

· 综述 ·

# 人工微生物混菌系统机制解析中的组学应用及进展

国陶红<sup>1,2,3</sup>, 宋馨宇<sup>1,2,3,4</sup>, 陈磊<sup>1,2,3</sup>, 张卫文<sup>1,2,3,4</sup>

1 天津大学 化工学院 合成微生物学实验室, 天津 300072

2 教育部合成生物学前沿科学中心, 天津 300072

3 教育部系统生物工程重点实验室, 天津 300072

4 天津大学 生物安全战略研究中心, 天津 300072

国陶红, 宋馨宇, 陈磊, 张卫文. 人工微生物混菌系统机制解析中的组学应用及进展. 生物工程学报, 2022, 38(2): 460-477.

GUO TH, SONG XY, CHEN L, ZHANG WW. Using OMICS technologies to analyze the mechanisms of synthetic microbial co-culture systems: a review. Chin J Biotech, 2022, 38(2): 460-477.

**摘要:** 人工微生物混菌系统的生物工程应用价值日益受到重视, 使得对于混菌系统中成员菌间的相互作用机制研究也成为近年来一个热点。其研究结果一方面可以为现有人工混菌系统的进一步优化提供理论依据, 另一方面也为全新混菌系统的人工构建提供新的思路和策略, 进而促进人工微生物混菌系统未来规模化应用。基因组学、转录组学、蛋白质组学和代谢组学等研究方法能够高通量分析各种生物分子、提供大量的数据与信息, 多组学分析可以获得混菌系统中细胞的“全景”, 在揭示人工微生物混菌系统中各个成员间的相互作用的研究中有着特殊的意义。文中综述了近年来多种组学技术在人工微生物混菌系统机制解析中的应用及研究进展, 从代谢网络、能量代谢、信号转导、膜转运、胁迫响应、混菌系统的稳定性以及结构合理性等方面探讨混菌系统机制解析的最新进展, 以期利用合成生物学、基因组编辑等新兴生物技术改造微生物混菌系统实现其工程化应用提供理论依据。

**关键词:** 混菌系统; 相互作用; 组学; 机制解析

**Received:** March 19, 2021; **Accepted:** May 27, 2021; **Published online:** June 2, 2021

**Supported by:** National Key Research and Development Program of China (2019YFA0904600, 2020YFA0906800, 2018YFA0903000, 2018YFA0903600); National Natural Science Foundation of China (31901016, 91751102, 31770035, 31770100, 31972931, 21621004, 31370115, 3140217)

**Corresponding author:** SONG Xinyu. Tel: +86-22-27404336; E-mail: songxinyu@tju.edu.cn

**基金项目:** 国家重点研发计划 (2019YFA0904600, 2020YFA0906800, 2018YFA0903000, 2018YFA0903600); 国家自然科学基金 (31901016, 91751102, 31770035, 31770100, 31972931, 21621004, 31370115, 3140217)

# Using OMICS technologies to analyze the mechanisms of synthetic microbial co-culture systems: a review

GUO Taohong<sup>1,2,3</sup>, SONG Xinyu<sup>1,2,3,4</sup>, CHEN Lei<sup>1,2,3</sup>, ZHANG Weiwen<sup>1,2,3,4</sup>

1 Laboratory of Synthetic Microbiology, School of Chemical Engineering & Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China

2 Frontier Science Center for Synthetic Biology and Key Laboratory of Systems Bioengineering, Ministry of Education of China, Tianjin 300072, China

3 Laboratory of Systems Bioengineering, Ministry of Education of China, Tianjin 300072, China

4 Center for Biosafety Research and Strategy, Tianjin University, Tianjin 300072, China

**Abstract:** In recent years, the interaction mechanisms underpinning the synthetic microbial co-culture systems have gained increasing attention due to their potentials in various biotechnological applications. Exploration of the inter-species mechanisms underpinning the synthetic microbial co-culture system could contribute to a better understanding of the theoretical basis to further optimize the existing co-culture systems, and design new synthetic co-culture system for large-scale application. OMICS technologies such as genomics, transcriptomics, proteomics, and metabolomics could analyze the biological processes in a high throughput manner. Multi-omics analysis could achieve a “global view” of various members in the microbial co-culture systems, which presents opportunities in understanding synthetic microbial consortia better. This article summarizes recent advances in understanding the mechanisms of synthetic microbial co-culture systems using omics technologies, from the aspects of metabolic network, energy metabolism, signal transduction, membrane transport, stress response, community stability and structural rationality. All these findings could provide important theoretical basis for future application of the microbial co-culture systems with the aids of emerging biotechnologies such as synthetic biology and genome editing.

**Keywords:** co-culture system; interaction; OMICS; mechanism analysis

近年来,人工微生物混菌系统的应用领域日益广泛,比如环境保护、高价值产物的生产<sup>[1]</sup>和生物发电等。在环境保护方面,人工微生物混菌系统具有不同于传统废水处理方式的优势<sup>[2]</sup>,避免二次污染的形成、节约处理成本,并且混菌系统相比于单一菌株拥有更强的整合金属离子的能力。在高价值复合物生产方面,人工微生物混菌系统能够发挥其模块化特性,更有利于优化整个系统的生产力<sup>[3]</sup>,同时还能延长系统的生产时间<sup>[4]</sup>。在生物发电方面,具

有生物发电功能的菌株在人工微生物混菌系统中可以产生更高的电流密度,相比单独培养条件菌株的发电能力更强<sup>[5]</sup>。

为了给人工微生物混菌系统的进一步优化和全新混菌系统的构建提供科学依据,人工微生物混菌系统中成员间的相互作用机制的研究也成为近年来一个热点。其中,“光合自养-异养微生物”共培养系统因其具有高稳定性<sup>[6]</sup>和鲁棒性<sup>[7]</sup>,以及可以提高底物的利用效率<sup>[8]</sup>等优势而得到了广泛的研究。共培养系统中的

相互作用类型主要包括共生、竞争和化感作用，它们是微生物群落的一个中心特征<sup>[9-10]</sup>。

人工微生物混菌系统结构的复杂性增加了对其相互作用机制研究的挑战。系统生物学是在整体水平上研究不同结构和功能的各种分子及其相互作用的学科，其技术平台多次被用于解释微生物单一培养和混合共培养之间的差异<sup>[11-12]</sup>。基因组学、转录组学、蛋白质组学和代谢组学等学科研究的不断发展，有利于从各个水平上进一步揭示微生物混菌系统中各个成员间的相互作用机制。由于这些不同方法的不完全性和互补性，多组学分析可以获得混菌系统中的细胞全景图，为深入了解人工微生物混菌系统成员间的相互作用关系提供了大量的数据与信息，并展示对生物学机制的新见解。本文主要综述了多种组学技术在人工微生物混菌系统机制解析中的应用及研究进展，探讨针对混菌系统机制解析的研究思路，以期利用合成生物学、基因组编辑等技术改造微生物混菌系统实现其工程化应用提供理论依据。

## 1 人工微生物混菌系统

自然界中，天然微生物混菌系统普遍存在，例如藻类（通常是蓝藻中的念珠藻属和单细胞绿藻）和真菌构成的复合体-地衣、海洋蓝藻与相关异养菌构成的海洋生态型混菌系统以及中生根瘤菌和固氮螺菌组成的共生系统<sup>[13]</sup>等。微生物混菌系统中存在的相互作用可以帮助混菌系统内成员适应环境的变化<sup>[14]</sup>，并且可以抵御有害菌株的侵入。除了天然微生物混菌系统外，近年来合成生物学的快速发展为研究者们提供了新的启示<sup>[15]</sup>，试图在实验室条件下设计人工混菌系统，研究天然的生物现象并予以应用。例如，Weiss 等<sup>[4]</sup>将引入了蔗糖转运蛋白 *cscB*

的聚球藻 (*Synechococcus elongates*) PCC 7942 与玻利维亚盐单胞菌 (*Halomonas boliviensis*) 共培养生产聚羟基丁酸脂 (PHB)，采用模块化的设计方法，构建能够分泌蔗糖的 *S. elongatus* PCC 7942 和利用蔗糖生产 PHB 的 *H. boliviensis*，二者组成的混菌系统的生产能力可与传统工程设计的单一培养工程改造的蓝细菌相媲美，并且可连续生产超 5 个月，具有较高的稳定性和鲁棒性；Hays 等<sup>[7]</sup>构建由上述 *cscB*<sup>+</sup> *S. elongatus* PCC 7942 和枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 菌株 168 组成的人工混菌系统，在恒定光照条件下，添加 IPTG 诱导蔗糖分泌，在共培养 24 h 后产生  $\alpha$ -淀粉酶；Gomez-Flores 等<sup>[16]</sup>将能够把纤维素分解为葡萄糖的白蚁梭菌 (*Clostridium termitidis*) 和利用葡萄糖产生 H<sub>2</sub> 的拜氏梭菌 (*Clostridium beijerinckii*) 共培养生产 H<sub>2</sub>，与纯培养 *C. termitidis* 相比，混菌系统的总 H<sub>2</sub> 产量提高了 30%。人工混菌系统的模块化设计和较好的鲁棒性体现出利用多种物种的相互作用来构建生产平台的前景与优势。

### 1.1 混菌系统中的互利共生相互作用

原核蓝藻和真核微藻等光合微生物能够以太阳光为唯一能量来源，利用 CO<sub>2</sub> 进行自养生长，成为构建人工混菌系统的关键“供应者”。互利共生相互作用关系存在于很多光合自养-异养微生物混菌系统中。在光合作用过程中，光合自养生物释放出的有机化合物可以被异养生物用作碳和能源<sup>[17]</sup>，而 O<sub>2</sub> 则被用来氧化有机物；另一方面，异养生物释放出光合自养生物光合作用所需的 CO<sub>2</sub><sup>[18-19]</sup>。然而，光合自养生物与异养生物之间的协同作用远比简单的营养交换复杂，光合自养生物可以作为异养生物的栖息地，保护异养生物免受不利环境的影响<sup>[20]</sup>，并通过释放细胞外代谢物促进其生长。Mandal

等<sup>[21]</sup>研究表明,一种有毒的甲藻-强壮前沟藻(*Amphidinium carterae*)产生的胞外聚合物刺激了矮小芽孢杆菌的生长。同样,异养生物也可通过分泌生长促进因子,如维生素(例如生物素、硫胺素和维生素 B<sub>12</sub>)<sup>[22]</sup>、氨基酸以及可生物利用的微量金属和铁载体(缺铁条件下微藻生长的重要螯合剂)<sup>[23]</sup>,促进自养生物的生长。此外,异养生物还能帮助清除系统中产生的活性氧(reactive oxygen species, ROS)<sup>[24-26]</sup>。我们课题组前期构建了一个由分泌蔗糖的蓝细菌(*Synechococcus elongatus*) *cscB*<sup>+</sup> 2973 和利用蔗糖合成 3-羟基丙酸(3-HP)的大肠杆菌 ABKm 组成的人工混菌系统,该系统能够在 7 d 内产生约 68.29 mg/L 的 3-HP<sup>[27]</sup>。在这个混菌系统中发现,相同培养基条件下,蓝细菌在混菌系统中的生长比在单培养条件下有明显的提高,其内在机制还需要进一步解析。

除了光合自养-异养微生物混菌系统外,互利共生相互作用关系还存在于利用异养微生物构建的人工混菌系统<sup>[28-30]</sup>。Minami 等<sup>[31]</sup>构建了大肠杆菌和酿酒酵母混菌系统,用于生产苜蓿基异喹啉生物碱。混菌系统成员之间的互惠互动,能够克服两种不同微生物不平衡生长的挑战。另外, Wang 等<sup>[32]</sup>报道了由氧化葡萄糖杆菌(*Gluconobacter oxydans*)和普通生酮基古龙酸菌组成的混菌系统用于从 D-山梨醇一步生产 2-KGA,并且利用代谢组学分析探索构建的混菌系统中各组成菌株的动态代谢相互作用。研究发现生产 2-KGA 的混菌系统中,氧化葡萄糖杆菌可被蜡状芽孢杆菌或巨大芽孢杆菌所替代。Zuroff 等<sup>[33]</sup>将纤维素水解模块和木质纤维素乙醇生产模块分别整合到植物发酵乳杆菌和酿酒酵母中,利用两菌能够互利共生的关系进行共培养生产木质纤维素乙醇,实现了串行路径模块化。

此外,构建的用于生物发电的人工混菌系

统中也存在互利共生相互作用,例如, Wang 等<sup>[5]</sup>构建了恶臭假单胞菌(*Pseudomonas putida*)和希瓦氏菌(*Shewanella oneidensis*)的共培养系统,同时实现了偶氮染料的降解和生物发电。*P. putida*是一种典型的偶氮染料降解微生物,它可以通过还原裂解分子键来降解偶氮染料<sup>[34]</sup>。*S. oneidensis*能够通过可溶性氧化还原介质<sup>[35]</sup>、物理附属物<sup>[36]</sup>和膜相关细胞色素<sup>[37]</sup>将电子从内部代谢循环输送至阳极。与单培养 *S. oneidensis* 相比,共培养产生更高的电流密度,并能同时降解刚果红超过 72 h。随后, Wang 等<sup>[38]</sup>又报道了一个由大肠杆菌(*Escherichia coli*)和异化金属还原菌 *S. oneidensis* 在生物电化学装置中建立的浮游细胞-生物膜互惠系统,在阳极介质中的浮游细胞与电极上的生物膜存在互利共生的相互作用。

## 1.2 混菌系统中的竞争与拮抗相互作用

除了共生相互作用外,混菌系统中还存在竞争和拮抗关系,二者都可能对彼此产生不利影响。对于光合自养-异养微生物混菌系统,有研究报道微藻分泌出的代谢物具有杀菌作用<sup>[39-40]</sup>,例如小球藻素对金黄色葡萄球菌、链球菌、大肠杆菌和枯草芽孢杆菌等具有杀菌作用<sup>[41]</sup>。同样,异养细菌分泌出的代谢产物也具有杀藻作用<sup>[42]</sup>。除此之外,光自养生物光合作用导致的 pH 值和温度升高对共培养细菌也有不利影响<sup>[43]</sup>。光合自养-异养微生物混菌系统中可能存在的相互作用机制如图 1 所示。

微生物间的拮抗作用也被用于开发新的人工混菌系统。Zhou 等<sup>[44]</sup>设计了由大肠杆菌和酿酒酵母组成的共培养系统,用于合成紫杉醇前体,大肠杆菌代谢通路模块产生的活性氧可以抑制酿酒酵母代谢通路模块的活性,以防止不必要的干扰,帮助改善产物的合成。Nouaille 等<sup>[11]</sup>研究了在化学定义的培养基(CDM)和恒定 pH 下的发酵剂中乳酸乳球菌(*Lactococcus lactis*)

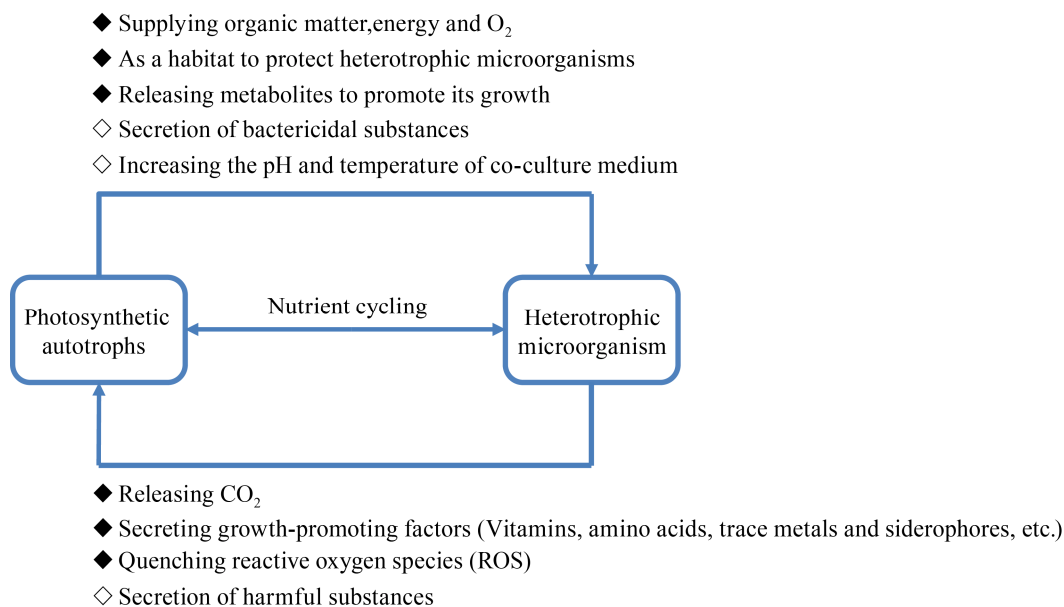


图 1 光合自养-异养微生物混菌系统中可能存在的相互作用机制<sup>[17]</sup>

Figure 1 Possible interaction mechanisms in the photosynthetic autotrophic-heterotrophic microorganism co-culture systems<sup>[17]</sup>. ◆ represents cooperative interactions and ◇ represents competitive interactions.

在与食品致病菌金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 共培养时的转录响应, 研究发现 *S. aureus* 的存在几乎不影响 *L. lactis* 的生长, 但是极大地改变了其基因表达谱。该研究为乳酸乳球菌与金黄色葡萄球菌的相互作用关系提出新的认识。之后, Even 等<sup>[45]</sup>又利用微阵列技术与乳酸乳球菌混合培养物中建立金黄色葡萄球菌的转录组谱, 发现在混合培养物中乳酸乳球菌会损害金黄色葡萄球菌的毒力表达, 为研究这种主要病原体的非抗生素生物防治提供了线索。

尽管研究者们对人工微生物混菌系统的研究越来越多、越来越深入, 但人工混菌系统的应用仍然存在较多难点。主要包括: 1) 人工构建的混菌系统稳定性不是很好, 容易崩溃, 混菌相互关系难以长时间维持; 2) 筛选出目的系统的最适菌株, 以及各个菌株的初始接种量和接种比例的调节存在困难; 3) 混菌系统的能量传递效率比较低; 4) 混菌系统中组成成员的某

些性能较差, 如对高光、金属离子的耐受性等。为了解决上述困难, 近年来研究者们试图利用组学技术对混菌系统中的作用机制进行深入解析, 以此为人工混菌系统的系统优化和新型混菌系统的构建提供理论依据。以下将分别从混菌系统的代谢网络、能量代谢、膜转运、信号转导、胁迫响应行为、稳定性和结构合理性等几个方面对这些进展进行总结和评述。

## 2 混菌系统机制解析的组学技术应用

近几十年来, 研究者们采用宏基因组学 (metagenomics)、转录组学 (transcriptomics)、蛋白质组学 (proteomics)、代谢组学 (metabolomics) 等系统生物学方法解析人工混菌系统的作用机制<sup>[46-49]</sup>。多组学整合的生物信息学方法, 为深入了解人工微生物混菌系统成员间的相互作用关系提供了大量的数据与信息。随着组学技术的飞速发展, 越来越多的人工微生物混菌系统

互作机制日渐清晰。

## 2.1 宏基因组学

宏基因组学是从环境生态位取样的总微生物 DNA 测序,已经改变了对自然微生物群落的研究,并提供了丰富的生物学见解。宏基因组学方法被用于研究复杂生态系统的功能和相互作用机制,例如人类肠道微生物群和海洋微生物<sup>[50-51]</sup>。宏基因组学作为一种不依赖于细胞培养的方法,提供了一种从其自然栖息地以更高分辨率表征未培养微生物的方法<sup>[52]</sup>,也使研究人员能够了解这些微生物在群落中的潜在作用。因此,可以运用其分析菌种数目较多的人工混菌系统。尽管宏基因组学方法在分析微生物混菌系统方面具有巨大的潜力,但在研究每个有机体之间的关系方面仍有局限性。由于样本中微生物种类繁多,很难获得所有微生物完整的基因组信息,为深入研究微生物混菌系统成员之间的相互作用带来局限<sup>[53]</sup>。

## 2.2 转录组学

转录组学是一门研究细胞内基因转录和转录调控概况的学科,从 RNA 水平研究基因表达的情况是功能基因组学中的关键要素<sup>[54]</sup>。微阵列<sup>[55]</sup>和高通量 mRNA 测序 (RNA-seq) 是常用的转录组学技术。RNA-seq 等下一代测序技术的最新进展有助于破译生物体整个转录组的功能复杂性<sup>[56]</sup>,RNA-seq 比其他技术在绘制和定量转录组方面具有明显的优势<sup>[57-58]</sup>。

## 2.3 蛋白质组学

蛋白质组一词最早是用来描述基因组编码的蛋白质的集合<sup>[59]</sup>。蛋白质是基因的分子产物,对生物体至关重要,因为它们构成了代谢途径运作所需的机制。基因组学为蛋白质组学研究的重点提供了可能的基因产物的“蓝图”<sup>[60]</sup>。蛋白质组学是指对蛋白质大规模水平上的研究,特别是蛋白质的表达、结构和功能,这种日渐

成熟的技术旨在描述和表征生物系统中所有表达的蛋白质<sup>[61]</sup>。

## 2.4 代谢组学

近年来,代谢组学发展迅速,它是一种用于研究一组给定条件下系统中整体代谢物概况的方法。代谢产物是系统基因组与其环境相互作用的结果,不仅是基因表达的最终产物,也是调控整个系统的重要组成成分<sup>[62]</sup>。代谢串扰在决定微生物群落内部相互作用机制中起着至关重要的作用<sup>[63]</sup>。微生物通过交换各种代谢物来相互交流,包括初级代谢物(如有机酸和氨基酸)和次级代谢物(如群体感应中的自诱导剂)。因此,发现这些特定的代谢物是微生物相互作用机制研究的一个重点<sup>[64]</sup>。

## 2.5 多组学整合

转录组学、蛋白质组学和代谢组学是研究混菌系统相互作用机制的关键,能够从各个水平上解析混菌系统的机制。由于这些不同方法的不完全性和互补性,多组学分析可以获得混菌系统中的细胞全景图,并展示对生物学机制的新见解。

# 3 混菌系统的组学解析

组学分析可以为人工混菌系统机制解析提供有价值的信息,本节从代谢网络、能量代谢、信号转导、膜转运、胁迫响应、混菌系统的稳定性和混菌系统的结构合理性几个角度来总结组学分析对于揭示混菌系统中成员间相互作用的意义。各种组学技术在人工微生物混菌系统机制解析中的应用如表 1 所示。

## 3.1 代谢网络

物质代谢网络是一个包括了碳水化合物代谢(柠檬酸循环、戊糖磷酸途径、淀粉和蔗糖代谢、丙酮酸代谢、乙醛酸和二羧酸代谢等)、脂质代谢(脂肪酸代谢、不饱和脂肪酸的生物

表 1 各种组学技术在人工微生物混菌系统机制解析中的应用

Table 1 Application of OMICS technologies in analyzing the mechanisms of synthetic microbial co-culture systems

Aspect	OMICS technologies	Microorganisms	References
Metabolic network	GC-TOF-MS metabolomics	<i>B. megaterium</i> and <i>K. vulgare</i>	[65]
Metabolic network	Time-series proteomics and metabolomics	<i>B. megaterium</i> and <i>K. vulgare</i>	[66]
Metabolic network	GC-TOF-MS metabolomics	<i>B. megaterium</i> and <i>K. vulgare</i>	[67]
Metabolic network	GC-TOF-MS metabolomics	<i>B. cereus</i> and <i>K. vulgare</i>	[68]
Metabolic network	HPLC metabolomics and transcriptomics	<i>E. coli</i> and <i>S. oneidensis</i>	[38]
Metabolic network	Metagenomics	<i>S. elongatus</i> PCC 7002, <i>Mesorhizobium</i> sp. TAIHU and <i>P. stutzeri</i> TAIHU	[69]
Energy metabolism	Transcriptomics	<i>S. putrefaciens</i> W3-18-1 and <i>S. elongatus</i> PCC 7002	[70]
Energy metabolism	Transcriptomics	<i>T. elongatus</i> BP-1 and <i>M. ruber</i> A	[72]
Signal transduction	Metagenomics and metaproteomics	<i>Synechococcus</i> sp. YX04-3 and five heterotrophic bacteria	[76]
Signal transduction	Transcriptomics	<i>S. thermophilus</i> LMD-9 and <i>L. bulgaricus</i>	[78]
Membrane transport	Quantitative proteomics	<i>Synechococcus</i> sp. WH7803 and <i>R. pomeroyi</i>	[80]
Membrane transport	Metagenomics and metaproteomics	<i>Synechococcus</i> sp. YX04-3 and five heterotrophic bacteria	[76]
Stress response	Transcriptomics, proteomics and metabolomics	<i>S. elongatus</i> PCC 7942 and <i>E. coli</i> BL21(DE3)	[85]
Stress response	Quantitative proteomics	<i>Synechococcus</i> sp. WH7803 and <i>R. pomeroyi</i>	[80]
Stress response	Transcriptomics	<i>S. putrefaciens</i> W3-18-1 and <i>S. elongatus</i> PCC 7002	[70]
Stress response	Transcriptomics	<i>T. elongatus</i> BP-1 and <i>M. ruber</i> A	[72]
Community stability	Quantitative proteomics	<i>Synechococcus</i> sp. WH7803 and <i>R. pomeroyi</i>	[80]
Community stability	Metabolomics and transcriptomics	Diatom and bacteria	[89]
Structural rationality	Metagenomics	<i>S. elongatus</i> PCC 7002, <i>Mesorhizobium</i> sp. TAIHU and <i>P. stutzeri</i> TAIHU	[69]

合成、甘油酯代谢和花生四烯酸代谢等)、核酸代谢(嘌呤代谢和嘧啶代谢)、氨基酸代谢、维生素和辅因子代谢等途径的巨大代谢网络,对代谢相关途径进行组学分析,有利于理解混菌系统中的代谢相互作用。

由普通生酮基古龙酸菌(*Ketogulonicigenium vulgare*)和巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*)或者蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)组成的人工混菌系统被构建用来生产 2-KGA,已有多项研究采用组学技术对这些人工混菌系统中成员菌之间的相互作用关系进行解析。例如, Zhou 等<sup>[65]</sup>采用气相色谱-飞行时间质谱联用代谢组学

(GC-TOF-MS)揭示 *B. megaterium* 和 *K. vulgare* 在诱导的群体运动过程中的代谢合作,发现 *B. megaterium* 和 *K. vulgare* 之间的相互作用是互惠和拮抗的协同组合。这是首个对 *B. megaterium* 和 *K. vulgare* 混菌系统的相互作用机制在代谢物水平上开展的研究。为了从分子层面深入了解该人工混菌系统,并为改善 2-KGA 的生产建立基础知识, Ma 等<sup>[66]</sup>在接下来的研究中,除采用 GC-TOF-MS 代谢组学分析外,还将时间序列蛋白质组学应用于该混菌系统的相互作用研究。研究发现在 *B. megaterium* 细胞裂解时,戊糖磷酸途径、L-山梨糖途径、三羧酸循环和氨基酸代

谢相关蛋白均上调,细胞裂解可能为 *K. vulgare* 的生长提供所需的嘌呤底物。*B. megaterium* 为 *K. vulgare* 的生长和 2-KGA 的生产提供了必要的关键元素。这项研究首次通过定量系统生物学分析,实现了对生产 2-KGA 的微生物混菌系统相互作用机制的解析。随后, Du 等<sup>[67]</sup>采用同样的代谢组学技术,对上述人工混菌系统的代谢相互作用进行了研究。与 Zhou 等<sup>[65]</sup>研究不同的是,该研究系统地量化了两种微生物在不同接种浓度和组成条件下生态系统种群和代谢的动态演变。7 种代谢物在混菌系统中被检测到,而在两种菌各自纯培养时未被检测到,表明两种物种之间的代谢相互作用激活了更多的代谢途径。此外, *B. megaterium* 和 *K. vulgare* 的接种量和比例显著影响了 2-KGA 的生物合成是该研究的一个新的发现,因此代谢组学分析也为维生素 C 生物合成的工业优化提供了有用的参考。在之后的研究中, Ding 等<sup>[68]</sup>采用上述代谢组学技术对共培养的蜡样芽胞杆菌 *B. cereus* 和 *K. vulgare* (传代前后) 细胞内和细胞外代谢产物进行分析,发现经过 150 d 进化后的 *B. cereus* 和 *K. vulgare* 之间的关系变为互惠关系,并且它们的代谢物交换得到增强。该研究从代谢水平上解释了传代培养后混菌系统 2-KGA 产量显著提高的原因,对于实现 2-KGA 的最优生产具有重要意义。

另外, Wang 等<sup>[38]</sup>以大肠杆菌和希瓦氏菌为模型生物,报道了在微生物燃料电池 (MFCs) 等生物电化学装置中,通过生物膜介导的发酵厌氧细菌和异化金属还原细菌之间的相互作用。研究人员利用 HPLC 定量分析方法进行分析,发现甲酸盐、乙酸盐和乳酸盐为参与相互作用的主要代谢产物。结合电流密度的检测,确定甲酸是互惠共培养系统中交换的主要代谢物。转录组数据显示,参与代谢的基因在大肠

杆菌中显著上调,表明菌株之间存在互惠关系。该研究揭示了大肠杆菌和希瓦氏菌在液体介质和生物膜中的相对分布可能是由它们的代谢功能所驱动的,从而在生物电化学装置中实现最佳的公共代谢。

除此之外, Ren 等<sup>[69]</sup>构建了由蓝细菌聚球藻 PCC 7002 和两种异养菌 (斯氏假单胞菌 *Pseudomonas stutzeri* TAIHU 和中生根瘤菌 *Mesorhizobium* sp. TAIHU) 组成在高盐度下稳定的混菌系统,宏基因组学分析发现,在混菌系统中,两种异养菌都具有通过生物合成或回收途径更新钴胺素的代谢潜能,而钴胺素是聚球藻 PCC 7002 生长的必需物质。反之,聚球藻 PCC 7002 可以合成包括蔗糖和葡萄糖基甘油在内的相容溶质,为两种异养菌提供碳源和氮源。此外,根据编码胞外素的合成及分解等基因的存在,发现这两种异养菌在群落中可能存在代谢相互作用。本研究中描述的与微囊藻水华相关的两种细菌的基因组序列将有助于研究者阐明这些异养细菌在淡水生态系统中蓝藻水华形成和维持中的作用。

利用组学技术对人工混菌系统的代谢网络进行解析,有助于研究者在全细胞水平上理解混菌系统中的代谢相互作用,同时也为人工混菌系统中目标产物的最优生产和工业化应用提供了指导。

### 3.2 能量代谢

根据 KEGG 代谢途径数据库,能量代谢通常包括氧化磷酸化、光合作用、光合作用-天线蛋白、氮代谢、碳固定、甲烷代谢和硫代谢这几个分支途径,能量代谢在混菌系统也发挥了重要作用。

Beliaev 等<sup>[70]</sup>利用深度测序技术鉴定广盐性单细胞蓝细菌聚球藻 PCC 7002 和海洋兼性需氧菌腐败希瓦氏菌 (*Shewanella putrefaciens*)



W3-18-1 在共培养条件下的转录适应。在聚球藻 PCC 7002 中, 共有 473 个转录本的相对 mRNA 丰度因共培养而发生了大于等于 2 倍的变化, 其中, 与能量代谢有关的基因占 8%, 比如与氮同化有关的谷氨酰胺合成酶 (*glnA*) 和铁氧化还原蛋白-亚硝酸盐还原酶 (*nirA*) 基因的表达量上调。硝态氮同化还原为铵态氮是生物圈氮循环的关键步骤, 亚硝酸盐还原酶在六电子反应中将亚硝酸盐还原为铵<sup>[71]</sup>。氮同化作用对蓝细菌的生长有着重要的作用, 能够影响光合作用、氨基酸生物合成以及碳代谢等多种生理过程。编码碳固定相关功能的基因 (即 RuBisCo、羧酶体成分、碳酸氢盐转运蛋白、NADH-醌脱氢酶) 的 mRNA 丰度增加可能是由于共培养系统中无机碳的限制引起的。该研究的发现有助于研究者对混菌系统中存在的能量代谢机制的理解, 揭示了能量代谢在混菌系统中发挥的重要作用。

另外, Bernstein 等<sup>[72]</sup>采用转录组学分析方法探究了由嗜热聚球藻 (*Thermosynechococcus elongatus*) BP-1 和红色亚栖热菌 (*Meiothermus ruber*) strain A 组成的混菌系统中的相互作用关系。研究发现, 在 *T. elongatus* 的 2 476 个蛋白质编码基因中, 分别有 354 个和 339 个基因与纯培养和共培养稳态条件下光响应特性相关。此外, 转录本数据显示, 与光系统 II 相关的基因 (*psbV*、*psbX* 和 *psbV2*; *tll1285*、*tsr2013* 和 *tll1284*) 和与羧酶体相关的基因 (*ccmK1* 和 *ccmL*; *tll0946* 和 *tll0945*) 随辐照度增加而增强。除了它们对辐照度的反应外, 与纯培养 *T. elongatus* 条件相比, 混菌系统中有更多 PS II 基因转录本丰度增加。除此之外, *T. elongatus* 中编码硝酸盐摄取系统的转录本 *nrtABD* (*tlr1350*、*tlr1351* 和 *tlr1354*) 的相对丰度随着辐照度的增加而增加, 这一发现为揭示混菌系统

的氮代谢提供依据, 从而加强对混菌系统中能量代谢的认识。

利用组学技术对混菌系统能量代谢途径进行解析, 可以为提高人工混菌系统的能量传递效率提供思路, 成员菌生长情况的改善会对混菌系统整体效率的提高有所帮助。

### 3.3 信号转导

细菌通常使用包含传感器激酶和响应调控因子的双组分系统来感知和响应它们环境的变化<sup>[73]</sup>, 它是一种普遍存在的信号转导途径, 是细菌中普遍存在的信号传导机制<sup>[74-75]</sup>。除双组分系统外, 信号转导途径还包括磷脂酰肌醇信号系统、磷脂酶 D 信号通路、鞘脂信号通路、MAPK 信号通路等多种途径。信号转导是细胞不断应对外界环境变化的重要机制, 通过调节相关基因的表达来响应外界刺激。混菌系统中存在成员菌之间的相互作用, 与纯培养相比, 共培养菌株除了要应对外界环境, 还需要解决系统内部不断变化的成员菌之间的关系。因为多种菌株的存在, 造成成员菌之间建立的相互作用可能随生长繁殖过程中成员菌的比例等因素而发生改变, 这更加凸显出信号转导在共培养系统中的作用。许多混菌系统的成员菌中与信号转导有关的基因或蛋白质表达量的上调, 很好地反映了信号转导系统对于混菌系统的重要作用。

宏基因组数据可用于预测优势菌群的代谢潜力, 而宏蛋白质组数据可为共培养系统中发生的真正代谢活动提供见解。Zheng 等<sup>[76]</sup>结合这两种组学技术, 研究了一个开放的海洋聚球藻生态型及其相关的异养菌共培养 91 d 的相互作用。重建 6 个高质量的基因组, 包括聚球菌 (*Synechococcus* sp. YX04-3) 和 5 个优势异养细菌。根据组学数据分析得知, *Synechococcus* sp. YX04-3 蛋白质组中存在 3 种传感器组氨酸激酶

和 6 种反应调节因子, 其中两个被预测参与磷酸盐传感器调节 (PhoRB) 系统。*Synechococcus* sp. YX04-3 基因组共检测到 8 个感应组氨酸激酶和 11 个反应调节因子, 在蓝细菌聚球藻菌株的基因组中, 传感器的丰度通常低于响应调控因子, 这可能代表一种有效的调控策略, 似乎存在一种调节经济性, 即其中某些传感器可以将信号传递给多个响应调控因子<sup>[73,77]</sup>。该研究揭示了混菌系统中存在的信号转导途径, 为混菌系统应对外界变化提供了优化思路。

另外, Thevenard 等<sup>[78]</sup>采用转录组学研究发现, 嗜热链球菌 (*Streptococcus thermophilus*) LMD-9 所有的响应调节基因均在牛奶中表达, 在德氏乳杆菌保加利亚亚种 (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) 的存在下, *S. thermophilus* LMD-9 的 4 种响应调节因子表达增加, 其中 *rr02* 和 *rr09* 增加了 6 倍。这表明了 *L. bulgaricus* 的存在使 *S. thermophilus* 的调控系统发生变化, 为研究每一个双组分系统 (TCS) 对牛奶中 *S. thermophilus* LMD-9 生长的贡献提供了证据。

利用组学技术解析人工混菌系统中的信号转导途径, 能够帮助构建更加稳定的混菌系统以应对外界环境的变化, 可以为解决人工混菌系统不稳定、易崩溃的问题提供好的工程化思路。

### 3.4 膜转运

在膜转运途径中, 最常见的就是 ABC 转运蛋白系统。ABC 转运蛋白最早发现于细菌, 每个成员均含有两个高度保守的 ATP 结合区 (ATP binding cassette), 它被认为是蓝细菌吸收营养物质的重要机制<sup>[79]</sup>。ABC 转运蛋白是膜整合蛋白, 它能够利用 ATP 水解产生的能量来转运多种生物分子。除 ABC 转运蛋白系统外, 膜转运途径还包括磷酸转移酶系统 (PTS) 和细菌分泌系统。纯培养菌株需要借助膜转运系统

从外界环境中摄取营养物质以供自身生长。而在混菌系统中, 成员菌之间存在着代谢相互作用, 它们需要膜转运系统来进行营养物质的交换与循环, 达到互惠共生的目的。与纯培养条件相比, 与膜转运相关的基因或蛋白质的上调, 可能表明混菌系统中成员菌对各种营养物质的摄取能力有所提高, 有利于菌株的生长和成员菌之间的代谢相互作用。

Christie-Oleza 等<sup>[80]</sup>在富营养化和天然贫营养化海水条件下设计聚球藻 *Synechococcus* sp. WH7803 与异养微生物长期的共培养实验。通过蛋白质组学分析发现, 聚球藻在与玫瑰杆菌共培养和单独培养时比较有少量差异表达的蛋白, 且大多数最高差异表达的是未知功能蛋白, 这与另一项短期光自养生物-异养生物共培养的研究发现的结果一致<sup>[81]</sup>。从功能水平上看, 当有异养菌存在时, 聚球藻 WH7803 蛋白质组更大的比例 (61%) 被分配到膜转运途径中, 这种膜运输蛋白能力的明显提高, 很大程度上是由于两种针对氨基酸和铁的周质结合蛋白丰度的增加; 一种聚球藻的 ABC 型氨基酸转运蛋白表达量 3.6 倍的上调以及与中心碳代谢有关途径 (如核酸和辅因子的生物合成) 的蛋白的下调可能表明水解的有机物可被利用并被光养生物重新同化。

在 Zheng 等<sup>[76]</sup>的研究中, 蛋白质组学为膜转运途径的解析也提供了参考。在 *Synechococcus* sp. YX04-3 的蛋白质组中鉴定出硝酸盐/亚硝酸盐转运蛋白、磷酸盐转运蛋白 (PstBS)、与尿素转运 (UrtABCDE) 有关的蛋白、与铁结合的 ABC 转运蛋白, 以及氨基酸和寡肽 ABC 转运蛋白, 这表明 *Synechococcus* 菌株对氮、磷等营养物质的摄取, 并且可以利用一些低分子量 (LMW) 的有机化合物, 为 *Synechococcus* sp. YX04-3 与其相关异养菌 91 d 共培养系统的机制解析提供

了依据,揭示了潜在的营养物质循环。

利用组学技术解析人工混菌系统中的膜转运途径,可以为帮助提高混菌系统成员菌对营养物质的摄取能力提供参考,并且为混菌系统相互关系难以维持的问题提供解决思路。

### 3.5 胁迫响应

对氧化应激响应的研究是研究混菌系统相互作用机制的主要内容之一。ROS 可以与许多生物分子发生反应,包括核酸、蛋白质和脂质,这会对细胞造成损害并导致氧化应激<sup>[82-83]</sup>。ROS 的产生是有氧代谢的必然结果<sup>[84]</sup>。一般认为,与纯培养菌株相比,混菌系统具有高鲁棒性和抗逆性。例如,在 Ducat 等<sup>[3]</sup>构建的由 *S. elongatus* PCC 7942 与酿酒酵母组成的人工混菌系统中,双菌在生物量上可以维持长时间的稳定,这是由于酿酒酵母的存在能够帮助清除混菌系统中产生的 ROS,从而使得混菌系统具有较高的鲁棒性。

Liu 等<sup>[85]</sup>构建了蓝细菌 *S. elongatus* PCC 7942 和大肠杆菌 BL21(DE3) 共培养发酵高产异戊二烯的新系统,采用转录组学、蛋白质组学和代谢组学相结合的组学分析方法研究了该混菌系统中蓝细菌对大肠杆菌的影响,发现大肠杆菌 BL21(DE3) 在混菌系统中对 *S. elongatus* PCC 7942 的响应实际上是由光合作用产生的氧化压力触发的。首先,为了终止 Fenton 反应,上调 BFR 以降低  $Fe^{2+}$  浓度,并且将巯基半胱氨酸转化为胱氨酸以减少  $H_2O_2$ ;其次, YtfE 上调以修复受损的 Fe-S 蛋白;第三,噬菌体休克蛋白 PspB、PspD 和 PspE 上调以应对氧化压力等。本研究发现的基本规则可以为优化过程控制和改良菌株提供参考。与上述胁迫响应机制一致的是,Christie-Oleza 等<sup>[80]</sup>在研究中发现,当有异养菌存在时,聚球藻 WH7803 蛋白质组中与

氧化应激处理机制有关的蛋白比例降低,表明混菌系统中存在的异养菌能够为聚球藻 WH7803 提供抗氧化应激保护。

与其他研究<sup>[25]</sup>的结果不同的是, Beliaev 等<sup>[70]</sup>通过转录组测序技术发现,在共培养条件下, *Shewanella* W3-18-1 中参与氧化应激反应和清除活性氧自由基的基因转录水平普遍下降,其中包括两个预测的氧化还原域基因 (*ohrA*, *bcp*) 和以前未表征的与球形红球菌的单线态氧 ( $^1O_2$ ) 保护调节子 ChrR 具有高度相似性的基因簇 (*SputW3181\_1296-SputW3181\_1306*)。其他显著下调的基因在以前的研究中<sup>[86-87]</sup>也被证实与 *Shewanella* 中的应激反应有关。这可能是由于该光自养生物自身能够提供抗氧化应激保护,而不是受到其他成员的保护,这是一种全新的假设。

Bernstein 等<sup>[72]</sup>采用转录组学分析发现,在 *T. elongatus* 中的 2476 个蛋白质编码基因中,分别有 105 个基因和 60 个基因在纯培养和共培养稳态条件下对  $O_2$  有响应。涉及  $O_2$  响应基因的大多数功能在共培养状态下显示的富集率高于在 *T. elongatus* 纯培养条件下,包括光系统稳定基因 *hliC* 和 *hliA* (*tsr0446* 和 *tsl2208*)、铁硫基因 *sufD* 和 *iscU* (*tlr1905* 和 *tll1093*)、过氧化物解毒基因 *grxD* (*tll0874*) 和 *tll1454*。*T. elongatus* BP-1 通过改变 ROS 解毒基因的表达来适应与 *M. ruber* 的伙伴关系,这可能是由异养介导的 ROS 增加所驱动的,在这一发现上,该研究与上述研究<sup>[70]</sup>得到的结论一致:蓝细菌通过增加对氧化应激的保护来适应异养伙伴。

利用组学技术对人工混菌系统中的胁迫响应途径进行解析,可以为提高混菌系统稳定性与鲁棒性提供方案,例如在混菌系统中过表达与淬灭 ROS 相关的基因等,有利于构建稳定的

人工混菌系统。

### 3.6 混菌系统的稳定性

混菌系统的稳定性是人工混菌系统能够成功维持的关键因素之一，同时混菌系统的稳定性是构建人工混菌系统的重要原则<sup>[88]</sup>。除了上述的组学技术在解析基本代谢方面的应用，组学技术在解析混菌系统稳定性方面也有初步探索，这对于未来优化已有混菌系统和构建新型人工混菌系统有着重要意义。如 Christie-Oleza 等<sup>[80]</sup>利用蛋白质组学技术分析发现，在聚球藻 *Synechococcus* sp. WH7803 与异养微生物的长期共培养过程中，维持稳定的相互作用和动态系统的不是营养物质的浓度，而是营养物质的循环，这是维持长期光养-异养微生物相互作用的基础。此外，还需要进一步研究来确定是否还包括特定信号分子的产生。正如 Amin 等<sup>[89]</sup>在海洋硅藻-细菌相互作用的研究中，梳理了一个与全球分布的硅藻相关的细菌群落，发现一种亚硫酸杆菌通过分泌激素吡啶-3-乙酸促进硅藻细胞分裂，吡啶-3-乙酸是细菌利用硅藻分泌以及内源性的色氨酸进行合成的。在这个共生系统中，吡啶-3-乙酸和色氨酸作为信号分子协调菌种间的营养物质交换，是维持系统稳定性的关键因素。更有趣的是，本研究利用代谢物和转录组分析证实了这种信号传递模式在海洋中的普遍存在。该研究拓展了现有的认知，发现海洋微生物群落是紧密连接的生态网络的一部分，并证明了菌种间的相互作用是通过信息化学物质的生产和交换介导的。

活性氧在光合微生物的生长过程中扮演重要的角色，前期组学分析研究发现，协助淬灭 ROS 是光合自养-异养混菌系统的关键相互作用，一方面异养菌能够为自养菌提供抗氧化应激保护，另一方面自养菌能够增加自身对氧化应激的保护<sup>[70,85]</sup>。Li 等<sup>[24]</sup>构建了由酵母和分泌

蔗糖的蓝细菌组成的人工混菌系统，用于油脂的合成。在此研究中发现，蓝细菌与酵母共培养时的生长情况明显优于纯培养，这个生长差距可以通过在纯培养的蓝细菌中添加过氧化氢酶来抵消，由此推测出酵母可能帮助清除了混菌系统中的 ROS 来促进蓝细菌的生长。

综上，如何应用组学技术探索维持混菌系统稳定性的因素，提出互作策略来加强各个菌种之间的合作，指导代谢途径的优化，实现混菌系统结构和功能的长期维持，可能成为混菌系统研究领域的重要思路。

### 3.7 混菌系统的结构合理性

分析混菌系统的结构合理性是重构和优化人工混菌系统的理论基础<sup>[90]</sup>。鉴于探索光合微生物与相关细菌群落之间的相互作用对于理解介导淡水生态系统中蓝细菌水华形成的机制至关重要，Ren 等<sup>[69]</sup>构建了一个由蓝细菌聚球藻 PCC 7002 和太湖分离的含有两种异养菌构建的人工混菌系统，并采用宏基因组学技术分析了由蓝细菌和两种异养菌之间的作用机制。结果发现，蓝细菌能够合成包括蔗糖和葡萄糖基甘油在内的相容性溶质，供两种异养菌用作潜在的碳源和/或氮源。异养菌携带了所有参与钴胺素从头生物合成的基因，而钴胺素正是聚球藻 PCC 7002 生长所需。此外，编码四氢嘧啶（常见的渗透因子）生物合成的基因仅存在于其中一种异养菌中，而负责四氢嘧啶分解代谢的基因及其衍生基因仅存在于另外一种异养菌中。该研究利用组学技术揭示了 3 个成员能够形成稳定混菌系统的内在作用机制，同时也反映出利用组学技术能够证明设计的混菌系统的结构合理性。

组学分析可以提供对于混菌系统内部代谢情况的认识，通过对相关代谢物的检测与分析，可以了解成员菌之间的代谢相互作用，从而判

断混菌系统是否处于正常的代谢循环中,为混菌系统结构的合理性提供见解。另外,对于光合自养微生物来说,在与异养菌共培养时,其与光捕获、藻胆体组装、碳固定等光合作用相关的蛋白或基因表达量上调,可以从一定程度上说明异养菌的存在没有对其产生不利的影响,从而反映混菌系统结构的合理性。总之,利用组学技术探索和量化各种自然或人工混菌系统中影响混菌系统稳定性的因素,有助于建立混菌系统的关键设计原则<sup>[90]</sup>。

## 4 总结与展望

由于人工微生物混菌系统在废水处理<sup>[2]</sup>、生物降解<sup>[91]</sup>、生物发电、土壤改善<sup>[92]</sup>、生物防治<sup>[93]</sup>和微生物细胞工厂<sup>[94]</sup>方面应用十分广泛,其成员间的相互作用机制也成为研究者们的一个研究热点。系统生物学是在整体水平上研究不同结构和功能的各种分子及其相互作用的学科,在过去的20年中发展迅速<sup>[95]</sup>。基因组学、转录组学、蛋白质组学和代谢组学等组学技术在解析微生物混菌系统中各个成员间的相互作用关系方面取得了很大的进展,尽管这些系统生物学平台中的每一个对于微生物混菌系统的研究都很重要,但结合使用它们才可以带来更深刻的见解<sup>[96]</sup>。同时,不同组学提供了不同水平上的信息,需要进行梳理和整合。组学技术的运用能够为提高人工混菌系统的稳定性、解决其容易崩溃的问题提供见解,同时也反映了系统中各个菌株的初始接种量和接种比例的调节的重要性,但是仍然有组学技术无法解决的人工混菌系统应用的难点,并且在解析人工混菌系统中的相互作用机制方面,组学技术的运用仍有进步的空间。

不足之处在于,各种组学技术的利用不够丰富,利用多组学方法研究人工微生物混菌系

统相互作用机制的报道相对较少,不利于新机制的发现。同时,多组学数据的梳理和整合有待加强。可以改进的是:(1)利用多种组学技术解析系统内存在的机制,从不同水平(如基因、转录、蛋白、代谢水平)上进行分析。任何单一的组学方法可能都不足以描述生物系统的复杂性。例如,某一特定基因的表达水平并不表示所产生的蛋白质的数量,也不表示其位置、生物活性或与代谢组的功能关系<sup>[96]</sup>。多组学分析整合可以提供混菌系统中的细胞全景图,阐明复杂的代谢网络。Liu等<sup>[85]</sup>采用转录组学、蛋白质组学和代谢组学分析方法,系统地研究了一个生产异戊二烯的人工混菌系统中大肠杆菌对蓝细菌光合作用氧化压力的响应。经过组学数据的整合,探索出了比单一组学能够得到更多的响应机制,对全面理解混菌系统中的胁迫响应机制有很大帮助。(2)加强多组学数据的梳理和有效整合。转录组和蛋白组之间的对应关系比较直接,所以有很多二者之间的比较分析,但是有不少的研究数据显示 mRNA 和蛋白表达之间的相关性不高,表明转录后的调控普遍存在<sup>[97]</sup>。刘伟等<sup>[98]</sup>提到,通用的数据整合方法包括数据合并、数据交叉、无权重的 Fisher's 方法以及 MG 和 LS 方法。除此之外,多组学数据浏览与分析的平台对组学数据的整合分析有着很大的帮助,例如, Cytoscape 是一种可视化分子相互作用网络的工具,可以将基因表达谱和其他状态数据之间的相互作用进行整合; Biological Networks 是一种通过 PathSys 提供可视化、分析服务和信息管理框架的软件平台,能够可视化基因调控和蛋白质相互作用网络、代谢和信号通路等<sup>[99]</sup>;还有 Pathway tools 和 Paintomics 等组学数据可视化平台<sup>[100]</sup>。可以采用上述方法和平台按照如下思路进行多组学整合分析:筛选各种目标生物分子,再按照一定

的系统生物学功能层级,对目标分子进行功能分析,并且根据协同网络协同调控的逻辑对转录、蛋白和代谢等数据进行整合分析。通过完善实验技术来提高数据的精度,加之数学与计算机领域开发出更强的分析计算方法,最终实现多组学数据的有效整合,对人工微生物混菌系统相互作用机制进行全面的解读。

尽管组学技术无法直接解决菌株性能较差的问题,但是可以采用定向进化和组学相结合的方式特异性地改善菌株的性能。比如,在针对需要解决的特定问题,对所需菌株进行驯化,以提高该菌株某些方面的性能。若再对其组成的混菌系统进行驯化,可能得到稳定性较好的人工混菌系统。此时结合组学技术能够分析驯化菌株提高混菌系统稳定性或者其他性能的内在机制,比较驯化前后混菌系统中成员菌在各个水平上的变化,可以进一步指导菌株的驯化过程。例如,在 Ding 等<sup>[68]</sup>研究中,采用代谢组学技术对 *B. cereus* 与 *K. vulgare* (传代前后) 的共培养系统细胞内和细胞外代谢产物进行分析,从代谢水平上解释传代培养后混菌系统 2-KGA 产量显著提高的原因,对于实现 2-KGA 的最优生产具有重要意义。另外,结合前期人工混菌系统中发现的光合微生物生长有所促进的现象,我们也在利用组学技术提供的信息,探索混菌系统的最佳初始接种量和接种比例,以期改善目标产物的合成。相信这些策略的使用和组学技术的不断发展,可以帮助我们更好地应用人工微生物混菌系统。

综上所述,随着对混菌系统内在机制的逐步清晰化,加之合成生物学方法和基因组编辑等技术的快速发展,未来可以通过对人工混菌系统中的组学分析得出的重要信息加以运用,比如优化表达有利于能量传递的基因、参与营养物质运输的转运蛋白、重要的双组分系统元

件以及应对氧化胁迫的功能元件、敲除或下调不利于维持混菌系统稳定性或是不利于产量提高的途径等,以构建出性能更优的人工微生物混菌系统,拓展其后续工业化应用的前景。在最近的研究中, Benito-Vaquerizo 等<sup>[101]</sup>构建了一个由产乙醇梭菌 (*Clostridium autoethanogenum*) 和克氏梭菌 (*Clostridium kluyveri*) 组成的人工混菌系统,通过敲除甲酸转运、NAD<sup>+</sup>氧化还原酶和甲酸脱氢酶(铁氧还蛋白)基因,将 *C. autoethanogenum* 中乙醇的产量增加了 150%,并且 *C. kluyveri* 对乙醇的吸收也随之增加。这表明人工微生物混菌系统有着很大的改善空间,通过新技术的应用,为未来规模化应用提供了可能性。

## REFERENCES

- [1] 张丽, 宋馨宇, 陈磊, 等. 光合微生物混菌体系的应用和研究进展. 生物工程学报, 2020, 36(4): 652-665. Zhang L, Song XY, Chen L, et al. Recent progress in photosynthetic microbial co-culture systems. Chin J Biotech, 2020, 36(4): 652-665 (in Chinese).
- [2] Koreivienė J, Valčiukas R, Karosienė J, et al. Testing of *Chlorella/Scenedesmus* microalgae consortia for remediation of wastewater, CO<sub>2</sub> mitigation and algae biomass feasibility for lipid production. J Environ Eng Landsc Manag, 2014, 22(2): 105-114.
- [3] Xie ZZ, Lin WT, Luo JF. Co-cultivation of microalga and xylanolytic bacterium by a continuous two-step strategy to enhance algal lipid production. Bioresour Technol, 2021, 330: 124953.
- [4] Weiss TL, Young EJ, Ducat DC. A synthetic, light-driven consortium of cyanobacteria and heterotrophic bacteria enables stable polyhydroxybutyrate production. Metab Eng, 2017, 44: 236-245.
- [5] Wang VB, Chua SL, Cai Z, et al. A stable synergistic microbial consortium for simultaneous azo dye removal and bioelectricity generation. Bioresour Technol, 2014, 155: 71-76.
- [6] 张照婧, 厉舒祯, 邓晔, 等. 合成微生物群落及其生物处理应用研究新进展. 应用与环境生物学报, 2015, 21(6): 981-986.

- Zhang ZJ, Li SZ, Deng Y, et al. Recent progress in studies of synthetic microbial community and its applications in bioengineering. *Chin J Appl Environ Biol*, 2015, 21(6): 981-986 (in Chinese).
- [7] Hays SG, Yan LLW, Silver PA, et al. Synthetic photosynthetic consortia define interactions leading to robustness and photoproduction. *J Biol Eng*, 2017, 11: 4.
- [8] Argun H, Kargi F, Kapdan IK. Effects of the substrate and cell concentration on bio-hydrogen production from ground wheat by combined dark and photo-fermentation. *Int J Hydrogen Energy*, 2009, 34(15): 6181-6188.
- [9] Bassler BL, Losick R. Bacterially speaking. *Cell*, 2006, 125(2): 237-246.
- [10] Hibbing ME, Fuqua C, Parsek MR, et al. Bacterial competition: surviving and thriving in the microbial jungle. *Nat Rev Microbiol*, 2010, 8(1): 15-25.
- [11] Nouaille S, Even S, Charlier C, et al. Transcriptomic response of *Lactococcus lactis* in mixed culture with *Staphylococcus aureus*. *Appl Environ Microbiol*, 2009, 75(13): 4473-4482.
- [12] Bobadilla Fazzini RA, Preto MJ, Quintas AC, et al. Consortia modulation of the stress response: proteomic analysis of single strain versus mixed culture. *Environ Microbiol*, 2010, 12(9): 2436-2449.
- [13] Giraud E, Fleischman D. Nitrogen-fixing symbiosis between photosynthetic bacteria and legumes. *Photosynth Res*, 2004, 82(2): 115-130.
- [14] Wintermute EH, Silver PA. Dynamics in the mixed microbial concourse. *Genes Dev*, 2010, 24(23): 2603-2614.
- [15] Andrianantoandro E, Basu S, Karig DK, et al. Synthetic biology: new engineering rules for an emerging discipline. *Mol Syst Biol*, 2006, 2: 2006.0028.
- [16] Gomez-Flores M, Nakhla G, Hafez H. Hydrogen production and microbial kinetics of *Clostridium termitidis* in mono-culture and co-culture with *Clostridium beijerinckii* on cellulose. *AMB Express*, 2017, 7(1): 1-12.
- [17] Gonçalves AL, Pires JCM, Simões M. A review on the use of microalgal consortia for wastewater treatment. *Algal Res*, 2017, 24: 403-415.
- [18] Fouilland E. Biodiversity as a tool for waste phycoremediation and biomass production. *Rev Environ Sci Bio/Technol*, 2012, 11(1): 1-4.
- [19] de Godos I, González C, Becares E, et al. Simultaneous nutrients and carbon removal during pretreated swine slurry degradation in a tubular biofilm photobioreactor. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2009, 82(1): 187-194.
- [20] Unnithan VV, Unc A, Smith GB. Mini-review: a priori considerations for bacteria-algae interactions in algal biofuel systems receiving municipal wastewaters. *Algal Res*, 2014, 4: 35-40.
- [21] Mandal SK, Singh RP, Patel V. Isolation and characterization of exopolysaccharide secreted by a toxic dinoflagellate, *Amphidinium carterae* Hulburt 1957 and its probable role in harmful algal blooms (HABs). *Microb Ecol*, 2011, 62(3): 518-527.
- [22] Kazamia E, Czesnick H, Nguyen TTV, et al. Mutualistic interactions between vitamin B<sub>12</sub>-dependent algae and heterotrophic bacteria exhibit regulation. *Environ Microbiol*, 2012, 14(6): 1466-1476.
- [23] Subashchandrabose SR, Ramakrishnan B, Megharaj M, et al. Consortia of cyanobacteria/microalgae and bacteria: Biotechnological potential. *Biotechnol Adv*, 2011, 29(6): 896-907.
- [24] Li TT, Li CT, Butler K, et al. Mimicking lichens: incorporation of yeast strains together with sucrose-secreting cyanobacteria improves survival, growth, ROS removal, and lipid production in a stable mutualistic co-culture production platform. *Biotechnol Biofuels*, 2017, 10: 55.
- [25] Morris JJ, Kirkegaard R, Szul MJ, et al. Facilitation of robust growth of *Prochlorococcus* colonies and dilute liquid cultures by “helper” heterotrophic bacteria. *Appl Environ Microbiol*, 2008, 74(14): 4530-4534.
- [26] Morris JJ, Johnson ZI, Szul MJ, et al. Dependence of the cyanobacterium *Prochlorococcus* on hydrogen peroxide scavenging microbes for growth at the ocean's surface. *PLoS One*, 2011, 6(2): e16805.
- [27] Zhang L, Chen L, Diao JJ, et al. 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 CO<sub>2</sub>. *Biotechnol Biofuels*, 2020, 13: 82.
- [28] Rosero-Chasoy G, Rodríguez-Jasso RM, Aguilar CN, et al. Microbial co-culturing strategies for the production high value compounds, a reliable framework towards sustainable biorefinery implementation—an overview. *Bioresour Technol*, 2021, 321: 124458.
- [29] Castro CC, Nobre C, De Weireld G, et al. Microbial co-culturing strategies for fructo-oligosaccharide production. *Nat Biotechnol*, 2019, 51: 1-7.

- [30] Jiang YJ, Zhang T, Lu JS, et al. Microbial co-culturing systems: butanol production from organic wastes through consolidated bioprocessing. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2018, 102(13): 5419-5425.
- [31] Minami H, Kim JS, Ikezawa N, et al. Microbial production of plant benzylisoquinoline alkaloids. *PNAS*, 2008, 105(21): 7393-7398.
- [32] Wang EX, Ding MZ, Ma Q, et al. Reorganization of a synthetic microbial consortium for one-step vitamin C fermentation. *Microb Cell Fact*, 2016, 15: 21.
- [33] Zuroff TR, Xiques SB, Curtis WR. Consortia-mediated bioprocessing of cellulose to ethanol with a symbiotic *Clostridium phytofermentans*/yeast co-culture. *Biotechnol Biofuels*, 2013, 6(1): 59.
- [34] Nelson KE, Weinel C, Paulsen IT, et al. Complete genome sequence and comparative analysis of the metabolically versatile *Pseudomonas putida* KT2440. *Environ Microbiol*, 2002, 4(12): 799-808.
- [35] Rabaey K, Boon N, Höfte M, et al. Microbial phenazine production enhances electron transfer in biofuel cells. *Environ Sci Technol*, 2005, 39(9): 3401-3408.
- [36] Reguera G, McCarthy KD, Mehta T, et al. Extracellular electron transfer via microbial nanowires. *Nature*, 2005, 435(7045): 1098-1101.
- [37] Lovley DR, Holmes DE, Nevin KP. Dissimilatory Fe(III) and Mn(IV) reduction. *Adv Microb Physiol*, 2004, 49: 219-286.
- [38] Wang VB, Sivakumar K, Yang L, et al. Metabolite-enabled mutualistic interaction between *Shewanella oneidensis* and *Escherichia coli* in a co-culture using an electrode as electron acceptor. *Sci Rep*, 2015, 5: 11222.
- [39] Natrah FMI, Bossier P, Sorgeloos P, et al. Significance of microalgal-bacterial interactions for aquaculture. *Rev Aquacult*, 2014, 6(1): 48-61.
- [40] Najdenski HM, Gigova LG, Iliev II, et al. Antibacterial and antifungal activities of selected microalgae and cyanobacteria. *Int J Food Sci Technol*, 2013, 48(7): 1533-1540.
- [41] Pratt R, Daniels TC, Eiler JJ, et al. Chlorellin, an antibacterial substance from *Chlorella*. *Science*, 1944, 99(2574): 351-352.
- [42] Shi RJ, Huang HH, Qi ZH, et al. Algicidal activity against *Skeletonema costatum* by marine bacteria isolated from a high frequency harmful algal blooms area in southern Chinese coast. *World J Microbiol Biotechnol*, 2013, 29(1): 153-162.
- [43] Muñoz R, Guieysse B. Algal-bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: a review. *Water Res*, 2006, 40(15): 2799-2815.
- [44] Zhou K, Qiao KJ, Edgar S, et al. Distributing a metabolic pathway among a microbial consortium enhances production of natural products. *Nat Biotechnol*, 2015, 33(4): 377-383.
- [45] Even S, Charlier C, Nouaille S, et al. *Staphylococcus aureus* virulence expression is impaired by *Lactococcus lactis* in mixed cultures. *Appl Environ Microbiol*, 2009, 75(13): 4459-4472.
- [46] Khan N, Maezato Y, McClure RS, et al. Phenotypic responses to interspecies competition and commensalism in a naturally-derived microbial co-culture. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 297.
- [47] Ravikrishnan A, Blank LM, Srivastava S, et al. Investigating metabolic interactions in a microbial co-culture through integrated modelling and experiments. *Comput Struct Biotechnol J*, 2020, 18: 1249-1258.
- [48] Faust K, Raes J. Microbial interactions: from networks to models. *Nat Rev Microbiol*, 2012, 10(8): 538-550.
- [49] Ponomarova O, Patil KR. Metabolic interactions in microbial communities: untangling the Gordian knot. *Curr Opin Microbiol*, 2015, 27: 37-44.
- [50] DeLong EF, Preston CM, Mincer T, et al. Community genomics among stratified microbial assemblages in the ocean's interior. *Science*, 2006, 311(5760): 496-503.
- [51] Gill SR, Pop M, Deboy RT, et al. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science*, 2006, 312(5778): 1355-1359.
- [52] Mick E, Sorek R. High-resolution metagenomics. *Nat Biotechnol*, 2014, 32(11): 1166.
- [53] Li N, Zhang L, Li FC, et al. Metagenome of microorganisms associated with the toxic Cyanobacteria *Microcystis aeruginosa* analyzed using the 454 sequencing platform. *Chin J Oceanol Limnol*, 2011, 29(3): 505-513.
- [54] Bhadauria V, Popescu L, Zhao WS, et al. Fungal transcriptomics. *Microbiol Res*, 2007, 162(4): 285-298.
- [55] Heller MJ. DNA microarray technology: devices, systems, and applications. *Annu Rev Biomed Eng*, 2002, 4: 129-153.
- [56] Chandhini S, Rejish Kumar VJ. Transcriptomics in aquaculture: current status and applications. *Rev Aquacult*, 2019, 11(4): 1379-1397.
- [57] Wang Z, Gerstein M, Snyder M. RNA-Seq: a



- revolutionary tool for transcriptomics. *Nat Rev Genet*, 2009, 10(1): 57-63.
- [58] Qian X, Ba Y, Zhuang QF, et al. RNA-Seq technology and its application in fish transcriptomics. *OMICS*, 2014, 18(2): 98-110.
- [59] Wilkins MR, Pasquali C, Appel RD, et al. From proteins to proteomes: large scale protein identification by two-dimensional electrophoresis and amino acid analysis. *Bio/Technol*, 1996, 14(1): 61-65.
- [60] Tyers M, Mann M. From genomics to proteomics. *Nature*, 2003, 422(6928): 193-197.
- [61] Zhang X, Fang AQ, Riley CP, et al. Multi-dimensional liquid chromatography in proteomics—a review. *Anal Chim Acta*, 2010, 664(2): 101-113.
- [62] Rochfort S. Metabolomics reviewed: a new “omics” platform technology for systems biology and implications for natural products research. *J Nat Prod*, 2005, 68(12): 1813-1820.
- [63] Straight PD, Kolter R. Interspecies chemical communication in bacterial development. *Annu Rev Microbiol*, 2009, 63: 99-118.
- [64] Yang JY, Karr JR, Watrous JD, et al. Integrating ‘-omics’ and natural product discovery platforms to investigate metabolic exchange in microbiomes. *Curr Opin Chem Biol*, 2011, 15(1): 79-87.
- [65] Zhou J, Ma Q, Yi H, et al. Metabolome profiling reveals metabolic cooperation between *Bacillus megaterium* and *Ketogulonicigenium vulgare* during induced swarm motility. *Appl Environ Microbiol*, 2011, 77(19): 7023-7030.
- [66] Ma Q, Zhou J, Zhang WW, et al. Integrated proteomic and metabolomic analysis of an artificial microbial community for two-step production of vitamin C. *PLoS One*, 2011, 6(10): e26108.
- [67] Du J, Zhou J, Xue J, et al. Metabolomic profiling elucidates community dynamics of the *Ketogulonicigenium vulgare*-*Bacillus megaterium* consortium. *Metabolomics*, 2012, 8(5): 960-973.
- [68] Ding MZ, Zou Y, Song H, et al. Metabolomic analysis of cooperative adaptation between co-cultured *Bacillus cereus* and *Ketogulonicigenium vulgare*. *PLoS One*, 2014, 9(4): e94889.
- [69] Ren ML, Zhang GY, Ye Z, et al. Metagenomic analysis reveals potential interactions in an artificial coculture. *AMB Express*, 2017, 7(1): 193.
- [70] Beliaev AS, Romine MF, Serres M, et al. Inference of interactions in cyanobacterial-heterotrophic co-cultures via transcriptome sequencing. *ISME J*, 2014, 8(11): 2243-2255.
- [71] Sétif P, Hirasawa M, Cassan N, et al. New insights into the catalytic cycle of plant nitrite reductase. Electron transfer kinetics and charge storage. *Biochemistry*, 2009, 48(12): 2828-2838.
- [72] Bernstein HC, McClure RS, Thiel V, et al. Indirect interspecies regulation: transcriptional and physiological responses of a cyanobacterium to heterotrophic partnership. *mSystems*, 2017, 2(2): e00181-16.
- [73] Palenik B, Brahamsha B, Larimer FW, et al. The genome of a motile marine *Synechococcus*. *Nature*, 2003, 424(6952): 1037-1042.
- [74] West AH, Stock AM. Histidine kinases and response regulator proteins in two-component signaling systems. *Trends Biochem Sci*, 2001, 26(6): 369-376.
- [75] Vidal R, López-Maury L, Guerrero MG, et al. Characterization of an alcohol dehydrogenase from the Cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC 6803 that responds to environmental stress conditions via the Hik34-Rrel two-component system. *J Bacteriol*, 2009, 191(13): 4383-4391.
- [76] Zheng Q, Wang Y, Lu JY, et al. Metagenomic and metaproteomic insights into photoautotrophic and heterotrophic interactions in a *Synechococcus* culture. *mBio*, 2020, 11(1): e03261-19.
- [77] Palenik B, Ren Q, Dupont CL, et al. Genome sequence of *Synechococcus* CC9311: insights into adaptation to a coastal environment. *PNAS*, 2006, 103(36): 13555-13559.
- [78] Thevenard B, Rasoava N, Fourcassié P, et al. Characterization of *Streptococcus thermophilus* two-component systems: *In silico* analysis, functional analysis and expression of response regulator genes in pure or mixed culture with its yogurt partner, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. *Int J Food Microbiol*, 2011, 151(2): 171-181.
- [79] Flores E, Frías JE, Rubio LM, et al. Photosynthetic nitrate assimilation in cyanobacteria. *Photosynth Res*, 2005, 83(2): 117-133.
- [80] Christie-Oleza JA, Sousoni D, Lloyd M, et al. Nutrient recycling facilitates long-term stability of marine microbial phototroph-heterotroph interactions. *Nat Microbiol*, 2017, 2: 17100.
- [81] Aharonovich D, Sher D. Transcriptional response of *Prochlorococcus* to co-culture with a marine *Alteromonas*: differences between strains and the involvement of putative infochemicals. *ISME J*, 2016, 10(12): 2892-2906.

- [82] Gallego SM, Pena LB, Barcia RA, et al. Unravelling cadmium toxicity and tolerance in plants: Insight into regulatory mechanisms. *Environ Exp Bot*, 2012, 83: 33-46.
- [83] Fischer BB, Hideg É, Krieger-Liszkay A. Production, detection, and signaling of singlet oxygen in photosynthetic organisms. *Antioxid Redox Signal*, 2013, 18(16): 2145-2162.
- [84] Halliwell B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiol*, 2006, 141(2): 312-322.
- [85] Liu H, Cao YJ, Guo J, et al. Study on the isoprene-producing co-culture system of *Synechococcus elongates*-*Escherichia coli* through omics analysis. *Microb Cell Fact*, 2021, 20(1): 6.
- [86] Qiu XY, Sundin GW, Wu LY, et al. Comparative analysis of differentially expressed genes in *Shewanella oneidensis* MR-1 following exposure to UVC, UVB, and UVA radiation. *J Bacteriol*, 2005, 187(10): 3556-3564.
- [87] Dufour YS, Landick R, Donohue TJ. Organization and evolution of the biological response to singlet oxygen stress. *J Mol Biol*, 2008, 383(3): 713-730.
- [88] 徐昭勇, 胡海洋, 许平, 等. 人工合成微生物组的构建与应用. *合成生物学*, 2021, 2(2): 181-193.  
Xu ZY, Hu HY, Xu P, et al. Development and application of synthetic microbiome. *Synth Biol J*, 2021, 2(2): 181-193 (in Chinese).
- [89] Amin SA, Hmelo LR, van Tol HM, et al. Interaction and signalling between a cosmopolitan phytoplankton and associated bacteria. *Nature*, 2015, 522(7554): 98-101.
- [90] Tsoi R, Dai ZJ, You LC. Emerging strategies for engineering microbial communities. *Biotechnol Adv*, 2019, 37(6): 107372.
- [91] Tang X, He LY, Tao XQ, et al. Construction of an artificial microalgal-bacterial consortium that efficiently degrades crude oil. *J Hazard Mater*, 2010, 181(1/2/3): 1158-1162.
- [92] Nain L, Rana A, Joshi M, et al. Evaluation of synergistic effects of bacterial and cyanobacterial strains as biofertilizers for wheat. *Plant Soil*, 2010, 331(1/2): 217-230.
- [93] Moretti M, Grunau A, Minerdi D, et al. A proteomics approach to study synergistic and antagonistic interactions of the fungal-bacterial consortium *Fusarium oxysporum* wild-type MSA 35. *Proteomics*, 2010, 10(18): 3292-3320.
- [94] Angelis S, Novak AC, Sydney EB, et al. Co-culture of microalgae, cyanobacteria, and macromycetes for exopolysaccharides production: process preliminary optimization and partial characterization. *Appl Biochem Biotechnol*, 2012, 167(5): 1092-1106.
- [95] Ma'Ayan A. Complex systems biology. *J R Soc Interface*, 2017, 14(134): 20170391.
- [96] Zhang WW, Li F, Nie L. Integrating multiple 'omics' analysis for microbial biology: application and methodologies. *Microbiology*, 2010, 156(Pt 2): 287-301.
- [97] Wu JX, Xu ZL, Zhang YJ, et al. An integrative analysis of the transcriptome and proteome of the pulp of a spontaneous late-ripening sweet orange mutant and its wild type improves our understanding of fruit ripening in citrus. *J Exp Bot*, 2014, 65(6): 1651-1671.
- [98] 刘伟, 朱云平, 贺福初. 系统生物学研究中不同组学数据的整合. *中国生物化学与分子生物学报*, 2007, 23(12): 971-976.  
Liu W, Zhu YP, He FC. Integration of various 'omics' data in biological systems. *Chin J Biochem Mol Biol*, 2007, 23(12): 971-976 (in Chinese).
- [99] Baitaluk M, Sedova M, Ray A, et al. BiologicalNetworks: visualization and analysis tool for systems biology. *Nucleic Acids Res*, 2006, 34(web server issue): W466-W471.
- [100] Fondi M, Liò P. Multi-omics and metabolic modelling pipelines: challenges and tools for systems microbiology. *Microbiol Res*, 2015, 171: 52-64.
- [101] Benito-Vaquerizo S, Diender M, Parera Olm I, et al. Modeling a co-culture of *Clostridium autoethanogenum* and *Clostridium kluyveri* to increase syngas conversion to medium-chain fatty-acids. *Comput Struct Biotechnol J*, 2020, 18: 3255-3266.

(本文责编 陈宏宇)