	最适温度 和 pH ^② T_{opt} and pH_{opt} ^②	工业应用 Industrial application	遗传改造 工具 ^③ Genetic engineering tools ^③	天然代谢产物 Natural products	异源代谢产物 Heterologous products	参考 文献 References
<i>C. mayombei</i>	Soil-feeding termite, gut	G ⁺ , rod	H ₂ /CO ₂	33 °C, 7.3	No	None	Acetate	None	[105]
<i>C. methoxy- benzovorans</i>	Olive oil mill wastewater	G ⁺ , rod	H ₂ /CO ₂	37 °C, 7.4	No	None	Acetate, formate	None	[106- 107]
<i>C. scatolo- genes</i>	Soil, coal mine pond sediment	G ⁺ , rod	H ₂ /CO ₂ / CO	37~40 °C, 5.4~7.0	No	None	Acetate, ethanol, butyrate	None	[70,95, 108-110]
<i>C. bovisfaeci</i>	Cow manure	G ⁺ , rod	H ₂ /CO ₂ H ₂ /CO ₂ / CO	30 °C, 7.0	No	None	Acetate	None	[111]
<i>C. thailand- ense</i> PL3	Peatland soil enrichments	G ⁺ , rod	H ₂ /CO ₂	30 °C, 7.0	No	None	Acetate	None	[112]
<i>Clostridium</i> sp. AWRP	Wetland	G ⁺ , rod	H ₂ /CO ₂ / CO	37 °C, 6.0~6.5	No	CRISPR/Cas	Acetate, ethanol, 2,3- butanediol	None	[113- 114]
<i>C. muelleri</i> sp. P21T	Old hay	G ⁺ , rod	H ₂ /CO ₂ / CO H ₂ /CO ₂ CO ₂ /CO	38 °C, 6.5	No	None	Acetate, butyrate, caproate, ethanol, hexanol	None	[115]
<i>Clostridium</i> sp. JS66	Environmental sources	G ⁺ , rod	CO ₂ /CO	30 °C, 5.8	No	None	Acetate, butyrate, caproate, ethanol, butanol, hexanol	None	[116]

① G⁻—革兰氏阴性菌；G⁺—革兰氏阳性菌。

② T_{opt} —最适生长温度； pH_{opt} —最适 pH。

③ 基因工程指用于编辑基因组 DNA 的工具，不包括基于质粒的基因表达体系。

注：本表格中的 *C. thermoaceticum* 后期在分类学中被更正为 *Moorella thermoacetica*，不属于梭菌属，然而研究者仍将其归于食气梭菌故总结于表中。

① G⁻ — Gram-negative; G⁺ — Gram-positive.

② T_{opt} — Optimum temperature; pH_{opt} — Optimum pH.

③ Genetic engineering refers to tools for editing the genome DNA, excluding plasmid-based gene expression.

Note: *C. thermoaceticum* was later taxonomically reclassified as *Moorella thermoacetica* and no longer belongs to the genus *Clostridium*. However, since it is still commonly regarded by researchers as an acetogenic gas-utilizing *Clostridium*, it is thus included in this table.

作为一种典型的线性双分支固碳系统，Wood-Ljungdahl 途径通过甲基分支 (methyl branch) 与羰基分支 (carbonyl branch) 的协同作用，将 2 分子 CO₂ 分别还原为甲基 (CH₃) 和羰基 (C=O)，最终汇集成乙酰辅酶 A (图 1 左上部浅紫色阴影所示)。其中，甲基分支的代谢始于甲酸脱氢酶 (FDH, EC 1.17.1.10, EC 1.17.98.4) 催化 CO₂ 还原生成甲酸；随后，甲酸在 ATP 依赖的甲酰四氢

叶酸合成酶 (FHS, EC 6.3.4.3) 作用下与四氢叶酸 (tetrahydrofolate, THF) 结合形成甲酰-THF；该中间体经甲酰环水解酶 (FCH, EC 3.5.4.9) 脱水环化、亚甲基-THF 脱氢酶 (MDH, EC 1.5.1.5) 及还原酶 (MTHFR, EC 1.5.1.54) 的逐步还原，最终生成甲基-THF；最后，甲基转移酶 (MT, EC 2.1.1.258) 将甲基转移至钴铁硫蛋白 (CoFeSP)，并再生 THF；与此同时，羰基分支则

由CO脱氢酶/乙酰辅酶A合酶(CODH/ACS, EC 2.1.1.245)的 $\alpha_2\beta_2$ 四聚体催化CO₂还原为CO,随后其ACS亚基将CO、CoFeSP所携带的甲基以及辅酶A组装为乙酰辅酶A^[124-127]。在此过程中,CO脱氢酶/乙酰辅酶A合酶(CODH/ACS)作为Wood-Ljungdahl代谢的核心酶,通过底物通道效应和高效电子传递,实现了CO₂还原与乙酰辅酶A合成的紧密偶联。

在产物合成方面,食气梭菌将一碳气体底物通过Wood-Ljungdahl途径转化为乙酰辅酶A后,可利用其内源代谢网络或引入的外源途径,合成一系列多碳化合物(如图1灰色和粉色阴影所示)。C. autoethanogenum、C. ljungdahlii、C. ragsdalei等食气梭菌拥有天然的乙酸、乙醇、2,3-丁二醇、乳酸合成基因簇^[128-130]; C. carboxidivorans、C. difficile、C. drakei、C. scatologenes、C. muelleri sp. P21T等除具有乙酸、乙醇合成途径外,还具备丁酸的合成能力^[68, 70, 75, 95, 115],部分菌株甚至能天然生产丁醇^[68]、己醇及己酸^[115]等多碳化合物。为了进一步拓展食气梭菌的产物谱,研究者通过对食气梭菌进行设计和改造,已经成功构建了多种人工细胞工厂,进一步拓展了产物种类,展示了食气梭菌作为自养型微生物底盘在一碳气体利用领域的巨大应用潜力。

2.2 食气梭菌的能量代谢

如上所述,食气梭菌可通过Wood-Ljungdahl途径实现自养固碳。然而,该代谢通路本身并不直接产生能量,而是一个净消耗ATP和还原力的过程(图1左上部浅紫色阴影部分所示)。尽管在下游代谢产物乙酸的合成过程中,细胞会通过乙酸激酶(Ack)和磷酸转乙酰酶(Pta)反应生成1分子ATP,但这与Wood-Ljungdahl途径固碳所消耗的1分子ATP相互抵消^[16],导致菌株在自养条件下无法通过底物水平磷酸化实现净能量增益。

与需氧型微生物依赖三羧酸循环(tricarboxylic acid cycle, TCA循环)和氧化磷酸化呼吸链耦合的产能模式不同^[131],食气梭菌的能量代谢系统具有显著特殊性。首先,由于其基因组中缺失多种TCA循环关键酶,食气梭菌并不具备完整的TCA

途径^[38];其次,作为严格厌氧菌,其能量代谢完全不涉及氧分子介导的电子传递链反应,因而不存在以O₂为末端电子受体的氧化磷酸化呼吸链。基于上述限制,食气梭菌在自养条件下形成了独特的产能机制——在利用Wood-Ljungdahl途径固碳的同时,通过Rnf复合体氧化还原态铁氧还蛋白(Fd_{red})以建立跨膜离子梯度,从而驱动ATP合酶产生ATP。

研究表明,在自养生长条件下,食气梭菌的能量供应主要依赖于细胞膜上的Rnf酶复合体,该复合体由RnfCDGEAB六个亚基构成,以Fd_{red}为电子供体,NAD⁺为终端电子受体,通过跨膜离子转运构建电子传递体系。在电子传递过程中,Rnf复合体催化Fd_{red}氧化生成Fd_{ox},释放的电子驱动NAD⁺还原为NADH,同时伴随Na⁺或H⁺的跨膜外排,从而在细胞膜两侧建立电化学离子梯度($\Delta\mu_{\text{Na}^+/\text{H}^+}$)。该离子梯度随后通过膜结合型ATP合成酶(ATPase)的逆向转运得以释放。当离子顺浓度梯度回流时,ATPase将离子势能转化为机械旋转能,最终驱动ADP磷酸化生成ATP。因此,Rnf复合体通过构建跨膜离子梯度与ATP合酶形成能量偶联系统,实现氧化还原能向ATP的定向转化^[132]。

遗传学研究进一步证实了Rnf系统在自养能量代谢中的作用。当Rnf操纵子被破坏,或由于调控因子RseC缺失导致Rnf表达受阻时,菌株的自养生长能力显著下降,ATP合成及质子动势的建立严重受损,同时固氮过程和异养生长亦受到抑制^[133-134]。值得注意的是,Rnf系统的离子转运特异性与菌株的进化适应密切相关。例如,C. acetivum依赖Na⁺型Rnf复合体与Na⁺-ATPase协同转运Na⁺^[135],而C. ljungdahlii则采用H⁺型Rnf复合体与H⁺-ATPase介导H⁺循环^[133],该差异反映了不同物种对环境离子组成的代谢适应策略。

在食气梭菌的氧化还原代谢网络中,Rnf酶复合体作为能量守恒的核心枢纽,其电子传递机制与底物类型高度偶联。该复合物的主要电子供体Fd_{red}是一类含[4Fe-4S]簇的小分子电子载体,可通过铁硫中心的可逆氧化还原循环将电子传递至Rnf复合体的膜结合亚基。此外,Fd_{red}与NAD(P)H共同构成细胞内的核心电子载体库,二者的动态

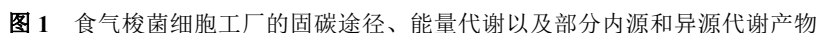


Fig. 1 Carbon fixation pathways, energy metabolism, and some endogenous and heterologous metabolites with the gas-fermenting acetogenic *Clostridia* cell factories

(CO₂ — Carbon dioxide; CO — Carbon monoxide; H₂ — Hydrogen; THF — Tetrahydrofolate; FDH — Formate dehydrogenase; FHS — Formyl-tetrahydrofolate synthase; FCH — Formyl-cyclohydrolase; MDH — Methylene-tetrahydrofolate dehydrogenase; MTHFR — Methylene-tetrahydrofolate reductase; MT — Methyltransferase; CoFeSP — Corrinoid iron-sulfur protein; CODH/ACS — CO dehydrogenase/acetyl-CoA synthase; Pi — Inorganic phosphate; ATP — Adenosine-triphosphate; ADP — Adenosine diphosphate; ATPase — ATP synthase; CoA — Coenzyme A; Acetyl-CoA — Acetyl-coenzyme A; HMG-CoA — 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A; 2,3-BDO — 2,3-Butanediol; 3-HB — 3-Hydroxybutyrate; PHB — Poly-3-hydroxybutyrate; IPA — Isopropanol; MVA — Mevalonate; NAD⁺ — Nicotinamide adenine dinucleotide; NADP⁺ — Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate; NADH — Reduced nicotinamide adenine dinucleotide; NADPH — Reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate; Nfn — Electron-bifurcating and ferredoxin-dependent transhydrogenase; Rnf — Reduced ferredoxin; NAD⁺ oxidoreductase complex; Fd_{red} — Reduced ferredoxin; Fd_{ox} — Oxidized ferredoxin; [H] represents one electron (e⁻) and one hydrogen proton provided by NAD(P)H. The dashed arrows indicate multi-step reactions. The light purple shading represents the Wood-Ljungdahl pathway, the gray shading represents endogenous natural products and their pathways, and the pink shading represents exogenous metabolites and their pathways. Among these, salt ions are transported to the extracellular through channel proteins in the cell membrane, while organic alcohols and other substances are transported to the extracellular *via* diffusion; High molecular weight polymers such as polyhydroxybutyrate are in the bacterial cell.)

平衡对ATP合成效率及胞内还原力稳态的维持具有决定性意义。 Fd_{red} 的还原再生主要由一氧化碳脱氢酶(carbon monoxide dehydrogenase, CODH)和氢化酶(hydrogenase)两类关键酶系介导。CODH通过催化CO氧化反应产生 Fd_{red} ,而氢化酶则通过 H_2 氧化反应将电子转移至氧化态铁氧还蛋白(Fd_{ox}),同样生成 Fd_{red} 。以*C. ljungdahlii*为模型的研究表明,当以CO作为唯一碳源和能源时,CODH/ACS复合体不仅驱动Wood-Ljungdahl途径完成 CO_2 固定,还通过级联氧化反应持续生成高浓度 Fd_{red} ,为细胞提供主要还原力。而在以 CO_2 和 H_2 分别作为碳源和能源的条件下,细胞的代谢调控模式发生显著转变。电子歧化氢化酶(electron-bifurcating hydrogenase)通过协同催化 H_2 氧化反应,同时生成 Fd_{red} 与 NAD(P)H ,形成“双电子载体”供给体系。其中, Fd_{red} 经Rnf复合体介导的跨膜离子转运建立离子梯度,为ATP合酶提供直接驱动力,而 NAD(P)H 则主要参与胞内还原反应^[136]。类似地,*C. aceticum*在 H_2 代谢过程中亦通过氢化酶生成 Fd_{red} ,并经 Na^+ 型Rnf复合体驱动 Na^+ 离子跨膜转运,与ATP合酶共同构建以 Na^+ 梯度驱动的ATP合成体系^[135, 137]。

值得注意的是,不同气体底物诱导的代谢途径差异对能量代谢效率及终端产物谱具有决定性影响。比较代谢组学研究显示,*C. ljungdahlii*在CO条件下的ATP合成速率较 H_2/CO_2 条件显著提高41.6%,且其主要终端产物为醇类化合物(乙醇和2,3-丁二醇),而在 H_2/CO_2 发酵条件下则以乙酸盐为主^[138-139]。其分子基础在于CO条件下,一氧化碳脱氢酶CODH(CLJU_c09110)和醛铁氧还蛋白氧化还原酶(AOR, CLJU_c20210)显著上调:前者增强电子传递效率并促进ATP合成;后者则推动乙酸向乙醛的转化,通过“酸回用”途径提高乙醇等还原型产物的生成比例。相反,在 H_2/CO_2 条件下,电子歧化氢化酶在生成 Fd_{red} 的同时也产生 NAD(P)H ,而 NAD(P)H 无法直接参与Rnf介导的能量守恒过程,导致部分还原力以辅因子形式储存,从而促使细胞通过乙酸生成途径维持氧化还原平衡^[139]。

在上述氧化还原网络中,铁氧还蛋白依赖的电子歧化转氢酶Nfn(electron-bifurcating and

ferredoxin-dependent transhydrogenase)负责将 NADH 和 Fd_{red} 的还原力转移至 NADP^+ ,生成 NADPH ,并同步回收 NAD^+ ,是调控胞内氧化还原平衡的关键节点。基因功能研究显示,*C. autoethanogenum*中nfn基因缺失将导致菌株在 H_2/CO_2 自养条件下完全丧失生长能力,表明Nfn是维持自养代谢网络稳定性和能量代谢效率的必需因子^[140-141]。因此,铁氧还蛋白介导的电子传递网络与辅酶平衡调控系统共同构成了食气梭菌独特而高效的能量代谢核心机制。

3 食气梭菌的设计和改造

为深入探究和改造食气梭菌,研究人员已逐步建立了适合该类菌的培养条件、分子遗传元件和DNA转化方法。在此基础上,多种分子遗传操作工具(包括CRISPR介导的基因编辑技术)被成功开发与应用,结合合成生物学和代谢工程策略,显著提升了食气梭菌的固碳效率和目标产物的合成能力,进一步拓展了其工程化应用潜力。此外,随机诱变、实验室适应性进化以及多细胞共培养体系等技术和策略也被应用于食气梭菌的优化研究,并取得一定效果。随着人工智能技术的快速发展,机器学习与大数据建模等方法也被逐渐引入食气梭菌研究领域,用于解析代谢网络、预测关键调控节点和优化发酵过程(图2)。

3.1 分子工具开发

食气梭菌不仅能够利用一碳气体自养生长,还可在异养条件下高效利用果糖、木糖、葡萄糖等多种糖类底物^[54-55]。这种底物宽泛性使得研究人员可根据实验目标,在自养和异养培养模式间灵活切换^[142-143],也为其分子遗传操作提供了便利。

在培养体系逐步完善的基础上,研究人员系统挖掘并鉴定了适用于食气梭菌的一系列分子元件,包括抗生素抗性标记、复制子、转录终止子、组成型启动子及诱导型启动子等^[21, 55, 60, 144]。通过对这些功能元件进行模块化组合,研究者构建了诸多pMTL-80000梭菌-大肠杆菌穿梭质粒。该系列载体能够满足多样化的基因表达与遗传操作需

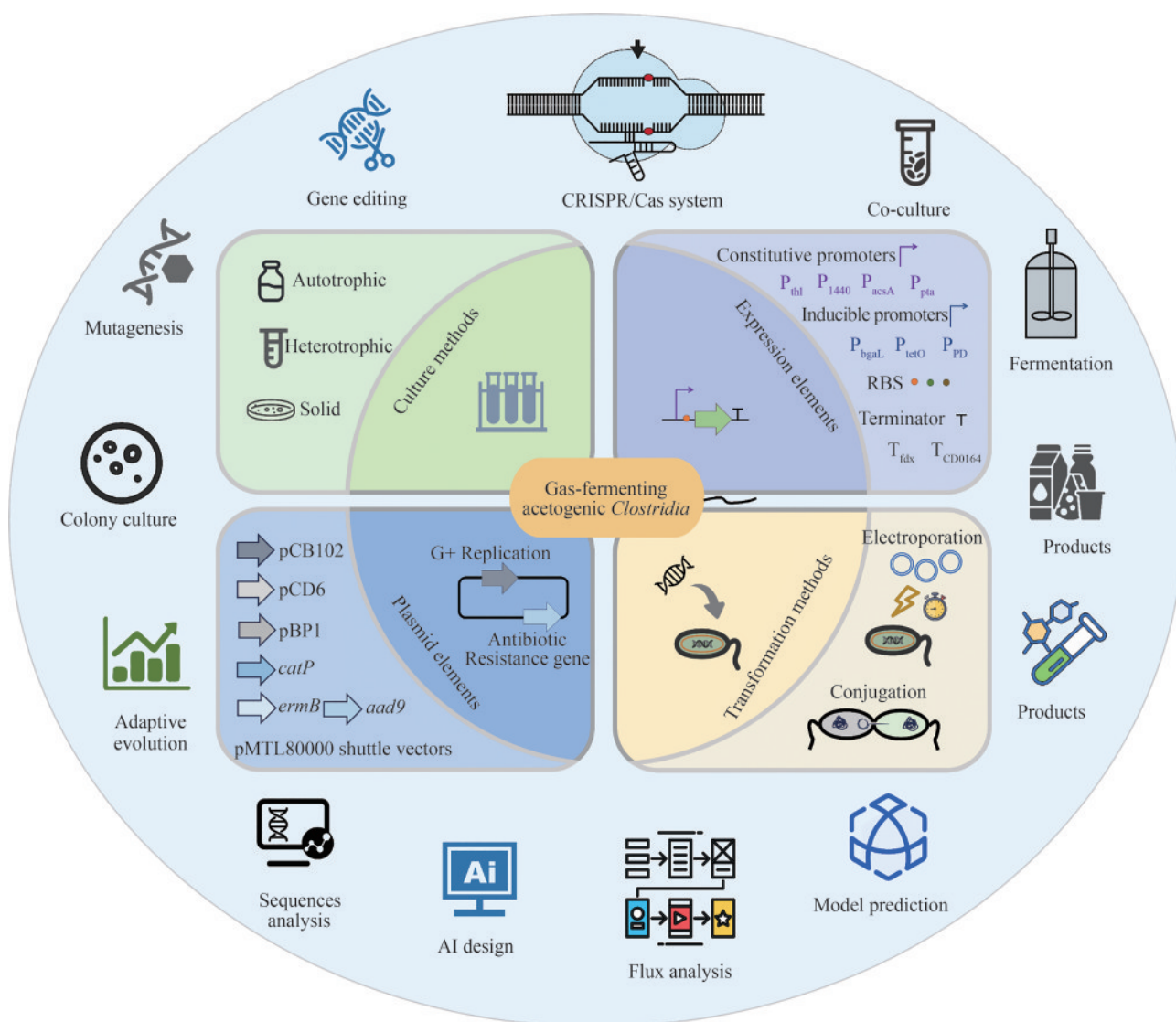


图2 食气梭菌的遗传改造技术和性能优化策略

Fig. 2 Genetic modification techniques and performance optimization strategies of the gas-fermenting acetogenic *Clostridia*

求，目前已成为厌氧梭菌研究中应用最广泛的载体系统之一，广泛用于代谢工程改造和基因功能解析^[145]。

目前，大多数食气梭菌菌株已成功开发结合转移（conjugation）或电穿孔（electroporation）的外源质粒DNA转化方法^[55, 144]，并在此基础上建立了多种基因操作技术体系，包括ClosTron插入突变系统、基于同源重组的双交换技术、CRISPR/Cas介导的基因编辑技术、CRISPRi转录抑制系统、单碱基编辑器、基于转座酶或整合酶介导的大片段DNA基因组整合技术等^[57-58, 65-66, 74, 144, 146-148]。这些工具能够满足基因组DNA的定点删除、插入、大片段DNA整合、单碱基突变以及RNA水平转录

调控等多层级操作需求。其中，CRISPR-Cas9和CRISPR-Cas12a介导的编辑技术已逐渐发展为食气梭菌分子改造的主流工具，但其编辑效率在不同菌株间差异显著，跨度可达20%~99%^[42, 58, 146, 149]。效率差异主要与Cas蛋白在宿主中的适配性、表达负荷以及代谢压力等因素相关。因此，通过精细调控Cas蛋白的表达以降低其细胞毒性、提高编辑效率，已成为未来提升CRISPR-Cas系统在食气梭菌中适用性的重要研究方向。

在分子调控元件中，核糖体开关与诱导型启动子等可控表达元件能够实现异源基因的时序与表达量的调控，在缓解宿主代谢负担和降低蛋白毒性方面具有显著优势。早期研究已在食气梭菌

中开发了四环素诱导型启动子 $P_{tet}^{[65]}$ 和乳糖诱导型启动子 $P_{bgal}^{[60]}$ ，但因诱导效率有限且与宿主遗传背景适配性不足，其实际应用受到一定限制。近年来，国内的科研团队从食气梭菌中挖掘并鉴定了多种内源诱导型启动子，其中 $P_{choline1}$ 和 $P_{1,2-PD}$ 分别受胆碱和 1,2-丙二醇（1,2-PD）诱导调控。当采用诱导型启动子 $P_{1,2-PD}$ 驱动 Cas9 表达时，*C. ljungdahlii* 中基于 CRISPR-Cas9 的基因敲除效率提升至 100%^[150]。此外，将诱导型启动子 $P_{choline1}$ 与 Cas9 模块整合至染色体后，研究者成功实现了 0.6 kb 丙酮酸脱羧酶基因 *pdc* 以及 2.5 kb 的 3-羟基丁酸合成途径的基因组敲入，其整合效率分别达到 100% 和 50%^[150]。

需要指出的是，不同分子工具在各类食气梭菌中的适配性和编辑效率存在显著差异，还与菌株间 DNA 转化效率、限制修饰系统活性以及代谢状态等因素有关。例如，*C. ljungdahlii* 由于其相对较高的转化效率和较弱的限制修饰屏障，已成为 CRISPR-Cas 系统开发与优化的主要菌株，其基因编辑效率在优化条件下可达到较高水平；而 *C. autoethanogenum* 等菌株则普遍表现出较低的外源 DNA 导入效率及更强的宿主防御机制，导致 CRISPR 系统构建难度较高、编辑效率波动较大。在具体工具选择方面，ClosTron 系统因其操作简便且对宿主依赖性较低，适用于早期基因功能验证，但其插入突变具有不可逆性，限制了精细代谢调控研究的应用；基于同源重组的双交换体系虽可实现精准编辑，但效率较低且操作周期较长；CRISPR-Cas9/Cas12a 系统则在实现高效基因编辑方面具有明显优势，但其表达负荷及细胞毒性问题在部分菌株中仍需通过诱导表达或系统优化加以缓解。此外，CRISPRi 系统因无需造成 DNA 双链断裂，更适用于必需基因的功能调控及代谢通量的精细调节。因此，食气梭菌的基因编辑策略需根据目标菌株特性与工程目标进行综合选择：对于遗传背景较清晰、转化效率较高的菌株，可优先采用 CRISPR-Cas 系统进行快速改造；而对于工业菌株或遗传操作难度较高的菌株，则需结合转化体系优化、诱导表达调控及替代编辑工具，以实现稳定可靠的基因工程改造。

总体而言，基因编辑工具与可控表达元件的

协同使用可大幅提高食气梭菌的遗传操作效率。然而，目前广泛适配不同食气梭菌菌株的调控元件仍相对稀缺，其通用性和稳定性亦有待提升。未来，通过系统挖掘和工程化改造内源调控元件，有望突破现有技术瓶颈，进一步推动高效、精准的分子工具在食气梭菌遗传改造中的应用。

3.2 固碳效率提升

食气梭菌的固碳效率是其作为自养型微生物的一项重要性能指标。为缓解固碳途径中关键中间体的代谢瓶颈，有研究通过联合过表达丙酮酸甲酸裂解酶及其活化酶（PflAB）和乳酸脱氢酶（LDH），促进甲酸与乙酰辅酶 A 向丙酮酸转化，并进一步生成乳酸，从而有效减少 WL 途径中甲酸中间体的积累，显著提高了 *C. ljungdahlii* 对 CO/CO₂ 的利用效率，进而促进了菌体生物量以及乙酸、乙醇的产量^[151]。此外，围绕核心固碳酶系的强化表达，研究者在 *C. autoethanogenum* 中过表达 CODH/ACS 基因簇，显著加快了菌株在气体发酵条件下的生长速率，并提高了乙醇和乳酸的合成水平^[152]。针对气体传递效率不足的问题，有研究利用血红蛋白（VHb/CGb）对 CO 的高亲和力特性，在食气梭菌中异源表达该蛋白作为“分子载体”。该策略显著增强了气相至液相的物质传递效率，使菌体生长速率提高约 25%，乙醇和乙酸产量提升约 20%，同时 CO 的总体利用率由约 30% 提升至 ≥40%^[153]。此外，针对关键转录因子的代谢工程改造也取得了显著进展。研究表明，敲除转录抑制因子 NrdR 并增强 DeoR 表达可显著提高食气梭菌的固碳效率。NrdR 缺失菌株的生长速率提升了 15.5%，乙醇和乙酸总产量增加了 17.9%；进一步利用启动子 P_{m1} 强化 DeoR 表达后，菌株生长能力持续增强，乙醇产量达到原来的 3.17 倍^[154]。最近的研究表明，通过敲除电子歧化型 [FeFe]-氢化酶，可显著改变 *C. ljungdahlii* 细胞内的还原力分配，从而增强了 H₂ 驱动的 CO₂ 固定效率，并提高了乙醇产量，表明通过调控氢代谢与电子分配网络可有效优化 Wood-Ljungdahl 途径的碳流利用效率^[155]。

除传统气体发酵模式外，混合营养（mixotrophy）培养策略也在食气梭菌中得到应用，

成为一种颇具创新性的研究路径。该策略使菌株能够同步利用有机碳源（如果糖）和无机碳源（ CO_2/CO ），并结合 H_2 或合成气补充还原力，从而将糖酵解过程中释放的 CO_2 重新固定为乙酰辅酶A。例如，研究者在*C. ljungdahlii*中引入丙酮合成途径，并通过敲除醇脱氢酶基因（*sadh*, CLJU_c24860）阻断丙酮向异丙醇的转化，使工程菌株在果糖与 CO_2/CO 的混合碳源条件下，实现45%的丙酮产率，达到了单纯果糖发酵理论产率的138%。在充足 H_2 供应条件下，该体系甚至可实现近零 CO_2 排放^[156]。最新的研究还探索了*C. autoethanogenum*同时利用合成气与五碳糖（如阿拉伯糖）的发酵情况，成功实现了固碳途径与糖酵解途径的协同作用并合成2,3-丁二醇，从而表明混养策略能够显著改变代谢流分布并提高醇类化合物的产率^[157]。此外，还有研究表明提高 H_2/CO 供气比例可以显著增强 CO_2 的利用效率并推动还原力重分配，这一效应与细胞整体的共因子合成及后翻译调控（如赖氨酸乙酰化）密切相关^[158]。对*C. ljungdahlii*在不同pH条件下进行 CO 发酵的研究表明，较低pH不仅促进菌体生长，也显著提升了乙醇及其他平台产物的产量，提示环境条件调控对能量与碳流分配具有重要影响^[159]。

除基于理性设计的合成生物学与代谢工程策略外，非理性改造如随机诱变、实验室适应性进化（adaptive laboratory evolution, ALE）及混菌共培养等方法，也被广泛用于提升食气梭菌的代谢性能。其中，ALE的应用最为广泛且成效显著。例如，Ingelman等^[160]通过适应性进化*C. autoethanogenum*获得菌株“LABrini”，其最大比生长速率、产物合成能力及整体鲁棒性均得到显著提升。Patankar等^[161]则结合ALE与甲基磺酸乙酯和紫外诱变，显著提高了*C. ragsdalei*对乙醇和乙酸的耐受性，其合成气发酵的乙醇产量也提高约7倍。此外，混菌共培养体系在拓展菌株的代谢产物方面亦展现出独特优势。研究发现，构建以 H_2/CO_2 为底物专一性生产乳酸的工程菌株*Acetobacterium woodii*，并将其与野生型*Clostridium drakei*共培养，两种菌株之间可形成鞭毛状细胞连接结构，*C. drakei*可通过逆 β -氧化高效将乳酸转化为丁酸和己酸，且混菌培养体系的转化速率显著高于单菌培养^[162]。

总体而言，上述理性与非理性改造策略在不同层面上提升了食气梭菌的气体利用效率和固碳性能。然而，当前限制固碳效率进一步提升的核心瓶颈仍在于气体与液体间传质的低效性，仅依靠改造策略所能带来的提升幅度有限；同时，传统诱变与驯化策略也不可避免地面临突变背景复杂、关键靶点难以精准解析等问题。这些挑战仍有待通过多尺度、系统性的研究来进一步突破。

3.3 拓展和优化产物合成

在拓展食气梭菌的产物种类方面，近年来亦有大量研究通过构建食气梭菌细胞工厂以合成新产物。例如，研究者在*C. autoethanogenum*中异源表达来自*Cupriavidus necator*的*phaA-phaB-phaC*基因簇，成功使其合成生物可降解塑料聚3-羟基丁酸酯（poly- β -hydroxybutyrate, PHB）^[48]；此外，*C. coskatii*、*C. ljungdahlii*经工程化改造后，亦可合成PHB及其单体3-羟基丁酸（3-hydroxybutyrate, 3-HB）^[61-62, 65, 163]。Diner等^[63]通过质粒共表达来源于*Enterococcus faecalis*的甲羟戊酸途径、*Saccharomyces cerevisiae*的异戊二烯焦磷酸异构酶基因*idi*及*Populus alba*的异戊二烯合酶基因*isps*等，成功使*C. ljungdahlii*合成甲羟戊酸和聚异戊二烯前体。目前，*C. ljungdahlii*和*C. autoethanogenum*底盘已成功实现异丙醇^[46, 61]、丙酮^[52]等大宗化学品的异源合成。值得注意的是，Liew等研究者^[52]整合了组学分析、动力学建模和无细胞系统优化策略，在*C. autoethanogenum*中建立的丙酮/异丙醇合成体系已实现工业化中试规模。在丁醇合成方面，Köpke团队^[55]早期在对*C. ljungdahlii*进行基因组测序时曾初步探索丁醇合成；随后，Lauer团队^[64]通过引入*C. kluyveri*和*C. acetobutylicum*的13个异源基因，成功实现了丁醇与己醇的协同合成。在有机酸拓展领域，Ueki和Huang等研究者^[59, 66]分别采用同源重组及 $\Phi\text{CD}27$ Att/Int噬菌体整合酶系统，将丁酸合成基因簇整合至*C. ljungdahlii*基因组，使其合成丁酸。近期，研究者通过敲除竞争途径及表达*S. cerevisiae*来源的醇乙酰基转移酶，在*C. autoethanogenum*底盘中成功合成乙酸乙酯^[49]；另有专利报道，*C. autoethanogenum*目前已

可工程化生产苯乙醇、3-羟基丙酸及1,3-丙二醇等
高值化合物^[47, 50-51]。近年来亦有研究在 *C. ljungdahlii* 中实现异丙醇、3-羟基丁酸和乙醇的协
同生产, 并通过路径优化显著提高了整体碳利用
效率^[61]。近期的一项研究则通过在 *C. ljungdahlii*
的染色体上整合关键功能基因, 构建了遗传性状
稳定且能高效合成3-HB的工程菌株, 在连续供气
的发酵条件下实现合成10.3 g/L的3-HB^[163]。

在拓展食气梭菌产物谱的同时, 提高目标产
物产量是实现其工业应用的关键。围绕碳流重分
配与代谢旁路抑制, 研究者已发展出多种精细化
代谢工程策略。例如, 有研究利用CRISPRi-dCas9
基因表达干扰技术下调乙酸合成途径中的关键基
因(*pta*和*aor2*), 有效抑制了乙酸副产物的形成,
并将碳流更多地引导至目标产物3-HB的合成。该策
略使 *C. ljungdahlii* 在异养条件下的乙酸产量降低约
75%, 同时将3-HB的最高产量提升至21 mmol/L,
达到对照菌株的2.3倍^[65]。此外, 基于CRISPR-
Cas12a系统构建的基因敲除和基因抑制工具亦被
成功应用, 其中通过CRISPRi-ddCas12a抑制旁路
基因*adhE1*的表达, 实现了合成气发酵过程中碳通
量的重新分配, 并进一步增强了丁酸的合成能
力^[146]。此外, 通过强化关键酶的表达亦可显著改
善目标产物产量。例如, 在 *C. carboxidivorans* 中
表达来源于 *C. acetobutylicum* 的*adhe2*基因, 可使
合成气发酵条件下的乙醇产量提高约50%; 进一
步共表达*adhe2*与铁氧还蛋白-NAD⁺还原酶基因*fnr*
后, 丁醇产量提升约18%, 同时乙醇产量提升约
22%^[68]。

在非理性改造策略方面, Antonicelli等以 *C. carboxidivorans* P7 (DSM 15243) 为出发菌株, 在
CO₂/H₂选择压力下通过连续传代培养进行实验室
适应性进化, 获得性能显著改良的菌株 *C. carboxidivorans_hex21*, 该驯化菌的最大OD₆₀₀达
1.7, 较野生型提高112%, 比生长速率提升
1.14倍; 同时其代谢模式发生显著重编程, 主要产
物由乙酸转变为己醇。进一步的GC-MS分析还检
测到戊酸、戊醇、庚醇、辛醇等多种中长链产物,
表明驯化菌具备羧酸盐奇数碳链延伸能力^[164]。

此外, 混菌共培养策略在重构代谢网络与提
升产物多样性方面展现出应用潜力。研究显示,

在单独培养时, *C. autoethanogenum* 中约96%的电
子流向乙酸合成; 而在与 *C. kluyveri* 共培养后, 其
代谢明显转向醇类产物合成, 乙醇产量大幅提升。
而在共培养体系中添加乙酸盐, 可使电子流几乎
完全导向乙醇合成, 同时丁酸和己酸的产量提升
约2.6倍^[165]。类似地, 在先培养 *C. beijerinckii* 24 h
后接入 *C. carboxidivorans* P7, 并降低共培养体系
的温度, 丁醇产量可达1.9 g/L, 为单一菌株发酵
的34倍^[166]。此外, 气体发酵工艺的优化也被证实
能有效增强产物合成能力。例如, 在 *C. ragsdalei*
的合成气发酵过程中添加适量甲酸盐, 可使菌株
生长速率提高20%~50%, 并同步提升乙酸和2,3-
丁二醇的产量^[167]; 此外, 外源添加生物碳亦被报
道可显著提高 *C. ragsdalei* 的乙醇产量, 可能与
电子传递增强及微环境调控有关^[168]。

总体而言, 这些策略在不同层面上突破了食
气梭菌的天然代谢限制, 实现了产物合成能力的
显著提升, 但其工业化应用仍需与系统代谢工程
与发酵工艺深度耦合, 以兼顾经济可行性与过程
稳定性。

3.4 代谢建模和AI技术辅助优化

随着信息化与计算生物学技术的快速发展,
基于食气梭菌基因组注释的代谢模型逐步建立并
不断完善。2013年, Nagarajan等^[169]采用传统生
物信息学与约束性代谢建模方法, 构建了首个 *C. ljungdahlii* 的基因组尺度代谢模型iHN637, 实现
了对该菌株自养与异养生长能力的成功预测。研究
者利用通量平衡分析(flux balance analysis, FBA)
模拟不同培养条件下菌株的代谢行为, 并通过将
模型预测值与实验数据进行校对(如异养生长速
率预测值0.077 h⁻¹与实测值0.072 h⁻¹), 验证了模型
的可靠性, 为后续食气梭菌代谢模型研究奠定了
基础。2022年, Valgepea等^[170]将研究重点聚焦于
气体发酵条件下 *C. autoethanogenum* 的蛋白质资源
分配问题, 作者采用基于质谱的绝对蛋白质定量
技术, 并结合基因组尺度代谢模型iCLAU786, 整
合分析了蛋白质组数据与代谢通量信息, 发现胞
内约1/3的蛋白质资源用于CO₂/CO固定, 其中
Wood-Ljungdahl途径占据主导地位。进一步的调控

分析显示,约90%的代谢通量变化由酶活性变化驱动,而非蛋白质浓度变化。此外,该研究还揭示了多种关键同工酶之间的协同作用,例如单功能一氧化碳脱氢酶(CODH, CooS1)的丰度显著高于双功能CODH/ACS复合体,以及乙醛氧化还原酶(AOR1)与醇脱氢酶(ADH4)在乙醇生成途径中的协同主导作用,为设计高效气体发酵细胞工厂提供了重要的分子依据。

2023年,Caivano等^[171]在*C. ljungdahlii*的酶约束代谢模型研究中引入深度学习与贝叶斯优化策略,显著提升了代谢预测的准确性。该研究通过深度学习模型DLKcat结合贝叶斯优化,有效缓解了酶动力学参数缺失所带来的限制,使模型预测误差降低约74%。模型成功预测了乙醇分泌的临界CO摄取速率区间[20~30 mmol/(gCDW·h)],与实验中观测到的代谢溢出现象高度一致。同时,该模型还鉴定出乙酸与乙醇增产的潜在基因敲除靶点(如*ackR*、*ldh*),并揭示了生长速率与产物合成之间的权衡关系。研究进一步验证,混合营养生长策略有助于提升整体碳固定效率与产物合成能力。然而,该模型在一定程度上仍依赖于现有酶动力学数据库的完备性,动态预测能力有待通过多组学数据的进一步整合加以提升。2024年,研究者对产乙酸菌中人工智能与机器学习方法的应用进行了系统探索^[172],提出了神经嵌入式贝叶斯动力学模型(neural-embedded Bayesian kinetic model),以神经网络替代传统数值求解器,显著提高了代谢动力学模拟的计算效率;同时开发了贝叶斯稀疏多组学独立成分分析方法(Bayesian sparse multi-omics ICA),并通过马尔可夫链蒙特卡洛采样解析转录组数据。此外,研究还引入ViT(vision transformer)模型对细菌基因组进行预训练,为基因功能预测提供了新思路。综合分析表明,黄素依赖型电子分岔(flavin-based electron bifurcation)是产乙酸菌能量代谢的核心机制,且乙醛脱氢酶(AdhE)与乙酰辅酶A还原酶(AOR)构成双通路冗余系统:AdhE在高还原条件下(如H₂充足)占主导,而AOR在CO胁迫条件下被激活。进一步地,作者鉴定了33个保守的转录调控模块,并通过FBA耦合机器学习预测*ackA*基因敲除可使乙醇产量提升约20%,但需维持ATP代谢

平衡。同时提出通过调控H₂/CO比例实现2,3-丁二醇定向合成的“代谢开关”策略,为合成生物学理性设计提供了新的靶点。

综上,代谢建模与AI技术在产乙酸菌研究中已取得显著进展,在提高代谢预测准确性、解析关键代谢与调控机制等方面展现出巨大潜力。然而,现有模型仍在一定程度上依赖特定数据库的完备性、对复杂环境因素(如气体组分波动、传质限制及动态调控)的刻画仍显不足。同时,人工智能方法在食气梭菌中的应用尚处于起步阶段,相关研究数量和成熟度均较为有限。未来研究亟需进一步加强多组学数据的系统整合,提升模型的动态预测能力与普适性,并探索更加高效、鲁棒的AI算法,以应对微生物代谢体系高维度、强非线性等复杂特性带来的挑战。另外,可借鉴机器学习在模式微生物(如大肠杆菌和酵母)中的应用策略,将其用于多组学数据驱动的关键代谢调控靶点识别,从而辅助解析碳流分配与产物合成的关键控制节点;在此基础上,结合基因组尺度代谢模型与机器学习算法,有望构建面向特定产物的基因编辑策略优化框架,实现靶点筛选与组合设计的协同优化。此外,基于转录调控元件响应特性与代谢信号数据的建模分析,有望推动一碳气体响应型生物传感器的理性设计,用于实现对CO、H₂等底物浓度变化的动态感知与反馈调控。在发酵过程层面,将AI算法与在线过程参数(如气体流速、溶解气体浓度及pH等)相结合,有望构建数据驱动的自适应调控策略,从而提升气体发酵过程的稳定性与生产效率。需要指出的是,上述研究方向目前在食气梭菌体系中的系统性研究仍属空白,但相关方法已在其他工业微生物中得到初步验证,未来有望在一碳生物制造体系中逐步拓展与应用。

4 食气梭菌气体发酵技术的产业化

基于食气梭菌的气体发酵技术已经实现工业尾气转化为高附加值生物产品的绿色生物制造(图3)。整个工艺流程始于原料气的捕集与预处理。主要气源来自钢铁冶炼(高炉煤气、转炉煤气)、煤化工及铁合金等行业排放的含碳尾气,其

核心成分包括 CO 、 CO_2 和 H_2 。由于原始尾气中通常含有硫化物、焦油及颗粒物等可能抑制微生物活性的杂质，气体在进入发酵系统前需经过除尘、脱硫、调温等预处理工序，以满足生物发酵对气体纯度和稳定性的要求。净化处理后达标的气体被通入充满发酵液的反应器内，并通过高效气液传质装置溶解供微生物利用。作为细胞工厂的食气梭菌在常温常压条件下，依托其特有的 Wood-Ljungdahl 固碳途径，将 CO 和 CO_2 高效转化为乙酰辅酶 A。随后，碳流分配至两条主要途径：一方面用于合成并分泌乙醇、有机酸（如乙酸、乳酸）等目标化学品；另一方面用于菌体自身的同化与增殖。发酵结束后，发酵液进入下游分离与精制单元。通过蒸馏或精馏工艺可将乙醇等溶剂类产品从发酵液中分离并提纯，获得燃料级生物乙醇；剩余的含菌醪液经固液分离与干燥处理后，可制备成单细胞蛋白，作为高品质动物饲料原料；分离后的工艺水则可循环回用。该工艺流程在实现工业碳排放资源化利用的同时，也为非粮路径生产能源与蛋白质提供可持续解决方案。

食气梭菌气体发酵技术的开发可追溯至 20 世纪末，至今已有 30 余年的发展历程。从全球视野来看，早期研究起源于美国阿肯色州立大学 James Gaddy 团队，其发现并系统研究了气体发酵相关核

心菌种，其成立的生物研究所（Biological Research Institute, BRI）从事气体发酵技术的开发，从而推动该技术的工程化探索。随后，英国的英力士生物 Ineos Bio（后被中国巨鹏生物公司收购）在 2008 年收购 BRI，并于 2012 年在美国佛罗里达州维罗海滩建成生物质气化耦合气体发酵制乙醇的一体化工业示范装置（乙醇产能约 2.4 万吨/年），是全球首家实现气体发酵技术工业示范的工厂，英力士生物也因此成为气体发酵技术产业化的先驱。之后，新西兰朗泽公司 LanzaTech 及美国科斯卡塔公司 Coskata（后被塞纳塔生物 Synata Bio 收购）等企业也开始在不同技术路线下开展气体发酵相关的工程化探索。例如 LanzaTech 与安赛乐米塔尔公司 ArcelorMittal 合作在比利时投建 Steelanol 项目，并联合美国公司 Aemetis 在加利福尼亚州推进生物质气化耦合发酵^[173-174]。然而，受制于运行成本、原料体系及政策环境等多方面因素，相关路径在欧美地区的商业化推广进程相对有限。中国凭借丰富的工业尾气资源、成熟的工程配套能力及有力的“双碳”政策支持，近年来吸引上述欧美相关企业通过并购整合及跨国合作等方式在国内形成产业化落地，实现了气体发酵技术由实验室向规模化商业应用的转化实践，使中国成为该领域产业化发展的主战场。

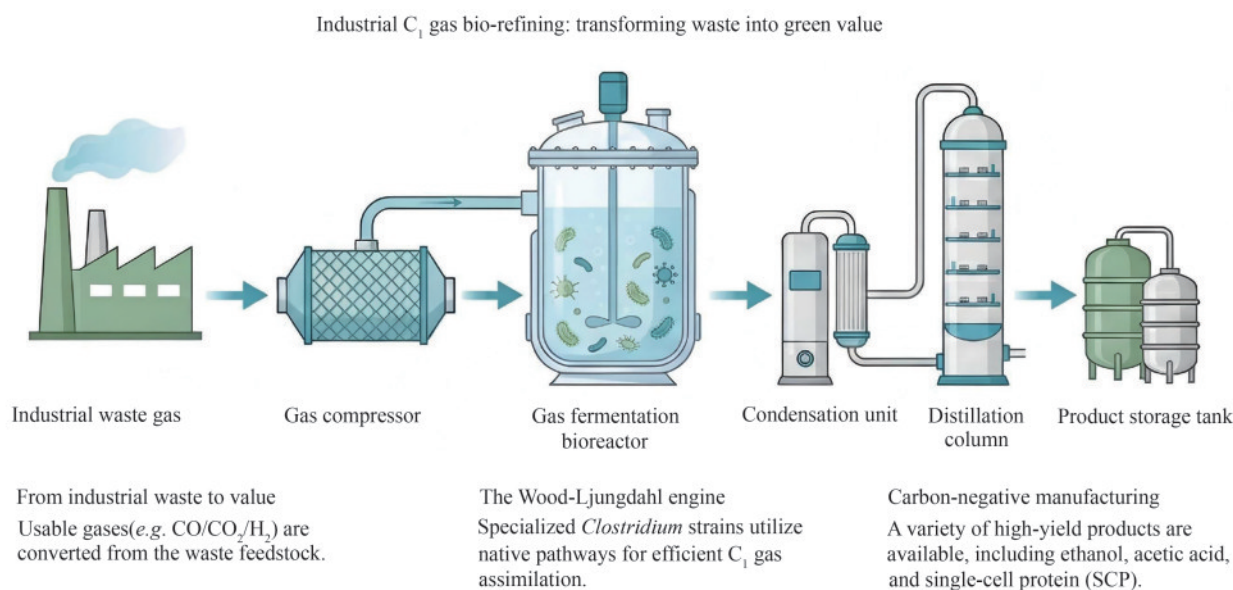


图3 基于食气梭菌的气体发酵工业流程图

（图示依次是工厂废气-气体压缩机-气体发酵罐-冷凝装置-精馏塔-产物储罐）

Fig. 3 Industrial flowchart for the gas fermentation based on the gas-fermenting acetogenic *Clostridia*

2005年,新西兰朗泽科技公司 LanzaTech 成立,开始从事气体发酵制乙醇技术的研发,并先后与中国公司上海宝钢集团和北京首钢集团合作,建设300吨/年规模的中试装置。2011年,朗泽科技与首钢集团合资成立首钢朗泽公司,通过技术许可的方式将技术使用权提供给合作伙伴^[175]。2012年,首钢朗泽的中试装置实现稳定运行,验证了以 *C. autoethanogenum* 为核心底盘菌株的工业尾气生物转化可行性。2018年,首钢朗泽在河北唐山曹妃甸建设了年产乙醇4.5万吨、年产菌体蛋白5000吨规模的示范工厂,实现了朗泽科技气体发酵技术的工业示范验证^[176-177]。据公司公开报道,其CO转化效率可达80%,乙醇选择性达85%,菌体蛋白收率10%,粗蛋白含量可达80%以上。在此基础上,首钢朗泽先后在宁夏和贵州等地建设了商业化装置并成功于2021年获得国内首张新饲料原料证书^[178]。截至2025年,首钢朗泽在国内投运四套规模化生产设施,形成年产乙醇21万吨、菌体蛋白2.3万吨的产能^[179-181],并正推进朗泽科技利用CO₂的二代负碳新技术^[182]。首钢朗泽商业化装置的成功投产为朗泽科技的产业化奠定了坚实的基础,目前,朗泽科技已经在气体发酵领域获得1000多项专利并拥有6家在运行商业化装置,成为全球气体发酵领域具有代表性的商业化企业。

2017年,中国巨鹏生物全资收购了英力士生物 Ineos Bio,获得了其完整的技术体系、研发团队、489项全球专利及全套完整的知识产权,成为目前全球极少数同时掌握生物质气化、气体发酵、菌体蛋白一体化技术的平台型高科技企业。据公司公开报道,其以 *C. ljungdahliae* 为核心底盘菌株的CO转化效率可达90%,乙醇选择性达98%,菌体蛋白收率20%,粗蛋白含量亦可达80%以上^[183]。2018年,巨鹏生物与山西潞安化工集团合作,成立山西拜奥埃森纳新能源有限公司,在山西长治建设工业尾气制燃料乙醇20万吨/年(一期2万吨/年)示范项目,并于2021年10月建成投产。该项目于2023年7月通过中国石油和化学工业联合会的性能考核与鉴定,工艺的先进性、成熟性和可靠性得到验证,适合在钢铁和煤化工等行业大规模推广。2024年11月,巨鹏生物与伊泰集团合资

在内蒙古鄂尔多斯成立了内蒙古鹏泰生物科技有限公司,建设年产乙醇10万吨、年产菌体蛋白2万吨规模的项目,预计于2026年6月底建成投产^[183]。该项目将进一步拓展气体发酵技术在多区域、多原料场景下的工程应用能力,并与既有示范项目形成覆盖山西、内蒙古等地的产能布局。

科斯卡塔 Coskata 成立于2006年,是一家专注于生物燃料开发的美国企业,其总部位于伊利诺伊州沃伦维尔,早期以气体发酵技术生产乙醇等低碳燃料为主要研发方向。2012年,该公司与英力士生物 Ineos Bio 发生知识产权纠纷而败诉,之后经营受阻并逐步进入重组阶段。2015年,其核心资产被塞纳塔生物 Synata Bio 收购并完成业务整合。2022年, Synata Bio 与河南永城市志城产业投资、河南龙宇煤化工及上海河图工程等单位共同成立河南赛龙图生物科技有限公司,在河南永城化工园区建设工业示范装置,规划产能无水乙醇约5万吨/年、菌体蛋白约0.5万吨/年,并于2025年12月完成建设。该项目是 Synata Bio 相关气体发酵技术的首次工业化应用,但其长期运行稳定性及工艺放大效果仍需进一步工业化验证与运行数据的支撑。

此外,国内还涌现了聚焦其他食气梭菌的公司,比如南京食气生化科技有限公司(Gasgene)成立于2023年1月,公司专注于高效气体生物转化装备的研发及菌种改造,是我国气体发酵领域的自主创新代表。该公司的菌株有食一氧化碳梭菌 *Clostridium carboxidivorans*^[184]。据公司公开报道,其主要产品涵盖乙醇、丁醇及柔性联产蛋白,目前已建成百吨级及五百吨级中试装置,运行时间超过1万小时,且五万吨级示范项目已完成备案并即将启动建设^[185-186]。还有吉态来生物科技发展有限公司以上游食气梭菌-下游解脂耶氏酵母进行两阶段发酵,虽然不是通过食气梭菌直接合成产品,但其核心技术源自对美国麻省理工学院相关气体发酵技术的引进与消化,精准聚焦于“二氧化碳制蛋白”方向,是食气梭菌气体利用的另一拓展^[187]。

综合而言,当前食气梭菌气体发酵产业化进程尚处于初步阶段,全球范围内真正实现工程化放大并具备稳定运行能力的案例仍然有限^[188]。国

内食气梭菌气体发酵产业化呈现出明显的梯度分布：首钢朗泽已实现多套装置的商业化运行，代表该技术路线已具备规模复制能力；巨鹏生物完成了示范装置验证并正向商业化阶段推进；赛龙图已经建成了工业示范装置并投产，但其运行稳定性尚待进一步验证；南京食气生化等企业整体仍处于中试至示范阶段，尚未实现大规模稳定运行。目前从技术成熟度与工业运行表现来看，首钢朗泽与巨鹏生物构成了该领域比较具有代表性的产业化实践主体。值得注意的是，由于不同企业在原料气组成、反应器设计及运行条件方面存在差异，公开数据之间不具备严格可比性。

5 其他化能自养菌的产业化现状

在食气梭菌之外，全球针对产甲烷菌（methanogens）、氢氧化细菌（hydrogen-oxidizing bacteria）及甲烷氧化菌（methanotrophs）的产业化也已逐步开启。从国际进展看，德国 Electrochaea 公司专注于生物催化甲烷化，利用产甲烷古菌将绿氢与 CO_2 转化为可再生天然气，并于 2023 年在丹麦部署了 10 兆瓦级生物甲烷示范装置^[189]。芬兰 Solar Foods 公司则利用氢氧化细菌开发了完全脱离土地、基于 CO_2 和电力的“Solein”空气蛋白，其首个商业化工厂 Factory 01 已投入运行^[190]。在甲烷氧化菌领域，丹麦 Unibio 公司通过垂直环形反应器实现天然气/生物气制蛋白，并正推进在沙特建设年产 5 万吨的生产设施^[191]。

除上述企业外，国内在不同化能自养微生物方向亦已形成多路径产业探索。在天然气发酵蛋白领域，由美国 Calysta 公司与安迪苏合资成立的重庆恺迪苏（Calysseo）生物科技有限公司，在重庆长寿建成了规模化天然气发酵蛋白商业化生产基地，年产能达 2 万吨。其核心产品 FeedKind® 单细胞蛋白含量超 68%，且于 2024 年 2 月获得农业农村部正式批准进入国内饲料市场，主要供应高端宠物食品与水产养殖^[192]。在氢氧化细菌中，*C. necator* H16 菌株因天然具备合成 PHB 的能力而备受关注，蓝晶微生物等企业正围绕生物转化合成聚羟基脂肪酸酯开展工程化开发，通过构建高通量菌株改造与发酵优化平台，推动可再生碳源向

可降解材料转化^[193]，但目前国内的产业化进程仍处于研发与中试示范阶段，尚未实现大规模、经济性可持续的商业化生产，仍面临工艺放大、成本控制及市场匹配等多重挑战。相比之下，产乙酸菌 *A. woodii* 和产甲烷菌 *Methanogens* 虽在基础研究及工程探索中展现出潜力，但其单菌体系的产业化路径尚不清晰：*A. woodii* 主要停留于实验室及初步工程研究阶段，尚未形成以企业为主体的产业化推进路径；产甲烷菌虽已在传统厌氧消化体系中实现规模化应用（如中国光大环境、北控水务集团等），但该类应用主要服务于废弃物处理与能源回收，与生物制造体系存在显著差异。在 CO_2 加氢合成甲烷等新兴路径中，中国石化、国家能源集团等企业亦开展了示范探索，但整体仍处于工程验证阶段，尚未形成成熟的商业化模式。

在上述背景下，巨鹏生物尝试通过多菌体系耦合以突破单一底盘菌株的代谢与工程限制。值得关注的是，巨鹏生物开发的第二代气体发酵技术——CLAW 工艺，通过耦合 *C. ljungdahlii* (CL) 与 *A. woodii* (AW)，构建了双菌协同发酵体系。其中，CL 菌主要负责工业尾气中 CO 的高效转化，而 AW 菌株则进一步利用 H_2 将剩余的 CO_2 转化为乙酸等产物。通过该协同机制，混合气体中的 CO 和 CO_2 均可被有效利用，整体碳转化率可提升至 97.5%，接近零碳排放水平^[194]。尤为重要的是，该双菌耦合体系可使约 70% 的碳源来自 CO_2 ，显著提高了温室气体的利用比例。这标志着该技术体系从以 CO 为主的单一碳源利用，向 CO 与 CO_2 协同转化的方向实现了关键性技术升级。据悉，目前 CLAW 双菌耦合工艺已逐步应用于 10 万吨级工业化项目，显示出良好的放大潜力和工程可行性^[194]。

此外，巨鹏生物还开发了第三代 CO_2 发酵制甲烷 MT 技术，利用其专有的产甲烷菌 MT 菌株，实现 CO_2 与绿氢 H_2 的高效耦合转化，可将工业尾气排放的 CO_2 与可再生氢源合成绿色甲烷，进一步加工为液化天然气（liquefied natural gas, LNG），该技术为航运脱碳和绿色化工提供了一条具有竞争力的技术路径。据公开资料显示，该专有菌株对 CO_2 与 H_2 的转化率均可超过 95%，反应在温和条件下即可进行，所得产物中甲烷含量可达 84% 以上，

整体能量转换效率高达80%^[195]。由于该过程几乎不产生额外的过程性碳排放, 在实现绿色甲烷生产的同时可获得显著的减碳效益, 具备潜在的负碳属性。此外, 据公开资料显示, 在相同绿氢消纳能力和CO₂减排规模条件下, 该工艺的项目投资成本约为绿色甲醇路线的50%^[195], 在经济性方面展现出明显优势。

综上所述, 当前产业化正处于从实验室中试向百万吨级规模扩张的关键期。随着巨鹏生物等多菌耦合工艺的成熟及恺迪苏等商业基地的运行, 中国正逐步构建起一套涵盖燃料、蛋白及绿色能源的自养生物制造产业体系。

6 总结与展望

工业一碳气体的微生物资源化利用技术经过长期探索与技术积累, 已逐步由实验室研究迈向规模化商业应用, 成为实现“双碳”目标的重要技术路径之一。该技术的核心在于利用化能自养型微生物, 将工业尾气中的CO、CO₂等一碳气体直接转化为乙醇、微生物蛋白等高附加值产品, 构建了集“碳捕获-生物转化-资源化利用”于一体的创新模式。其中, 最具代表性的技术突破体现在食气梭菌的成功产业化应用, 以首钢朗泽和巨鹏生物为代表的企业通过构建以 *C. autoethanogenum* 和 *C. ljungdahlii* 为核心的微生物细胞工厂体系, 系统性解决了工业尾气气体净化、连续稳定发酵以及下游产物分离等关键工程问题, 成功建成万吨级工业化生产装置。这一技术路线将钢铁、煤炭以及化工等传统高碳排放行业的废气排放源转变为“碳转化工厂”, 在降低碳排放的同时实现经济效益的协同提升, 展现出良好的工程应用前景。

展望未来, 菌株在遗传操作工具、碳转化效率、目标产物得率以及发酵过程控制方面仍有进一步优化空间。尽管CRISPR/Cas等基因编辑技术已经应用于食气梭菌, 但其编辑效率、稳定性和株系之间的通用性仍明显低于传统模式微生物。构建更加高效和通用的分子生物学工具体系, 例如建立无痕大片段DNA整合技术, 将成为突破遗传改造瓶颈、加速底盘菌株优化的关键方向。未

来随着合成生物学工具模块化程度的提升, 食气梭菌有望实现更加标准化与可编程的基因组改造体系。在此基础上, 生物杂化体系可以为缓解食气梭菌体系中ATP供给不足与电子传递受限提供新的合成生物学解决路径。通过将半导体纳米材料或电极界面与底盘菌株进行界面工程耦合, 可实现光/电驱动的胞内还原力再生, 在功能上替代部分氢依赖型能量输入过程, 从而在系统层面缓解气-液-固多相反应中的传质限制, 并提升电子流分配效率与过程可编程性。这一策略本质上体现了“外源能量模块化接入”的底盘重构思路, 为一碳代谢网络提供可扩展的能量输入单元。而随着技术迭代与数字化工具的引入, 未来通过人工智能与代谢建模相结合, 实现对菌株代谢网络的精准预测与理性设计, 有望显著提升菌株研发效率, 并结合AI技术优化发酵过程控制。另外, AI驱动的蛋白质工程正在加速合成生物学中“设计-构建-测试-学习”闭环优化。借助AlphaFold与蛋白质语言模型, 可对CODH/ACS等Wood-Ljungdahl通路关键酶进行结构稳定性与电子传递通路的理性设计优化, 针对工业气源中微量O₂与硫化物胁迫, 通过定向突变增强金属簇保护与催化中心鲁棒性, 从而提升体系在复杂工况下的可设计性与可预测性。该类计算驱动的酶工程策略, 可以推动食气梭菌底盘由经验性改造向标准化、模块化的合成生物学工程体系转型。此外, 目前的工业化产品仍以生物乙醇和菌体蛋白为主, 未来产品结构有望进一步多元化, 向可持续航空燃料、可降解生物塑料及高价值化学品等领域拓展, 从而提升产业链整体附加值。随着碳基原料向多产品谱系延伸, 其作为通用型一碳生物制造平台的潜力将进一步凸显。

另外, 从整体产业化角度看, 食气梭菌的工业规模化推广仍面临多维度挑战, 主要集中在菌株性能、工艺强化、成本控制及政策环境四个方面。

①在菌株层面, 工业应用菌株在长期连续发酵条件下仍存在代谢稳定性不足的问题, 尤其在高CO/CO₂波动、营养限制及产物累积条件下, 碳流分配易发生偏移, 从而影响乙醇及乙酸等目标产物的选择性与得率。此外, 工业环境下的耐毒

性与抗应激能力仍需进一步提升,以适应复杂尾气组成。例如工业尾气中的微量有毒组分(如 H_2S 、 NO_x 、重金属及多环芳烃等)可能对食气梭菌的电子传递体系与膜蛋白复合体产生抑制作用,导致Rnf复合体及关键脱氢酶活性下降,从而影响整体碳转化效率。而对于长链产物(如己醇、己酸等),其疏水性与膜毒性效应可能对细胞膜完整性与代谢稳态造成压力,表现为生长速率下降与产物抑制现象。针对上述问题,可以通过气体净化与分级预处理降低毒性负荷;或菌株适应性进化或膜耐受性工程改造提升抗逆能力,从而增强体系稳定性。另外随着高通量进化与系统代谢工程的发展,菌株环境适应性与代谢鲁棒性有望持续优化。

②在工艺层面,气液传质效率仍是限制反应器放大的核心瓶颈。由于 CO 与 H_2 在水相中溶解度较低,需依赖高搅拌或高循环气速维持传质驱动力,从而导致较高的能耗输入。同时,下游产物分离(尤其乙醇精馏过程)仍依赖高能耗蒸馏单元,使整体工艺能效受限。未来通过反应器结构优化与原位分离技术的发展,有望进一步提升气体利用效率与过程稳定性。

③在成本层面,当前系统的运营成本主要由气体压缩与循环、气液传质强化及下游分离过程构成,其中能耗成本仍占较高比例。由于 CO 、 H_2 等气体在水相中的溶解度较低,工业反应器通常需要通过高压循环或强化搅拌提升溶解度,这在高密度发酵体系中约占整体运行能耗的20%~40%。同时,气体压缩与循环过程进一步增加额外能耗,使单位产品的能量输入显著高于传统液体发酵体系。而在下游分离环节,乙醇等挥发性产物通常采用精馏进行回收,在整体工艺的运营成本中占比约20%~30%。此外,工业尾气预处理过程(包括脱硫、除尘及焦油去除)亦构成重要成本来源,其费用通常占气体输入总成本的10%~25%,并受原料气杂质波动影响较大。因此,降低单位碳转化能耗、提升碳利用效率以及优化产物分离路径,是实现经济性突破的关键方向。随着低能耗分离技术与绿色电力驱动体系的发展,整体运营成本有望进一步下降并提升商业竞争力。

④在政策层面,随着“碳达峰、碳中和”战

略的持续推进,一碳气体生物转化技术有望与碳交易机制、绿色金融等政策工具形成更紧密的协同关系,为其规模化推广和商业化落地提供长期制度保障和资金支持。虽然“双碳”战略为该技术提供了长期发展驱动力,但当前碳交易机制对生物转化减排价值的量化与定价体系仍需要完善。随着碳核算体系与绿色认证机制的逐步成熟,生物制造碳减排价值有望得到更清晰的市场化体现。

总体而言,工业一碳气体的微生物资源化利用技术已充分验证其工程可行性,正处于由“可用”向“好用”转变的关键发展阶段。通过合成生物学、过程工程 and 产业政策的协同创新,该技术有望在重塑工业碳循环体系、推动绿色低碳发展中发挥更加核心的支撑作用。

参 考 文 献

- [1] International Energy Agency. CO_2 Emissions in 2024[R]. Paris: IEA, 2025.
- [2] International Energy Agency. Global Energy Review 2025[R]. Paris: IEA, 2025.
- [3] International Energy Agency. World Energy Outlook 2025[R]. Paris: IEA, 2025.
- [4] World Meteorological Organization. WMO Global Annual to Decadal Climate Update (2024—2028) [R]. Geneva: WMO, 2024.
- [5] 史作廷, 时希杰. 努力推动实现碳达峰碳中和目标[J]. 红旗文稿, 2021(20): 25-28.
SHI Z T, SHI X J. Striving to promote the realization of carbon peak and carbon neutrality goals[J]. Red Flag Manuscript, 2021 (20): 25-28.
- [6] WANG F, HARINDINTWALI J D, YUAN Z Z, et al. Technologies and perspectives for achieving carbon neutrality [J]. The Innovation, 2021, 2(4): 100180.
- [7] NILSSON M. Primary energy consumption in China and its environmental impact[D]. Lund: Lund University, 2013.
- [8] LIU Z. Carbon Emissions in China[M]. Berlin, Heidelberg: Springer, 2016.
- [9] IEA. China - countries & regions[EB/OL]. [2025-11-12]. <https://www.iea.org/countries/china/emissions>.
- [10] ZENG A P. New bioproduction systems for chemicals and fuels: needs and new development[J]. Biotechnology Advances, 2019, 37(4): 508-518.
- [11] LIU Z H, WANG K, CHEN Y, et al. Third-generation biorefineries as the means to produce fuels and chemicals from CO_2 [J]. Nature Catalysis, 2020, 3(3): 274-288.

- [12] 张媛媛, 曾艳, 王钦宏. 合成生物制造进展[J]. 合成生物学, 2021, 2(2): 145-160.
ZHANG Y Y, ZENG Y, WANG Q H. Advances in synthetic biomanufacturing[J]. Synthetic Biology Journal, 2021, 2(2): 145-160.
- [13] ZHAO X D, LI L Y, ZHANG S W, et al. Efficient chemoautotrophic carbon fixation in controlled systems: Influencing factors, regulatory strategies and application prospects[J]. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 2025, 55(11): 757-782.
- [14] 常青, 张展华, 刘雅琪, 等. 化能自养微生物的固碳功能及人工调控策略[J]. 科学通报, 2023, 68(S2): 3792-3808.
CHANG Q, ZHANG Z H, LIU Y Q, et al. Carbon fixation by chemoautotrophic microbes and strategies for their artificial regulation[J]. Chinese Science Bulletin, 2023, 68(S2): 3792-3808.
- [15] WANG G G, ZHANG Y, WANG X Y, et al. Microbial conversion and utilization of CO₂[J]. Annals of Civil and Environmental Engineering, 2023, 7(1): 45-60.
- [16] DRAKE H L, GÖßNER A S, DANIEL S L. Old acetogens, new light[J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 2008, 1125(1): 100-128.
- [17] DRAKE H L. Acetogenesis, acetogenic bacteria, and the acetyl-CoA “Wood/Ljungdahl” pathway: past and current perspectives[M]//DRAKE H L. Acetogenesis. Boston: Springer, 1994: 3-60.
- [18] SCHUCHMANN K, MÜLLER V. Energetics and application of heterotrophy in acetogenic bacteria[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2016, 82(14): 4056-4069.
- [19] MIYAHARA Y, WANG C T, ISHII-HYAKUTAKE M, et al. Continuous supply of non-combustible gas mixture for safe autotrophic culture to produce polyhydroxyalkanoate by hydrogen-oxidizing bacteria[J]. Bioengineering, 2022, 9(10): 586.
- [20] LAMBAUER V, KRATZER R. Lab-scale cultivation of *Cupriavidus necator* on explosive gas mixtures: carbon dioxide fixation into polyhydroxybutyrate[J]. Bioengineering, 2022, 9(5): 204.
- [21] LIEW F, MARTIN M E, TAPPEL R C, et al. Gas fermentation: a flexible platform for commercial scale production of low-carbon-fuels and chemicals from waste and renewable feedstocks[J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 694.
- [22] KÖPKE M, MIHALCEA C, LIEW F, et al. 2,3-Butanediol production by acetogenic bacteria, an alternative route to chemical synthesis, using industrial waste gas[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77(15): 5467-5475.
- [23] ALFREIDER A, BAUMER A, BOGENSPERGER T, et al. CO₂ assimilation strategies in stratified lakes: diversity and distribution patterns of chemolithoautotrophs[J]. Environmental Microbiology, 2017, 19(7): 2754-2768.
- [24] 高橋令二, 徳山龍明. 化学合成独立栄養細菌における炭酸固定: 特に硝化細菌におけるトリカルボン酸回路と炭酸固定経路について[J]. 日本微生物生態学会報, 1994, 9(3): 135-147.
TAKAHASHI R, TOKUYAMA T. Carbon dioxide assimilation in chemoautotrophic bacteria, with special reference to tricarboxylic acid cycle and carbon dioxide assimilation pathway of nitrifying bacteria[J]. Bulletin of Japanese Society of Microbial Ecology, 1994, 9(3): 135-147.
- [25] LEE H, BAE J, JIN S, et al. Engineering acetogenic bacteria for efficient one-carbon utilization[J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 865168.
- [26] BAE J, PARK C, JUNG H, et al. Harnessing acetogenic bacteria for one-carbon valorization toward sustainable chemical production[J]. RSC Chemical Biology, 2024, 5(9): 812-832.
- [27] 何春, 许梦莹, 李炼, 等. *Clostridium* 利用合成气发酵生产生物燃料和化学品的研究进展[J]. 现代化工, 2025, 45(7): 12-17.
HE C, XU M Y, LI L, et al. Progress in production of biofuels and chemicals from syngas fermentation by *Clostridium*[J]. Modern Chemical Industry, 2025, 45(7): 12-17.
- [28] KERKHOF I, PUIMAN L, STRAATHOF A J J. Understanding microbial syngas fermentation rates[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2024, 108(1): 540.
- [29] TEIXEIRA L V, MOUTINHO L F, ROMÃO-DUMARESQ A S. Gas fermentation of C₁ feedstocks: commercialization status and future prospects[J]. Biofuels, Bioproducts and Biorefining, 2018, 12(6): 1103-1117.
- [30] PELOW M. The race to upcycle CO₂ into fuels, concrete and more[J]. Nature, 2022, 603(7903): 780-783.
- [31] FISCHER F. Biologische gasreaktionen. II. Über die bildung von Essigsäure Bei der biologischen umsetzung von kohlenoxyd und Kohlensäure mit wasserstoff zu methan[J]. Biochemische Zeitschrift, 1932, 245: 2-12.
- [32] WIERINGA K T. Over het verdwijnen van waterstof en koolzuur onder anaerobe voorwaarden[J]. Antonie van Leeuwenhoek, 1936, 3(1): 263-273.
- [33] BALCH W E, WOLFE R S. New approach to the cultivation of methanogenic bacteria: 2-mercaptoethanesulfonic acid (HS-CoM)-dependent growth of *Methanobacterium ruminantium* in a pressurized atmosphere[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1976, 32(6): 781-791.
- [34] COLLINS M D, LAWSON P A, WILLEMS A, et al. The phylogeny of the genus *Clostridium*: proposal of five new genera and eleven new species combinations[J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1994, 44(4): 812-826.
- [35] JIA D C, DENG W, HU P, et al. Thermophilic *Moorella*

- thermoacetica* as a platform microorganism for C₁ gas utilization: physiology, engineering, and applications[J]. *Bioresources and Bioprocessing*, 2023, 10(1): 61.
- [36] BARKER H A, KAMEN M D. Carbon dioxide utilization in the synthesis of acetic acid by *Clostridium thermoaceticum*[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1945, 31(8): 219-225.
- [37] WOOD H G, HARRIS D L. A study of carbon dioxide fixation by mass determination of the types of C¹³-acetate[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1952, 194(2): 905-931.
- [38] RAGSDALE S W, PIERCE E. Acetogenesis and the Wood - Ljungdahl pathway of CO₂ fixation[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, 2008, 1784(12): 1873-1898.
- [39] 贾德臣, 姜卫红, 顾阳. 食气梭菌的研究进展[J]. *微生物学通报*, 2019, 46(2): 374-387.
- JIA D C, JIANG W H, GU Y. Research progresses in gas-fermenting *Clostridia*[J]. *Microbiology China*, 2019, 46(2): 374-387.
- [40] BENIGSDORF F R, STRAUB M, DÜRRE P. Bacterial synthesis gas (syngas) fermentation[J]. *Environmental Technology*, 2013, 34(13-14): 1639-1651.
- [41] ABRINI J, NAVEAU H, NYNS E J. *Clostridium autoethanogenum*, sp. nov., an anaerobic bacterium that produces ethanol from carbon monoxide[J]. *Archives of Microbiology*, 1994, 161(4): 345-351.
- [42] NAGARAJU S, DAVIES N K, WALKER D J F, et al. Genome editing of *Clostridium autoethanogenum* using CRISPR/Cas9[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2016, 9(1): 219.
- [43] LIEW F, HENSTRA A M, KÖPKE M, et al. Metabolic engineering of *Clostridium autoethanogenum* for selective alcohol production[J]. *Metabolic Engineering*, 2017, 40: 104-114.
- [44] KOEPKE M, LIEW F, SIMPSON S D. Recombinant microorganism and methods of production thereof: US201313888098[P]. 2013-08-29.
- [45] VÖGELI B, SCHULZ L, GARG S, et al. Cell-free prototyping enables implementation of optimized reverse β -oxidation pathways in heterotrophic and autotrophic bacteria[J]. *Nature Communications*, 2022, 13: 3058.
- [46] NOGLE R, NAGARAJU S, UTTURKAR S M, et al. *Clostridium autoethanogenum* isopropanol production via native plasmid pCA replicon[J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2022, 10: 932363.
- [47] LIEW F, KOEPKE M. Recombinant microorganisms and uses therefor: US20220251573[P]. 2022-08-11.
- [48] DE SOUZA PINTO LEMGRUBER R, VALGEPEA K, TAPPEL R, et al. Systems-level engineering and characterisation of *Clostridium autoethanogenum* through heterologous production of poly-3-hydroxybutyrate (PHB)[J]. *Metabolic Engineering*, 2019, 53: 14-23.
- [49] DYKSTRA J C, VAN OORT J, YAZDI A T, et al. Metabolic engineering of *Clostridium autoethanogenum* for ethyl acetate production from CO[J]. *Microbial Cell Factories*, 2022, 21(1): 243.
- [50] LIEW F, KOEPKE M, NAGARAJU S, et al. Fermentative production of 2-phenylethanol from gaseous substrates: US20210292732[P]. 2021-09-23.
- [51] WAN S, LAI M C, GAO X Y, et al. Recent progress in engineering *Clostridium autoethanogenum* to synthesize the biochemicals and biocommodities[J]. *Synthetic and Systems Biotechnology*, 2024, 9(1): 19-25.
- [52] LIEW F E, NOGLE R, ABDALLA T, et al. Carbon-negative production of acetone and isopropanol by gas fermentation at industrial pilot scale[J]. *Nature Biotechnology*, 2022, 40(3): 335-344.
- [53] POULALIER-DELAVELLE M, BAKER J P, MILLARD J, et al. Endogenous CRISPR/Cas systems for genome engineering in the acetogens *Acetobacterium woodii* and *Clostridium autoethanogenum*[J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2023, 11: 1213236.
- [54] TANNER R S, MILLER L M, YANG D. *Clostridium ljungdahlii* sp. nov., an acetogenic species in clostridial rRNA homology group I [J]. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1993, 43(2): 232-236.
- [55] KÖPKE M, HELD C, HUIER S, et al. *Clostridium ljungdahlii* represents a microbial production platform based on syngas[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(29): 13087-13092.
- [56] BARIK S, PRIETO S, HARRISON S B, et al. Biological production of alcohols from coal through indirect liquefaction [J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 1988, 18(1): 363-378.
- [57] MINTON N P, EHSAAN M, HUMPHREYS C M, et al. A roadmap for gene system development in *Clostridium*[J]. *Anaerobe*, 2016, 41: 104-112.
- [58] HUANG H, CHAI C S, LI N, et al. CRISPR/Cas9-based efficient genome editing in *Clostridium ljungdahlii*, an autotrophic gas-fermenting bacterium[J]. *ACS Synthetic Biology*, 2016, 5(12): 1355-1361.
- [59] UEKI T, NEVIN K P, WOODARD T L, et al. Converting carbon dioxide to butyrate with an engineered strain of *Clostridium ljungdahlii*[J]. *mBio*, 2014, 5(5): e01636-14.
- [60] BANERJEE A, LEANG C, UEKI T, et al. Lactose-inducible system for metabolic engineering of *Clostridium ljungdahlii*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2014, 80(8): 2410-2416.
- [61] JIA D C, HE M Y, TIAN Y, et al. Metabolic engineering of gas-

- fermenting *Clostridium ljungdahlii* for efficient co-production of isopropanol, 3-hydroxybutyrate, and ethanol[J]. ACS Synthetic Biology, 2021, 10(10): 2628-2638.
- [62] FLÜCHTER S, FOLLONIER S, SCHIEL-BENGELSDORF B, et al. Anaerobic production of poly(3-hydroxybutyrate) and its precursor 3-hydroxybutyrate from synthesis gas by autotrophic clostridia[J]. Biomacromolecules, 2019, 20(9): 3271-3282.
- [63] DINER B A, FAN J, SCOTCHER M C, et al. Synthesis of heterologous mevalonic acid pathway enzymes in *Clostridium ljungdahlii* for the conversion of fructose and of syngas to mevalonate and isoprene[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2018, 84: e01723-17.
- [64] LAUER I, PHILIPPS G, JENNEWEIN S. Metabolic engineering of *Clostridium ljungdahlii* for the production of hexanol and butanol from CO₂ and H₂[J]. Microbial Cell Factories, 2022, 21(1): 85.
- [65] WOOLSTON B M, EMERSON D F, CURRIE D H, et al. Redirecting carbon flux in *Clostridium ljungdahlii* using CRISPR interference (CRISPRi) [J]. Metabolic Engineering, 2018, 48: 243-253.
- [66] HUANG H, CHAI C S, YANG S, et al. Phage serine integrase-mediated genome engineering for efficient expression of chemical biosynthetic pathway in gas-fermenting *Clostridium ljungdahlii*[J]. Metabolic Engineering, 2019, 52: 293-302.
- [67] DANIELL J, KÖPKE M, SIMPSON S D. Commercial biomass syngas fermentation[J]. Energies, 2012, 5(12): 5372-5417.
- [68] CHENG C, LI W M, LIN M, et al. Metabolic engineering of *Clostridium carboxidivorans* for enhanced ethanol and butanol production from syngas and glucose[J]. Bioresource Technology, 2019, 284: 415-423.
- [69] LI N, YANG J J, CHAI C S, et al. Complete genome sequence of *Clostridium carboxidivorans* P7T, a syngas-fermenting bacterium capable of producing long-chain alcohols[J]. Journal of Biotechnology, 2015, 211: 44-45.
- [70] LIOU J S, BALKWILL D L, DRAKE G R, et al. *Clostridium carboxidivorans* sp. nov., a solvent-producing *Clostridium* isolated from an agricultural settling lagoon, and reclassification of the acetogen *Clostridium scatologenes* strain SL1 as *Clostridium drakei* sp. nov.[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2005, 55(5): 2085-2091.
- [71] SAXENA J, TANNER R S. Effect of trace metals on ethanol production from synthesis gas by the ethanologenic acetogen, *Clostridium ragsdalei*[J]. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 2011, 38(4): 513-521.
- [72] BENGLSDORF F R, POEHLEIN A, LINDER S, et al. Industrial acetogenic biocatalysts: a comparative metabolic and genomic analysis[J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 1036.
- [73] ZAHN J A, SAXENA J, DO Y, et al. *Clostridium coskattii*, sp. nov., an anaerobic bacterium that produces ethanol from synthesis gas[C]//Annual Meeting and Exhibition 2010. San Francisco: Society for Industrial Microbiology and Biotechnology (SIMB), 2010.
- [74] HEAP J T, PENNINGTON O J, CARTMAN S T, et al. The ClosTron: a universal gene knock-out system for the genus *Clostridium*[J]. Journal of Microbiological Methods, 2007, 70(3): 452-464.
- [75] RIEU-LESME F, DAUGA C, FONTY G, et al. Isolation from the rumen of a new acetogenic bacterium phylogenetically closely related to *Clostridium difficile*[J]. Anaerobe, 1998, 4(2): 89-94.
- [76] KÖPKE M, STRAUB M, DÜRRE P. *Clostridium difficile* is an autotrophic bacterial pathogen[J]. PLoS One, 2013, 8(4): e62157.
- [77] RIEDEL T, BUNK B, THÜRMER A, et al. Genome resequencing of the virulent and multidrug-resistant reference strain *Clostridium difficile* 630[J]. Genome Announcements, 2015, 3(2): e00276-15.
- [78] HEAP J T, KUEHNE S A, EHSAAN M, et al. The ClosTron: mutagenesis in *Clostridium* refined and streamlined[J]. Journal of Microbiological Methods, 2010, 80(1): 49-55.
- [79] CARTMAN S T, MINTON N P. A mariner-based transposon system for *in vivo* random mutagenesis of *Clostridium difficile* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2010, 76(4): 1103-1109.
- [80] NG Y K, EHSAAN M, PHILIP S, et al. Expanding the repertoire of gene tools for precise manipulation of the *Clostridium difficile* genome: allelic exchange using pyrE alleles[J]. PLoS One, 2013, 8(2): e56051.
- [81] HONG W, ZHANG J, CUI G Z, et al. Multiplexed CRISPR-Cpf1-mediated genome editing in *Clostridium difficile* toward the understanding of pathogenesis of *C. difficile* infection[J]. ACS Synthetic Biology, 2018, 7(6): 1588-1600.
- [82] GÖßNER A S, DEVEREUX R, OHNEMÜLLER N, et al. *Thermicanus aegyptius* gen. nov., sp. nov., isolated from oxic soil, a fermentative microaerophile that grows commensally with the thermophilic acetogen *Moorella thermoacetica*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1999, 65(11): 5124-5133.
- [83] HARAHA B M, AHRING B K. Acetate production by *Moorella thermoacetica* via syngas fermentation: effect of yeast extract and syngas composition[J]. Fermentation, 2023, 9(9): 826.
- [84] KITA A, IWASAKI Y, SAKAI S, et al. Development of genetic transformation and heterologous expression system in carboxydutrophic thermophilic acetogen *Moorella thermoacetica*

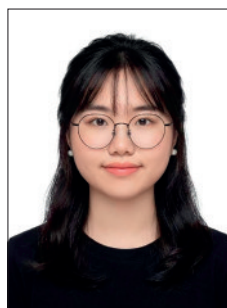
- [J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2013, 115(4): 347-352.
- [85] REDL S, SUKUMARA S, PLOEGER T, et al. Thermodynamics and economic feasibility of acetone production from syngas using the thermophilic production host *Moorella thermoacetica*[J]. Biotechnology for Biofuels, 2017, 10(1): 150.
- [86] KATO J, MATSUO T, TAKEMURA K, et al. Isopropanol production via the thermophilic bioconversion of sugars and syngas using metabolically engineered *Moorella thermoacetica* [J]. Biotechnology for Biofuels and Bioproducts, 2024, 17 (1): 13.
- [87] KATO J, FUJII T, KATO S, et al. Genetic engineering of a thermophilic acetogen, *Moorella thermoacetica* Y72, to enable acetoin production[J]. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2024, 12: 1398467.
- [88] LIEW F M, KÖPKE M, SIMPSON S D. Gas fermentation for commercial biofuels production[M]//Liquid, gaseous and solid biofuels - conversion techniques. London: IntechOpen, 2013: 125-146.
- [89] LEE S, SONG Y, CHOE D, et al. Reconstruction of acetogenesis pathway using short-read sequencing of *Clostridium acetatum* genome[J]. Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 2015, 15(5): 3852-3861.
- [90] POEHLEIN A, CEBULLA M, ILG M M, et al. The complete genome sequence of *Clostridium acetatum*: a missing link between Rnf- and cytochrome-containing autotrophic acetogens[J]. mBio, 2015, 6(5): e01168-15.
- [91] ADAMSE A D. New isolation of *Clostridium acetatum* (Wieringa) [J]. Antonie van Leeuwenhoek, 1980, 46(6): 523-531.
- [92] BRAUN M, MAYER F, GOTTSCHALK G. *Clostridium acetatum* (Wieringa), a microorganism producing acetic acid from molecular hydrogen and carbon dioxide[J]. Archives of Microbiology, 1981, 128(3): 288-293.
- [93] BECKER U, GRUND G, ORSCHEL M, et al. Zellen und verfahren zur herstellung von acetone: DE20091002583[P]. 2010-10-28.
- [94] BECKER F U, GRUND G, ORSCHEL M, et al. Cells and method for producing acetone: US9453210B2[P]. 2016-09-27.
- [95] KÜSEL K, DORSCH T, ACKER G, et al. *Clostridium scatologenes* strain SL1 isolated as an acetogenic bacterium from acidic sediments[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2000, 50(2): 537-546.
- [96] EL GHAZZAWI E. Neuisolierung von *Clostridium acetatum* Wieringa und stoffwechselphysiologische untersuchungen[J]. Archiv für Mikrobiologie, 1967, 57(1): 1-19.
- [97] ANDREESEN J R, GOTTSCHALK G, SCHLEGEL H G. *Clostridium formicoaceticum* nov. spec. isolation, description and distinction from *C. acetatum* and *C. thermoaceticum*[J]. Archiv für Mikrobiologie, 1970, 72(2): 154-174.
- [98] KARL M M, POEHLEIN A, BENGLSDORF F R, et al. Complete genome sequence of the autotrophic acetogen *Clostridium formicoaceticum* DSM 92^T using nanopore and illumina sequencing data[J]. Genome Announcements, 2017, 5 (21): e00423-17.
- [99] KÜSEL K, KARNHOLZ A, TRINKWALTER T, et al. Physiological ecology of *Clostridium glycolicum* RD-1, an aerotolerant acetogen isolated from sea grass roots[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2001, 67(10): 4734-4741.
- [100] OHWAKI K, HUNGATE R E. Hydrogen utilization by clostridia in sewage sludge[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1977, 33(6): 1270-1274.
- [101] CAI D H, SOROKIN V, LUTWICK L, et al. *C. glycolicum* as the sole cause of bacteremia in a patient with acute cholecystitis [J]. Annals of Clinical & Laboratory Science, 2012, 42(2): 162-164.
- [102] SCHINK B. *Clostridium magnum* sp. nov., a non-autotrophic homoacetogenic bacterium[J]. Archives of Microbiology, 1984, 137(3): 250-255.
- [103] BOMAR M, HIPPE H, SCHINK B. Lithotrophic growth and hydrogen metabolism by *Clostridium magnum*[J]. FEMS Microbiology Letters, 1991, 83(3): 347-349.
- [104] UHLIG R, POEHLEIN A, FISCHER R J, et al. Genome sequence of the autotrophic acetogen *Clostridium magnum* DSM 2767[J]. Genome Announcements, 2016, 4(3): e00464-16.
- [105] KANE M D, BREZNAK J A. *Acetonema longum* gen. nov. sp. nov., an H₂/CO₂ acetogenic bacterium from the termite, *Pterotermes occidentis*[J]. Archives of Microbiology, 1991, 156 (2): 91-98.
- [106] MECHICHI T, LABAT M, WOO T H, et al. *Eubacterium aggregans* sp. nov., a new homoacetogenic bacterium from olive mill wastewater treatment digester[J]. Anaerobe, 1998, 4 (6): 283-291.
- [107] MECHICHI T, LABAT M, PATEL B K C, et al. *Clostridium methoxybenzovorans* sp. nov., a new aromatic o-demethylating homoacetogen from an olive mill wastewater treatment digester [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 1999, 49(3): 1201-1209.
- [108] ZHOU Y, WEI Y F, JIANG L, et al. Anaerobic phloroglucinol degradation by *Clostridium scatologenes*[J]. MBio, 2023, 14 (4): e01099-23.
- [109] ZHU Z G, GUO T, ZHENG H J, et al. Complete genome sequence of a malodorous-producing acetogen, *Clostridium scatologenes* ATCC 25775T[J]. Journal of Biotechnology, 2015, 212: 19-20.
- [110] SONG Y, JEONG Y, SHIN H S, et al. Draft genome

- sequence of *Clostridium scatologenes* ATCC 25775, a chemolithoautotrophic acetogenic bacterium producing 3-methylindole and 4-methylphenol[J]. Genome Announcements, 2014, 2(3): e00459-14.
- [111] ZHU H, FU B, LU S L, et al. *Clostridium bovisfaecis* sp. nov., a novel acetogenic bacterium isolated from cow manure[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2018, 68(9): 2956-2959.
- [112] CHAIKITKAEW S, IN-CHAN S, SINGKHALA A, et al. *Clostridium thailandense* sp. nov., a novel CO₂-reducing acetogenic bacterium isolated from peatland soil[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2022, 72(2): 005254.
- [113] LEE J, LEE J W, CHAE C G, et al. Domestication of the novel alcohologenic acetogen *Clostridium* sp. AWRP: from isolation to characterization for syngas fermentation[J]. Biotechnology for Biofuels, 2019, 12: 228.
- [114] KWON H J, LEE J, KWON S J, et al. Development of a genetic engineering toolbox for syngas-utilizing acetogen *Clostridium* sp. AWRP[J]. Microbial Cell Factories, 2024, 23(1): 6.
- [115] DOYLE D. Phenotypic, chemotaxonomic and genomic characterization of a novel anaerobic acetogen, *Clostridium muelleri* sp. nov. P21T isolated from old hay[D]. Norman: University of Oklahoma, 2020.
- [116] KIM J, KIM K Y, KO J K, et al. Characterization of a novel acetogen *Clostridium* sp. JS66 for production of acids and alcohols: focusing on hexanoic acid production from syngas[J]. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 2022, 27(1): 89-98.
- [117] SALEHIZADEH H, YAN N, FARNOOD R. Recent advances in microbial CO₂ fixation and conversion to value-added products[J]. Chemical Engineering Journal, 2020, 390: 124584.
- [118] GONG F Y, CAI Z, LI Y. Synthetic biology for CO₂ fixation[J]. Science China Life Sciences, 2016, 59(11): 1106-1114.
- [119] SANTOS CORREA S, SCHULTZ J, LAUERSEN K J, et al. Natural carbon fixation and advances in synthetic engineering for redesigning and creating new fixation pathways[J]. Journal of Advanced Research, 2023, 47: 75-92.
- [120] RUSSELL M J, MARTIN W. The rocky roots of the acetyl-CoA pathway[J]. Trends in Biochemical Sciences, 2004, 29(7): 358-363.
- [121] FUCHS G. Alternative pathways of carbon dioxide fixation: insights into the early evolution of life?[J]. Annual Review of Microbiology, 2011, 65: 631-658.
- [122] WEISS M C, SOUSA F L, MRNJAVAC N, et al. The physiology and habitat of the last universal common ancestor[J]. Nature Microbiology, 2016, 1: 16116.
- [123] LJUNGDAHL L G. The autotrophic pathway of acetate synthesis in acetogenic bacteria[J]. Annual Review of Microbiology, 1986, 40: 415-450.
- [124] LINDAHL P A, CHANG B. The evolution of acetyl-CoA synthase[J]. Origins of Life and Evolution of the Biosphere, 2001, 31(4): 403-434.
- [125] ADAM P S, BORREL G, GRIBALDO S. Evolutionary history of carbon monoxide dehydrogenase/acetyl-CoA synthase, one of the oldest enzymatic complexes[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2018, 115(6): E1166-E1173.
- [126] RAGSDALE S W. Enzymology of the Wood - Ljungdahl pathway of acetogenesis[J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 2008, 1125(1): 129-136.
- [127] XIA J Q, LINDAHL P A. Assembly of an exchange-coupled [Ni: Fe₄S₄] cluster in the α metallosubunit of carbon monoxide dehydrogenase from *Clostridium thermoaceticum* with spectroscopic properties and CO-binding ability mimicking those of the acetyl-CoA synthase active site[J]. Journal of the American Chemical Society, 1996, 118(2): 483-484.
- [128] IM C, VALGEPEA K, MODIN O, et al. *Clostridium ljungdahlii* as a biocatalyst in microbial electrosynthesis - effect of culture conditions on product formation[J]. Bioresource Technology Reports, 2022, 19: 101156.
- [129] MARTÍNEZ-RUANO J, SUAZO A, VÉLIZ F, et al. Electro-fermentation with *Clostridium autoethanogenum*: effect of pH and neutral red addition[J]. Environmental Technology & Innovation, 2023, 31: 103183.
- [130] HARAHAHAP B M, AHRING B K. Acetate production from syngas produced from lignocellulosic biomass materials along with gaseous fermentation of the syngas: a review[J]. Microorganisms, 2023, 11(4): 995.
- [131] ARNOLD P K, FINLEY L W S. Regulation and function of the mammalian tricarboxylic acid cycle[J]. Journal of Biological Chemistry, 2023, 299(2): 102838.
- [132] SCHUCHMANN K, MÜLLER V. Autotrophy at the thermodynamic limit of life: a model for energy conservation in acetogenic bacteria[J]. Nature Reviews Microbiology, 2014, 12(12): 809-821.
- [133] TREMBLAY P L, ZHANG T, DAR S A, et al. The Rnf complex of *Clostridium ljungdahlii* is a proton-translocating ferredoxin: NAD⁺ oxidoreductase essential for autotrophic growth[J]. mBio, 2013, 4(1): e00406-12.
- [134] KLASK C M, JÄGER B, CASINI I, et al. Genetic evidence reveals the indispensable role of the *rseC* gene for autotrophy and the importance of a functional electron balance for nitrate reduction in *Clostridium ljungdahlii*[J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 887578.
- [135] WIECHMANN A, MÜLLER V. Energy conservation in the

- acetogenic bacterium *Clostridium aceticum*[J]. Microorganisms, 2021, 9(2): 258.
- [136] BENGELSDORF F R, BECK M H, ERZ C, et al. Chapter four - Bacterial anaerobic synthesis gas (syngas) and CO₂ + H₂ fermentation[M]//SARIASLANI S, GADD G M. Advances in applied microbiology. San Diego: Academic Press, 2018, 103: 143-221.
- [137] SOBTI M, UENO H, NOJI H, et al. The six steps of the complete F₁-ATPase rotary catalytic cycle[J]. Nature Communications, 2021, 12: 4690.
- [138] HERMANN M, TELEKI A, WEITZ S, et al. Electron availability in CO₂, CO and H₂ mixtures constrains flux distribution, energy management and product formation in *Clostridium ljungdahlii*[J]. Microbial Biotechnology, 2020, 13 (6): 1831-1846.
- [139] ZHU H F, LIU Z Y, ZHOU X, et al. Energy conservation and carbon flux distribution during fermentation of CO or H₂/CO₂ by *Clostridium ljungdahlii*[J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 11: 416.
- [140] WOODS C, HUMPHREYS C M, TOMI-ANDRINO C, et al. Required gene set for autotrophic growth of *Clostridium autoethanogenum*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2022, 88(7): e02479-21.
- [141] MAHAMKALI V, VALGEPEA K, DE SOUZA PINTO LEMGRUBER R, et al. Redox controls metabolic robustness in the gas-fermenting acetogen *Clostridium autoethanogenum* [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2020, 117(23): 13168-13175.
- [142] ZHANG L, ZHAO R, JIA D C, et al. Engineering *Clostridium ljungdahlii* as the gas-fermenting cell factory for the production of biofuels and biochemicals[J]. Current Opinion in Chemical Biology, 2020, 59: 54-61.
- [143] THI H N, PARK S, LI H Q, et al. Medium compositions for the improvement of productivity in syngas fermentation with *Clostridium autoethanogenum*[J]. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 2020, 25(3): 493-501.
- [144] LEANG C, UEKI T, NEVIN K P, et al. A genetic system for *Clostridium ljungdahlii*: a chassis for autotrophic production of biocommodities and a model homoacetogen[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2013, 79(4): 1102-1109.
- [145] HEAP J T, PENNINGTON O J, CARTMAN S T, et al. A modular system for *Clostridium* shuttle plasmids[J]. Journal of Microbiological Methods, 2009, 78(1): 79-85.
- [146] ZHAO R, LIU Y Q, ZHANG H, et al. CRISPR-Cas12a-mediated gene deletion and regulation in *Clostridium ljungdahlii* and its application in carbon flux redirection in synthesis gas fermentation[J]. ACS Synthetic Biology, 2019, 8 (10): 2270-2279.
- [147] WALKER J E, LANAHAHAN A A, ZHENG T Y, et al. Development of both type I -B and type II CRISPR/Cas genome editing systems in the cellulolytic bacterium *Clostridium thermocellum*[J]. Metabolic Engineering Communications, 2020, 10: e00116.
- [148] MCALLISTER K N, SORG J A. CRISPR genome editing systems in the genus *Clostridium*: a timely advancement[J]. Journal of Bacteriology, 2019, 201(16): e00219-19.
- [149] MCALLISTER K N, BOUILLAUT L, KAHN J N, et al. Using CRISPR-Cas9-mediated genome editing to generate *C. difficile* mutants defective in selenoproteins synthesis[J]. Scientific Reports, 2017, 7: 14672.
- [150] ZHANG J Z, LI Y Z, XI Z N, et al. Inducible promoters of bacterial microcompartments improve the CRISPR/Cas9 tools for efficient metabolic engineering of *Clostridium ljungdahlii* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2025, 91(4): e02183-24.
- [151] 顾阳, 贾德臣, 李德茂, 等. 提升梭菌气体发酵性能的方法: CN118185974A[P]. 2024-06-14.
- GU Y, JIA D C, LI D M, et al. Method for improving the performance of *Clostridium* gas fermentation: CN118185974A [P]. 2024-06-14.
- [152] KOEPKE M, LIEW F. Genetically engineered bacterium with altered carbon monoxide dehydrogenase (CODH) activity: US9365873B2[P]. 2016-06-14.
- [153] 顾阳, 杨高华, 姜卫红. 高通量基因合成法提高食气梭菌一氧化碳利用率的方法: CN112300971B[P]. 2022-12-23.
- GU Y, YANG G H, JIANG W H. High-throughput gene synthesis method for improving carbon monoxide utilization rate of gas-eating *Clostridium*: CN112300971B[P]. 2022-12-23.
- [154] 顾阳, 张焕, 李德茂, 等. 提高梭菌合成气利用的方法: CN119506318A[P]. 2025-02-25.
- GU Y, ZHANG H, LI D M, et al. Method for improving syngas utilization of *Clostridium*: CN119506318A[P]. 2025-02-25.
- [155] WEN Z Q, LI Y Z, SU H J, et al. Deletion of electron-bifurcating [FeFe]-hydrogenase enhances H₂-driven CO₂ fixation and ethanol production in *Clostridium ljungdahlii*[J]. Bioresource Technology, 2026, 453: 134636.
- [156] JONES S W, FAST A G, CARLSON E D, et al. CO₂ fixation by anaerobic non-photosynthetic mixotrophy for improved carbon conversion[J]. Nature Communications, 2016, 7: 12800.
- [157] OPPELT A, RÜCKEL A, RUPP M, et al. Mixotrophic syngas conversion enables the production of meso-2,3-butanediol with *Clostridium autoethanogenum*[J]. Fermentation, 2024, 10 (2): 102.
- [158] DAVIN M E, THOMPSON R A, GIANNONE R J, et al. *Clostridium autoethanogenum* alters cofactor synthesis, redox metabolism, and lysine-acetylation in response to elevated H₂: CO feedstock ratios for enhancing carbon capture efficiency[J].

- Biotechnology for Biofuels and Bioproducts, 2024, 17(1): 119.
- [159] LIU Z R, WEN Z Q, WU J W, et al. pH-dependent metabolic regulation in *Clostridium ljungdahlii* during CO fermentation [J]. Fermentation, 2025, 11(3): 154.
- [160] INGELMAN H, HEFFERNAN J K, HARRIS A, et al. Autotrophic adaptive laboratory evolution of the acetogen *Clostridium autoethanogenum* delivers the gas-fermenting strain LAbri with superior growth, products, and robustness [J]. New Biotechnology, 2024, 83: 1-15.
- [161] PATANKAR S, DUDHANE A, PARADH A D, et al. Improved bioethanol production using genome-shuffled *Clostridium ragsdalei* (DSM 15248) strains through syngas fermentation [J]. Biofuels, 2021, 12(1): 81-89.
- [162] MOOK A, HERZOG J, WALTHER P, et al. Lactate-mediated mixotrophic co-cultivation of *Clostridium drakei* and recombinant *Acetobacterium woodii* for autotrophic production of volatile fatty acids[J]. Microbial Cell Factories, 2024, 23 (1): 213.
- [163] WU Y W, YE W, LI R, et al. Engineering *Clostridium ljungdahlii* for efficient 3-hydroxybutyrate production from one-carbon gases[J/OL]. Green Synthesis and Catalysis, 2025 [2026-05-27]. <https://doi.org/10.1016/j.gresc.2025.01.001>.
- [164] ANTONICELLI G, RICCI L, TARRARAN L, et al. Expanding the product portfolio of carbon dioxide and hydrogen-based gas fermentation with an evolved strain of *Clostridium carboxidivorans*[J]. Bioresource Technology, 2023, 387: 129689.
- [165] DIENDER M, PARERA OLM I, GELDERLOOS M, et al. Metabolic shift induced by synthetic co-cultivation promotes high yield of chain elongated acids from syngas[J]. Scientific Reports, 2019, 9: 18081.
- [166] YOUNG S. Bioethanol and biobutanol production with *Clostridium carboxidivorans*, *Clostridium beijerinckii*, and co-culture from biomass: carbon dioxide/hydrogen gas vs. glucose fermentation[D]. Columbus: The Ohio State University, 2017.
- [167] SCHWARZ I, ANGELINA A, HAMBROCK P, et al. Simultaneous formate and syngas conversion boosts growth and product formation by *Clostridium ragsdalei*[J]. Molecules, 2024, 29(11): 2661.
- [168] SUN X, ATIYEH H K, KUMAR A, et al. Enhanced ethanol production by *Clostridium ragsdalei* from syngas by incorporating biochar in the fermentation medium[J]. Bioresource Technology, 2018, 247: 291-301.
- [169] NAGARAJAN H, SAHIN M, NOGALES J, et al. Characterizing acetogenic metabolism using a genome-scale metabolic reconstruction of *Clostridium ljungdahlii*[J]. Microbial Cell Factories, 2013, 12(1): 118.
- [170] VALGEPEA K, TALBO G, TAKEMORI N, et al. Absolute proteome quantification in the gas-fermenting acetogen *Clostridium autoethanogenum*[J]. mSystems, 2022, 7(2): e00026-22.
- [171] CAIVANO A, VAN WINDEN W, DRAGONE G, et al. Enzyme-constrained metabolic model and *in silico* metabolic engineering of *Clostridium ljungdahlii* for the development of sustainable production processes[J]. Computational and Structural Biotechnology Journal, 2023, 21: 4634-4646.
- [172] MURIEL C. Data-driven analysis of C₁ metabolism in acetogens [D]. Kongens Lyngby: Technical University of Denmark, 2024.
- [173] Biodiesel Magazine. LanzaTech: ‘Steelanol’ facility in Belgium produces ethanol[EB/OL]. [2026-05-03]. <https://biodieselmagazine.com/articles/article-85>.
- [174] Aemetis, Inc. Aemetis acquires license from LanzaTech with California exclusive rights for advanced ethanol from biomass including forest and Ag wastes[R]. Cupertino: Aemetis, Inc., 2016.
- [175] 杨学聪. 探寻工业尾气利用有效路径[N]. 经济日报, 2023-05-16(11).
YANG X C. Exploring effective paths for industrial exhaust gas utilization[N]. Economic Daily, 2023-05-16(11).
- [176] 咸宁新闻网. 首钢朗泽聚焦低碳, 拓展CCUS业务版图, 稳健前行[N]. 咸宁新闻网, 2025-07-03.
Xianning News Network. Shougang LanzaTech focuses on low carbon, expands CCUS business landscape and moves forward steadily[N]. Xianning News Network, 2025-07-03.
- [177] PEPLOW M. Industrial biotechs turn greenhouse gas into feedstock opportunity[J]. Nature Biotechnology, 2015, 33(11): 1124-1125.
- [178] 崔丽. 我国率先实现工厂化条件下利用一氧化碳大规模生产蛋白质[N]. 农民日报, 2021-11-06.
CUI L. China pioneers large-scale protein production using carbon monoxide under industrial conditions[N]. Farmers’ Daily, 2021-11-06.
- [179] 中国发展网. 首钢朗泽双商业模式发力, 以创新产品与低碳方案引领工业绿色转型[EB/OL]. [2025-09-28]. <http://www.chinadevelopment.com.cn/zxsd/2025/0912/1960077.shtml>.
China Development Network. Shougang LanzaTech drives dual commercial models, leading industrial green transformation with innovative products and low-carbon solutions [EB/OL]. [2025-09-28]. <http://www.chinadevelopment.com.cn/zxsd/2025/0912/1960077.shtml>.
- [180] 行业洞察站. 首钢朗泽构建全链条研发体系, 以创新驱动行业技术升级[N]. 行业洞察站, 2025-07-31.
Industry Insight Station. Shougang LanzaTech builds a full-chain R&D system to drive industry technology upgrade through innovation[N]. Industry Insight Station, 2025-07-31.
- [181] 龚其云, 丁建峰. 石嘴山市工业尾气“变身”优质蛋白粉[N]. 宁夏日报, 2023-09-06(1).
GONG Q Y, DING J F. Industrial exhaust gas in Shizuishan “transforms” into high-quality protein powder[N]. Ningxia

- Daily, 2023-09-06(1).
- [182] 周春林, 企业家杂志. 首钢朗泽:站在全球低碳风口[EB/OL]. (2025-07-08) [2025-09-28]. https://mp.weixin.qq.com/s/a_Ki7zsBmQpdCuiKQdUxQ.
ZHOU C L, Enterpriser. Shougang LanzaTech: positioned at the forefront of the global low-carbon trend [EB/OL]. (2025-07-08) [2025-09-28]. https://mp.weixin.qq.com/s/a_Ki7zsBmQpdCuiKQdUxQ.
- [183] 巨鹏生物. 巨鹏生物 [EB/OL]. [2025-10-07]. <http://cn.jupengbio.com/>.
Jupeng Biotech. Jupeng Biotech [EB/OL]. [2025-10-07]. <http://cn.jupengbio.com/>
- [184] 吴春华, 王泽迪, 苟宗芹, 等. 一种梭菌及其在发酵生产醇中的应用: CN120924457B[P]. 2025-12-26.
WU C H, WANG Z D, GOU Z Q, et al. A *Clostridium* strain and its application in the fermentation of alcohols: CN120924457B[P]. 2025-12-26.
- [185] 闻志强, 孙小曼, 汪庆卓, 等. 梭菌正丁醇代谢工程研究进展[J]. 合成生物学, 2021, 2(2): 194-221.
WEN Z Q, SUN X M, WANG Q Z, et al. Recent advances in metabolic engineering of clostridia for *n*-butanol production[J]. Synthetic Biology Journal, 2021, 2(2): 194-221.
- [186] 海若镜. 「食气生化」获超亿元融资,中试装置运行过万小时,五万吨级项目已获备案[EB/OL]. (2026-03-24)[2026-05-03]. <https://mp.weixin.qq.com/s/ifmEjfgEqK4E-IQPXMhQuA>.
HAI R J. "Shiqi Shenghua" secures over 100 million RMB financing; pilot-scale unit operates over 10,000 hours, and a 50,000-ton project has been approved for filing [EB/OL]. (2026-03-24) [2026-05-03]. <https://mp.weixin.qq.com/s/ifmEjfgEqK4E-IQPXMhQuA>.
- [187] 吉态来生物. 吉态来生物[EB/OL]. [2026-05-03]. <http://www.gtlbio.com>.
GTL Biotech. GTL Biotech [EB/OL]. [2026-05-03]. <http://www.gtlbio.com>.
- [188] BENEVENUTI C, AMARAL P, FERREIRA T, et al. Impacts of syngas composition on anaerobic fermentation[J]. Reactions, 2021, 2(4): 391-407.
- [189] Electrochaea. Industry-leading biomethanation technology[EB/OL]. [2026-05-03]. <https://www.electrochaea.com/>.
- [190] Solar Foods. Solar Foods[EB/OL]. [2026-05-03]. <https://solarfoods.com/>.
- [191] Unibio. Unibio-Planet-friendly protein for a growing world [EB/OL]. [2026-05-03]. <https://www.unibio.dk/>.
- [192] Calysta. Adisseo and Calysta's world-leading alternative protein joint venture breaks ground in China[EB/OL]. [2026-05-03]. <https://calysta.com/adisseo-and-calystas-world-leading-alternative-protein-joint-venture-breaks-ground-in-china/>.
- [193] 蓝晶微生物. 蓝晶微生物:基于合成生物学技术的分子和材料创新企业[EB/OL]. [2026-05-03]. <http://www.bluepha.com/>.
Bluepha (Lanjing Microbiology). Bluepha: a synthetic biology-based molecular and materials innovation company [EB/OL]. [2026-05-03]. <http://www.bluepha.com/>
- [194] 生物基科技, 生物基生态. 巨鹏生物:合成生物学气体发酵技术的先行者,开拓绿色生物能源新未来[EB/OL]. (2024-08-15) [2025-10-08]. <https://mp.weixin.qq.com/s/0brUTWn2mMDVR-dAyvhxZg>.
Biobased Technology, Biobased Ecology. Jupeng Biotech: a pioneer in synthetic biology-based gas fermentation technology, pioneering a new future of green bioenergy [EB/OL]. (2024-08-15) [2025-10-08]. <https://mp.weixin.qq.com/s/0brUTWn2mMDVR-dAyvhxZg>.
- [195] 巨鹏生物:船用绿色 LNG 的新生产路线[EB/OL]. (2024-10-23) [2025-10-08]. https://mp.weixin.qq.com/s/3-I9-o6nda7EmzWUXuMP_A.
Jupeng Biotech: a new production route for marine green LNG [EB/OL]. (2024-10-23) [2025-10-08]. https://mp.weixin.qq.com/s/3-I9-o6nda7EmzWUXuMP_A.



通讯作者及第一作者: 赵然(1995—),女,博士。研究方向为合成生物学与代谢工程。
E-mail: Ran.Zhao@jupengbio.com