

• 智能生物过程控制优化 •

刘立明 教授，博士生导师，教育部长江学者计划特聘教授。主要从事微生物发酵工程的研究与教学工作。作为负责人先后负责国家重点研发计划、国家自然科学基金(重点、优青、面上)项目、江苏省前沿科技引领等国家或省部级项目 20 余项。在 *Nature Catalysis*、*Nature Communication*、*Metabolic Engineering*、*Chemical Reviews*、《微生物学报》《生物工程学报》等国内外生物工程类学术期刊上发表学术论文 260 余篇，其中 SCI 论文 200 余篇(最高 IF=70)、授权发明专利 100 余项、出版科技著作 4 部。研究成果获国家技术发明奖二等奖(第三)、教育部科技进步奖一等奖(第一)、中国石油与化学工业联合会科技进步奖一等奖(第一)、江苏省科学技术奖二等奖(第一)等。



高聪 江南大学生物工程学院副研究员、博士生导师。主要从事生物基塑料单体微生物制造研究工作。主持国家自然科学基金(面上、青年)、重点研发计划子课题等国家或省部级课题 5 项。以第一作者或通讯作者身份在 *Nature Communication*、*Metabolic Engineering* 等学术期刊发表 SCI 论文 20 余篇，参编中英文专著 2 章，申请/授权国家发明专利 20 余项。获江苏省优秀博士学位论文、石化联合会科技进步奖一等奖、江苏省科学技术奖二等奖。



微生物细胞代谢与环境适应调控研究进展

刘源，胡贵鹏，李晓敏，刘佳，高聪*，刘立明*

江南大学 生物工程学院 工业生物技术教育部重点实验室，江苏 无锡 214122

刘源，胡贵鹏，李晓敏，刘佳，高聪，刘立明. 微生物细胞代谢与环境适应调控研究进展[J]. 生物工程学报, 2025, 41(3): 1133-1151.

LIU Yuan, HU Guipeng, LI Xiaomin, LIU Jia, GAO Cong, LIU Liming. Advances in the regulation of microbial cell metabolism and environmental adaptation[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2025, 41(3): 1133-1151.

摘要: 感应代谢与环境变化并做出自适应调控是细胞生命活动的关键。近年来，随着合成生物学技术的进步，越来越多的细胞感知代谢和环境差异的机制被揭示，同时相关应用也日益广泛。然而，目前缺乏关于细胞代谢与环境适应调控的研究的系统性综述。本文介绍了细胞感知代谢和环境差异的关键跨膜蛋白及感应蛋白；总结了细胞在应对胞内外代谢差异时的天然自适应调控机制；从

资助项目：榆林中科洁净能源创新研究院能源革命专项资助(E411040705)

This work was supported by the Energy Revolution S&T Program of Yulin Innovation Institute of Clean Energy (E411040705).

*Corresponding authors. E-mail: GAO Cong, conggao@jiangnan.edu.cn; LIU Liming, mingll@jiangnan.edu.cn

Received: 2024-11-29; Accepted: 2025-02-25; Published online: 2025-02-26

动态调控、理性代谢工程改造和适应性进化这 3 个方面探讨了基于细胞自适应调控的应用场景，并展望未来的发展方向。本文不仅为细胞感知代谢和环境变化的机制研究提供了系统性视角，还为合成生物学领域的进一步创新应用奠定了理论基础。随着未来技术的不断发展，深入理解细胞自适应调控机制有望推动新型生物制造平台的开发与应用。

关键词：细胞；感应；代谢；环境；自适应调控

Advances in the regulation of microbial cell metabolism and environmental adaptation

LIU Yuan, HU Guipeng, LI Xiaomin, LIU Jia, GAO Cong*, LIU Liming*

Key Laboratory of Industrial Biotechnology of Ministry of Education, School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu, China

Abstract: The ability of cells to sense and adapt to metabolic changes and environmental variations is essential for their functions. Recent advances in synthetic biology have uncovered increasing mechanisms through which cells detect changes in metabolism and environmental conditions, leading to broader applications. However, a systematic review on the regulation of cellular metabolism and environmental adaptation is currently lacking. This article presents a comprehensive overview of this field from three perspectives. First, it introduces key transmembrane and sensor proteins involved in the cellular perception of metabolic and environmental changes. Next, it summarizes the adaptive regulation mechanisms that natural cells employ when confronted with intracellular and extracellular metabolic changes. Finally, the review explores the application scenarios based on cellular adaptive regulation in three aspects: dynamic control, rational metabolic engineering, and adaptive evolution and makes an outlook on the future development directions in this field. This review not only provides a comprehensive perspective on the mechanisms by which cells sense metabolic and environmental variations, but also lays a theoretical foundation for further innovations in the field of synthetic biology. With the continuous advancement of future technologies, a deeper understanding of cellular adaptive regulation mechanisms holds great potential to drive the development and application of novel biomanufacturing platforms.

Keywords: cell; sensing; metabolism; environment; adaptive regulation

作为生命活动的基本单位，细胞总是处在不断变化的内外环境中，需要在代谢需求与环境资源可用性之间实现动态平衡。例如，在营养充足时，细胞优先分配资源用于生长增殖，而在饥饿或压力条件下则需要将资源倾向于生存^[1]。这种自适应能力不仅依赖于细胞感知环

境信号的能力，还依赖于细胞调控代谢活动的复杂机制。这些感知和调控机制协同作用，在维持细胞稳态方面具有关键的作用。

近年来，随着高通量组学技术、合成生物学及代谢工程的快速发展，细胞代谢与环境适应调控的研究进一步深入。微生物细胞在不同环境压

力下的代谢调控机制被逐渐解析清楚。通过揭示细胞代谢与环境适应的调控机制,不仅有助于理解生命活动的基本规律,还为多个领域的发展提供了新思路。例如,通过代谢工程优化工业微生物的生产性能^[2],通过进化工程提高菌株的鲁棒性^[3],均已成为当前应用领域的热点。

目前,细胞感知代谢和环境差异的研究主要集中在3个方向:一是细胞是如何通过膜上的感受器和胞内的信号传导通路感应代谢和环境的差异性变化;二是细胞自适应调控以应对不断变化的代谢和环境差异的方式;三是如何利用已知的细胞感知和适应调控机制。本文从以上3个方面,整合了近年来关于细胞感知代谢和环境差异的研究进展,系统梳理了细胞感知的分子机制及适应性调控的特点,以期为未来的研究提供参考。

1 细胞感应环境和代谢差异

细胞对环境和代谢差异性的响应能力主要依赖于特定的感受器。细胞通过感受器感知环境的变化及自身的代谢状态,并通过信号传导通路将信号传递给效应器,从而进行一系列代谢调整,以适应环境的变化。根据感受器的位置,可以将其分为2类:膜上的跨膜蛋白和胞

内的感应蛋白(表1和图1)。

1.1 膜上的跨膜蛋白

跨膜蛋白是嵌入细胞膜中的一类蛋白质。这些蛋白的部分结构位于细胞膜的内侧、外侧或贯穿膜内,使其能够执行与细胞膜相关的信号感知、传导和物质转运等功能。具有感知功能的常见跨膜蛋白包括转运蛋白和跨膜感应蛋白。转运蛋白不仅能够识别胞内外环境中的物质,还负责将物质转运进出胞内,而跨膜感应蛋白则只负责识别环境物质并将其转换为信号分子传递给胞内。

1.1.1 转运蛋白

转运蛋白通过特定的结合位点识别特定的营养物质或信号分子。这些结合位点的结构和化学特性与待运输物质相匹配,以确保高度的特异性。转运蛋白可分为载体蛋白与通道蛋白。

载体蛋白首先与被运输的分子结合,然后通过自身构象的变化完成物质运输。其中具有代表性的中间构象一般有面向胞外状态、闭合状态和面向胞内状态^[12]。载体蛋白主要响应的物质包括葡萄糖、氨基酸和核苷酸等水溶性物质,常见的载体蛋白有谷氨酸棒杆菌的赖氨酸转运蛋白 LysE^[5]及大肠杆菌的苏氨酸转运蛋白 RhtABC^[13]等。

表1 微生物细胞中典型的感受器

Table 1 Classical receptors in microbial cell

Category	Name	Function	Source	References
Membrane proteins	Hxt	Hexose transport protein	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	[4]
	LysE	Lysine transport protein	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	[5]
	NhaA	Na ⁺ transport protein	<i>Escherichia coli</i>	[6]
	Ste2, Ste3	G-protein-coupled receptor	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	[7]
	EnvZ	Osmotic pressure-sensing protein	<i>Escherichia coli</i>	[8]
Intracellular sensing proteins	Gal4	Galactose binding transcription factor	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	[9]
	Pfk	ATP-dependent allosteric enzyme	<i>Escherichia coli</i>	[10]
	Pc	Acetyl-CoA-dependent allosteric enzyme	<i>Escherichia coli</i>	[11]

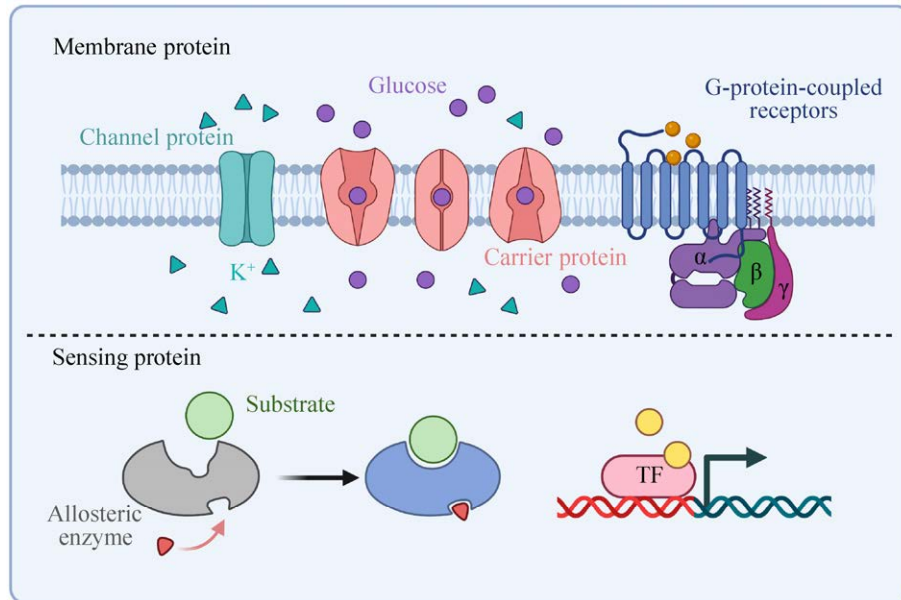


图 1 细胞感受器的分类

Figure 1 Classification of cell receptors. TF: Transcription factor.

通道蛋白则允许与通道直径、大小和电荷相适宜的分子或离子通过，以通道的开合方式运输离子或分子。相较于需要通过变构的转运蛋白，通道蛋白的反应速度和转运速度更快。依据激活的方式不同，通道蛋白可以分为 2 类：一类是电压活化的通道，例如 Na^+ 、 Ca^{2+} 及某些类型的 K^+ 通道^[14-15]。这些通道的开放受膜电位控制，当膜电位达到特定阈值时，通道将转换开合状态；另一类是化学物质活化的通道，例如乙酰胆碱受体通道^[16]及核苷酸受体通道^[17]等，当乙酰胆碱结合在离子通道受体上时，通道开放，允许钠离子和钾离子通过，导致细胞膜去极化，并引发动作电位的生成或传导。

1.1.2 跨膜感应蛋白

与转运蛋白不同，跨膜感应蛋白主要用于感知和传递外部信号，而非直接参与物质转运。G 蛋白偶联受体(G-protein-coupled receptors, GPCR)是一类仅见于真核生物，参与多种细胞信号转导过程的跨膜转运蛋白。当外部信号分

子与 GPCR 的结合位点结合时，受体会发生构象变化。这一变化使与 GPCR 相连的 G 蛋白从不活跃状态转为活跃状态，活化的 G 蛋白能够激活或抑制细胞内效应器，引发一系列细胞反应。Ste2 和 Ste3 是参与酵母配对因子感应的 2 种 GPCR，分别感应 α 因子和 a 因子，以检测酵母配对信号。当结合到相应的配对因子后，这些受体会激活下游 G 蛋白信号通路，导致细胞周期的停滞和配对应答，如细胞聚集和交配管的形成^[7]。

此外，原核生物膜上也有一些功能类似于 GPCR 的感应蛋白，例如，能够感知磷酸己糖的 HptS^[18]、感知酸刺激的 PhoQ^[19]、CadC^[20] 和感知胞外渗透压变化的 EnvZ^[8]等。EnvZ 具有 2 个主要功能区域：感应区域用于监测胞外渗透压变化，而酶活性区域则具有磷酸化能力。EnvZ 参与对渗透压变化的响应，调控外膜孔道蛋白的表达。当细胞所处环境的渗透压变化导致 EnvZ 构象改变时，会激活其自磷酸化反应。

磷酸化的 EnvZ 会将磷酸基团转移给下游转录因子,从而调节外膜孔道蛋白 OmpF 和 OmpC 的表达。在低渗透压下,通道孔径大的 OmpF 表达提高,加强细胞摄取营养物质的能力;而在高渗透压环境下,通道孔径小的 OmpC 表达增强,物质摄取减少,以避免细胞膨胀和破裂^[8]。

1.2 胞内的感应蛋白

除了固定在膜上的跨膜蛋白,还有一类游离于胞内的感应蛋白,它们可以在细胞质或细胞器中感知各种信号。感应蛋白对信号的感应能力来源于其特定的蛋白质结构特征,在信号因子存在时,感应蛋白会发生构象变化,从而对信号做出响应。细胞内的感应蛋白可分为 2 类:(1) 特定转录因子,负责感应和传递信号以调控其他基因的表达;(2) 特定变构酶,感应信号后进行自我变构调节,但不负责信号传递。

1.2.1 特定转录因子

转录因子(transcription factors, TF)是连接信号传导终点与基因调控起点之间的桥梁。TF 可以与 DNA 中特定序列(如启动子、增强子)结合,控制基因的转录过程。TF 能够响应的物质包括代谢产物^[21]、氧气^[22]、激素^[23]等。例如,酵母 Gal4 是调节半乳糖代谢的经典转录激活因子。在无半乳糖的条件下, Gal80 蛋白与 Gal4 结合,阻止其转录激活功能。当存在半乳糖时, Gal3 与半乳糖和 ATP 结合,并与 Gal80 结合,导致 Gal80 从 Gal4 上脱离,从而释放 Gal4 的转录激活域,启动下游半乳糖代谢基因的转录。Gal4 的感应机制使酵母能够根据环境中碳源的种类灵活调整基因表达^[9]。除了响应代谢物之外,一些 TF 会感应环境中氧气的浓度变化。例如, HIF-1 可以感应细胞内氧气浓度变化,调控缺氧条件下的基因表达。HIF-1 是一种异源二聚体,由 HIF-1 α 和 HIF-1 β 这 2 个亚单位组成。在缺氧环境下, HIF-1 α 会被保护且不会降解,并在细胞核中积累。它与 HIF-1 β 相互作用,并

结合到特定 DNA 序列的缺氧调控基因上;而当氧气含量正常时, HIF-1 α 会被蛋白酶体迅速降解,氧气通过为 HIF-1 α 增加羟基以调节该降解过程^[24]。

1.2.2 特定变构酶

与转录因子不同,在生物体对环境信息的感应过程中,还有一些变构酶可以在信号分子的直接作用下发生活性变化,而无需进行信号传导。变构酶感知的信号分子通常为胞内的代谢中间物。这些代谢中间物可以作为效应物,与酶结合后使酶的结构发生变化,进而改变酶的活性。细胞中常见的变构酶包括丙酮酸羧化酶^[11]、谷氨酰胺合成酶^[25]和磷酸果糖激酶^[10]等。例如,磷酸果糖激酶(phosphofructokinase, PFK)是催化糖酵解限速步骤的主要酶,能够响应细胞不断变化的能量需求。PFK 具有 2 个主要结合位点:一个是催化位点,与底物果糖-6-磷酸结合;另一个是别构位点,结合调节分子。ATP 是 PFK 的别构抑制剂。当细胞中 ATP 浓度较高时,ATP 会结合到 PFK 的别构位点上,导致 PFK 构象发生变化,使其对底物果糖-6-磷酸的亲和力降低,从而抑制酶的活性^[10]。

2 细胞自适应调控代谢和环境差异

当细胞感知代谢与环境发生改变时,会通过多种自适应调控机制(如代谢重编程、蛋白质稳态调控和抗氧化应激反应等)做出反应。本文总结了一些细胞应对代谢和环境变化时的调控机制以及具体案例(表 2),这些机制帮助细胞优化其代谢活动和功能,以应对外部环境的变化,从而在能量和营养匮乏、氧化应激等不利条件下生存。针对环境变化因素的空间分布,细胞进化出了 2 种不同的调控机制:胞内代谢差异的细胞自适应调控和胞外环境差异的细胞自适应调控。

表 2 细胞自适应调控的经典机制

Table 2 Classical mechanisms of cellular adaptive regulation

Factors	Methods	Examples	References
ATP	Metabolic regulation	In response to energy deficiency, AMP-activated protein kinase inhibits lipid and sterol synthesis by phosphorylating and inactivating acetyl-CoA carboxylase and 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase, thereby reducing the cellular anabolic flux	[26]
NADH	Metabolic regulation	When NADH accumulates excessively within the cell, the activity of enzymes such as isocitrate dehydrogenase is inhibited, slowing down the tricarboxylic acid (TCA) cycle and thereby reducing the generation of excess NADH	[27]
Metabolic intermediate	Feedback regulation	When the intracellular concentration of tryptophan is high, tryptophan exerts feedback inhibition on the activity of tryptophan synthase, thereby reducing tryptophan synthesis	[2]
pH	Ion transport	When the intracellular pH decreases, the expression activity of the Pma1 proton pump in yeast is upregulated, hydrolyzing ATP to pump out excess protons and maintain normal pH levels	[28]
	Metabolic regulation	In <i>Escherichia coli</i> cultured in high-pH media, the activity of tryptophan deaminase and serine deaminase is upregulated to promote acid production, thereby stabilizing the intracellular pH	[6]
Temperature	Protein homeostasis maintenance	At high temperatures, yeast initiates the heat shock response and expresses the heat shock protein Hsp90 to assist in folding and repairing damaged proteins, thus protecting against heat stress by maintaining protein homeostasis	[29]
	Membrane structural adjustment	At low temperatures, <i>Methanococcoides burtonii</i> increases the proportion of unsaturated fatty acids to enhance membrane fluidity, adapting to the cold environment	[30]
O ₂	Metabolic regulation	Under low-oxygen conditions, FNR activates genes associated with anaerobic metabolism such as lactate dehydrogenase and inhibits the expression of genes related to aerobic metabolism, enabling <i>Escherichia coli</i> cells to switch to fermentation pathways for energy production in hypoxic environments	[31]
Osmotic pressure	Biosynthesis	Halophilic bacteria balance the osmotic pressure between the inside and outside of the cell by enhancing the synthesis of glycine and proline, which helps them adapt to extremely high salt concentrations	[32]
	Membrane structural adjustment	Under hypertonic stress, <i>Candida albicans</i> upregulates the expression of the chitin-glucan transferase gene <i>Crh</i> , which is involved in cell wall cross-linking, thereby increasing survival under hyperosmotic conditions by reducing the elasticity of the cell wall	[33]
Nutritional conditions	Metabolic regulation	Yeast preferentially uses glucose from the environment as its sole carbon source, and only after glucose is depleted does it undergo a period of growth arrest to complete the metabolic reprogramming required to utilize alternative carbon sources for secondary growth	[34]
	Cell cycle regulation	In the absence of nutrients, <i>Bacillus</i> species inhibit cell division, reduce reproduction rates, and form spores to survive under adverse conditions	[1]

2.1 胞内代谢差异的细胞自适应调控

细胞代谢是胞内所发生的用于维持生长和繁殖的一系列化学反应的总称。细胞的自适应

调控能力使得胞内的这些化学反应始终处于一种动态平衡的状态。能量代谢的控制是细胞生长的基础，细胞对胞内能量差异的响应与调控

机制是维持生理平衡的重要环节。辅因子的再生与利用会影响代谢网络、信号转导和物质转运,从而影响微生物细胞的生理功能。此外,细胞需要始终维持胞内代谢中间物和代谢产物在一定的水平范围内,以实现细胞稳态。胞内代谢差异的因素主要可以概括为3类:能量、辅因子和代谢中间物。

2.1.1 能量代谢自适应调控

针对胞内的能量代谢变化,细胞主要通过代谢途径的调节、线粒体转移、线粒体质量控制等方式来维持整体的能量平衡。

通过调控代谢途径的表达,可以实现胞内能量的自适应调控。例如,腺苷酸活化蛋白激酶(adenosine monophosphate-activated protein kinase, AMPK)是真核细胞中重要的代谢和能量调控信号蛋白,调节细胞的生长、代谢、增殖和生存^[35]。在酵母中,SNF1复合物是目前研究最多的一类AMPK。当葡萄糖耗尽,胞内能量供应不足时,SNF1激活脂肪酸氧化相关基因*pox1*和*cit2*,氧化脂肪酸为细胞提供能量;SNF1还可以磷酸化ACC1(脂肪酸合成通路中一个限速酶),导致其活力降低,从而减缓脂肪酸合成速率^[36]。

线粒体可视为胞内的能量传感器,通过氧化磷酸化这一过程为细胞提供大量的ATP,其功能障碍会导致能量代谢失衡。当线粒体功能出现障碍时,为维持细胞的正常状态,细胞会通过线粒体自噬,选择性地清除受损或老化的线粒体,同时通过线粒体转移或者再生等方式得到补充^[37-38]。

2.1.2 辅因子代谢自适应调控

辅因子如乙酰辅酶A、NADH/NAD⁺、NADPH/NADP⁺、ATP/ADP,都是微生物细胞内的重要代谢因子,参与一系列生物化学反应。

辅因子的再生和利用对代谢网络、信号转导和物质转运产生重要影响,进而影响微生物细胞的生理功能。胞内常见的涉及辅因子的酶有丙酮酸脱羧酶^[39](NADH→NAD⁺)、乙酰辅酶A合酶^[40](乙酸→乙酰辅酶A, ATP→AMP)、可溶性吡啶核苷酸转氢酶^[39](NADPH→NADH)等。细胞通过调节涉及消耗或产生辅因子的代谢途径调控辅因子平衡。例如,当胞内NAD⁺水平较高时,细胞倾向于进行糖酵解和三羧酸循环,消耗多余的NAD⁺;而当NADH浓度提高时,细胞会更倾向于进行还原反应消耗NADH,促进合成代谢,使得胞内的NAD⁺和NADH保持平衡。

2.1.3 代谢中间物自适应调控

细胞主要通过代谢途径中酶的反馈调节来控制胞内代谢中间物和产物的浓度。一些代谢中间物可以作为酶的抑制剂,调节相应合成途径中关键酶的活性,这种机制称为反馈抑制。常见的反馈抑制酶包括丙酮酸激酶^[41]、N-乙酰谷氨酸激酶^[42]和磷酸果糖激酶^[10]等。反馈抑制的经典例子是大肠杆菌中的色氨酸反馈抑制。色氨酸生物合成途径的第一步由色氨酸合酶催化,此酶是该途径的限速步骤。当细胞内色氨酸浓度较高时,色氨酸直接抑制该酶的活性,从而减少其自身的合成。此外,色氨酸还可以通过调节色氨酸操纵子的表达来实现更深层次的反馈调控。色氨酸与阻遏蛋白TrpR结合,形成一个活化的阻遏复合物,该复合物会与Trp操纵子中的操纵基因结合,阻止RNA聚合酶的结合,从而抑制色氨酸生物合成相关基因的转录。通过这样的反馈调节机制,使得细胞能够根据胞内色氨酸浓度调节其合成,避免代谢失衡(表3)。

表 3 不同类型代谢中间物的调控机制

Table 3 Regulatory mechanisms of different types of metabolic intermediates

Metabolic pathway	Metabolic intermediate	Regulatory mechanism	References
Glycolytic pathway	Pyruvate	When pyruvate accumulates, ATP inhibits the activity of pyruvate kinase, thereby reducing the conversion of phosphoenolpyruvate to pyruvate	[41]
	Fructose-6-phosphate	When fructose-6-phosphate accumulates, fructose-2,6-bisphosphate activates phosphofructokinase, promoting the conversion of fructose-6-phosphate to fructose-1,6-bisphosphate	[10]
Citric acid cycle	Citrate	When citrate levels are excessively high, it inhibits the activity of phosphofructokinase, thus suppressing the glycolytic pathway and decreasing the flux through the TCA cycle	[43]
Amino acid metabolism	Tryptophan	When tryptophan concentration is too high, tryptophan inhibits the activity of tryptophan synthase, thereby reducing its own synthesis	[2]
	Glutamate	When glutamate levels are excessively high, more glutamate is used to generate N-acetylglutamate, which activates N-acetylglutamate kinase and promotes arginine synthesis	[42]
Lipid metabolism	Methylmalonyl-CoA	Methylmalonyl-CoA is a precursor for fatty acid synthesis. Accumulation of citrate activates acetyl-CoA carboxylase, promoting the conversion of acetyl-CoA to methylmalonyl-CoA for lipid synthesis	[44]
	Glycerol-3-phosphate	When glycerol-3-phosphate levels are excessively high, the activity of glycerol kinase is feedback-inhibited by glycerol-3-phosphate, thereby reducing the conversion of glycerol to glycerol-3-phosphate	[44]

2.2 胞外环境差异的细胞自适应调控

细胞一方面依赖环境获取资源, 但另一方面营养物质、氧气、温度等一系列环境因素的不断变化也需要细胞能够进行自我调控以适应环境。例如, 合适的环境 pH 值对微生物生存至关重要。环境 pH 波动对于微生物来说是一种巨大挑战, 酸碱胁迫会影响细胞内 pH 值, 进而影响蛋白质的功能, 这就要求微生物进行自适应调控以维持蛋白质的正常功能; 温度对于细胞的生理和代谢过程有着重要的影响, 不同的生物有着不同的适宜温度范围。在面临不适宜温度胁迫时, 微生物需要进行自适应调控以适应环境温度。胞外环境差异的因素主要可

以分为环境 pH、温度、氧气、渗透压和营养条件等。

2.2.1 环境 pH

细胞在自然环境或工业应用中经常面临酸碱胁迫, 严重制约了细胞的生长性能和产物合成效率。为了在各种酸碱环境中生存, 细胞已经进化出了多种 pH 稳态保护机制, 包括氨基酸依赖型耐酸系统、质子泵与代谢调节。

大肠杆菌具有不同的氨基酸(谷氨酸^[45]、赖氨酸^[46]和精氨酸^[47])依赖型耐酸系统。在酸胁迫下, 谷氨酸依赖型耐酸系统通过谷氨酸反转运蛋白 GadC 将胞外的谷氨酸转运入胞内, 随后由 2 种谷氨酸脱羧同工酶 GadA/GadB 与 H⁺反

应生成二氧化碳和 γ -氨基丁酸。GadC 会将 γ -氨基丁酸泵出细胞,以换取再次吸入谷氨酸,该过程消耗质子,从而降低细胞内的质子水平,维持胞内 pH 稳定^[48]。

当细胞感受到环境 pH 差异时,可以通过质子泵(如 H^+ -ATPase)调节细胞膜内外的质子浓度,以保持内环境的稳定。例如,酵母在发酵生产乳酸时,如果环境 pH 下降到乳酸的 pKa (3.8)时,胞外乳酸会以未解离的形式通过被动运输方式进入胞内。胞内 pH 高于 3.8 时,乳酸会解离为 H^+ 和乳酸根离子,导致胞内 pH 降低。此时, H^+ -ATPase 中的 Pama1 质子泵的表达活性会提高,水解 ATP,泵出胞内过度积累的质子以维持正常的 pH 值^[28]。

细胞还能通过代谢调节的方式适应 pH 的变化。例如,大肠杆菌在高 pH 培养基中生长时,会通过上调脱氨酶、ATP 合成酶和细胞色素氧化还原酶的活性来促进酸的产生,以维持胞内 pH 稳定^[6];相反,在酸性胁迫下,大肠杆菌可通过提高谷氨酰胺酶 YbaS 活性,催化 L-谷氨酰胺转化为 L-谷氨酸同时释放氨以中和质子^[45]。

2.2.2 温度

温度对细胞的生理和代谢过程具有重要影响。微生物为了在高温或寒冷环境中生存,必须适应温度变化。细胞应对温度变化的自适应调控方式大致可分为 3 类:蛋白质稳态调控、代谢调节与膜结构调整。

首先,细胞适应温度变化的蛋白质稳态调控主要包含蛋白质的合成和折叠这 2 个方面。低温时 RNA 的二级结构趋向稳定,易形成发夹结构,会导致转录过早终止使得翻译无法正常进行。大肠杆菌中的冷激蛋白 Csps 可通过与 mRNA 的结合防止其二级结构的形成,进而促进蛋白质合成的正常进行^[49]。细胞在高温环境

下蛋白质折叠容易出现错误,当错误折叠的蛋白在细胞中不断积累时,会导致细胞蛋白质稳态失衡,无法发挥正常功能^[50]。热休克蛋白(heat shock proteins, HSPs)是一类分子伴侣蛋白,能感应热应激下的蛋白质变性,协助蛋白质的折叠和功能恢复。在高温下,酵母会启动热休克反应,表达热休克蛋白以帮助折叠和修复受损的蛋白质,从而抵御高温胁迫^[29]。

其次,细胞会根据温度的变化调整代谢途径,以优化能量利用和生长速率。面对低温环境,细胞通常会降低自身的代谢速率,从而减少营养消耗和代谢废物的积累,降低细胞损伤的风险。低温条件下,副溶血弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*)可以通过下调戊糖磷酸途径中糖酵解和三羧酸循环途径酶的表达降低能量代谢来抵御寒冷环境^[49];在温度升高时,细胞的能量需求通常会增加,细胞会增强线粒体的呼吸作用以提供更多的能量。Rikhvanov 等^[51]发现暴露于线粒体抑制剂的酵母细胞的耐热性降低,指出线粒体是热应激反应的核心要素,线粒体的功能有助于提高酵母在高温环境下的存活率。

最后,细胞可以通过调整膜结构来适应温度变化。在高温条件下,某些基因会被激活,促进生物膜的稳定和细胞修复,低温环境会降低细胞膜的流动性,这有助于保持膜的结构完整性。细胞降低膜流动性的策略包括:增加多不饱和脂肪酸含量、改变脂肪酸组成类型、降低脂肪酸的极性^[30]。例如,低温促使嗜冷深海杆菌(*Photobacterium profundum*)中与膜合成相关的基因(如磷脂脂肪酸、肽聚糖和糖基转移酶)上调表达,揭示了其在极端寒冷条件下的适应机制^[30]。此外,在低温条件下,李斯特菌(*Listeria monocytogenes*)的膜运输蛋白表达量上调,以增强对营养物质和相容性溶质的吸收,

帮助细胞应对低温导致的细胞膜溶解率降低的问题^[52]。

2.2.3 氧气

根据氧气需求的不同,细胞可分为3类:专性好氧型、兼性厌氧型和专性厌氧型。专性好氧细胞必须在氧气存在时才能存活,而专性厌氧细胞则需要完全无氧的环境。兼性厌氧型细胞则能够根据氧气的可用性选择不同的呼吸途径,包括有氧呼吸、厌氧呼吸或发酵,使其在不同氧气浓度的环境中具有更高的适应性。兼性厌氧细胞对氧气变化的调控方式主要有2种:代谢调节与氧化应激反应。

在代谢调节方面,对于大多数兼性厌氧菌而言,在氧气充足时倾向于进行呼吸作用;而在氧气缺乏时,则转向发酵产生乙醇或乳酸。FNR是大肠杆菌中的一种主要氧感知转录因子。在有氧条件下,它会被氧气修饰并降解,而在缺氧条件下则保持稳定并形成活性复合物。FNR能够激活与厌氧代谢相关的基因(如乳酸脱氢酶),并抑制与有氧代谢相关基因的表达,使细胞能在低氧环境中切换到发酵途径以产生能量^[31]。

在氧化应激反应方面,当细胞从缺氧环境突然暴露于高氧环境时,会产生氧化应激反应。这些氧化应激反应的具体影响包括:积累抗氧化酶(如超氧化物歧化酶)以中和活性氧;促使细胞内铁含量增加,导致脂质过氧化物积累,激活细胞铁死亡通路。例如,RIPK4被鉴定为活性氧诱导细胞坏死的关键调节因子。RIPK4的缺陷会导致中链酰基-CoA合成酶减少,从而引起单不饱和脂肪酸的积累,减少多不饱和脂肪酸的合成,降低细胞对氧化应激的抵抗力^[53]。

2.2.4 渗透压

细胞应对渗透压变化的自适应调控方式可以分为3类:物质转运、膜壁结构的调整与代

谢调节。

细胞膜上的离子通道和离子泵能够调节细胞内外的离子浓度,从而控制渗透压。例如,酵母细胞可以通过调节阳离子与Nha1逆向转运蛋白Ena外排系统(该系统介导K⁺和Na⁺的外排,以换取质子内流)来增加其对NaCl的耐受性^[54]。

在高渗透环境中,细胞会改变细胞壁的结构和组成,从而确保细胞的完整性和功能。例如, β -葡聚糖是酵母细胞壁的重要成分,这种多糖通过形成致密的结构增强细胞壁的抗压能力。在高渗透环境下, β -1,3-葡聚糖合成酶(β -1,3-glucan synthase, FKS)的表达量会增加,促进更多 β -葡聚糖的合成,增强细胞壁强度,维持细胞形态^[55]。面对高渗透胁迫时,白色念珠菌(*Candida albicans*)会触发细胞壁重塑机制,使细胞壁交联的几丁质-葡聚糖基转移酶基因*Crh*的表达上调,通过降低细胞壁的弹性以增加高渗下的存活率^[33]。

此外,细胞还可以通过合成和积累渗透调节物质(如甘油、氨基酸和醇类)来平衡细胞内外的渗透压。酵母细胞在高渗透环境下会加强甘油的合成,以抵消细胞脱水效应,从而维持胞内的渗透压平衡^[56]。极端微生物如嗜盐菌生存于极高的盐浓度环境中,它们通过积累甘氨酸和脯氨酸来平衡细胞内外的渗透压。这些氨基酸小分子在细胞内的浓度增高,有助于维持细胞的水分平衡^[32]。

2.2.5 营养条件

当外界环境营养条件发生改变时,细胞会通过信号传导系统感知并通过调整代谢途径改变细胞的营养需求。当营养充足时,营养感知途径促进合成代谢和储存;而在营养匮乏时,则触发细胞的稳态机制,通过自噬或生长停滞来减少营养需求。细胞对胞外营养物质水平变化的调控机制主要有:代谢调节、营养摄取调

节与细胞周期调节。

在富含葡萄糖的培养基中,大肠杆菌通过“糖类抑制”机制抑制乳糖代谢基因的表达;而在葡萄糖耗尽后,则激活乳糖代谢基因,以利用乳糖作为替代碳源。酵母菌也能够感知培养基中的碳源。当存在快速发酵的糖(如果糖或甘露糖)时,酵母会激活 SNF1 介导的一个复杂信号转导网络,导致许多参与替代碳源运输和代谢的基因表达下调^[57]。

某些细菌和真菌会分泌外源性酶以分解复杂的营养物质,从而获取可利用的营养。例如,解脂耶氏酵母能够分泌脂肪酶,该酶水解油脂,将其分解为甘油和脂肪酸,以促进细胞吸收利用^[58]。马克斯克鲁维酵母则可以分泌菊粉酶,将菊芋粉分解为菊糖后再转运进胞内进行利用^[59]。

此外,缺乏单一必需营养物质会导致细胞周期停滞在 G1 期,这一过程为细胞的 DNA 修复提供了时间,确保遗传物质的完整性^[9]。抗氧化蛋白硫氧还蛋白 Trx 可以结合并抑制细胞周期调节酶 ASK1 的活性。研究表明细胞周期停滞与铁螯合介导的 ASK1-Trx 信号传导系统的调节有关。铁螯合导致 Trx 氧化,进而破坏 ASK1-Trx 复合物,导致 ASK1 水平升高并向下游通路发出信号,最终导致细胞周期因缺铁而停滞^[60]。在缺乏营养的情况下,芽孢杆菌会抑制细胞分裂,降低繁殖速率,并形成芽孢。芽孢具有较强的耐热、耐干燥和耐化学物质的能力,能够在不利条件下长期存活,待环境改善后再恢复活性。

3 细胞代谢与环境适应调控研究的应用

通过研究细胞代谢与环境适应调控机制,不仅可以加深对细胞生命活动的认识,还能指导一系列基因工程和代谢工程的工作:(1) 动态

调控。例如,通过在微生物细胞中引入生物传感器,可以实现细胞代谢网络的动态调控。

(2) 理性代谢工程改造。例如,在工程细胞中引入功能基因或系统,强化细胞环境适应和耐受性。(3) 适应性进化。通过施加极端的酸碱环境、高温或营养匮乏等压力,促进其定向进化,最终获得理想表型(图 2)。

3.1 动态调控

为了提高微生物细胞的最大产量、得率和生产强度,往往需要利用代谢工程方法对细胞工厂进行改造和调控。然而,传统的基因敲除和过表达等静态调控策略容易导致细胞代谢失衡及生长阻滞等问题。为了解决这些问题,构建精确调节物质流和能量流的动态调控策略在代谢工程领域得到了广泛应用^[61]。细胞的动态调控过程通常分为 3 个步骤:信号的感知、信号的转换传递和执行调控。生物传感器是整个动态调控系统的基础,其设计原理来源于细胞中能够感知代谢和环境差异的感受器。生物传感器输入信号的响应范围、灵敏度及输出响应阈值等参数需要进行精确设计,以满足实际应用需求^[62]。根据信号分子的类型,动态调控主要可分为以下 3 个方面:代谢物响应的动态调控、环境响应的动态调控,以及群体感应的动态调控。

3.1.1 代谢物响应动态调控

代谢物响应动态调控是指以特定的代谢物作为响应信号调节相关基因的表达的一种调控方式。代谢物响应的动态调控主要通过转录因子或启动子实现。转录因子与特定的中间代谢物或目标产物结合,从而在转录水平上实现基因表达的动态调控。例如,Xu 等^[63]在大肠杆菌中构建了一个丙二酸辅酶 A 响应的动态开关。工程菌株能够根据丙二酰辅酶 A 的浓度调节上下游基因的表达水平:当丙二酰辅酶 A 浓度低

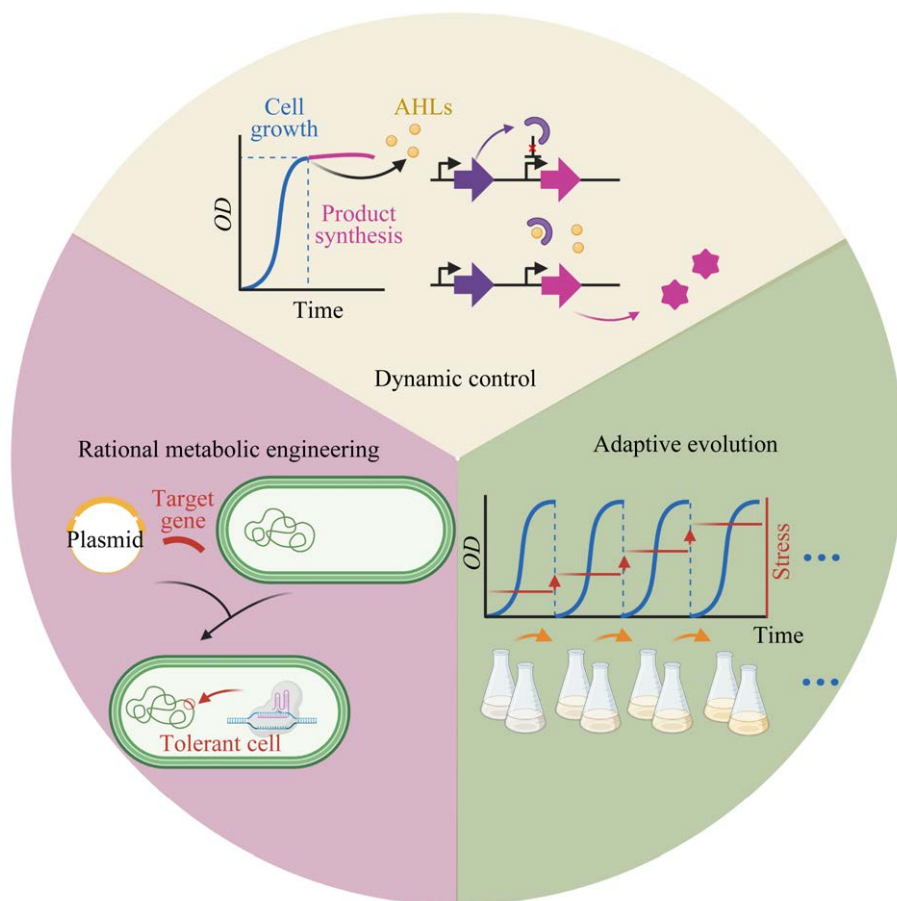


图2 细胞代谢和环境适应调控机制的应用

Figure 2 Application of regulatory mechanisms of cell metabolism and environmental adaptation. AHLs: N-acyl-homoserine lactones.

时会强化上游路径乙酰辅酶 A 羧化酶的表达；而当丙二酰辅酶 A 浓度高时则强化下游路径脂肪酸合酶的表达，这一策略使得工程菌株的脂肪酸产量提高了 2.1 倍；Wang 等^[64]利用转录组数据挖掘到了一个能够响应原儿茶酸浓度的启动子 P_{yhcN} ，该启动子控制的基因的表达强度与原儿茶酸的浓度成正比；随后将该启动子和荧光蛋白 mKate 组合构建了一个原儿茶酸传感器并用于适应性进化菌株的高通量筛选，最终成功筛选到了一株原儿茶酸产量提高 38% 的菌株。

3.1.2 环境响应动态调控

利用细胞感知环境因素的能力，可以将温

度^[65]、pH^[66]、光照^[67]、氧气^[68]等环境信号作为输入信号构建环境响应的动态调控系统，并广泛应用于代谢工程中。例如，Bañares 等^[66]将响应 pH 的跨膜单组分调节器 CadCA 引入大肠杆菌中，以调控工程菌株生产乙二醇；工程大肠杆菌生产乙二醇时，D-木糖酸的积累会造成胞外 pH 降低，此时 CadCA 介导的 D-木糖到 D-木糖酸合成途径被动态抑制，积累的 D-木糖酸被下游途径消耗，减少了 D-木糖酸积累对细胞生长的负面影响；与不含调节器的对照组相比，乙二醇产量提高了 170%。除了 pH 外，温度也是微生物发酵过程中的一个关键环境因素。

Harder 等^[69]将大肠杆菌的异柠檬酸脱氢酶本源启动子替换为 Lambda 启动子(pR);在低温条件下(28 °C),pR 启动子的转录活性被温度敏感型的调控蛋白 CI857 抑制;通过这种启动子替换策略,工程大肠杆菌在发酵前期(37 °C)快速生长,而在后期(28 °C),异柠檬酸脱氢酶基因的表达受到抑制,从而重构了 TCA 循环的代谢流量,使工程菌株的衣康酸生产强度提高了 22%。

3.1.3 群体感应动态调控

群体感应是一种天然的动态调控机制,用于细胞间的信息交流和代谢活动的调节。细菌通过产生、释放和监测信号分子,感知周围环境,并根据细胞密度的变化在整个种群中同步特定的行为^[61]。利用细胞的群体感应机制,在发酵过程中可以首先促进菌体的生长,然后切换到生产状态。这种策略最大限度地减少了微生物宿主的代谢负荷,并降低了代谢中间物的积累。目前应用最多的群体感应系统主要有 2 套:费氏弧菌(*Vibrio fischeri*)的 luxI/luxR 系统和玉米细菌性枯萎病菌(*Pantoea stewartii*)中的 esaI/esaR 系统。He 等^[70]利用 luxI/luxR 系统开发并表征了一种响应细胞密度的自诱导动态控制器,用于聚羟基丁酸酯(polyhydroxybutyrate, PHB)的生产;该控制器的设计消除了对诱导剂的依赖,实现了 PHB 的两阶段发酵,使 PHB 产量提高了 1.2 倍。Liang 等^[71]利用 esaI/esaR 系统开发了一种双功能调节开关(dual-function regulatory switch, DFRS)用于平衡细胞生长和产品合成的代谢通量,在发酵前期,pykF 的表达水平上调以促进细胞生长,在后期 pykF 的表达水平下调,Aspck 的表达增强以引导代谢通量向琥珀酸合成;DFRS 实现了细胞生长与琥珀酸合成的解耦,将琥珀酸的产量提高到 128.2 g/L。

3.2 理性代谢工程改造

利用已知的细胞适应调控机制来指导菌株

的代谢工程改造,已成为现代合成生物学和代谢工程中的重要策略。通过深入研究细胞在特定环境条件下的自适应机制,研究人员能够设计出更高效、稳定的微生物菌株,以满足胞内辅因子平衡和抗逆性强化的需求。

3.2.1 辅因子平衡

微生物在合成乳酸^[72]、琥珀酸^[73]、苹果酸^[39]等有机酸时,伴随着特定辅因子的产生或消耗,常导致胞内辅因子的失衡,使得目标产物合成受阻。为此,可以利用细胞辅因子调控的机制,建立一系列有效的辅因子再生策略以解决辅因子平衡的问题。例如, Xi 等^[39]通过在库德里阿兹威毕赤酵母(*Pichia kudriavzevii*)中引入大肠杆菌来源的可溶性吡啶核苷酸转氢酶 SthA,提高细胞质中的 NADH 水平,从而为苹果酸脱氢酶 MDH 提供更多的 NADH,催化草酰乙酸转化为 L-苹果酸,使苹果酸产量相比于表达 SthA 前提高了 3 倍;Singh 等^[74]通过将来自琥珀酸放线杆菌的磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶 PCK 在大肠杆菌中过表达,强化胞内 ATP 的生成,有效地促进了细胞生长和琥珀酸的生产,改造后菌株在 72 h 内葡萄糖消耗增加了 50%,琥珀酸产量提高了 60%。

3.2.2 抗逆性强化

微生物培养过程中时常面临着高温、低 pH、高渗透压、有机溶剂等一些恶劣的环境。这些环境因素限制了其在工业生产方面的应用,因此强化微生物的抗逆性在微生物制造领域具有重要的意义。通过过表达外源或内源性抗性基因的方式来提高微生物的抗逆性,与传统的菌株诱变相比,这种方法更加有针对性。例如, Guan 等^[75]在詹氏丙酸杆菌(*Propionibacterium jensenii*)中过表达了 5 个与抗酸能力相关的基因(包括编码精氨酸脱氨酶和谷氨酸脱羧酶的 arcA、arcC、gadB、gdh 和 ybaS),显著增强了

菌株对酸的耐受性；经过改造的菌株在对丙酸的耐受性和产量方面均有所提升，相比于原始菌株，其丙酸产量提高了 22.0%。Wang 等^[76]将来源于嗜热芽孢杆菌中的热休克蛋白 HSP 引入生产核黄素的枯草芽孢杆菌 446 中以增强菌株耐热性；改造后的菌株在 50 °C 热处理 10 h 下细胞存活率提高了 5 倍，将该菌株用于 43 °C 高温发酵生产核黄素，产量相比改造前提高了 66%。

3.3 适应性进化

适应性进化是指细胞在面对环境变化或压力时，通过遗传变异和自然选择过程而产生的适应能力的增强。通过这种适应性进化的技术，研究人员可以根据设定的环境压力对菌株进行驯化，从而获得不同的表型特征。常见的适应性进化应用场景有 2 种：底物谱的扩展与化学品耐受性提升。

3.3.1 底物谱的拓展

通过适应性进化技术，可以扩展细胞对底物的利用范围，使其能够利用原本不能利用的底物进行生长繁殖。化石燃料的过量使用导致了能源短缺和温室效应等环境问题，因此构建人工甲基营养菌，使微生物利用一碳化合物，成为缓解全球气候变化和能源危机的一种前景广阔的方法。例如，Zhan 等^[77]将工程模块电路策略与适应性实验室进化相结合，成功于工程酿酒酵母中应用，使其能够以甲醇作为唯一碳源进行生长。这一研究为扩大酿酒酵母在生化或生物燃料生产中作为潜在有机一碳平台的应用奠定了基础。另一方面，Reiter 等^[78]通过适应性进化将大肠杆菌在甲醇作为碳源培养基上的倍增时间从最初的 60 h 缩短到了 4.3 h；在分批补料的发酵条件下，该菌株的最大细胞密度 (OD_{600}) 可达到 100，衣康酸的产量达到 1 g/L，实现了人工甲基营养菌在高密度发酵工艺下生

物量和产量的双重突破。

3.3.2 化学品耐受性的提升

当理性改造策略不足以构建高抗逆菌株时，采用适应性进化来提高菌株对环境有毒物质的耐受性成为一种常用策略。例如，Chen 等^[79]发现，在工程大肠杆菌合成水杨酸的过程中，水杨酸对细胞产生较大毒性，发酵 48 h 后，细胞死亡率达到了 45%；为此，他们进行了水杨酸为压力的实验室适应性进化，将细胞对水杨酸的半抑制浓度从 0.65 g/L 提高到了 4 g/L。类似地，Wang 等^[80]针对大肠杆菌 PHE03 进行了 L-苯丙氨酸的适应性进化，以增强其对高浓度 L-苯丙氨酸的耐受性；经过进化，得到的菌株大肠杆菌 PHE04 在发酵 48 h 后，其最大细胞密度 (OD_{600}) 增加了 33%，死亡率降低了 42%。

4 总结与展望

细胞代谢与环境适应调控研究一直是生物工程和生命科学领域的一个重要热点。细胞通过膜上的各种载体蛋白或通道蛋白感受外界环境物质，并执行转运离子和营养物质的功能，真核细胞可以通过 G 蛋白偶联受体感受光和激素等环境信号，同时将感应到的信号传递给胞内的感应蛋白。细胞内的感应蛋白在接收到上游信号后，调控下游的基因表达以激活细胞的自适应调控反应。细胞的自适应调控主要通过代谢重编程、蛋白质稳态调控、细胞周期调节和抗氧化应激反应等方式，这些调控机制和细胞的感知能力协同作用，帮助细胞适应不断变化的 pH、温度、氧气等环境因素。

随着研究的不断深入，细胞膜上各种转运蛋白的结构逐渐被解析，转运机制逐步完善，胞内的信号传导通路和代谢调控网络也日渐明晰。尤其是近年来，随着组学技术和计算机技术的发展，关于细胞代谢与环境适应调控机制

的研究得到了强有力的技术支持。AI 技术可以通过基因组注释搜索基因组以识别具有潜在有用功能的基因。研究人员通过开发算法来提取遗传特征,在短期内有效地识别更多功能性基因,从而促进基因组注释^[81]。通过这种方式或许可以挖掘出更多的细胞感应和调控元件。细胞代谢与环境适应调控机制的研究未来的发展方向可以集中在 2 个方面:(1) 研究非模式生物中的自适应调控机制。近年来,越来越多的非模式生物,如热葡萄糖苷地芽孢杆菌^[82]、解脂耶氏酵母^[83]和多形汉逊酵母^[84]被用于有机酸、脂肪酸或天然产物的生产。与传统的大肠杆菌和酿酒酵母等模式生物相比,这些非模式生物表现出更强的耐受能力和更快的生长速率。然而,关于它们更强环境适应能力的机制研究仍相对较少。加强对非模式生物环境自适应调控机制和方法学的研究,将进一步发挥其高抗逆性优势打下基础。(2) 加强对不同细胞自适应调控机制的借鉴和学习,拓宽自适应调控机制的应用范围。研究细胞的自适应调控机制不仅可以加深对细胞生命活动的理解,还为解决工程应用中的实际生产问题提供了重要基础。目前,科研工作者的研究重心已从解析细胞天然的感知和自适应调控机制转向实际应用方面。例如,在生物工程领域,细胞的感知与自适应调控机制主要应用于动态调控细胞代谢、理性改造代谢工程菌株和适应性进化,以优化菌株性能,提高发酵产物的产量和得率。原核与真核细胞在分子机制上可能存在一些差异,但二者之间仍具有一定的参考和借鉴价值。例如,研究极端微生物耐受极端环境的机制,可以为工业微生物的基因改造提供指导。未来,加强不同物种或细胞类型自适应机制之间的相互借鉴,将进一步拓展细胞代谢与环境适应调控研究的应用范围。

作者贡献声明

刘源: 方案设计、初稿写作; 胡贵鹏、李晓敏: 方案设计、稿件润色修改; 刘佳: 数据收集、提供文献材料; 高聪、刘立明: 监督指导、稿件润色修改。

作者利益冲突公开声明

作者声明没有任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

REFERENCES

- [1] 诸葛健, 李华钟. 微生物学[M]. 2 版. 北京: 科学出版社, 2009.
ZHUGE J, LI HZ. Microbiology[M]. 2nd ed. Beijing: Science Press, 2009 (in Chinese).
- [2] 丁爽. 代谢工程改造大肠杆菌生产 L-色氨酸[D]. 无锡: 江南大学, 2023.
DING S. Metabolic engineering to transform *Escherichia coli* to produce L-tryptophan[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2023 (in Chinese)
- [3] 张丽, 高健, 刘长青, 邓丽娜. 耐受性工程调控微生物细胞工厂胁迫抗性[J]. 生物工程学报, 2022, 38(4): 1373-1389.
ZHANG L, GAO J, LIU CQ, DENG LN. Tolerance engineering regulates stress resistance of microbial cell factory[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2022, 38(4): 1373-1389 (in Chinese).
- [4] SHIN HY, NIJLAND JG, de WAAL PP, DRIESSEN AJM. The amino-terminal tail of Hxt11 confers membrane stability to the Hxt2 sugar transporter and improves xylose fermentation in the presence of acetic acid[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2017, 114(9): 1937-1945.
- [5] 沈观宇, 吴绵斌, 林建平, 杨立荣. 氨基酸生产菌的氨基酸外向转运蛋白研究进展[J]. 高校化学工程学报, 2018, 32(6): 1245-1254.
SHEN GY, WU MB, LIN JP, YANG LR. Advances in amino acid exporters of amino acid-producing bacteria[J]. Journal of Chemical Engineering of Chinese Universities, 2018, 32(6): 1245-1254 (in Chinese).
- [6] 聂铭, 杨裕然, 李振轮. 微生物胞内外 pH 稳态维持机制研究进展[J]. 微生物学报, 2024, 64(1): 1-13.
NIE M, YANG YR, LI ZL. Research progress in the mechanisms of maintaining intracellular and extracellular pH homeostasis in microorganisms[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2024, 64(1): 1-13 (in Chinese).
- [7] LECLERC NR, DUNNE TM, SHRESTHA S, JOHNSON CP, KELLEY JB. TOR signaling regulates

- GPCR levels on the plasma membrane and suppresses the *Saccharomyces cerevisiae* mating pathway[J/OL]. bioRxiv, 2024-05-09. DOI: 10.1101/2024.05.09.593412.
- [8] 姚宁, 鲁重, 王菲, 钟孝俊, 杨梦华. 双组分系统 EnvZ/OmpR 促进副溶血弧菌抵抗碱胁迫的作用机制[J]. 微生物学报, 2022, 62(12): 5043-5055.
YAO N, LU Z, WANG F, ZHONG XJ, YANG MH. The two-component system EnvZ/OmpR mediates alkaline stress tolerance of *Vibrio parahaemolyticus*[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2022, 62(12): 5043-5055 (in Chinese).
- [9] CONRAD M, SCHOTHORST J, KANKIPATI HN, van ZEEBROECK G, RUBIO-TEXEIRA M, THEVELEIN JM. Nutrient sensing and signaling in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2014, 38(2): 254-299.
- [10] LYNCH EM, HANSEN H, SALAY L, COOPER M, TIMR S, KOLLMAN JM, WEBB BA. Structural basis for allosteric regulation of human phosphofructokinase-1[J]. Nature Communications, 2024, 15(1): 7323.
- [11] CHAI PW, LAN PF, LI SB, YAO DQ, CHANG CC, CAO M, SHEN YF, GE SF, WU J, LEI M, FAN XQ. Mechanistic insight into allosteric activation of human pyruvate carboxylase by acetyl-CoA[J]. Molecular Cell, 2022, 82(21): 4116-4130.e6.
- [12] YAN NE. Structural advances for the major facilitator superfamily (MFS) transporters[J]. Trends in Biochemical Sciences, 2013, 38(3): 151-159.
- [13] 罗筱萍, 苏卜利, 邓名荣, 徐晓龙, 朱红惠. 代谢工程改造大肠杆菌合成 L-苏氨酸研究进展[J]. 微生物学报, 2024, 64(8): 2648-2660.
LUO XP, SU BL, DENG MR, XU XL, ZHU HH. Research progress of L-threonine synthesis by metabolic engineering in *Escherichia coli*[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2024, 64(8): 2648-2660 (in Chinese).
- [14] ARTIGAS P, GADSBY D C. Ion Channel: like Properties of the Na⁺/K⁺ Pump[J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 2006, 976(1): 31-40.
- [15] XIA JL, WANG HQ, LI S, WU QH, SUN L, HUANG HX, ZENG M. Ion channels or aquaporins as novel molecular targets in gastric cancer[J]. Molecular Cancer, 2017, 16(1): 54.
- [16] KUMARI M, KHATOON N, SHARMA R, ADUSUMILLI S, AUERBACH A, KASHYAP HK, NAYAK TK. Mechanism of hydrophobic gating in the acetylcholine receptor channel pore[J]. The Journal of General Physiology, 2024, 156(2): e202213189.
- [17] ZHENG, XD, FU, Z, SU, DY, ZHANG, YB, LI, MH, PAN, YP, LI, H, LI, SF, GRASSUCCI, R, REN, ZN, HU, ZS, LI, XM, ZHOU, MLI, GH, FRANK, J, YANG, J. Mechanism of ligand activation of a eukaryotic cyclic nucleotide: gated channel[J]. Nature Structural & Molecular Biology, 2020, 27(7): 625-634.
- [18] 汪明星. 金黄色葡萄球菌 HptA 识别 G6P 的分子机制研究和酿酒酵母 TRM6-TRM61 的结构生物学研究[D]. 合肥: 中国科学技术大学, 2018.
WANG MX. Study on the molecular mechanism of G6P recognition by *Staphylococcus aureus* HptA and the structural biology of *Saccharomyces cerevisiae* TRM6-TRM61[D]. Hefei: University of Science and Technology of China, 2018 (in Chinese).
- [19] GROISMAN EA, DUPREY A, CHOI J. How the PhoP/PhoQ system controls virulence and Mg²⁺ homeostasis: lessons in signal transduction, pathogenesis, physiology, and evolution[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2021, 85(3): e0017620.
- [20] 胡彤, 李爽, 钟卫鸿. 基于酸信号转导系统的细菌耐酸机制及其应用[J]. 生物工程学报, 2024, 40(3): 644-664.
HU T, LI S, ZHONG WH. Bacterial acid tolerance mechanism based on acid signal transduction system and its applications[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(3): 644-664 (in Chinese).
- [21] DENG C, WU YK, LV XQ, LI JH, LIU YF, DU GC, CHEN J, LIU L. Refactoring transcription factors for metabolic engineering[J]. Biotechnology Advances, 2022, 57: 107935.
- [22] REXIUS-HALL ML, REHMAN J, EDDINGTON DT. A microfluidic oxygen gradient demonstrates differential activation of the hypoxia-regulated transcription factors HIF-1 α and HIF-2 α [J]. Integrative Biology, 2017, 9(9): 742-750.
- [23] AIZAZ M, Lubna, JAN R, ASAF S, BILAL S, KIM KM, AL-HARRASI A. Regulatory dynamics of plant hormones and transcription factors under salt stress[J]. Biology, 2024, 13(9): 673.
- [24] WU QH, WU WD, KUCA K. From hypoxia and hypoxia-inducible factors (HIF) to oxidative stress: a new understanding of the toxic mechanism of mycotoxins[J]. Food and Chemical Toxicology, 2020, 135: 110968.
- [25] SCHUMACHER MA, SALINAS R, TRAVIS BA, SINGH RR, LENT N. M. Mazei glutamine synthetase and glutamine synthetase-GlnK1 structures reveal enzyme regulation by oligomer modulation[J]. Nature Communications, 2023, 14(1): 7375.
- [26] HERZIG S, SHAW RJ. AMPK: guardian of metabolism and mitochondrial homeostasis[J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2018, 19(2): 121-135.
- [27] MacLEAN A, LEGENDRE F, APPANNA VD. The tricarboxylic acid (TCA) cycle: a malleable metabolic network to counter cellular stress[J]. Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology, 2023, 58(1): 81-97.
- [28] SUGIYAMA M, SASANO Y, HARASHIMA S. Mechanism of yeast adaptation to weak organic acid stress[M]//Stress Biology of Yeasts and Fungi. Tokyo: Springer Japan, 2015: 107-121.
- [29] PRODROMOU C. Mechanisms of Hsp90 regulation[J]. The Biochemical Journal, 2016, 473(16): 2439-2452.
- [30] 雷婷婷, 陈良仲, 陈绍兴, 沈亮. 微生物对低温极端

- 环境适应性的研究进展[J]. 微生物学报, 2022, 62(6): 2150-2164.
- LEI TT, CHEN LZ, CHEN SX, SHEN L. Progress in research on the adaptability of microorganisms to extremely cold environments[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2022, 62(6): 2150-2164 (in Chinese).
- [31] TOLLA DA, SAVAGEAU MA. Regulation of aerobic-to-anaerobic transitions by the FNR cycle in *Escherichia coli*[J]. Journal of Molecular Biology, 2010, 397(4): 893-905.
- [32] EDIBEI MF, WAHAB RA, HUYOP F. Halophiles: biology, adaptation, and their role in decontamination of hypersaline environments[J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2016, 32(8): 135.
- [33] ENE IV, WALKER LA, SCHIAVONE M, LEE KK, MARTIN-YKEN H, DAGUE E, GOW NAR, MUNRO CA, BROWN AJP. Cell wall remodeling enzymes modulate fungal cell wall elasticity and osmotic stress resistance[J]. mBio, 2015, 6(4): e00986.
- [34] 吴迪, 程艺超, 姜娇, 刘延琳. 酵母中葡萄糖阻遏作用机制研究进展[J]. 微生物学报, 2023, 63(9): 3409-3427.
- WU D, CHENG YC, JIANG J, LIU YL. Mechanism of glucose repression in yeast[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2023, 63(9): 3409-3427 (in Chinese).
- [35] SUKUMARAN A, CHOI K, DASGUPTA B. Insight on transcriptional regulation of the energy sensing AMPK and biosynthetic mTOR pathway genes[J]. Frontiers in Cell and Developmental Biology, 2020, 8: 671.
- [36] 陈雷. AMP 激活的蛋白质激酶(AMPK)调控机制的研究[D]. 北京: 清华大学, 2010.
- CHEN L. Study on the regulatory mechanism of AMP-activated protein kinase (AMPK)[D]. Beijing: Tsinghua University, 2010 (in Chinese)
- [37] LIU Y, FU TL, LI GR, LI BY, LUO GQ, LI N, GENG Q. Mitochondrial transfer between cell crosstalk - An emerging role in mitochondrial quality control[J]. Ageing Research Reviews, 2023, 91: 102038.
- [38] 程万琪, 侯骞尧, 刘春风, 钮成拓, 郑飞云, 李崎, 王金晶. 线粒体自噬基因对酿酒酵母抗氧化性能的影响[J]. 生物工程学报, 2023, 39(8): 3464-3480.
- CHENG WQ, HOU QY, LIU CF, NIU CT, ZHENG FY, LI Q, WANG JJ. Effect of mitophagy related genes on the antioxidant properties of *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(8): 3464-3480 (in Chinese).
- [39] XI YY, XU HT, ZHAN T, QIN Y, FAN FY, ZHANG XL. Metabolic engineering of the acid-tolerant yeast *Pichia kudriavzevii* for efficient L-malic acid production at low pH[J]. Metabolic Engineering, 2023, 75: 170-180.
- [40] SONG JY, PARK JS, KANG CD, CHO HY, YANG D, LEE S, CHO KM. Introduction of a bacterial acetyl-CoA synthesis pathway improves lactic acid production in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Metabolic Engineering, 2016, 35: 38-45.
- [41] SCHORMANN N, HAYDEN KL, LEE P, BANERJEE S, CHATTOPADHYAY D. An overview of structure, function, and regulation of pyruvate kinases[J]. Protein Science, 2019, 28(10): 1771-1784.
- [42] 黄园园. 谷氨酸棒状杆菌 ATCC 14067 中 L-精氨酸合成途径的反馈抑制机制解析及其代谢工程改造[D]. 广州: 华南理工大学, 2018.
- HUANG YY. Analysis of feedback inhibition mechanism of L-arginine synthesis pathway in *Corynebacterium glutamicum* ATCC 14067 and its metabolic engineering transformation[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2018 (in Chinese)
- [43] 殷娴. 黑曲霉高产柠檬酸机制及代谢调控研究[D]. 无锡: 江南大学, 2017.
- YIN X. Study on mechanism and metabolic regulation of high citric acid production by *Aspergillus niger*[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2017 (in Chinese).
- [44] MORIGNY P, BOUCHER J, ARNER P, LANGIN D. Lipid and glucose metabolism in white adipocytes: pathways, dysfunction and therapeutics[J]. Nature Reviews Endocrinology, 2021, 17(5): 276-295.
- [45] LU PL, MA D, CHEN YL, GUO YY, CHEN GQ, DENG HT, SHI YG. L-glutamine provides acid resistance for *Escherichia coli* through enzymatic release of ammonia[J]. Cell Research, 2013, 23(5): 635-644.
- [46] MALLICK S, DAS S. Acid-tolerant bacteria and prospects in industrial and environmental applications[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2023, 107(11): 3355-3374.
- [47] KANJEE U, HOURS WA. Mechanisms of acid resistance in *Escherichia coli*[J]. Annual Review of Microbiology, 2013, 67: 65-81.
- [48] SHEIKH SW, ALI A, AHSAN A, SHAKOOR S, SHANG F, XUE T. Insights into emergence of antibiotic resistance in acid-adapted enterohaemorrhagic *Escherichia coli*[J]. Antibiotics, 2021, 10(5): 522.
- [49] 李秋莹, 张东栋, 王司雯, 孙彤, 李婷婷, 励建荣. 食源性细菌低温适应的分子机制研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(5): 246-252.
- LI QY, ZHANG DD, WANG SW, SUN T, LI TT, LI JR. Advances in molecular mechanisms of cold-adapting foodborne bacteria[J]. Food and Fermentation Industries, 2019, 45(5): 246-252 (in Chinese).
- [50] 高明阳, 吴玉湖, 杨宣叶, 王进千, 胡欣妍, 周建华. 蛋白质动态平衡网络维稳机制的研究进展[J]. 生物工程学报, 2024, 40(2): 434-445.
- GAO MY, WU YH, YANG XY, WANG JQ, HU XY, ZHOU JH. Research progress on stability mechanism of dynamic balance network in protein[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(2): 434-445 (in Chinese).
- [51] RIKHVANOV EG, LUKINA EA, VARAKINA NN, RUSALEVA TM, GAMBURG KZ, KNORRE DA, BOROVSKII GB, VOINIKOV VK. Mitochondria as a critical element of heat shock response in yeasts with different types of energy metabolism[J]. Russian

- Journal of Plant Physiology, 2006, 53(5): 615-621.
- [52] CACACE G, MAZZEO MF, SORRENTINO A, SPADA V, MALORNI A, SICILIANO RA. Proteomics for the elucidation of cold adaptation mechanisms in *Listeria monocytogenes*[J]. Journal of Proteomics, 2010, 73(10): 2021-2030.
- [53] ZHANG J, WEI YH, YUE YB, JIAO HK, WU Y, FU W, LIN KM, LU C, MOU S, ZHONG Q. RIPK4 promotes oxidative stress and ferroptotic death through the downregulation of ACSM1[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2024, 121(40): e2410628121.
- [54] HOU S, GAO C, LIU J, CHEN XL, WEI WQ, SONG W, HU GP, LI XM, WU J, LIU LM. Med3-mediated NADPH generation to help *Saccharomyces cerevisiae* tolerate hyperosmotic stress[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2024, 90(8): e0096824.
- [55] ZHAO CR, YOU ZL, CHEN DD, HANG J, WANG ZB, JI M, WANG LX, ZHAO P, QIAO J, YUN CH, BAI L. Structure of a fungal 1,3- β -glucan synthase[J]. Science Advances, 2023, 9(37): eadh7820.
- [56] BLOMBERG A. Yeast osmoregulation – glycerol still in pole position[J]. FEMS Yeast Research, 2022, 22(1): foac035.
- [57] BROACH JR. Nutritional control of growth and development in yeast[J]. Genetics, 2012, 192(1): 73-105.
- [58] BEOPOULOS A, DESFOUGERES T, SABIROVA J, ZINJARDE S, NEUVÉGLISE C, NICAUD JM. The hydrocarbon-degrading oleaginous yeast *Yarrowia lipolytica*[M]//Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2010: 2111-2121.
- [59] BAE JH, KIM HJ, KIM MJ, SUNG BH, JEON JH, KIM HS, JIN YS, KWEON DH, SOHN JH. Direct fermentation of Jerusalem artichoke Tuber powder for production of L-lactic acid and D-lactic acid by metabolically engineered *Kluyveromyces marxianus*[J]. Journal of Biotechnology, 2018, 266: 27-33.
- [60] KHAN A, SINGH P, SRIVASTAVA A. Iron: Key player in cancer and cell cycle?[J]. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 2020, 62: 126582.
- [61] 于政, 申晓林, 孙新晓, 王佳, 袁其朋. 动态调控策略在代谢工程中的应用研究进展[J]. 合成生物学, 2020, 1(4): 440-453.
YU Z, SHEN XL, SUN XX, WANG J, YUAN QP. Application of dynamic regulation strategies in metabolic engineering[J]. Synthetic Biology Journal, 2020, 1(4): 440-453 (in Chinese).
- [62] 叶健文, 陈江楠, 张旭, 吴赴清, 陈国强. 动态调控: 一种高效的细胞工厂工程化代谢改造策略[J]. 生物技术通报, 2020, 36(6): 1-12.
YE JW, CHEN JN, ZHANG X, WU FQ, CHEN GQ. Dynamic control: an efficient strategy for metabolically engineering microbial cell factories[J]. Biotechnology Bulletin, 2020, 36(6): 1-12 (in Chinese).
- [63] XU P, LI LY, ZHANG FM, STEPHANOPOULOS G, KOFFAS M. Improving fatty acids production by engineering dynamic pathway regulation and metabolic control[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2014, 111(31): 11299-11304.
- [64] WANG M, WANG HM, GAO C, WEI WQ, LIU J, CHEN XL, HU GP, SONG W, WU J, ZHANG F, LIU LM. Efficient production of protocatechuic acid using systems engineering of *Escherichia coli*[J]. Metabolic Engineering, 2024, 82: 134-146.
- [65] WANG X, HAN JN, ZHANG X, MA YY, LIN YN, WANG H, LI DJ, ZHENG TR, WU FQ, YE JW, CHEN GQ. Reversible thermal regulation for bifunctional dynamic control of gene expression in *Escherichia coli*[J]. Nature Communications, 2021, 12(1): 1411.
- [66] BAÑARES AB, VALDEHUESA KNG, RAMOS KRM, NISOLA GM, LEE WK, CHUNG WJ. A pH-responsive genetic sensor for the dynamic regulation of D-xylonic acid accumulation in *Escherichia coli*[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2020, 104(5): 2097-2108.
- [67] SALINAS F, ROJAS V, DELGADO V, AGOSIN E, LARRONDO LF. Optogenetic switches for light-controlled gene expression in yeast[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2017, 101(7): 2629-2640.
- [68] HWANG HJ, KIM JW, JU SY, PARK JH, LEE PC. Application of an oxygen-inducible nar promoter system in metabolic engineering for production of biochemicals in *Escherichia coli*[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2017, 114(2): 468-473.
- [69] HARDER BJ, BETTENBROCK K, KLAMT S. Temperature-dependent dynamic control of the TCA cycle increases volumetric productivity of itaconic acid production by *Escherichia coli*[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2018, 115(1): 156-164.
- [70] HE XY, CHEN Y, LIANG QF, QI QS. Autoinduced AND gate controls metabolic pathway dynamically in response to microbial communities and cell physiological state[J]. ACS Synthetic Biology, 2017, 6(3): 463-470.
- [71] LIANG GJ, LIU CP, LIU J, XU XC, WU J, SONG W, HU GP, WEI WQ, LI XM, ZHAO JX, LIU LM, GAO C. Designing autonomous biological switches to rewrite carbon flux for chemical production in *Escherichia coli*[J]. ACS Sustainable Chemistry & Engineering, 2024, 12(39): 14492-14504.
- [72] LIU TT, SUN L, ZHANG C, LIU YF, LI JH, DU GC, LV XQ, LIU L. Combinatorial metabolic engineering and process optimization enables highly efficient production of L-lactic acid by acid-tolerant *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Bioresource Technology, 2023, 379: 129023.
- [73] TRAN VG, MISHRA S, BHAGWAT SS, SHAFAEI S, SHEN YH, ALLEN JL, CROSLY BA, TAN SI, FATMA Z, RABINOWITZ JD, GUEST JS, SINGH V, ZHAO HM. An end-to-end pipeline for succinic acid production at an industrially relevant scale using

- Issatchenkia Orientalis*[J]. Nature Communications, 2023, 14(1): 6152.
- [74] SINGH A, SOH KC, HATZIMANIKATIS V, GILL RT. Manipulating redox and ATP balancing for improved production of succinate in *E. coli*[J]. Metabolic Engineering, 2011, 13(1): 76-81.
- [75] GUAN NZ, LI JH, SHIN HD, DU GC, CHEN J, LIU L. Metabolic engineering of acid resistance elements to improve acid resistance and propionic acid production of *Propionibacterium jensenii*[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2016, 113(6): 1294-1304.
- [76] WANG JY, WANG WS, WANG HZ, YUAN F, XU Z, YANG KQ, LI ZL, CHEN YH, FAN KQ. Improvement of stress tolerance and riboflavin production of *Bacillus subtilis* by introduction of heat shock proteins from thermophilic *Bacillus* strains[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2019, 103(11): 4455-4465.
- [77] ZHAN CJ, LI XW, LAN GX, BAIDOO EEK, YANG YK, LIU YZ, SUN Y, WANG SJ, WANG YY, WANG GK, NIELSEN J, KEASLING JD, CHEN Y, BAI ZH. Reprogramming methanol utilization pathways to convert *Saccharomyces cerevisiae* to a synthetic methylotroph[J]. Nature Catalysis, 2023, 6: 435-450.
- [78] REITER MA, BRADLEY T, BÜCHEL LA, KELLER P, HEGEDIS E, GASSLER T, VORHOLT JA. A synthetic methylotrophic *Escherichia coli* as a chassis for bioproduction from methanol[J]. Nature Catalysis, 2024, 7(5): 560-573.
- [79] CHEN CH, GAO C, HU GP, WEI WQ, WANG XG, WEN J, CHEN XL, LIU LM, SONG W, WU J. Rational and semirational approaches for engineering salicylate production in *Escherichia coli*[J]. ACS Synthetic Biology, 2024, 13(11): 3563-3575.
- [80] WANG XG, QIU C, CHEN CH, GAO C, WEI WQ, SONG W, WU J, LIU LM, CHEN XL. Metabolic engineering of *Escherichia coli* for high-level production of L-phenylalanine[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2024, 72(19): 11029-11040.
- [81] GONG XY, ZHANG JL, GAN Q, TENG YX, HOU JX, LYU YJ, LIU ZL, WU ZH, DAI RP, ZOU YS, WANG XQ, ZHU DJ, ZHU HT, LIU TM, YAN YJ. Advancing microbial production through artificial intelligence-aided biology[J]. Biotechnology Advances, 2024, 74: 108399.
- [82] LIU JQ, HAN X, TAO F, XU P. Metabolic engineering of *Geobacillus thermoglucosidasius* for polymer-grade lactic acid production at high temperature[J]. Bioresource Technology, 2024, 393: 130164.
- [83] CUI ZY, ZHONG YT, SUN ZJ, JIANG ZN, DENG JY, WANG Q, NIELSEN J, HOU J, QI QS. Reconfiguration of the reductive TCA cycle enables high-level succinic acid production by *Yarrowia lipolytica*[J]. Nature Communications, 2023, 14(1): 8480.
- [84] GAO JQ, LI YX, YU W, ZHOU YJ. Rescuing yeast from cell death enables overproduction of fatty acids from sole methanol[J]. Nature Metabolism, 2022, 4(7): 932-943.