

· 综述 ·

合成微生物群落构建及其在聚羟基脂肪酸酯生物合成中的应用

白歆奕¹, 张梦君^{2,3}, 张广豹¹, 黄艺^{1,2,3*}

1 北京大学环境科学与工程学院, 北京 100871

2 北京大学深圳研究院, 广东 深圳 518057

3 深港产学研基地(北京大学香港科技大学深圳研修院), 广东 深圳 518057

白歆奕, 张梦君, 张广豹, 黄艺. 合成微生物群落构建及其在聚羟基脂肪酸酯生物合成中的应用[J]. 生物工程学报, 2024, 40(3): 722-738.

BAI Xinyi, ZHANG Mengjun, ZHANG Guangbao, HUANG Yi. Construction of synthetic microbial community and its application in polyhydroxyalkanoate biosynthesis[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(3): 722-738.

摘要: 合成微生物群落是由多种遗传背景清晰的微生物构成的人工系统, 具有复杂度低、可控性高、稳定性强等优势, 适用于工业生产、人类健康和环境修复等领域。本文在综述合成微生物群落的设计原理和构建方法基础上, 特别聚焦其在聚羟基脂肪酸酯(polyhydroxyalkanoate, PHA)生物合成中的应用。作为合成生态学的核心内容、合成生物学的新兴前沿, 构建高效、稳定、可控的合成微生物群落需要制定相应策略来调控微生物相互作用、空间结构组装、鲁棒性维持和生物防护。近年来, 合成微生物群落已应用于生产药物、生物燃料、生物材料等高价值化学品, 其中 PHA 作为传统塑料的理想替代品受到密切关注。提升并扩大 PHA 合成菌株的碳源利用能力和范围, 降低 PHA 生产成本, 成为合成微生物群落应用于 PHA 生物合成的研究重点。

关键词: 合成微生物群落; 合成生态学; 合成生物学; 微生物群落构建; 生物合成; 聚羟基脂肪酸酯; 碳源利用

资助项目: 广东省海洋经济发展(海洋六大产业)专项资金(粤自然资合[2022]037号); 中国博士后科学基金(2022M720280); 广东省基础与应用基础研究基金(2022A1515110814)

This work was supported by the Key Program of Marine Economy Development (Six Marine Industries) Special Foundation of Department of Natural Resources of Guangdong Province (GDNRC[2022]037), the China Postdoctoral Science Foundation (2022M720280), and the Guangdong Basic and Applied Basic Research Foundation (2022A1515110814).

*Corresponding author. E-mail: yhuang@pku.edu.cn

Received: 2023-07-03; Accepted: 2023-09-22

Construction of synthetic microbial community and its application in polyhydroxyalkanoate biosynthesis

BAI Xinyi¹, ZHANG Mengjun^{2,3}, ZHANG Guangbao¹, HUANG Yi^{1,2,3*}

1 College of Environmental Sciences and Engineering, Peking University, Beijing 100871, China

2 Peking University Shenzhen Institute, Shenzhen 518057, Guangdong, China

3 PKU-HKUST Shenzhen-Hongkong Institution, Shenzhen 518057, Guangdong, China

Abstract: Synthetic microbial communities are artificial systems composed of multiple microorganisms with well-defined genetic backgrounds. They are characterized by low complexity, high controllability, and strong stability, thus suitable for industrial production, disease management, and environmental remediation. This review summarizes the design principles and construction methods of synthetic microbial communities, and highlights their application in polyhydroxyalkanoate (PHA) biosynthesis. Constructing a synthetic microbial community represents a core research direction of synthetic ecology and an emerging frontier of synthetic biology. It requires strategies to design and control microbial interactions, spatial organization, robustness maintenance, and biocontainment to obtain an efficient, stable, and controllable synthetic microbial community. In recent years, synthetic microbial communities have been widely used to synthesize high-value chemicals such as drugs, biofuels, and biomaterials. As an ideal substitute for oil-based plastics, PHA has received much attention. Enhancing the capacity and broadening the range of carbon source utilization for PHA producers have become the research priority in the application of synthetic microbial communities for PHA biosynthesis, with the aim to reduce PHA production cost.

Keywords: synthetic microbial community; synthetic ecology; synthetic biology; microbial community construction; biosynthesis; polyhydroxyalkanoate; carbon source utilization

合成生态学是合成生物学与微生物生态学交叉形成的新兴研究方向，正成为合成生物学的新研究热点。其主要工作是在研究自然界中微生物群落结构、功能和互作关系的基础上，理性设计并构建稳定、可控的微生物群落以实现特定的生物转化^[1]，例如利用低成本原料进行高价值化学品的生物合成^[2]、降解有毒污染物实现无害化处理^[3]等。

合成生态学研究的核心是构建满足特定需求的合成微生物群落。这些合成体系在科学研究及实际应用方面具有诸多优势，主要表现在：(1) 面对外界环境扰动时，比单一菌株表

现出更强的适应力与鲁棒性；(2) 通过拆解复杂生化任务，在不同成员间实现劳动分工，不仅可有效降低微生物的代谢负担，还能够执行单一物种无法完成的功能；(3) 群落成员间可通过代谢物、信号分子或物理接触等方式进行沟通交流，从而协调群体的行为；(4) 相较于自然微生物群落，组成明确简单，适合研究群落结构与功能间的关系；(5) 组成物种的遗传背景清晰，可作为模型探索微生物相互作用机制^[4]。因此，在采用合成生物技术的基础上，对目标建群物种进行遗传改造，协调群落整体功能并提高效率，促进微生物资源的整合开发与应

用,是当前合成生态学领域的重要研究方向及关键驱动所在。

作为合成生物学的新兴前沿,基于合成或降解目标化合物、改善肠道微环境^[5]等功能,合成微生物群落在工业生产、环境修复、人类健康等领域拥有广阔的应用前景,其在生物合成中的应用受到研究者密切关注,主要集中在生产药物、生物能源、生物材料等高价产品。将合成微生物群落应用于该领域,合理设计并构建高效、稳定、可控的生物体系是重中之重。本文将综述合成微生物群落的设计原理,提出合成微生物群落的构建策略与方法,并聚焦合成微生物群落在聚羟基脂肪酸酯(polyhydroxyalkanoate, PHA)生物合成中的应用,为合成生态学研究向实际应用转化提供新思路。

1 合成微生物群落的设计和构建

微生物群落是在同一空间或环境内各种微生物种群的集合^[6],按来源可分为自然微生物群落和合成微生物群落。自然微生物群落在生物地球化学循环中发挥重要作用,同时也是污水处理、食品加工和环境修复等工程实践中生物工艺的核心。受自然微生物群落的启发,合

成生物学从传统的单菌改造拓展至多菌体系的构建。区别于单一菌株,微生物群落可通过分工合作减轻各成员的代谢负荷,提高效率,增强对环境的适应力,但仍存在体系难以精准调控、难以维持长期稳定等问题(表 1)。设计并构建高效、稳定、可控的合成微生物群落,是其迈向实际应用的关键和挑战。

1.1 微生物相互作用设计

微生物群落中,各物种通过相互作用有序协调地聚集,构成具有特定结构和功能的生物体系^[7]。不同成员间可形成偏利共生、偏害共生、捕食、竞争、互利共生和 6 种相互作用关系。可根据微生物群落的功能目标,基于细胞间通讯或代谢物交流,对物种间相互作用进行设计,并以此为基础构建合成微生物群落。

1.1.1 基于细胞间通讯设计物种间相互作用关系

细胞间通讯是微生物群落各成员表现群体行为、实现预期功能的重要前提,其中群体感应(quorum sensing, QS)是研究最充分的通讯机制^[8-9]。通过合理设计 QS 系统,不同物种可交换信号分子进行细胞间交流,从而调节群落整体的结构与功能。

表 1 单一菌株与微生物群落的比较

Table 1 Comparison between microbial monoculture and microbial community

	Microbial monoculture	Microbial community
Advantage	<ol style="list-style-type: none"> 1. Clear genetic background 2. Mature molecular technologies 3. Ease of operation and regulation 4. Widely used in research and industry 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Better performance and able to carry out complicated tasks 2. Reducing metabolic burden and stress on each member 3. Stronger adaptability and stability to environment perturbations 4. Better utilization of carbon sources and broader substrate spectrum
Disadvantage	<ol style="list-style-type: none"> 1. Exerting specific and limited function 2. Potential feedback inhibition 3. Exclusiveness to foreign genes 4. Huge load and metabolic imbalance 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Limited knowledge on microbial interactions and function flexibility 2. Hard to tune the proportion and behavior of diverse subpopulations 3. Difficult to predict long-term behavior and maintain homeostasis 4. Lacking efficient tools for genome-editing non-model microbes

基于 QS 系统已成功构建具有多种相互作用关系的合成微生物群落。其中,成员间单向相互作用关系的设计相对简单,主要强调某些成员对另外成员的抑制或促进作用。例如,Dalta 等^[10]设计大肠杆菌(*Escherichia coli*) NB003 分泌 QS 分子进入 *E. coli* DZ10,并催化胞内裂解基因表达,从而抑制其生长。更多研究则在构建具有双向互作关系的合成微生物群落,即在组成物种间设计彼此响应的基因反馈电路,进而形成捕食、竞争等关系。这些研究来源于对自然微生物群落中复杂生态网络的认识,例如 Bahram 等^[11]发现竞争是土壤微生物常见的互作类型并驱动生态位分离。Kong 等^[12]利用乳酸链球菌素和抗菌肽在乳酸乳球菌(*Lactococcus lactis*)间建立捕食关系,为复杂合成微生物群落提供模块化组装的构建思路。Jiang 等^[13]利用 2 组 QS 传感

模块,并与毒素-抗毒素系统耦合,成功构建了表现竞争和互利共生的合成微生物群落。因此,利用 QS 系统实现细胞间通信,提高对自然界中微生物相互作用的认识,有助于合成微生物群落的构建并预测更加复杂的群落行为及功能。

1.1.2 基于代谢物交换设计物种间相互作用关系

代谢物交换是微生物互作的另一种方式,在自然微生物群落中普遍存在^[14-15],例如海底沉积物中硫氧化菌和厌氧氨氧化菌关于含氮化合物的原位交换^[16]。受此启发,构建合成微生物群落时,可在不同物种间设计特定的代谢物交换,以建立积极的互作关系(图 1)。

自然界中表现偏利共生和互利共生的微生物群落不计其数,甚至存在于冰尘这种极端环

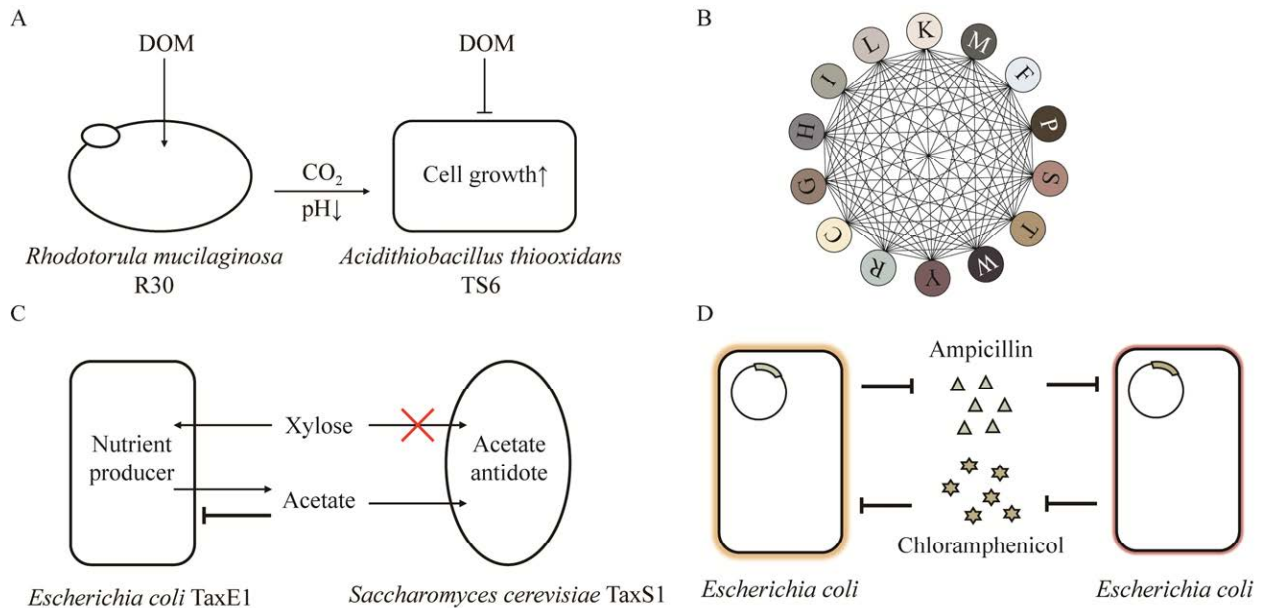


图 1 基于代谢物交换构建具有积极相互作用的合成微生物群落 A: 偏利共生. B: 基于交叉喂养的互利共生. C: 基于“营养供应-解毒”的互利共生. D: 基于交叉保护的互利共生

Figure 1 Construction of synthetic microbial communities with positive interactions based on metabolite exchange. A: Commensalism. B: Mutualism based on cross-feeding. C: Mutualism based on “nutrition supply-detoxification”. D: Mutualism based on cross-protection.

境^[17], 暗示其重要的生态功能。可设计一物种分泌特定物质促进另一物种生长(图 1A), 或是消耗某种抑制物缓解抑制作用, 在成员间建立偏利共生关系^[18-20]。然而, 简单的相互作用难以维持群落稳定, 需要设计更为复杂的互作关系加强种间依赖, 细胞间相互作用的复杂性在塑造微生物群落功能与稳定性方面发挥着重要作用^[21]。

互利共生作为一种备受关注的互作关系, 可在不同物种间建立起有效的交流模式, 从而显著影响微生物群落的动态及功能^[22], 是微生物群落中最理想、最普遍的互作关系。交叉喂养是其中研究最多的构建机制, 通常采用基因敲除手段获得相互依赖的营养缺陷体。基于这种强制性合作, 合成微生物群落得以构建^[23-25], 经典的例子是设计 14 种氨基酸合成缺陷菌株(图 1B), 彼此间形成高度依赖的动态相互作用。近几年也有学者提出特定维生素和辅因子的营养缺陷型菌株是理想的合作者^[26], 该设计在维持菌株相互依赖的同时又支持微生物快速生长。因此, 经理性设计, 合成微生物群落各成员可利用有限的资源共享生存优势, 在不同的生态位实现稳定共存并发挥相应功能^[27-28]。

“营养供应-解毒”也是互利共生关系建立的重要机制, 允许合成微生物群落成员协同生长^[29]。在这种设计中, 一菌株的代谢产物会对自身生长产生不利影响, 而另一菌株能够将该物质有效吸收并转化, 从而降低其对营养供应菌株的毒害作用(图 1C)。这种互惠关系可使各物种比例达到相对平衡并提高体系的转化效率, 适用于生物合成、环境修复等工程实践^[30-31]。

多数互利共生的研究主要集中在初级代谢产物的互惠交换, 也有利用次级代谢产物(如抗生素)建立良好的合作关系, 即交叉保护。合成耐药性酶是细菌耐受抗生素的常见机制^[32],

Yurtsev 等^[33]由此开发了 2 株 *E. coli* 组成的合成微生物群落, 可适应 2 种抗生素存在的不利环境, 而单一菌株无法实现(图 1D)。这种强制、有效且稳定的新型合作关系有望在塑造细菌群落结构、控制耐药基因传播等方面发挥重要作用。

综上所述, 互利共生关系理性设计能够增强物种间依赖, 维持群落生态稳定, 同时促进群落发挥相应功能。对其赋予的环境抗干扰及弹性机制进行深入研究, 将为构建动态可预测、效能提高的合成微生物群落提供理论指导。

1.2 群落空间结构组装

生物技术应用常发生在混合良好的体系中^[34-35], 而在自然或人工系统内均观察到微生物群落呈现特定的空间分布特征^[36-38]。因此, 理性设计群落空间结构, 发挥微生物不同资源可用性的优势, 以更大程度地发挥群落的预期功能。可基于物理环境和基因电路构建具有特定空间结构的合成微生物群落, 并通过计算和数学建模指导群落的优化及应用(图 2)。

基于物理环境的空间分离工程已应用于合成微生物群落的构建^[39]。例如, Burmeister 等^[40]利用微流控装置对物种间相互作用实现精准调控, 提高了合成微生物群落的可预测性及环境适应度。合成生物学与材料学科交叉的最新研究则将单一微生物包裹在聚合物微球内, 由此形成多组工程菌群模块(图 2A), 并实现合成微生物群落的定制化组装^[41]。在这种新颖设计中, 即使不同种类的微生物在生长速率等方面表现出较大差异, 仍可通过独立的空间结构和确定的承载能力来平衡各菌株的生长。除此之外, 基因电路也是调控群落空间结构的有效工具^[42], 可通过激活细胞内黏附素、配体受体或其他分子的表达^[43-45], 在合成微生物群落中形成特定的空间分布。Glass 等^[44]设计了表面结合纳米抗

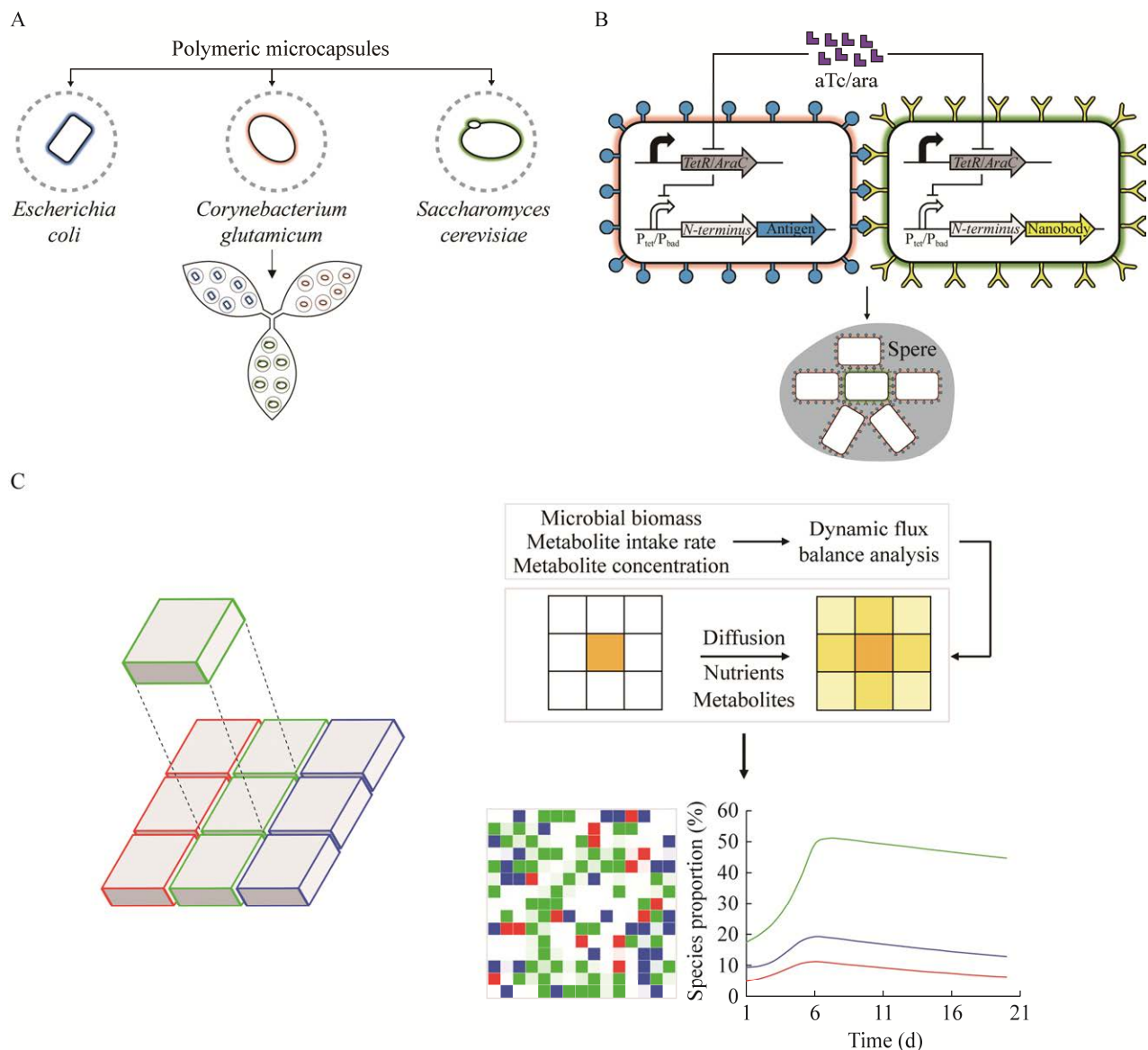


图2 构建具有不同空间组织结构的合成微生物群落 A: 聚合物微生物微球. B: 表面结合纳米抗体和抗原基因电路. C: 微生物生态系统时空计算模型

Figure 2 Construction of synthetic microbial communities with different spatial structures. A: Polymeric microbial swarmbots. B: Genetic circuit of surface-bound nanobodies and antigens. C: Computation models of microbial ecosystems in time and space.

体和抗原基因电路(图 2B), 以精准操控细胞间黏附作用, 使有效调控合成微生物群落的空间组装成为可能。

群落分析和计算方法的发展促进了对微生物群落动态与功能的理解, 允许在时空尺度上

对合成体系实现更为复杂的设计与控制。例如, Harcombe 等^[46]构建的微生物生态系统时空计算模型集成动态通量平衡分析和网格扩散(图 2C), 准确预测了多个合成微生物群落的时空动态。Wu 等^[47]基于数学建模阐明了空间分离影响群

落结构的机制，为调控微生物群落结构和种群丰度提供指导。运动性和趋化性对空间结构的驱动作用也已得到证实^[48]，由此提出的多尺度计算框架适用于时空动态模拟，进而允许在合成微生物群落中实现理想的空间结构组装。

1.3 群落鲁棒性维持

鲁棒性指面对干扰时维持原有结构和功能的能力，是微生物群落的关键特征^[49]。自然微生物群落的稳定性及生态功能会受到环境胁迫增加的破坏^[50]。而在微生物群落实际培养的过程中，可能会遇见如突变体出现、作弊者(受益于公共产品却不做出任何贡献的物种)产生并壮大、成员间竞争加强等内部干扰，从而无法充分发挥群落的目标功能。在构建合成微生物群落时，其对抗扰动的稳健性应是重点考虑的因素(图 3)。

控制突变体出现以增强群落鲁棒性。合成生物学普遍使用基因电路控制细胞活动，并将重组元件整合至染色体或制定质粒稳定化策略，以减少选择压力引起的调控功能丢失^[51-52]。除此之外，利用“石头剪刀布”的制衡策略^[53]，即周期性的种群控制，也能够提高基因电路的遗传稳定性(图 3A)。该设计可与其他传统策略结合，用于构建无需选择压力仍可长期保持稳态的合成微生物群落，为其在生物合成、环境修复和疾病治疗等实践应用提供保障。

强化合作关系以提高群落鲁棒性的研究也被陆续报道^[25,54-55]。然而在培养过程中，功能菌种合成的产品可供任何成员使用，可能导致作弊者滋生并壮大，进而造成“公地悲剧”^[56]甚至是群落崩溃。限制作弊者产生已成为鲁棒性维持的一大挑战。对此，Scarinci 等^[57]证实细胞

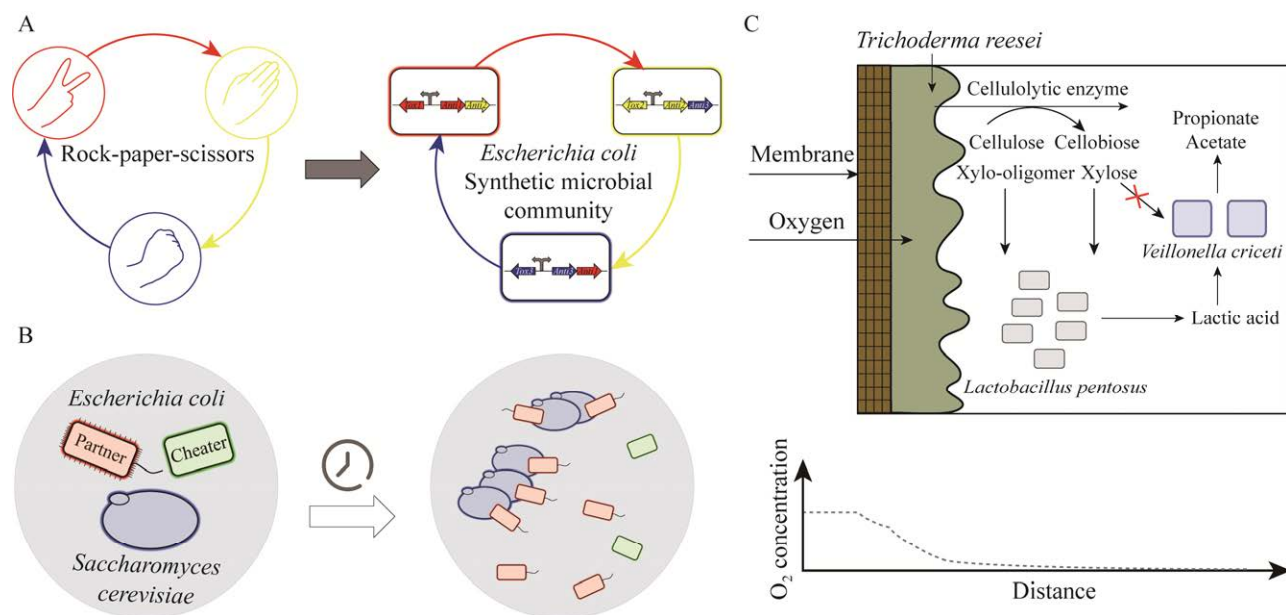


图 3 构建应对扰动维持鲁棒的合成微生物群落 A: “石头剪刀布”策略控制突变体出现. B: 提高细胞间黏附作用和运动性限制作弊者产生. C: 膜生物反应器设计协调成员间生长

Figure 3 Construction of synthetic microbial communities with robustness. A: “Rock-paper-scissors” strategy to avoid mutants. B: Enhancing cell adhesion and motility to inhibit cheaters. C: A membrane-aerated bioreactor design to coordinate microbial growth.

间黏附作用和运动性可有效减少作弊者对群落的入侵(图 3B)。除了直接接触,特定的空间结构也会影响微生物间交流,从而实现对合作行为的调节并抑制作弊者产生^[58]。

协调成员间平衡生长有助于维持群落稳定。群落各成员的生长速率存在差异,对营养物的需求也不尽相同,稳定共存是群落发挥功能的必要条件。为此,Shahab 等^[59]在膜生物反应器中建立氧浓度梯度,以满足体系内各物种对氧的差异化需求(图 3C)。该设计还可拓展至其他培养条件,通过创造额外的空间或代谢生态位以充分挖掘合成微生物群落的潜力。此外,由于各物种不可避免地争夺有限资源,需制定策略来减少成员间竞争,如针对碳源偏好性差异设计各成员专性利用不同种类的碳源^[60]。

组学技术发展迅猛,已应用于解析群落稳定性影响及维持机制^[61-63],如 Xie 等^[63]整合宏基因组和宏蛋白质组揭示了海水表面微生物群落对盐度等环境因素的响应机理。基于宏基因组、宏转录组和共现网络分析,Dai 等^[64]发现物种间互作关系在微生物群落降解 1,4-二氧六环的过程中起到关键作用,这是合成微生物群落应用于生物修复的最新研究。此外,Nieto 等^[65]构建的鞘氨醇菌(*Sphingobium* sp.)和伯克霍尔德氏菌(*Burkholderia* sp.)双菌体系显著增强了对多环芳烃及有毒代谢物的降解效果,宏蛋白组学和基因表达分析提供了二者交叉喂养的证据,为设计适用于工程实践的微生物组合及提高作用效率提供参考。组学技术的蓬勃发展将加深对微生物相互作用的理解,完善种间合作强化策略,并结合数学模型指导合成微生物群落的构建及稳定性维持。

1.4 生物防护设计

在合成微生物群落的构建过程中,其环境安全性也不容忽视。需对构建的人工体系采取

必要的生物防护措施,以最小化微生物应用的潜在风险。物理屏障是常见的防护措施,包括工业发酵中生产设备和相关的工艺设计^[66]。营养缺陷和基因电路设计被认为是最为成熟的生物防护策略(图 4)。营养缺陷型设计使微生物无法合成生长必需的某种物质,必须从外部环境获取得以生存。例如,Asin-Garcia 等^[67]设计了一项基于亚磷酸盐合成依赖的防逃逸策略(图 4A),使逃逸率低至 2.05×10^{-10} 。针对基因电路设计,可通过外源诱导剂或内源信号分子实现对细胞行为的调控。最新研究中, VanArsdale 等^[68]设计 *E. coli* 响应氧化应激产生的 QS 信号分子,进而实现工程菌的程序性裂解控制(图 4B)。虽然引入了这些控制电路,但仍存在微生物通过进化突变使防护策略失效的可能。为此,有研究基于模块化多层逻辑门构建了更为复杂的基因电路^[69],使微生物在特定的多组合输入下才能存活,增加其逃逸成本,进而提高生物防护系统的有效性(图 4C)。目前研究在实验室条件下已经满足了逃逸率小于 10^{-8} 的要求^[70]。然而,随着合成生物规模和复杂程度不断扩大,现有防护系统的遏制效率可能不足以规避工程菌带来的环境风险。制定多重防护策略,有望进一步提高生物防护系统的稳定性和效率,切实保障微生物资源利用过程中的生物安全。

2 合成微生物群落在 PHA 生物合成中的应用

合成微生物群落设计与构建的理论研究正推动其向实际应用转化。近年来,合成微生物群落广泛应用于生物合成领域,包括但不限于生产紫杉醇、维生素 C、生物乙醇、氢气及 PHA 等高价化合物^[29-30,71-73]。其中,PHA 是一类由微生物合成的天然高分子聚酯,种类繁多、性

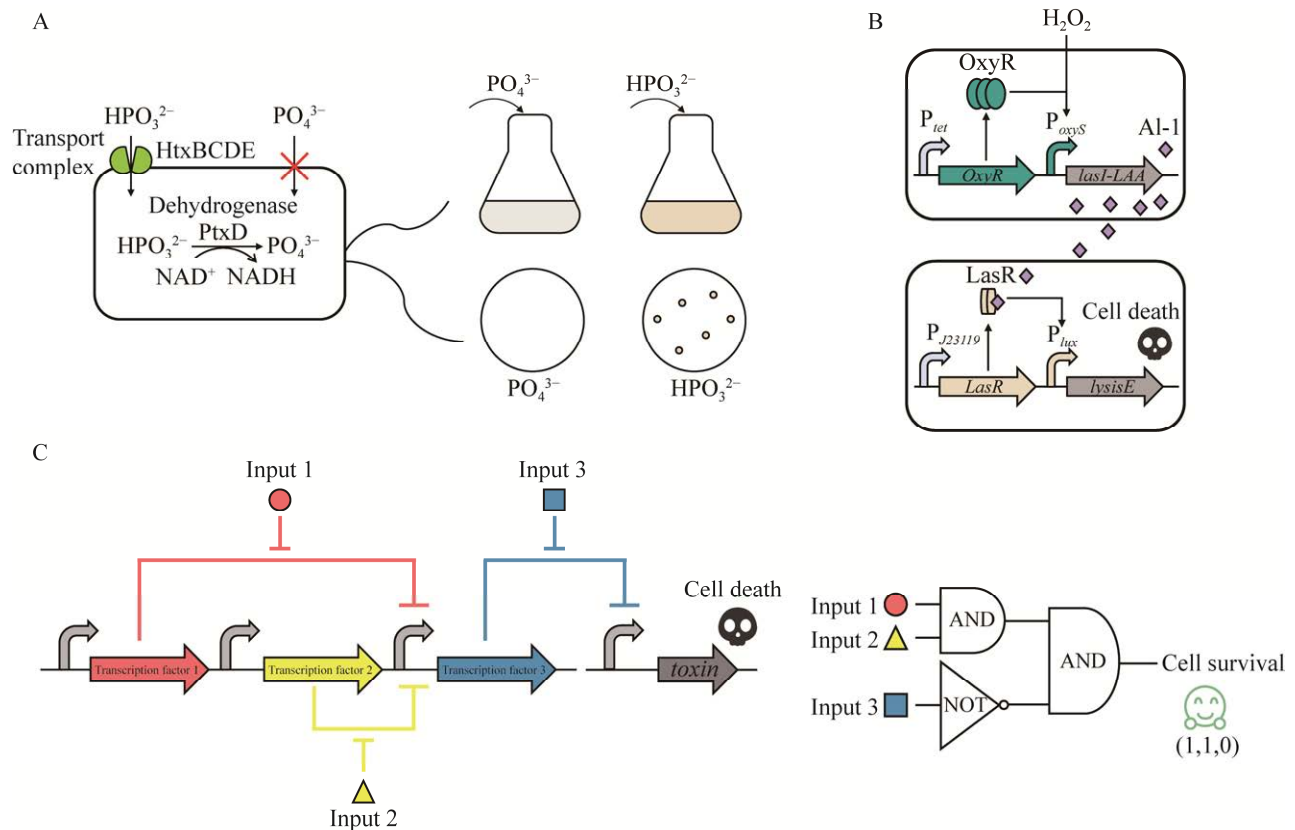


图4 构建合成微生物群落的生物防护设计 A: 基于亚磷酸盐合成依赖的营养缺陷型策略. B: 基于群体感应实现程序性裂解的基因电路. C: 模块化双层逻辑门基因电路

Figure 4 Biocontainment design for constructing a synthetic microbial community. A: Phosphite synthetic auxotrophy strategy. B: Programmed cell lysis circuit based on quorum sensing. C: A modular two-layered genetic logic circuit.

质多样。微生物可通过3步反应合成短链PHA，也能够基于脂肪酸 β -氧化或从头合成路径实现中长链PHA的生物合成。作为最具生长潜力的生物可降解材料，PHA具有类似于石化基塑料的物理机械和加工性能，同时具备生物相容性、可完全生物降解、气体阻隔性等独特优势，已应用于医药、包装、农业等领域，被认为是替代传统塑料的有力候选者^[74]，同时也是生物材料领域最为活跃的研究热点，在“限塑”和“双碳”目标背景下受到特别关注。然而，高昂的生产成本降低了PHA对石化高分子材料的市场替代优势，是当前亟需突破的最大瓶颈。在PHA

的成本构成中，生产原料(主要是碳源)占比最高，约占总成本的50%^[75]。将合成微生物群落应用于PHA生物合成，可提升并扩大菌株的碳源利用能力及范围，基于低成本原料实现PHA的高效合成，同时能够缩短发酵时间，并减少昂贵前体物质的添加。此外，与其他高附加值化学品(如生物燃料)的联合生产有望进一步降低PHA生物合成的成本。

纵观生物合成领域，所使用的碳源可分为3代。目前普遍使用的糖类和植物油等为第一代生物碳源，多来自粮食作物；储量丰富的非粮生物质或工农业废弃物为第二代生物碳源，具

有显著的经济潜力和环境效益；而第三代生物碳源包括二氧化碳(carbon dioxide, CO₂)、一氧化碳(carbon monoxide, CO)在内的 C1 化合物, 也能被微生物直接利用, 是高价值化学品生产的环境友好型方案, 符合绿色可持续发展理念。可通过理性设计构建合成微生物群落, 利用上述 3 代生物碳源实现 PHA 的生物合成(图 5)。

应用于合成微生物群落生产 PHA 的第一代碳源主要包括葡萄糖、蔗糖和木糖等糖类, 以及菜籽油、棕榈油等油类物质。其中蔗糖价格低廉适用于工业生产, 但可高效合成 PHA 的真养产碱杆菌(*Ralstonia eutropha*)^[76]却无法利用。为此, Bhatia 等^[77]以蔗糖为唯一底物共培养枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)与 *R. eutropha* (图 5A)。

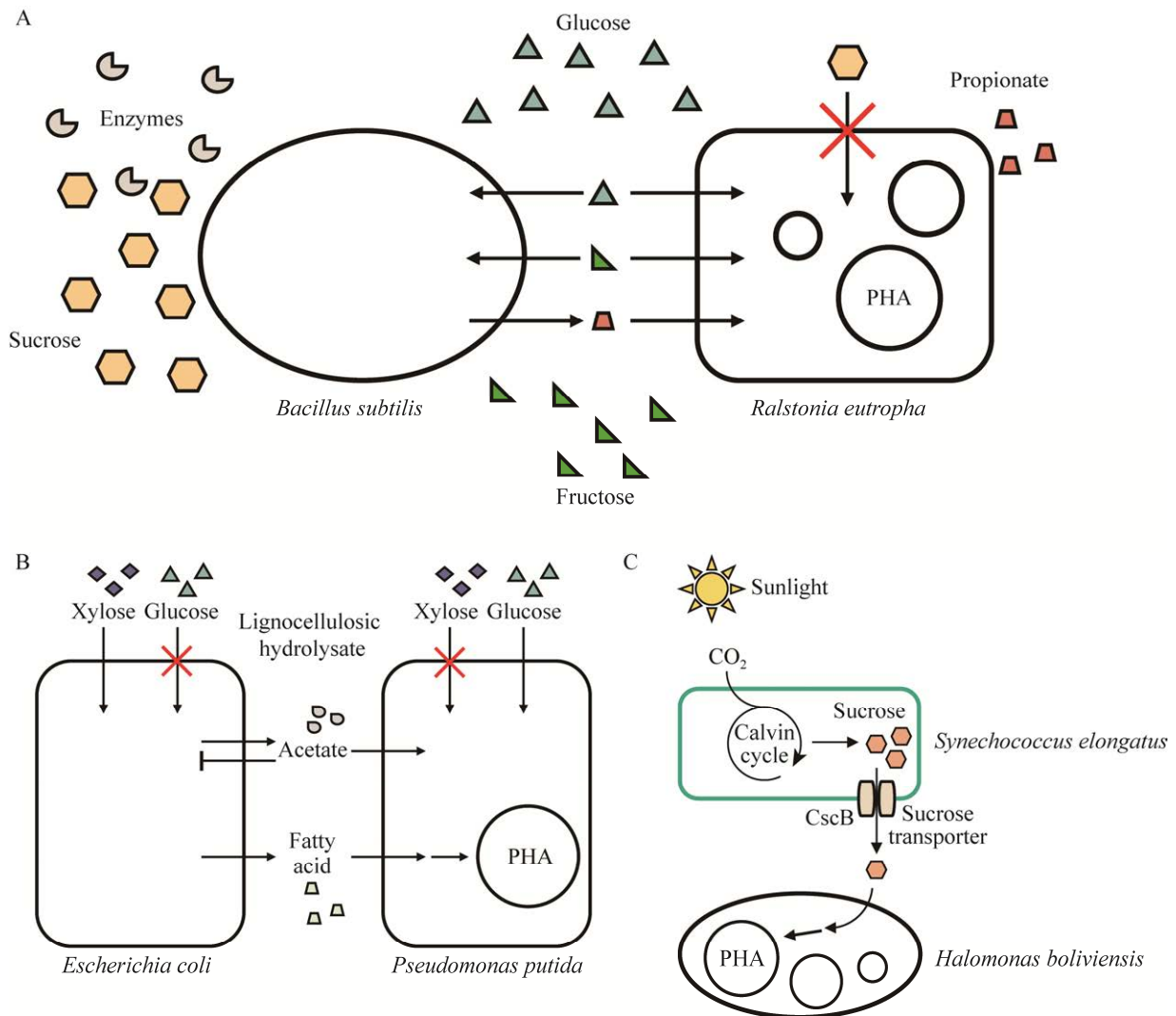


图 5 合成微生物群落利用 3 代碳源合成 PHA A: 以蔗糖为碳源(第一代生物碳源). B: 以木质纤维素为碳源(第二代生物碳源). C: 以二氧化碳为碳源(第三代生物碳源)

Figure 5 Synthetic microbial communities biosynthesize PHA utilizing three-generation carbon sources. A: Using sucrose (the first generation). B: Using lignocellulose (the second generation). C: Using CO₂ (the third generation).

通过代谢分工, 该合成体系节省了昂贵的前体物质, 同时无需底物预处理或菌株改造即可实现 PHA 的高效合成, 为微生物在原料利用和 PHA 合成方面的改进提供参考, 启发构建基于其他低成本碳源合成不同类型聚合物的人工生物体系。对于木糖, 虽然目前价格昂贵, 但伴随木质纤维素降解技术不断发展, 其有望成为廉价碳源。有研究构建了恶臭假单胞菌(*Pseudomonas putida*)和酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)组成的合成微生物群落, 利用木糖时 PHA 积累量(152.3 mg/L)远高于 *P. putida* 纯培养的积累量(12.69 mg/L)^[78]。该合成体系还表现出强大的自絮凝能力, 沉降效率提升了 60%, 可有效减少细胞离心回收所需能耗。在利用油类物质生产 PHA 的相关研究中, Rodrigues 等^[79]将棕榈油用于共培养富养罗尔斯通氏菌(*Cupriavidus necator*)和野油菜黄单胞菌(*Xanthomonas campestris*), 合成的 PHA 在材料热稳定性等方面有明显改善, 并通过优化发酵条件使产量大幅提高, 与单菌相比增加了 89.7%。该研究报道了合成微生物群落在 PHA 和黄原胶同步生产过程中的应用, 为多种高价值产品的生物合成技术集成提供借鉴。

合成微生物群落生产 PHA 所利用的第二代碳源主要指富含木质纤维素、结构复杂、难以降解的非粮生物质原料。由于储量丰富且价格低廉, 过去十几年间将此类生物质转化为高价值化学品的研究非常丰富^[72,80-81], 而有关 PHA 合成的研究却鲜有报道。Rebocho 等^[82]利用苹果浆废物发酵生产 PHA, 发现 *C. necator* 和香茅醇假单胞菌(*Pseudomonas citronellolis*)表现出不同的底物偏好, 产量较 *P. citronellolis* 纯培养体系提高了 54.2%。在最新研究中, Qin 等^[83]基于“营养供应-解毒”互作关系构建了 *E. coli* 和 *P. putida* 合成微生物群落(图 5B)。该体系可利

用玉米秸秆酸处理后的木质纤维素水解液, 使中长链 PHA 产量比先前研究提高了 135%^[84], 可见合成微生物群落的应用价值和发展潜力。综上所述, 强化微生物间合作, 重构群落代谢网络, 优化体系发酵条件, 以加强合成微生物群落对低成本生物质原料的利用并有望实现不同结构 PHA 的生产目标。

合成微生物群落进行 PHA 生物合成的第三代碳源是指 CO₂、CO 等 C1 化合物。自然界中的光自养微生物能够以光为能量固定大气中的 CO₂, 并将其转化为 PHA 合成所需的糖类物质。其中, 蓝藻在 CO₂ 固定转化方面具有极大优势, 其生长速率快、营养需求低且光合效率高, 已然成为新兴的微生物细胞工厂^[85-87]。对于 PHA 生物合成, 与保守的糖原代谢不同, 蓝藻中只有少数属, 如念珠藻(*Nostoc*)、节旋藻(*Arthrospira*)、集胞藻(*Synechocystis*)和聚球藻(*Synechococcus*), 能够天然合成 PHA, 且积累量仅占总生物量的 15.1%^[88], 远低于已报道的 PHA 优秀生产者^[89-90]。为此, 有研究构建由蓝藻与高效合成 PHA 细菌组成的合成微生物群落, 其中蓝藻通过光合作用合成有机底物(图 5C), 为另一可合成 PHA 的菌株提供营养支持^[91-93]。这种光驱动模块化培养策略在提高 PHA 产量、回收率和体系稳健性等方面发挥显著优势, 蕴含绿色生物合成的巨大发展潜能。除了以 CO₂ 为碳源, Do 等^[94]发现深红螺菌(*Rhodospirillum rubrum*)能够直接将 CO 转化为 PHA, 而 Hwang 等^[95]也基于两阶段生物催化体系设计微生物利用 CO 生产 PHA。然而截至目前, 仍未报道利用合成微生物群落以 CO 为原料一步合成 PHA 的研究实例。近年来, Cha 等^[96]首次验证了合成微生物群落利用 CO 合成高价值生化产品的可行性, 展示了合成微生物群落有望成为利用

新型低成本碳源实现稳定、高效生产 PHA 的强大平台。

3 总结与展望

合成生物学技术与生态学理论的发展为设计和构建高效、稳定、可控的合成微生物群落夯实基础,并推进其在生物合成等工程实践中的应用。希望与挑战并存,合成微生物群落的潜力尚未被充分挖掘,仍有许多问题等待解决。

(1) 开发新型计算工具以加强对微生物群落的预测。除实验表征外,利用数学建模对微生物群落进行科学系统的预测,有助于加深对微生物相互作用和群落特征(特别是群落鲁棒性)的理解,为合成微生物群落的构建及应用提供理论支撑。

(2) 在种群水平实现对微生物群落的精准调控。可控性是限制合成微生物群落应用的一大瓶颈。目前缺乏动态监测和调控种群的有效方法,难以实现物种间协调平衡,以及合成体系的稳定和动态控制。针对生物技术应用,成员间种群比例的协调及反馈控制对生物合成过程的运行优化至关重要。

(3) 进一步提升微生物群落的效率及应用潜力。合成微生物群落的模块化设计允许多个表达系统和途径模块的并行构建及优化,以 PHA 合成为例,多数研究将营养供应和产物合成的任务分配给不同成员。为实现高效生物合成,基因重组、启动子工程、形态学工程及代谢通量重定向等策略适用于提高微生物生产性能,并结合发酵工艺的优化控制,正成为实现 PHA 大规模生产的必要工具。

组学技术的快速发展进一步提升了微生物相互作用及群落组装机制的认知,结合新型合成生物学工具的开发,有助于实现合成微生物群落的构建及调控,并扩大其可发挥的功能。

在未来,合成微生物群落研究将紧密围绕“造物致知,造物致用”目标,依赖“设计-构建-测试-学习”循环,深入理解复杂微生物体系,并推进其在生物合成等领域的实践应用。

REFERENCES

- [1] DOLINŠEK J, GOLDSCHMIDT F, JOHNSON DR. Synthetic microbial ecology and the dynamic interplay between microbial genotypes[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2016, 40(6): 961-979.
- [2] GASPAREK M, STEEL H, PAPACHRISTODOULOU A. Deciphering mechanisms of production of natural compounds using inducer-producer microbial consortia[J]. *Biotechnology Advances*, 2023, 64: 108117.
- [3] CAO ZB, YAN WL, DING MZ, YUAN YJ. Construction of microbial consortia for microbial degradation of complex compounds[J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2022, 10: 1051233.
- [4] TSOI R, DAI ZJ, YOU LC. Emerging strategies for engineering microbial communities[J]. *Biotechnology Advances*, 2019, 37(6): 107372.
- [5] VRANCKEN G, GREGORY AC, HUYS GRB, FAUST K, RAES J. Synthetic ecology of the human gut microbiota[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2019, 17(12): 754-763.
- [6] KONOPKA A. What is microbial community ecology?[J]. *The ISME Journal*, 2009, 3(11): 1223-1230.
- [7] ABREU NA, TAGA ME. Decoding molecular interactions in microbial communities[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2016, 40(5): 648-663.
- [8] MILLER MB, BASSLER BL. Quorum sensing in bacteria[J]. *Annual Review of Microbiology*, 2001, 55: 165-199.
- [9] MUKHERJEE S, BASSLER BL. Bacterial quorum sensing in complex and dynamically changing environments[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2019, 17(6): 371-382.
- [10] DATLA US, MATHER WH, CHEN S, SHOULTZ IW, TÄUBER UC, JONES CN, BUTZIN NC. The spatiotemporal system dynamics of acquired resistance in an engineered microecology[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 16071.
- [11] BAHRAM M, HILDEBRAND F, FORSLUND SK, ANDERSON JL, SOUDZILOVSKAIA NA,

- BODEGOM PM, BENGTSSON-PALME J, ANSLAN S, COELHO LP, HAREND H, HUERTA-CEPAS J, MEDEMA MH, MALTZ MR, MUNDRA S, OLSSON PA, PENT M, PÖLME S, SUNAGAWA S, RYBERG M, TEDERSOO L, BORK P. Structure and function of the global topsoil microbiome[J]. *Nature*, 2018, 560(7717): 233-237.
- [12] KONG WT, MELDGIN DR, COLLINS JJ, LU T. Designing microbial consortia with defined social interactions[J]. *Nature Chemical Biology*, 2018, 14(8): 821-829.
- [13] JIANG W, YANG XY, GU F, LI XM, WANG SM, LUO Y, QI QS, LIANG QF. Construction of synthetic microbial ecosystems and the regulation of population proportion[J]. *ACS Synthetic Biology*, 2022, 11(2): 538-546.
- [14] MOULD DL, HOGAN DA. Intraspecies heterogeneity in microbial interactions[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2021, 62: 14-20.
- [15] PAULI B, AJMERA S, KOST C. Determinants of synergistic cell-cell interactions in bacteria[J]. *Biological Chemistry*, 2023, 404(5): 521-534.
- [16] PROKOPENKO MG, HIRST MB, de BRABANDERE L, LAWRENCE DJP, BERELSON WM, GRANGER J, CHANG BX, DAWSON S, CRANE III EJ, CHONG L, THAMDRUP B, TOWNSEND-SMALL A, SIGMAN DM. Nitrogen losses in anoxic marine sediments driven by *Thioploca*-anammox bacterial consortia[J]. *Nature*, 2013, 500(7461): 194-198.
- [17] PITTINO F, ZAWIERUCHA K, PONIECKA E, BUDA J, ROSATELLI A, ZORDAN S, AZZONI RS, DIOLAIUTI G, AMBROSINI R, FRANZETTI A. Functional and taxonomic diversity of anaerobes in supraglacial microbial communities[J]. *Microbiology Spectrum*, 2023, 11(2): e0100422.
- [18] WANG SM, ZHENG GY, ZHOU LX. Heterotrophic microorganism *Rhodotorula mucilaginosa* R30 improves tannery sludge bioleaching through elevating dissolved CO₂ and extracellular polymeric substances levels in bioleach solution as well as scavenging toxic DOM to *Acidithiobacillus* species[J]. *Water Research*, 2010, 44(18): 5423-5431.
- [19] LI XX, HUANG S, YU J, WANG QX, WU SX. Improvement of hydrogen production of *Chlamydomonas reinhardtii* by co-cultivation with isolated bacteria[J]. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2013, 38(25): 10779-10787.
- [20] YURTSEV EA, CHAO HX, DATTA MS, ARTEMOVA T, GORE J. Bacterial cheating drives the population dynamics of cooperative antibiotic resistance plasmids[J]. *Molecular Systems Biology*, 2013, 9: 683.
- [21] SÁNCHEZ Á, BAJIC D, DÍAZ-COLUNGA J, SKWARA A, VILA JCC, KUEHN S. The community-function landscape of microbial consortia[J]. *Cell Systems*, 2023, 14(2): 122-134.
- [22] DETER HS, LU T. Engineering microbial consortia with rationally designed cellular interactions[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2022, 76: 102730.
- [23] MEE MT, COLLINS JJ, CHURCH GM, WANG HH. Syntrophic exchange in synthetic microbial communities[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111(20): E2149-E2156.
- [24] EMBREE M, LIU JK, AL-BASSAM MM, ZENGLER K. Networks of energetic and metabolic interactions define dynamics in microbial communities[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(50): 15450-15455.
- [25] LIU X, LI XB, JIANG JL, LIU ZN, QIAO B, LI FF, CHENG JS, SUN XC, YUAN YJ, QIAO JJ, ZHAO GR. Convergent engineering of syntrophic *Escherichia coli* coculture for efficient production of glycosides[J]. *Metabolic Engineering*, 2018, 47: 243-253.
- [26] GUILLEN MN, ROSENER B, SAYIN S, MITCHELL A. Assembling stable syntrophic *Escherichia coli* communities by comprehensively identifying beneficiaries of secreted goods[J]. *Cell Systems*, 2021, 12(11): 1064-1078.
- [27] WANG SJ, TANG HZ, PENG F, YU XJ, SU HJ, XU P, TAN TW. Metabolite-based mutualism enhances hydrogen production in a two-species microbial consortium[J]. *Communications Biology*, 2019, 2: 82.
- [28] RUAN ZP, XU MJ, XING YW, JIANG Q, YANG BG, JIANG JD, XU XH. Interspecies metabolic interactions in a synergistic consortium drive efficient degradation of the herbicide bromoxynil octanoate[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2022, 70(37): 11613-11622.
- [29] ZHOU K, QIAO KJ, EDGAR S, STEPHANOPOULOS G. Distributing a metabolic pathway among a microbial consortium enhances production of natural products[J]. *Nature Biotechnology*, 2015, 33(4): 377-383.
- [30] ZHU YZ, AI MM, JIA XQ. Optimization of a

- two-species microbial consortium for improved mcl-PHA production from glucose-xylose mixtures[J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2022, 9: 794331.
- [31] BHATT P, BHATT K, SHARMA A, ZHANG WP, MISHRA S, CHEN SH. Biotechnological basis of microbial consortia for the removal of pesticides from the environment[J]. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2021, 41(3): 317-338.
- [32] WRIGHT GD. Bacterial resistance to antibiotics: enzymatic degradation and modification[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2005, 57(10): 1451-1470.
- [33] YURTSEV EA, CONWILL A, GORE J. Oscillatory dynamics in a bacterial cross-protection mutualism[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2016, 113(22): 6236-6241.
- [34] BEN SAID S, TECON R, BORER B, OR D. The engineering of spatially linked microbial consortia-potential and perspectives[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2020, 62: 137-145.
- [35] VARGHESE VK, PODDAR BJ, SHAH MP, PUROHIT HJ, KHARDENAVIS AA. A comprehensive review on current status and future perspectives of microbial volatile fatty acids production as platform chemicals[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 815: 152500.
- [36] DU XF, GU SS, ZHANG Z, LI SZ, ZHOU YQ, ZHANG ZJ, ZHANG Q, WANG LL, JU ZC, YAN CL, LI T, WANG DR, YANG XS, PENG X, DENG Y. Spatial distribution patterns across multiple microbial taxonomic groups[J]. *Environmental Research*, 2023, 223: 115470.
- [37] LIU T, HU SH, YUAN ZG, GUO JH. Microbial stratification affects conversions of nitrogen and methane in biofilms coupling anammox and n-DAMO processes[J]. *Environmental Science & Technology*, 2023, 57(11): 4608-4618.
- [38] LOWERY NV, URSELL T. Structured environments fundamentally alter dynamics and stability of ecological communities[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2019, 116(2): 379-388.
- [39] KAPOORE RV, PADMAPERUMA G, MANEEN S, VAIDYANATHAN S. Co-culturing microbial consortia: approaches for applications in biomanufacturing and bioprocessing[J]. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2022, 42(1): 46-72.
- [40] BURMEISTER A, HILGERS F, LANGNER A, WESTERWALBESLOH C, KERKHOFF Y, TENHAEF N, DREPPER T, KOHLHEYER D, von LIERES E, NOACK S, GRÜNBERGER A. A microfluidic co-cultivation platform to investigate microbial interactions at defined microenvironments[J]. *Lab on a Chip*, 2019, 19(1): 98-110.
- [41] WANG L, ZHANG X, TANG CW, LI PC, ZHU RT, SUN J, ZHANG YF, CUI H, MA JJ, SONG XY, ZHANG WW, GAO X, LUO XZ, YOU LC, CHEN Y, DAI ZJ. Engineering consortia by polymeric microbial swarmbots[J]. *Nature Communications*, 2022, 13(1): 3879.
- [42] JIN XF, RIEDEL-KRUSE IH. Biofilm lithography enables high-resolution cell patterning via optogenetic adhesin expression[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2018, 115(14): 3698-3703.
- [43] TODA S, BLAUCH LR, TANG SKY, MORSUT L, LIM WA. Programming self-organizing multicellular structures with synthetic cell-cell signaling[J]. *Science*, 2018, 361(6398): 156-162.
- [44] GLASS DS, RIEDEL-KRUSE IH. A synthetic bacterial cell-cell adhesion toolbox for programming multicellular morphologies and patterns[J]. *Cell*, 2018, 174(3): 649-658.
- [45] VENKATRAGHAVAN S, ANANTAKRISHNAN S, RAMAN K. Probing patterning in microbial consortia with a cellular automaton for spatial organisation[J]. *Scientific Reports*, 2022, 12(1): 17159.
- [46] HARCOMBE WR, RIEHL WJ, DUKOVSKI I, GRANGER BR, BETTS A, LANG AH, BONILLA G, KAR A, LEIBY N, MEHTA P, MARX CJ, SEGRÈ D. Metabolic resource allocation in individual microbes determines ecosystem interactions and spatial dynamics[J]. *Cell Reports*, 2014, 7(4): 1104-1115.
- [47] WU FL, HA YC, WEISS A, WANG MD, LETOURNEAU J, WANG SY, LUO N, HUANG SQ, LEE CT, DAVID LA, YOU LC. Modulation of microbial community dynamics by spatial partitioning[J]. *Nature Chemical Biology*, 2022, 18(4): 394-402.
- [48] LU T, NI CJ. Individual-based modeling of spatial dynamics of chemotactic microbial populations[J]. *ACS Synthetic Biology*, 2022, 11(11): 3714-3723.
- [49] HAYS SG, PATRICK WG, ZIESACK M, OXMAN N, SILVER PA. Better together: engineering and application of microbial symbioses[J]. *Current Opinion*

- in Biotechnology, 2015, 36: 40-49.
- [50] HERNANDEZ DJ, DAVID AS, MENGES ES, SEARCY CA, AFKHAMI ME. Environmental stress destabilizes microbial networks[J]. The ISME Journal, 2021, 15(6): 1722-1734.
- [51] WANG ZK, GONG JS, QIN JF, LI H, LU ZM, SHI JS, XU ZH. Improving the intensity of integrated expression for microbial production[J]. ACS Synthetic Biology, 2021, 10(11): 2796-2807.
- [52] STEVENSON C, HALL JPJ, BROCKHURST MA, HARRISON E. Plasmid stability is enhanced by higher-frequency pulses of positive selection[J]. Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences, 2018, 285(1870): 20172497.
- [53] LIAO MJ, DIN MO, TSIMRING L, HASTY J. Rock-paper-scissors: engineered population dynamics increase genetic stability[J]. Science, 2019, 365(6457): 1045-1049.
- [54] OÑA L, KOST C. Cooperation increases robustness to ecological disturbance in microbial cross-feeding networks[J]. Ecology Letters, 2022, 25(6): 1410-1420.
- [55] LI XL, ZHOU Z, LI WN, YAN YJ, SHEN XL, WANG J, SUN XX, YUAN QP. Design of stable and self-regulated microbial consortia for chemical synthesis[J]. Nature Communications, 2022, 13: 1554.
- [56] HARDIN G. The tragedy of the commons[J]. Science, 1968, 162(3859): 1243-1248.
- [57] SCARINCI G, SOURJIK V. Impact of direct physical association and motility on fitness of a synthetic interkingdom microbial community[J]. The ISME Journal, 2023, 17(3): 371-381.
- [58] MONACO H, LIU KS, SERENO T, DEFORET M, TAYLOR BP, CHEN YY, REAGOR CC, XAVIER JB. Spatial-temporal dynamics of a microbial cooperative behavior resistant to cheating[J]. Nature Communications, 2022, 13: 721.
- [59] SHAHAB RL, BRETHAUER S, DAVEY MP, SMITH AG, VIGNOLINI S, LUTERBACHER JS, STUDER MH. A heterogeneous microbial consortium producing short-chain fatty acids from lignocellulose[J]. Science, 2020, 369(6507): eabb1214.
- [60] ZHANG HR, PEREIRA B, LI ZJ, STEPHANOPOULOS G. Engineering *Escherichia coli* coculture systems for the production of biochemical products[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2015, 112(27): 8266-8271.
- [61] MUNYAI R, OGOLA HJO, MODISE DM. Microbial community diversity dynamics in acid mine drainage and acid mine drainage-polluted soils: implication on mining water irrigation agricultural sustainability[J]. Frontiers in Sustainable Food Systems, 2021, 5: 701870.
- [62] DENG YL, RUAN YJ, MA B, TIMMONS MB, LU HF, XU XY, ZHAO HP, YIN XW. Multi-omics analysis reveals niche and fitness differences in typical denitrification microbial aggregations[J]. Environment International, 2019, 132: 105085.
- [63] XIE ZX, YAN KQ, KONG LF, GAI YB, JIN T, HE YB, WANG YY, CHEN F, LIN L, LIN ZL, XU HK, SHAO ZZ, LIU SQ, WANG DZ. Metabolic tuning of a stable microbial community in the surface oligotrophic Indian Ocean revealed by integrated meta-omics[J]. Marine Life Science & Technology, 2022, 4(2): 277-290.
- [64] DAI CH, WU H, WANG XJ, ZHAO KK, LU ZM. Network and meta-omics reveal the cooperation patterns and mechanisms in an efficient 1,4-dioxane-degrading microbial consortium[J]. Chemosphere, 2022, 301: 134723.
- [65] NIETO EE, MACCHI M, VALACCO MP, FESTA S, MORELLI IS, COPPOTELLI BM. Metaproteomic and gene expression analysis of interspecies interactions in a PAH-degrading synthetic microbial consortium constructed with the key microbes of a natural consortium[J]. Biodegradation, 2023, 34(2): 181-197.
- [66] MILLER SR, BERGMANN D. Biocontainment design considerations for biopharmaceutical facilities[J]. Journal of Industrial Microbiology, 1993, 11(4): 223-234.
- [67] ASIN-GARCIA E, BATIANIS C, LI YS, FAWCETT JD, JONG I, SANTOS VAPM. Phosphite synthetic auxotrophy as an effective biocontainment strategy for the industrial chassis *Pseudomonas putida*[J]. Microbial Cell Factories, 2022, 21(1): 156.
- [68] VANARSDALE E, NAVID A, CHU MJ, HALVORSEN TM, PAYNE GF, JIAO YQ, BENTLEY WE, YUNG MC. Electro-genetic signaling and information propagation for controlling microbial consortia *via* programmed lysis[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2023, 120(5): 1366-1381.
- [69] CHAN CTY, LEE JW, CAMERON DE, BASHOR CJ, COLLINS JJ. 'Deadman' and 'Passcode' microbial kill switches for bacterial containment[J]. Nature Chemical Biology, 2016, 12(2): 82-86.
- [70] NIH guidelines for research involving recombinant or synthetic nucleic acid molecules (NIH

- guidelines)[EB/OL]. [2023-06-08]. http://oba.od.nih.gov/rdna/nih_guidelines_oba.html.
- [71] WANG Y, LI HC, LIU Y, ZHOU MY, DING MZ, YUAN YJ. Construction of synthetic microbial consortia for 2-keto-L-gulonic acid biosynthesis[J]. *Synthetic and Systems Biotechnology*, 2022, 7(1): 481-489.
- [72] ZHU YX, ZHANG X, YANG WC, LI JF. Enhancement of biomass conservation and bioethanol production of sweet sorghum silage by constructing synergistic microbial consortia[J]. *Microbiology Spectrum*, 2023, 11(1): e0365922.
- [73] ERGAL İ, GRÄF O, HASIBAR B, STEINER M, VUKOTIĆ S, BOCHMANN G, FUCHS W, RITTMANN SKMR. Biohydrogen production beyond the Thauer limit by precision design of artificial microbial consortia[J]. *Communications Biology*, 2020, 3: 443.
- [74] REDDY CSK, GHAI R, RASHMI, KALIA VC. Polyhydroxyalkanoates: an overview[J]. *Bioresource Technology*, 2003, 87(2): 137-146.
- [75] YOON J, OH MK. Strategies for biosynthesis of C1 gas-derived polyhydroxyalkanoates: a review[J]. *Bioresource Technology*, 2022, 344(Pt B): 126307.
- [76] RIEDEL SL, BADER J, BRIGHAM CJ, BUDDÉ CF, YUSOF ZAM, RHA C, SINSKEY AJ. Production of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) by *Ralstonia eutropha* in high cell density palm oil fermentations[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2012, 109(1): 74-83.
- [77] BHATIA SK, YOON JJ, KIM HJ, HONG JW, HONG YG, SONG HS, MOON YM, JEON JM, KIM YG, YANG YH. Engineering of artificial microbial consortia of *Ralstonia eutropha* and *Bacillus subtilis* for poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) copolymer production from sugarcane sugar without precursor feeding[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 257: 92-101.
- [78] LIU C, QI L, YANG SY, HE Y, JIA XQ. Increased sedimentation of a *Pseudomonas-Saccharomyces* microbial consortium producing medium chain length polyhydroxyalkanoates[J]. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 2019, 27(7): 1659-1665.
- [79] RODRIGUES PR, ASSIS DJ, DRUZIAN JI. Simultaneous production of polyhydroxyalkanoate and xanthan gum: from axenic to mixed cultivation[J]. *Bioresource Technology*, 2019, 283: 332-339.
- [80] JIANG YJ, LV Y, WU RF, LU JS, DONG WL, ZHOU J, ZHANG WM, XIN FX, JIANG M. Consolidated bioprocessing performance of a two-species microbial consortium for butanol production from lignocellulosic biomass[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2020, 117(10): 2985-2995.
- [81] LI CF, LIN XF, LING X, LI S, FANG H. Consolidated bioprocessing of lignocellulose for production of glucaric acid by an artificial microbial consortium[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2021, 14(1): 110.
- [82] REBOCHO AT, PEREIRA JR, NEVES LA, ALVES VD, SEVRIN C, GRANDFILS C, FREITAS F, REIS MAM. Preparation and characterization of films based on a natural P(3HB)/mcl-PHA blend obtained through the co-culture of *Cupriavidus necator* and *Pseudomonas citronellolis* in apple pulp waste[J]. *Bioengineering*, 2020, 7(2): 34.
- [83] QIN RL, ZHU YZ, AI MM, JIA XQ. Reconstruction and optimization of a *Pseudomonas putida-Escherichia coli* microbial consortium for mcl-PHA production from lignocellulosic biomass[J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2022, 10: 1023325.
- [84] LIU YR, YANG SY, JIA XQ. Construction of a “nutrition supply-detoxification” coculture consortium for medium-chain-length polyhydroxyalkanoate production with a glucose-xylose mixture[J]. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2020, 47(3): 343-354.
- [85] SANTOS-MERINO M, GARGANTILLA-BECERRA Á, de la CRUZ F, NOGALES J. Highlighting the potential of *Synechococcus elongatus* PCC 7942 as platform to produce α -linolenic acid through an updated genome-scale metabolic modeling[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 14: 1126030.
- [86] USAI G, CORDARA A, RE A, POLLI MF, MANNINO G, BERTEA CM, FINO D, PIRRI CF, MENIN B. Combining metabolite doping and metabolic engineering to improve 2-phenylethanol production by engineered cyanobacteria[J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2022, 10: 1005960.
- [87] THARASIRIVAT V, JANTARO S. Increased biomass and polyhydroxybutyrate production by *Synechocystis* sp. PCC 6803 overexpressing *RuBisCO* genes[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(7): 6415.
- [88] AFREEN R, TYAGI S, SINGH GP, SINGH M. Challenges and perspectives of polyhydroxyalkanoate production from microalgae/cyanobacteria and bacteria as microbial factories: an assessment of hybrid

- biological system[J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2021, 9: 624885.
- [89] ZHILA NO, SAPOZHNIKOVA KY, KISELEV EG, NEMTSEV IV, LUKYANENKO AV, SHISHATSKAYA EI, VOLOVA TG. Biosynthesis and properties of a P(3HB-co-3HV-co-4HV) produced by *Cupriavidus necator* B-10646[J]. *Polymers*, 2022, 14(19): 4226.
- [90] TIMM A, STEINBÜCHEL A. Formation of polyesters consisting of medium-chain-length 3-hydroxyalkanoic acids from gluconate by *Pseudomonas aeruginosa* and other fluorescent pseudomonads[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1990, 56(11): 3360-3367.
- [91] LÖWE H, HOBMEIER K, MOOS M, KREMLING A, PFLÜGER-GRAU K. Photoautotrophic production of polyhydroxyalkanoates in a synthetic mixed culture of *Synechococcus elongatus cscB* and *Pseudomonas putida cscAB*[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2017, 10(1): 190.
- [92] WEISS TL, YOUNG EJ, DUCAT DC. A synthetic, light-driven consortium of cyanobacteria and heterotrophic bacteria enables stable polyhydroxybutyrate production[J]. *Metabolic Engineering*, 2017, 44: 236-245.
- [93] ZHANG L, CHEN L, DIAO JJ, SONG XY, SHI ML, ZHANG WW. Construction and analysis of an artificial consortium based on the fast-growing cyanobacterium *Synechococcus elongatus* UTEX 2973 to produce the platform chemical 3-hydroxypropionic acid from CO₂[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2020, 13(1): 82.
- [94] DO YS, SMEENK J, BROER KM, KISTING CJ, BROWN R, HEINDEL TJ, BOBIK TA, DISPIRITO AA. Growth of *Rhodospirillum rubrum* on synthesis gas: conversion of CO to H₂ and poly-β-hydroxyalkanoate[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2007, 97(2): 279-286.
- [95] HWANG HW, YOON J, MIN K, KIM MS, KIM SJ, CHO DH, SUSILA H, NA JG, OH MK, KIM YH. Two-stage bioconversion of carbon monoxide to biopolymers via formate as an intermediate[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2020, 389: 124394.
- [96] CHA S, LIM HG, KWON S, KIM DH, KANG CW, JUNG GY. Design of mutualistic microbial consortia for stable conversion of carbon monoxide to value-added chemicals[J]. *Metabolic Engineering*, 2021, 64: 146-153.

(本文责编 陈宏宇)