



合成生物学对未来农业和营养的影响

中国科学院上海生命科学信息中心

上海市生物工程学会

2020年10月

合成生物学对未来农业和营养的影响

编者按：据估计，全球粮食产量要增加 70% 才能满足 2050 年的需求。目前的农业实践难以实现这样的速度，而且在生态上也不可持续，因而急需创新的解决方案，以提高粮食的生产效率和营养质量。合成生物学等交叉领域将工程原理应用于生物系统，使基础研究和应用研究发生了革命性变化。德国杜塞尔多夫大学 iGRAD 植物研究所的研究人员 2020 年 2 月在 *Current Opinion in Biotechnology* 发文，专门讨论了合成生物学在提高农业生产力、食品质量、降低生产成本、实现可持续发展等方面的潜力，回顾了影响植物生长和质量的合成生物学应用，强调了提高植物养分利用率并减少肥料需求的策略，总结了提高作物营养价值，并将光自养生物作为生物制药和具有商业价值的化合物的工程学方法。

1. 概述

到 2050 年，全球人口预计将增加 20 亿，粮食产量需要翻一倍才能满足世界人口增长对粮食的需求，这意味着每年需增产 2.2%。然而，近几年，主要农作物产量的增长率已趋于平稳，增加耕地的可能性在很大程度上也受到限制，快速城市化引起的耕地流失、侵蚀以及气候变暖等因素也给农业生产带来了更多挑战。因此，迫切需要创新的解决方案以提高农业生产力并确保食品安全。

当前正在开展的绿色革命，包括开发和大规模实施氮、磷、钾等合成和天然肥料，优化育种策略等，旨在最大限度地提高植物结构和光合作用利用率，以获得更高的产量。此外，通过基因工程改造植物以提高其生长和产量或将是解决问题的潜在解决方案。然而，传统的植物生物技术更侧重于个体成分的调控，但改善复杂的多基因性状需要合理和系统的工程策略。合成生物学采用生物系统的现代工程原理，以模块化遗传元件为基础，通过数学模型指导设计和表征单个元件的定量功能，组装构建合成生物系统，便是符合这一策略需求的技术。

目前，与细菌、酵母和哺乳动物系统相比，植物合成生物学研究相对滞后，但这些技术和方法已经开始重塑基础研究和生物技术/生物制药行业。在植物领域，遗传元件标准化和模块化克隆工具的建立是实现合成生物学策略的第一步。

控制基因表达和细胞过程的合成工具，特别是化学诱导系统和光遗传学、CRISPR/Cas9 技术和基因工程等领域进展是未来植物合成生物学发展的基础。

本文讨论了合成生物学在提高粮食产量、食品质量和生产应用，以及理想情况下实现可持续的成本效益的实践（图 1）。主要关注以下策略：（1）开发改善 CO₂ 固定和碳保存的合成代谢途径；（2）对作物中固氮工程的工程学改造和合成植物微生物群落的构建，以减少农业中天然肥料和合成肥料的使用；（3）提高作物的营养价值；（4）将光自养生物作为生产平台，实现化合物的商业价值。

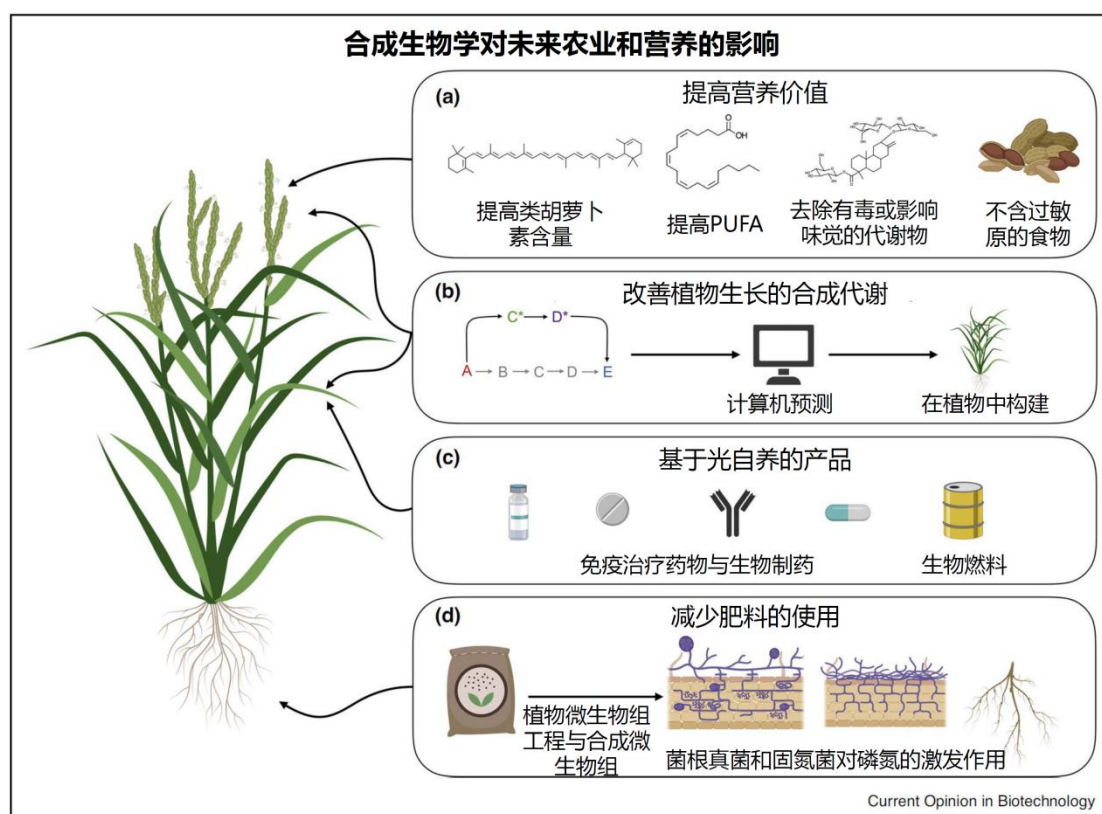


图 1 合成生物学对未来农业和营养的影响

注：（a）提高植物的营养价值包括增加多种类胡萝卜素（以维生素 A 为例）和长链多不饱和脂肪酸（PUFA，以花生四烯酸为例）。甜菊糖（如图所示）是甜叶菊的主要成分，被用作天然甜味剂，但其苦涩的余味限制了在食品中的应用。（b）在植物中构建合成代谢有助于改善植物生长。合成代谢途径设计并利用计算机预测植物内源网络环境下的功能，有助于其在植物体内的成功实施。（c）基于光自养的平台用于疫苗、免疫疗法、抗体、生物制药和生物燃料的生产（从左到右）。（d）通过植物微生物组工程减少肥料使用，利用丛枝菌根和/或外生菌根共生体及结瘤固氮细菌的群落（从左到右）来构建合成微生物的群落。

2. 提高植物生长和农业产量的合成代谢

农业产量 (agricultural yield) 主要受 3 大组成成分的影响: 光能捕获效率、光能向生物量的转化和收获指数(可收获器官中植物生物量在总能量中的占比)。光能捕获效率和收获指数目前已达到其生物学极限, 但转换效率目前显示只达到理论最大值的 20%, 因此成为潜在的工程化目标。然而, 对这些多组分性状的调控仍然存在挑战。可利用新的合成途径进行碳代谢的优化和再设计, 例如定制的工程酶 (图 1); 在计算机上准确快速地预测内源性代谢网络中整合的合成代谢途径将有助于其在植物体内的实施, 这也得益于计算工具不断发展 (图 1 和框 1)。

这里讨论了提高植物碳效率的 3 个主要目标: (1) 提高羧化效率, 最小化 (2) 光呼吸, (3) 呼吸 CO₂ 的损失 (表 1)。

框 1 植物合成代谢的计算工具

工程学原理在生物学领域的应用需要利用计算工具进行计算机预测。合成途径的实现不仅需要对其热力学可行性进行评估, 而且需要通过通量平衡分析 (FBA) 来预测其在内源性代谢网络以及识别潜在的瓶颈。在蓝藻、莱茵衣原体和植物中构建代谢网络是预测光营养生物体中代谢途径行为的主要成果。此外, 经典的 C₃ 和 C₄ 光合作用生化模型, 以及涉及作物田间表现的叶片光合作用交叉尺度模型等都可用于预测光合作用的调控效果。这些先进计算工具与工程学方法的整合, 将促进植物合成代谢的实现。

核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶 (Rubisco) 是一种新型的 CO₂ 固定酶, 但是, 试图通过增加其活性和底物特异性来降低加氧酶活性的活动并不成功。相反, 目前优先采用工程化的碳浓缩机制, 例如 C₄ 光合作用、苾类或蓝藻羧基体来提高羧化效率 (表 1)。

探索更激进的工程策略, 除了进一步开发卡尔文循环 (CBBC) 之外, 还包括寻求更有效的 CO₂ 固定方法。为了实现这一目标, 研究人员首先构建了一个用于体外固定 CO₂ 的完整合成路线, 即巴豆酰辅酶 A (CoA) /乙基丙二酰辅酶 A/羟基丁基辅酶 A (CETCH) 循环。其次, 通过广泛的计算分析来确定可以从头开始、工程化的固定 CO₂ 的最有效酶, 提高其活性并将其整合到包括前体和中间体的网络中。研究得到的最终工程化 CETCH 循环产生了与 CBBC 相当的 CO₂ 固定率 (5 nmol CO₂ min⁻¹mg⁻¹ 与 1-3 nmol CO₂ min⁻¹ mg⁻¹)。

对叶绿体光呼吸旁路进行工程化，减少光呼吸 CO₂ 损失，是促进植物生长的有效方法之一。例如，乙醇酸酯在叶绿体中两种酶（乙醇酸脱氢酶和苹果酸合酶）的作用下被氧化为两分子 CO₂。结果表明，田间条件下，烟草的生物量增加了 40%。抑制乙醇酸酯从叶绿体中的释放，通过 RNA 干扰质体甘油酯/乙醇酸转运体 1 (PLGG1)，可提高合成途径的表型效应。乙醇酸酯或是最有前景的底物，可用于重新设计光呼吸，而将释放 CO₂ 和氨作为副产品（保碳光呼吸）。动力学化学计量模型支持这些途径对植物生长的影响。乙酰辅酶 A 合成酶的工程化将乙醇酸转化为乙醇酸辅酶 A，丙酰辅酶 A 还原酶具有更高的乙醇酸辅酶 A 选择性和 NADPH 特异性，体外实验也证实了该通路的功能。

呼吸将丢失高达 60% 的同化碳，因此，尽量减少呼吸 CO₂ 的损失或将是提高植物生产力的突破点。最近，确定了 4 个主要调控目标来降低呼吸成本，包括：

(1) 优化蛋白质翻转，(2) 重新设计呼吸代谢，(3) 避免无效循环，(4) 工程化高效离子传输。然而，这些方法的副作用需要进行详细评估。

除了植物中工程化和合成代谢通路外，气孔动力学的控制以及加速光保护的恢复也是当前该领域的研究热点（表 1）。

表 1 合成生物学在未来农业和食品中的应用

方法	描述	物种
1. 提高植物生长和农业产量		
<u>促进羧化反应</u>		
C3 植物的 C4 光合作用	C3 植物中 C4 光合作用的实现，包括生化和发育（克兰兹解剖学）工程化的 C4 水稻项目实例 (https://c4rice.com)	C3 作物，例如水稻
碳浓缩微室的实现	植物叶绿体中藻类（蛋白核）或蓝藻（羧基体）的碳浓缩机理，用以抑制 RubisCO 加氧酶活性	C3 作物，例如水稻
CO ₂ 同化的合成途径	由 17 种酶组成（CETCH 循环）的体外 CO ₂ 固定合成途径	
<u>最小化（光学）-呼吸 CO₂ 损失</u>		
叶绿体光呼吸旁路	叶绿体中乙醇酸酯氧化释放两种 CO ₂ 分子与自然光呼吸通量降低，导致田间情况下 40% 生物量的提高	烟草
光呼吸最小化	乙醇酸酯体外转化为羟基辅酶 A，在没有 CO ₂ 和	

	氮气释放的情况下再同化为 CBBC。	
最大限度地减少呼吸 CO ₂ 的损失	潜在目标: 1) 优化蛋白质翻转; 2) 重新设计呼吸代谢; 3) 避免无效循环; 4) 高效离子传输	
<u>提高水分利用效率和光合光反应</u>		
气孔动力学的光遗传调控	合成蓝光门控 K ⁺ 通道的保护细胞在波动光照条件下使气孔快速反应打开	拟南芥
加速从光保护中恢复	PsbS 的过度表达与叶黄素循环酶能更快地从叶绿素荧光的非光化学淬灭中恢复 CO ₂ 同化	烟草
<u>设计育种</u>		
从头开始的驯化	在野生型植物中几种驯化基因的遗传调控可以实现节约时间的工艺	番茄
2. 减少农业合成肥料的使用		
<u>在作物中建立功能固氮酶或共生固氮酶</u>		
植物中功能固氮酶	16 个固氮酶基因在植物线粒体中的表达	烟草
作物共生固氮	SynSym 国际财团解释了关于合成固氮的几个问题 (https://synthsym.org)	几种农作物
<u>提高养分利用率的合成微生物组</u>		
促进植物微生物菌群生长的培养	不同根瘤菌的分离支持了拟南芥的生长, 特别是含固氮模块共生体的分类群	拟南芥
植物微生物组成	进行植物根系相关真菌的鉴定, 从而提高磷利用率	拟南芥
农作物合成微生物组的构建	私营企业已经在进行作物微生物群落的工程化	一些作物
3. 提高作物营养价值		
增加维生素 A 含量	黄金水稻项目 (http://www.goldenrice.org)	水稻
增加 VLC-PUFA 含量	VLC-PUFA 生物合成基因的种子特异性表达	甘蓝型油菜
去除产氰的糖苷类	靶向两个细胞色素 P450 基因的 RNA 干扰	木薯
增加花青素含量	两种转录因子 (Del 和 Ros1) 在果实中的特异表达诱导花青素的生物合成	番茄
降低小麦中谷蛋白的含量	CRISPR/Cas9 介导的小麦中 45 个基因敲除能够降低谷蛋白含量	小麦
植物维生素 B12 的生物合成	通过工程化大肠杆菌, 从头开始合成维生素 B12	

4. 光自养生物系统作为生产平台		
疫苗和化妆品生产	利用苔藓作为生产疫苗和化妆品的绿色细胞工厂	普氏藻
生物质作物中青蒿素的规模化生产	叶绿体表达核心青蒿酸生物合成途径和附加酶，从而通过通路提高产量	烟草
提高糖化效率	甘蔗中 TALEN 介导的 100 多个咖啡酸 O-甲基转移酶等位基因突变用于提高生物燃料生产的糖化效率	甘蔗
合成或生物混合系统	构建人工树叶以及合成光合细胞，将其作为太阳能驱动的生产平台	
VLC-PUFAs: 超长链多不饱和脂肪酸; CETCH 循环: 巴豆酰辅酶 A (CoA) / 乙基丙二酰辅酶 A/羟基丁酸辅酶 A; CBBC: 卡尔文循环; TALEN: 转录激活物样效应核酸酶		

3. 减少农业肥料的使用

德国西部地区农业的维持主要依靠（合成）肥料的大量使用——每公顷高达 140 公斤。在发展中国家，高昂的成本带来了许多局限性，而低肥料使用率则会导致收益率较低。由于作物的氮肥利用率低、地下水污染、高耗能化肥生产以及磷资源含量有限，目前的重度施肥措施是不可持续的。因此，改善植物养分利用效率、吸收或同化机制是必要的。

以往研究人员在改善植物中氮和磷利用率方面的尝试，主要集中在植物个体组分的基因改造，包括营养吸收、分配、新陈代谢或转录调节等。通过区分养分吸收和养分利用，或许可以克服目前的局限性。

利用合成生物学可减少氮肥使用量，包括将固氮酶转化为植物，或在主要作物中建立共生固氮的复杂合成生物学策略。多功能固氮酶的实施具有挑战性，原因在于涉及大量基因、氧敏感性和金属共生因子的依赖性（铁和钼）。为了实现光合作用和固氮的时空分离，或可以将线粒体作为固氮酶的适宜靶区。然而，如何实现正确的线粒体靶向性、固氮酶亚基的功能性和固氮酶金属簇的组装仍然有待研究。在这个方向上的第一步包括在烟草中瞬时表达和正确定位 16 个固氮酶亚基蛋白。

另一种策略需要建立作物中豆科根瘤菌的共生。这需要 4 种基因调控的协同工程化改造：（1）节点因子感知，（2）根瘤器官发生，（3）细菌感染，（4）

建立根瘤内固氮酶活性。

与上述方法相比，自下而上构建合成植物的微生物组或许是一种更合适的策略，同时也能提高植物中氮磷利用率。此外，植物-微生物相互作用的建立依赖于植物激素。特别是在介导丛枝菌根真菌和固氮菌的共生过程中，甾内酯发挥着至关重要的作用。设计具有靶向性和调节性的甾内酯分泌或代谢产物的产生和释放，可以为植物营养富集有用的微生物，这可能也是改善营养的策略之一。

4. 提高作物的营养价值

达到生产力极限意味着农业需要提高作物的营养价值以食物供应充足的同时解决营养不良的问题（图 1）。生物技术时代最突出的例子是黄金大米项目。维生素 A 缺乏会导致严重的健康问题，在以大米为主食且食物多样性有限的国家，这一问题相对突出。植物烯合成酶和胡萝卜素去饱和酶两个类胡萝卜素的生物合成基因，可以诱导水稻中 β -胡萝卜素（维生素原 A）的合成和积累。但是，需要通过合成生物学的策略，设计其他维生素和次级代谢物所需的复杂、多基因性状和多酶途径。人们感兴趣的几种类胡萝卜素及其含氧衍生物叶黄素，主要与眼睛、心血管健康、功能性免疫系统、认知功能以及抗氧化活性等健康益处相关。红色酮类胡萝卜素、虾青素作为食品补充剂也具有很高的商业价值，特别是在渔业方面。然而，大多数用于鲑鱼和鳟鱼养殖的虾青素目前是合成来源的，未来，植物来源的产品将会成为一种廉价的替代品。

长链多不饱和脂肪酸（VLC-PUFA），例如花生四烯酸（AA；C20:4 烯酸（酸（青素在藻类）、二十碳五烯酸（EPA；C20:5 Δ 5,8,11,14,17）和二十二碳六烯酸（DHA；C22:6 六烯酸（11,14,17 的先决条）与大脑开发有关，有利于降低心血管疾病的发病率。海洋鱼类是人类饮食中主要、但不可持续的超长链多不饱和脂肪酸来源。目前已知一些苔藓类植物中也有较高的 VLC-PUFA 含量，个别开花植物含有少量 VLC-PUFA。VLC-PUFA 生物合成基因的引入，包括苔藓基因，在提高模式植物 VLC-PUFA 含量方面取得了成功。油料作物中 VLC-PUFA 生物合成基因的表达使山茶中 VLC-PUFA 含量增加到 15%。此外，油菜种子中特异性表达的生物合成基因使得 VLC-PUFA 含量增加至 12%。这些转基因植物预计将在美国获得监管部门的全面批准。

增加食物的营养价值还包括清除不需要的次级代谢物和蛋白质。在撒哈拉以

南国家，有毒产氰糖苷的存在是木薯作为食品的主要障碍，降低氰苷含量的工程学解决方案主要是靶向两个细胞色素 P450 基因。另一个例子是，产自南美的甜叶菊是甜菊糖苷的来源，作为天然甜味剂引起了食品行业的关注。然而，其感官品质，即苦涩的余味限制了一般消费者/食物行业的认可度。基因组编辑的最新进展已经用来针对性地消除那些不需要的特征。这些技术方法也将有助于减少植物性食物的过敏性，降低人们的健康风险，例如，花生等高蛋白植物性食物可能会导致的严重过敏。所以，主要过敏原的清除或将使这些食物具有更广泛的市场。表 1 也列出了几个最近开发、用于增加食品营养价值的其他方法（表 1）。

5. 利用光自养系统作为生物生产平台

由于成本低、可扩展的生物质产量高、无内毒素合成，光自养有机体非常适合用于大规模生产免疫疗法、生物制药和生物燃料的系统（表 1）。此外，天然的翻译后修饰设施能够进一步被设计。例如，高效的绿色细胞工厂 *Moss Physcomitrella patens*，其生产的药物目前正在临床试验中，化妆品也已经上市。水生光营养生物，例如蓝藻和绿藻，也都与生物燃料生产相关。除了光营养生物，例如人造树叶和合成光合细胞，完全合成或生物混合系统也可以将太阳能作为驱动力。

6. 结论和未来展望

本文所展示的植物复杂性状工程学的研究进展表明了植物合成生物学解决营养学和生态需求的潜能。所提到的一些方法和技术，例如工程化合成微生物组，已经进入市场以减少农业肥料的使用。然而，在最终商业化应用前，许多相关技术仍然需要更加成熟以及更完善的监管框架。这些方法在监管框架内的适用性，特别是在欧盟，需要在未来进行谨慎的评估。

刘晓 王慧媛 编译自

Current Opinion in Biotechnology