

特约评述

DOI: 10.12211/2096-8280.2024-001

负碳人工光合群落的设计、优化与应用

郑皓天^{1,2}, 李朝风^{1,2}, 刘良叙^{1,2}, 王嘉伟^{1,2}, 李恒润^{1,2}, 倪俊^{1,2}

(¹ 上海交通大学, 生命科学技术学院, 微生物代谢国家重点实验室 上海 200240; ² 上海交通大学, 张江高等研究院, 上海 201203)

摘要: CO₂生物转化技术的开发为解决能源转型和气候变化问题提供了可能。人工光合群落是由密切协作的光合自养微生物与异养微生物组成的新一代生物炼制平台, 能够通过群落成员间的互利代谢分工, 高效地利用光能将CO₂直接转化为生物质和多种化学品, 是实现负碳生物制造的潜在途径之一, 因其在适用性和鲁棒性方面的优势受到了广泛的关注。近年来, 随着系统生物学研究和合成生物技术的快速发展, 多种研究策略被用于人工光合群落的设计与优化, 取得了长远的进展, 促进了对光合群落生产的理解。本文综述了光合群落的互作机制、独到优势和系统生物学研究方法, 着重介绍人工光合群落的底盘升级、固定化/区室化技术、加强内部多层次调控等设计与优化策略以及在不同领域的应用进展。在此基础上, 探讨了进一步将人工光合群落规模化应用所面临的光合效率和中间碳水化合物限制以及外源生物污染等潜在挑战, 对纳米半导体材料杂合、物种间精细互作关系调控、基于多组学数据的群落模型构建等未来的改造方向和研究策略进行了展望。

关键词: 合成生物学; 光合群落; 负碳生物合成; CO₂利用; 系统生物学; 群体感应

中图分类号: Q819 **文献标志码:** A

Design, optimization and application of synthetic carbon-negative phototrophic community

ZHENG Haotian^{1,2}, LI Chaofeng^{1,2}, LIU Liangxu^{1,2}, WANG Jiawei^{1,2}, LI Hengrun^{1,2}, NI Jun^{1,2}

(¹State Key Laboratory of Microbial Metabolism, School of Life Science and Technology, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200240, China; ²Zhangjiang Institute for Advanced Study, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 201203, China)

Abstract: The extensive consumption of fossil oil and the rapid accumulation of greenhouse gas emissions have caused long-term changes in the global climate and environment, which has sparked widespread interest in society for CO₂ bioconversion technologies as a means to address energy transition and climate change. The synthetic phototrophic community, a new-generation biorefinery platform based on synthetic biology, comprises closely cooperating phototrophic and heterotrophic microorganisms. This community is capable of efficiently converting light energy

收稿日期: 2024-01-02 修回日期: 2024-04-16

基金项目: 国家自然科学基金 (32071418); 国家重点研发计划 (2019YFA0904603)

引用本文: 郑皓天, 李朝风, 刘良叙, 王嘉伟, 李恒润, 倪俊. 负碳人工光合群落的设计、优化与应用[J]. 合成生物学, 2024, 5. DOI: 10.12211/2096-8280.2024-001

Citation: ZHENG Haotian, LI Chaofeng, LIU Liangxu, WANG Jiawei, LI Hengrun, NI Jun. Design, optimization and application of synthetic carbon-negative phototrophic community[J]. Synthetic Biology Journal, 2024, 5. DOI: 10.12211/2096-8280.2024-001

directly into biomass and a variety of chemicals through mutualistic metabolic division of labor among community members. Synthetic phototrophic community is one of the potential ways to achieve sustainable carbon-negative biomanufacturing, and has attracted widespread attention attributed to its advantages in applicability and robustness. In recent years, with the rapid development of systems biology and synthetic biotechnology, a variety of research efforts have been applied to the design and optimization of synthetic phototrophic communities, achieving stable progress and promoting the understanding of phototrophic community production. In this review, we briefly introduced an overview of the advances and current status of synthetic phototrophic community, including mutualistic mechanisms related to element, energy, and information flow. Subsequently, the unique advantages of phototrophic community were outlined. Meanwhile, recent systems biology approaches of phototrophic community were summarized, such as integrative analysis of multi-omics data, genome-scale metabolic modelling, flux balance analysis and community performance predictive algorithms. We also focused on the design and optimization strategies, such as chassis upgrading, immobilization/compartmentalization techniques, and enhanced internal multilayer regulation of synthetic phototrophic community, as well as the progress of their applications in various fields. Furthermore, we analyzed and discussed the constraints and challenges for the further deployment of synthetic phototrophic community on a larger scale, ranging from photosynthetic carbon production rate, intermediate organic matter selection, external predator invasion, to light distribution under high density cultivation. Finally, the future research strategies and engineering directions of synthetic phototrophic community encompassing semiconductor biohybrids, fine regulation of interspecies interaction and multi-omics community model construction were proposed. We conclude by providing a perspective on the future application scenarios of synthetic phototrophic communities in biochemistry, biomedicine, bioremediation and bioagriculture.



Keywords: synthetic biology; phototrophic communities; carbon-negative biosynthesis; CO₂ utilization; systems biology; quorum sensing

石油等化石原料的大量消耗和飞速增长的温室气体排放已经引起全球气候和环境的长期性变化，引发了社会的广泛担忧^[1]。为了延缓乃至逆转全球碳排放带来的负面影响，人类的生产和发

展活动必须转向环保减排的新模式，各类绿色低碳政策法规的落地激发了寻找化石燃料可再生替代技术方案的兴趣^[2]。其中，第三代生物炼制采取化工和生物技术相结合的策略，以快速发展的

合成生物学为基石,通过天然或人工设计、改造和创制微生物细胞工厂,利用自养微生物或人工改造后获得自养能力的异养微生物为底盘,将光能、电能等可再生能源和大气中的 CO_2 转化为能源和化学品^[3]。第三代生物炼制以负碳方式进行生产,大大降低了原料处理成本,减少了产业对粮食和水资源供应的威胁,有望解决传统生物炼制技术存在的净碳排放、高底物成本和“与人争粮”等问题^[4],提供了闭环循环资源缓解生态和社会问题的可能^[5-8]。

迄今为止,蓝细菌(又名蓝藻)^[9-11]、真核藻类^[12-13]和光合细菌^[14-15]等单细胞光自养微生物已经被用于合成多种生物燃料和生物基化学品,同时在医药健康、环境修复和生态农业等多方面发挥着重要作用^[16-18]。光合微生物营养需求低,同时具有比植物更高的 CO_2 固定效率,是极具潜力的化学品合成平台。然而,由于技术开发起步较晚,自养微生物可用的基因工程分子工具和自动化工作流程开发落后于常用的工业菌株^[19],此外,光合微生物相对缓慢的生长、复杂的培养策略也使得其对于环境扰动更为敏感,为实现规模化的第三代生物炼制技术应用带来了阻碍^[20]。

在自然界中存在许多天然光合微生物群落,如微生物垫(microbial mats,多层微生物组成的片状共生体)^[21]、地衣(lichens,由藻类和真菌组成的复合体)^[22]等,多种光自养和异养细菌在代谢上相互交织,形成复杂的共生体系^[23]。相比于纯培养,光合生物群落具有更丰富的遗传多样性,能够通过代谢上的互补分工执行复杂的代谢功能,同时也具有更强的抗逆和抗扰动能力^[24]。受此启发,科研工作者已经成功设计并构建了多种稳定高效的人工光合微生物群落^[25-29]。随着合成生物学和系统生物学的快速发展,研究者对光合微生物群落的多层次深入探索拓展了对这一复杂体系的理解,展示出光合生物群落进一步应用于生物合成的可塑性和潜力。本文简述了光合群落所具有的独特互作机制,并讨论了人工光合群落的独有优势,阐述了包括多组学数据分析和代谢建模在内的人工光合群落系统生物学研究进展。同时,也介绍了近年来人工光合群落新系统的创制及应用,总结了已经采用的优化策略,包括底盘细胞

升级改造、包埋固定化、加强群落内部多元互作、拓展群落功能谱和产物谱等。最后,对人工光合群落面临的潜在挑战和未来发展趋势进行了展望。

1 光合群落的互作机制与优势

光合群落是由两种或更多种光自养生物和异养生物组成的,以太阳能为能源、 CO_2 为碳源的微型生态系统。在光合群落中,多种生物相互作用并形成复杂的生物体系,共同维持和影响群落本身的稳定性和功能。随着近年来微生物组学研究的不断深入,光合群落几乎在地球上的每一个生境中都有发现^[30]。从深海沉积物^[31]到高山地衣^[22],从高温热泉^[32]到南极海冰^[33],广泛分布的光合群落展现出令人惊叹的涌现效应,能够完成许多纯培养微生物无法实现的复杂协同作用。例如,Tang等发现许多细菌对藻类的水华爆发具有重要意义^[22];光合群落能够高效地降低水体中的无机氮元素、磷元素、抗生素^[34]、除草剂^[35]以及化学需氧量^[36]。光合群落成员间的紧密生理代谢联系还导致在实验室中试图分离培养光合藻类时的失败^[37]。藻类分离物中常常存在一种或多种异养细菌“污染”^[38],随着近年来对光合群落相互作用认识的加深,这些杂合体的潜在价值将得到重新定义。

1.1 互作机制

光合群落中存在的相互作用极为复杂,既有直接关系到代谢的物质流和能量流,也有作用于代谢调控的信息流^[39]。三个子系统间相互依存,存在着密切的协同交互,目前已发现的仅仅是其中的一部分,还有待更多的研究以了解其全貌(图1)。

1.1.1 光合群落的物质流与能量流

光自养生物是光合群落中碳和能量的生产者。通过光合作用,光自养生物能够捕获光能,在光反应中,光能被转化为ATP、NADPH等活跃的化学能,并进一步地在暗反应中转化为可以长期储存的碳水化合物等。为了避免对代谢的负反馈抑制,一部分固定有机碳以胞外分泌物或是细胞裂

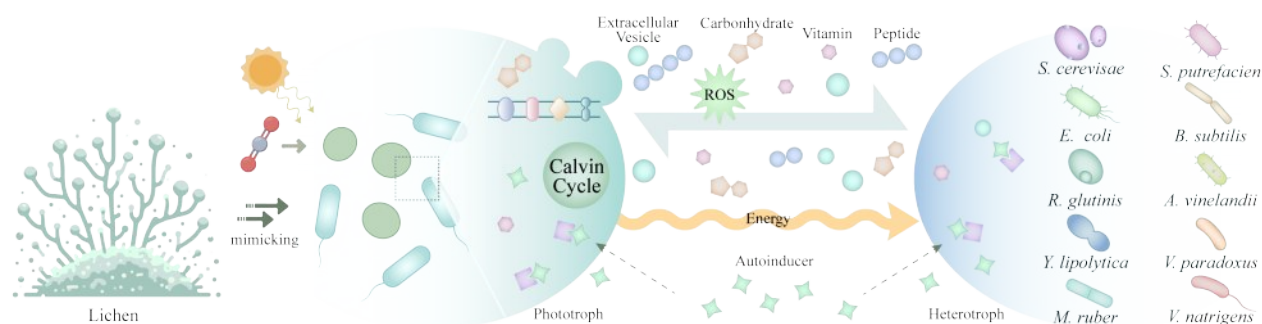


图1 光合群落的物质、能量、信息流

Fig. 1 Element, energy and information flow of phototrophic community

解产物等形式释放到群落所处的环境中，形成藻际圈（*phycosphere*）^[40-41]，促进了光合群落中的异养生物生长。胞外分泌物的典型形式是硅藻等产生的胞外多糖类^[42-43]和多种微藻可以产生的光呼吸副产物乙醇酸盐类^[44]，是异养生物生长的重要能量和物质来源^[45]。

有机质的传递是光合群落中最普遍和基础的作用关系，在这种关系中，能够固碳的光自养生物占据绝对的主导地位，异养细菌则能够在营养充足的情况下通过其呼吸作用产生更多的溶解 CO_2 ，形成长期互惠关系^[46]。而在氮、磷、硫等其他宏量营养元素的代谢方面，异养生物能够为光自养生物提供重要支持。在许多实际环境中，光自养生物可直接利用的氮元素非常有限，类似于豆科植物与固氮菌的互惠合作在光合群落中同样广泛存在^[47-48]。在磷代谢方面，异养生物能够重矿化有机磷为可利用的磷酸盐离子，支持光合群落生长^[49]。硫元素的物质流则同样从光自养微生物起始：浮游植物产生的二甲基巯基丙酸内盐^[50]被海洋细菌转化为二甲基硫化物，并可进一步合成含硫的抗菌化合物二硫环庚三烯酮甲酸（*tropodithietic acid*），抵御竞争性微生物对群落的杀伤^[51-52]。而在较低的环境营养素水平下，自养与异养生物间也存在着竞争性相互作用，并在不同的光照强度和营养物浓度下具有变化的复杂表现^[53-54]，同时，自然光合群落中也表现出溶解氧^[55]、溶解 CO_2 和pH值^[56]的昼夜和季节波动，并对群落的物种丰度和互作关系产生影响^[57]。

异养生物还能够为光自养生物提供包括B族维生素^[58]、铁载体^[59]等，形成更紧密的互补关系。

许多光自养生物，尤其是真核微藻，具有B族维生素缺陷，必须依赖外源B族维生素。据统计，分别50%、22%和5%的藻类生长依赖于维生素 B_{12} 钴胺素、维生素 B_1 硫胺素和维生素 B_9 生物素这三种维生素的外源支持^[58]。已有多项研究表明异养细菌能够释放B族维生素或其前体，主动介导光合群落中的种间相互关系^[60-62]。铁元素对于光合作用和呼吸作用都不可或缺，而其在水生环境中的溶解度和浓度极低，往往是光合群落的生长限制因素之一^[63-64]。铁载体能够与铁紧密结合，增强其溶解性。在海洋中的铁元素循环中，原核微生物扮演着重要的角色^[63]，同时许多微藻不具有产生铁载体的基因，但能够从环境中的铁载体中摄取可用铁元素^[65-66]。

还原力和能量一般随物质传递而流动，但直接的电子输送在光合群落中也有发现。**Chen**等发现多种死亡的微藻因其内部色素保持活性而光电子受体铁氧还蛋白-NADP⁺还原酶失活，能够输出光生电子，从而被多种可进行胞外电子转移（*extracellular electron transfer, EET*）的天然菌群和纯培养细菌利用，用于增强其厌氧生物还原作用，驱动包括硝酸盐还原、甲烷生产和无机碳/氮固定等生物过程^[67]。各类光合生物在环境中的新陈代谢能够产生大量光合色素，这一发现表明天然光合微生物群落的环境适应演化中可能具有更广泛的物质和能量交流。

1.1.2 光合群落的信息流

相较于直接作用于代谢过程本身的物质流、能量流交互，光合群落的信息流交互可以从更基础的基因表达调控层面产生作用，通过化感作用产生更广泛而长期的生理变化。然而，囿于这一问题的复杂性，相关的研究非常有限，还需要开

展进一步的研究。

群体感应 (Quorum sensing) 是一种重要的细菌通讯系统, 能够通过扩散性诱导物 (AI, auto-inducer) 的分泌调控一系列级联反应, 诱导包括致病性、运动性和生物膜形成等多种菌群行为^[68]。不同的细菌具有不同的信号分子, 然而, AI-2 等信号分子能够被许多种细菌产生和识别, 表明物种间群体感应的广泛存在^[69]。吡啶-3-乙酸 (IAA)、类黄酮和磷脂是主要的藻类群体感应分子^[70]。Amin 等发现在硅藻与硫杆菌形成的光合群落中硫杆菌能够同时利用内源合成与硅藻分泌的色氨酸合成 IAA, 促进硅藻的细胞分裂^[59]。Ji 等在小球藻 (*Chlorella vulgaris*) 和地衣芽孢杆菌 (*Bacillus licheniformis*) 的光合共生群落中发现信号分子自诱导肽 (autoinducing peptides) 及胞内第二信使环二鸟苷酸 (cyclic diguanylate) 的浓度随共培养时间增加而增加, 同时小球藻的叶绿素代谢相关基因转录水平也明显上调^[71]。Zhou 等发现真核绿藻能够响应原核群体感应分子酰基高丝氨酸内酯 (AHLs), 增加 460-1000 kDa 芳香蛋白的合成和分泌, 发生显著的自聚集和沉降^[72]。同时, 多种异养微生物^[73] 和自养微生物^[74] 还能够分泌群体感应抑制剂, 通过抑制群落中其他成员的特定群体感应途径以在群落中获得竞争优势^[75-77]。这些发现表明, 群体感应作用对光合群落的生长和代谢具有重要影响, 未来, 基于群体感应的细胞-细胞通信系统或将为人工微生物菌群多重精细控制提供更多的可能。Kokarakis 等在蓝藻-大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 光合群落中引入了基于 AHLs 的群体感应系统, 通过将蔗糖分泌输出强度与大肠杆菌细胞数量相关联, 调节培养基中蔗糖分泌量, 为光驱动合成群落提供了群体感应调控范例^[78]。

许多光合群落中间分泌物同样对群落成员具有显著的调控作用。Riquelme 等发现藻类分泌的有机碳在群落中不仅能够为异养细菌提供营养, 还可以引发细菌的趋化行为^[79]。Li 等发现分歧杆菌 (*Mycobacterium* sp.) A1-PYR 的萜代谢产物能够上调羊角月芽藻 (*Selenastrum capricornutum*) 中的细胞分裂相关基因, 促进其生长增殖, 表明自养生物和异养生物在有毒污染物的环境降解中具有密切联系^[80]。此外, 水平基因转移也可能在

光合群落的长期演化中扮演了重要角色。Allen 等发现硅藻从异养细菌中横向获取的基因在其鸟氨酸-尿素循环中促进了渗透性的脯氨酸以及用于形成二氧化硅外壳时所需的长链多胺前体的生成^[81]。这些研究展现出了光合群落中存在的多方向多层次信息交流与调控, 说明光合群落成员间的信息流具有深入探索和应用的潜在价值。

1.2 人工光合群落的优势

光合群落能够结合自养微生物和异养微生物的优点, 并通过群落成员间的互补实现 “1+1>2” 的良性协作, 在许多应用场景下展现出广阔的应用前景。然而, 到目前为止, 对天然光合群落的理解仍然较为粗浅, 限制了对天然群落的人工培养和进一步工程设计。因此, 基于已知原理设计的人工光合群落被更多地用于研制和开发相应的第三代生物炼制技术。总的来说, 人工光合群落主要具有以下三方面优势:

人工光合群落的内部模块化构造具有良好的设计柔性和可拓展性。在人工光合群落内部, 从 CO₂ 转化为目标化合物的过程被拆分为碳固定和生物合成双模块, 分别在光合微生物和异养微生物中完成。模块化的设计一方面规避了对非模式光合微生物进行复杂改造, 最大程度保证了其高效的原生碳固定效率不受影响, 另一方面也允许研究者直接以即插即用的方式将目标产物的工业生产菌株作为生物合成模块, 与通用的碳固定模块进行简单组合即可实现多样性可持续生物炼制体系的快速构建和测试, 从中发掘具有潜力的互作组合 (相应地, 碳固定模块也可以进行快速替换而无需重新改造生物合成模块), 展现出人工光合群落系统的工程化本质^[28]。同时, 人工光合群落拆分了物质合成链条, 减轻了单一底盘中的表达和代谢负担, 随着后续对于群落机制研究的深入, 开发的各类优化模块将能够为人工光合群落提供持续优化。

人工光合群落物种间的密切协作赋予了其面对外部环境的优秀适应力。人工光合群落中, 光合微生物和异养微生物相互依存, 相互促进, 具有复杂的协同效应。Li 等构建了产蔗糖蓝藻与不同酵母菌株组成的共培养体系, 其中产糖蓝藻与

黏红酵母 (*Rhodotorula glutinis*) 组成的共培养体系中, 黏红酵母的存在可有效清除体系内的活性氧物质, 从而帮助蓝藻更好的生长, 展现出良好的群落协同效应^[82]。如果将单一纯培养比作一条线, 光合群落物种间的密切关系则形成了一张立体的网, 具有很强的稳定性和鲁棒性, 能够耐受各种环境扰动因素的挑战。考虑到光合生物炼制对光的高度依赖性, 在降低运行成本、推动工业化的道路上必然要追求对自然光、大气CO₂的直接利用, 敞开式的露天培养无疑是一个诱人的目标。然而, 这也对培养物的温度和光照波动适应力、偶发扰动耐受力、长期培养稳定性具有很高要求。Weiss 等通过由玻利维亚盐单胞菌 (*Halomonas boliviensis*) 和硅酸盐包埋的产蔗糖细长聚球藻 (*Synechococcus elongatus*) PCC 7942 共培养, 体系可在长达5.5个月的时间里维持稳态并持续合成聚羟基丁酸酯 (PHB)^[25]。Fedeson 等设计了由恶臭假单胞菌 (*Pseudomonas putida*) 与产蔗糖细长聚球藻的人工光合群落, 该群落在多次的一百倍稀释-扩培过程中群落构成和降解功能保持稳定, 实现了在15天的连续分批培养过程中对于目标环境污染物2,4-二硝基甲苯的持续去除^[83]。Zhang 等在细长聚球藻 (*Synechococcus elongatus*) UTEX 2973 和大肠杆菌的光合群落中观察到对蓝藻生长具有显著抑制作用的过氧化氢含量下降和蓝藻生长加快, 实现了高效的3-羟基丙酸生产^[26]。这些研究表征了人工光合群落在系统稳定性上的优势, 发掘了其进一步工业化应用前景。

人工光合群落是极具潜力的自养负碳生产体系。与光合微生物纯培养相比, 异养微生物的存在一方面解除了有机碳积累所带来的负反馈抑制^[40], 同时还通过活性氧消除等实现了对自养微生物的功能互补^[26, 82], 整体上具有更高的固碳活性, 另一方面避免了自养生物中副反应难以确定、代谢不兼容等潜在问题^[28, 84-85], 能够更好实现目标产物的定向合成与稳定积累, 因而在固碳效率和经济性上同样具有独到优势。

2 光合群落的系统生物学研究进展

为了更深入地了解光合群落的深层次互作机

制, 除了对自然存在的成熟复杂系统进行分析, 研究者们还采用自下而上的研究路线, 通过对人工光合群落进行分析建模, 寻找群落系统之间的共性, 通过系统生物学方式实现对复杂互作规律的定量化描述, 实现与合成生物学的交叉互补, 为已建立的人工光合群落提供理论依据, 为新型的人工光合群落的构建提供新的思路和策略。

2.1 多组学整合分析探索光合群落深层互作机制

基因组学、转录组学、蛋白质组学和代谢组学等组学技术是系统生物学的主要分析工具, 为各类生物系统的研究提供了高通量全局视图。整合组学能够全面深入了解光合群落中群落成员间物质、能量和信息交换的分子动力学机制, 在进一步理解光合群落的涌现特性方面提供了有力分析工具, 已经成为近年来解析光合群落的重要手段 (图2)^[86]。

Liu 等通过转录组、蛋白质组和代谢组联合分析, 系统性地研究了在生产异戊二烯的细长聚球藻-大肠杆菌人工光合群落中大肠杆菌的多层次变化, 发现光合作用的水平调控是共培养体系的核心影响因素。具体而言, 聚球藻的光合作用会引发 Fenton 反应, 进而对群落中的大肠杆菌施加氧化压力, 从而引发一系列时空变化, 包括 BFR 上调、半胱氨酸上调、YftE 上调以直接降低 Fenton 反应影响; 毒性蛋白上调以调节细胞周期; 噬菌体休克蛋白上调以缓解氧化压力; 鞭毛合成及组装减弱; NADH-泛醌氧化还原酶 (呼吸链复合体 I) 下调, 同时引发其他 NADH 和泛醌代谢的代偿性重平衡; 应激蛋白 YcfR 上调以抑制生物膜形成等。研究者认为, 大肠杆菌中的一系列响应缓解了氧化压力, 并有助于长期发酵过程, 未来可以基于以上规律, 通过工艺优化结合菌株改造进一步提高光合群落系统性能^[87]。Nair 等建立了一个以聚球藻 (*Synechococcus* sp.) PCC 7002 和表层海水样本形成的半人工光合群落体系, 观察到在耗尽外源营养后的约2年时间内包括主要生产者聚球藻在内的各成员阶段性丰度变化以及群落内从拮抗到共生、最终实现互惠的复杂互作关系演

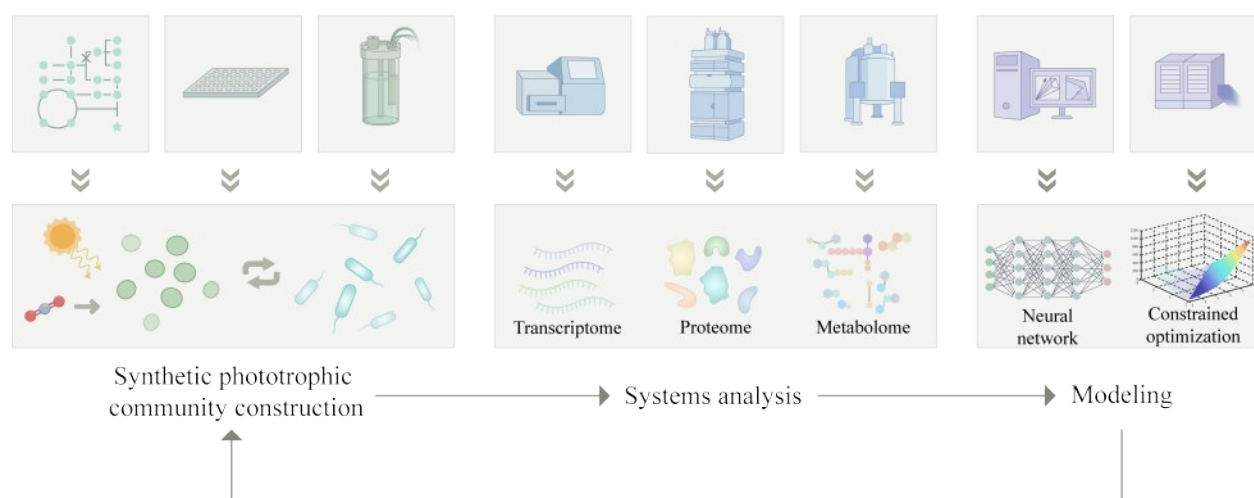


图2 光合群落的系统生物学研究

Fig. 2 Systems biology of phototrophic community

化^[88-89]。研究者通过进一步的宏基因组学、宏转录组学和¹⁵N同位素示踪发现,在聚球藻PCC 7002丰度大幅降低导致可利用碳源减少后,菌群的结构和功能发生了大规模重整,增强了群落内氮、磷、铁和维生素的供给,恢复了聚球藻PCC 7002的长期生长能力,最终推动了互利共生群落的形成。这一研究表明,天然光合群落可能是长期寡营养环境下多种微生物共同发生适应性进化的产物,提示了微生物间可能存在互利共生的内在趋势,为人工光合群落的改进提供了全新的可能视角。Ma等发现产蔗糖细长聚球藻-大肠杆菌人工光合群落生产3-羟基丙酸时,产蔗糖细长聚球藻的生长得到了显著改善,并通过多组学整合分析探索了背后的潜在机制。对光合群落中蓝藻的转录、蛋白和代谢组学分析表明,产蔗糖细长聚球藻的氧化胁迫得到了缓解,且其转录元件、光合系统表达上调,同时其CO₂转运和碳浓缩蛋白表达水平下调,表明群落系统中大肠杆菌能够消耗蔗糖并提供更多CO₂以支持蓝藻生长,形成了互惠的交叉喂养作用。在磷酸盐和氮代谢方面,菌株的磷转运蛋白、硝酸盐转运蛋白和氮同化酶等均显著上调,表现出群落内的营养元素吸收竞争。两种主要互动形式的发现为未来进一步优化人工光合群落提供了新的见解^[90]。Pflueger-Grau等在产蔗糖蓝藻和恶臭假单胞菌cscRABY组成的群落的多组学分析中同样发现了成员间的复杂交叉喂养作用,减

轻了蓝细菌的氧化压力与碳汇限制,使得蓝细菌的光合活性增强,并表现出生长上的显著促进。对于恶臭假单胞菌,尽管其压力响应、降解相关操纵子及运输蛋白表达都有所变化,但这些多层次信号并没有带来生长上的显著变化,表明其作为理想异养伙伴的潜力,为研究共培养体系内的复杂动力学机制提供了新的见解^[85]。Liu等建立了小球藻与大肠杆菌的光合群落进行异戊二烯合成,发现群落中小球藻促进了大肠杆菌生长和异戊二烯合成,而其自身生长受到限制。进一步的多组学分析发现,群落成员间的相互作用与光混养代谢产生的氧化压力密切相关:外源葡萄糖的消耗产生了过量电子和活性氧,导致了胞内抗氧化(CysK、CysE、SerA、AhpC、AhpF)和光修复(YtfE、NfuA、YebG)系统活性的上升,同时小球藻中的半胱氨酸合成显著上调,并可能通过种间传递支持大肠杆菌的抗氧化过程^[91]。Li等构建了由产蔗糖蓝藻和新型底盘需钠弧菌(*Vibrio natriegens*)组成的高度兼容的光驱动合成群落,并进行了转录组学和代谢组学整合分析,发现共培养系统中,蓝藻的碳浓缩元件(碳酸酐酶)得到了增强,除此之外,光系统II(*PsbA*、*PsbE*、*PsbE*、*Psb28*),细胞色素b₆f复合体等光合电子传递链组分和ATP合酶等都得到了不同程度增强,光耗散(*HoxU*、*HoxE*)及高光诱导蛋白减弱,表明电子利用率提高,共培养系统光合固碳效率得

以提升。除此之外,研究团队发现与囊泡相关的基因表达上调,且含氮类物质如嘌呤、嘧啶、二肽类有显著增加,考虑到囊泡有作为微生物细胞间通讯的桥梁的报道,推测这些分子可能包裹在细胞外囊泡中来实现物质传递^[28]。整合组学技术揭示了光合群落复杂互作关系的重要细节,为深入理解光合生物群落及其基因调控网络提供了深刻洞察,将有助于进一步预测人工光合群落在多种条件和目标下的功能,有望为指导人工光合群落设计和促进特定产物生产提供潜在策略,实现人工光合群落潜力的全面挖掘。

2.2 人工光合群落的代谢模型构建

基因组规模的网络代谢模型(genome-scale metabolic model, GEM)通过汇编生物基因组编码的所有代谢反应,进而对于生物的代谢网络进行数字化重建和分析^[92],可以预测一个或多个生物体对营养水平、生物体丰度和基因组含量的扰动和变化的反应^[93]。随着近年来组学数据的不断积累,GEM已经被用于进行群落的代谢模拟和功能预测^[94],有望为未来进行更好的人工光合群落设计和构建提供指导(图2)。

基于约束的代谢建模通过使用通量平衡分析(flux balance analysis, FBA)计算代谢通量分布,能够进行微生物群落的模拟并评估其成员间的相互作用。Chiu等使用多物种的动态FBA设计了具有紧急生物合成能力的人工双物种群落——群落成员单独存在时不分泌代谢物,仅在群落完整时进行分泌和交换^[95]。Zuñiga等将产蔗糖蓝藻与异养微生物大肠杆菌K-12、大肠杆菌W、解脂耶氏酵母(*Yarrowia lipolytica*)和枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)分别共培养,构建了四个光养群落代谢模型(community-metabolic models),预测了四个群落各个成员的生长速率,代谢物产量以及代谢网络通量分布等。该模型模拟显示,蓝藻和大肠杆菌K-12组成的人工光合群落在基本培养基中最活跃。作者随后通过生理生化参数和转录组数据对群落代谢模型进行了验证,证实了以上预测结果的可靠性。除此之外,该合成群落规避了代谢瓶颈(例如组氨酸和运输相关反应),弥补

了致死遗传特性,从致死突变中获得了高达27%的恢复^[96]。该研究为合理设计光合群落提供了一个利用光营养特性结合菌种优化实现可持续性生长的稳健模型框架,将为自养-异养细胞间的互作预测提供更准确的指导。

基于模型,能够通过进一步开发算法以进一步设计目标人工群落。Lloyd等基于同时考虑代谢和基因表达的群落模型预测合成群落在应对代谢不足的进化特征,提出了用于设计多敲除营养缺陷型群落的算法,成功实现了3株缺陷大肠菌株的互惠群落构建^[97]。FLYCOP方法则将COMETS时空动态模型与局部搜索算法结合,以群落成员和营养成分列表为输入,探索共享代谢产物的交换通量、培养基组成和目标行为优化的相对群落成员丰度^[98]。Thommes等开发了一个建模框架,通过营养和代谢的交叉分工,为设计具有成员间依赖性的微生物群落提供可能策略^[99]。Karkaria等突破之前人为设计微生物群落的限制,建立了基于计算机自动设计合成微生物群落的流程。该工作流程能够从一组系统自动生成候选目标出发,自动设计微生物群落的个体组成,并使用模型选择,在恒化生物反应器中确定候选系统产生稳定群落的最大可能性。这个工作流程还允许用户导出依照基本设计原则建立的稳定微生物群落以及控制群落组成的关键参数,在微生物生态研究中具有重要的应用意义^[100]。Sakkos等基于个体建模(Individual-based Modeling, IbM)的NUFEB框架,利用实验数据构建了由产蔗糖细长聚球藻PCC 7942和大肠杆菌W组成的人工光合群落模型,发现蔗糖分泌水平对异养成员生物量稳态水平和群落的时序动态生长情况都具有调控效应。在进一步的空间群落适应度回归模型中,研究者发现菌落间距离、初始生物量、诱导水平和群落与整体体积中心的距离是适应度预测的关键参数,为设计具有全新功能的人工光合群落提供了计算层面的指导^[101]。

3 人工光合群落的优化与应用

目前,光驱动合成微生物群落已经被广泛用于生产生物燃料,大宗化学品和其它的高值化合

物（图3，表1），同时在污水处理，生物修复和控制水华等方面具有巨大的潜力。人工光合群落系统的设计应该考虑到自养菌株、异养菌株、培养条件、群落成员间的相互作用、群落的目的功能等因素，这些因素都对群落的形成起到重要作用，

且多因素间存在着交错的复杂关系。近年来，随着对人工光合群落及相关临近领域研究的深入，多种策略与方法正在被不断开发，为提高人工光合群落的可应用性和普适性提供了崭新的可能（图4，表1）。

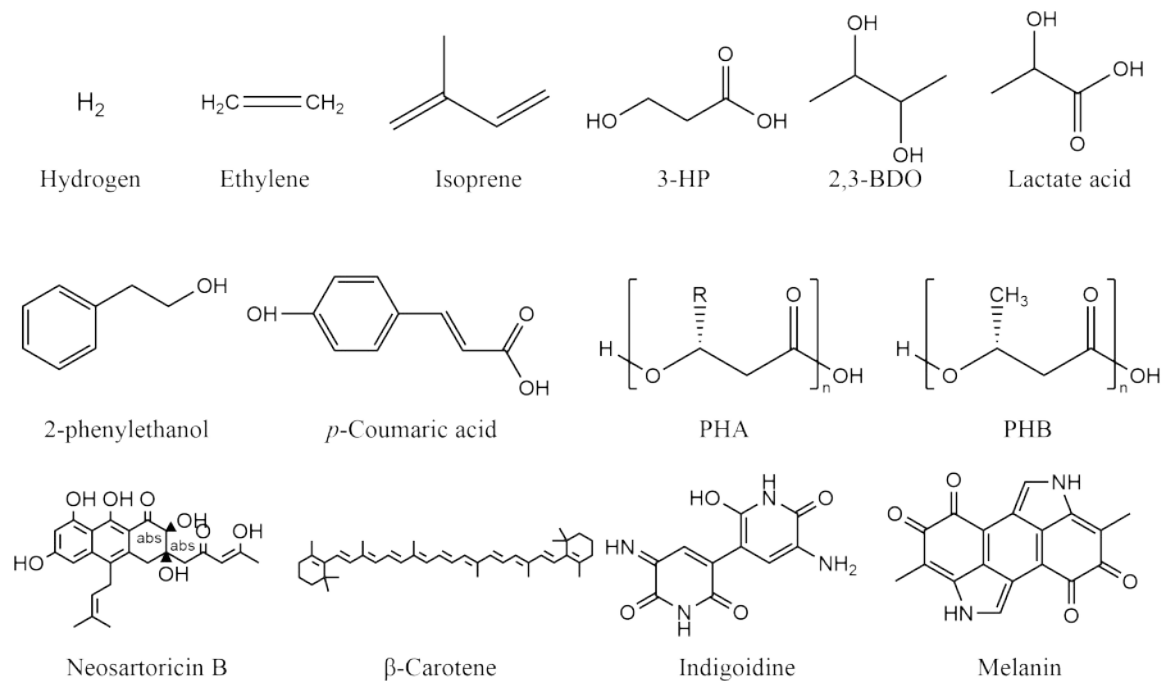


图3 人工光合群落生产的物质
Fig. 3 Various chemicals produced by Synthetic phototrophic community

表1 基于自养/异养微生物对的合成生物群落
Table 1 Synthetic consortia consisting of phototroph/heterotroph pairs

自养微生物	异养微生物	中间碳	产物	滴度 (mg/L)	产率 (mg/L/天)	参考文献
<i>S. elongatus</i> PCC 7942	<i>S. cerevisiae</i>	蔗糖	促进生长	—	—	[102]
<i>S. elongatus</i> PCC 7942	<i>A. vinelandii</i>	蔗糖	PHB	< 40	< 8	[103]
<i>S. elongatus</i> PCC 7942	<i>H. boliviensis</i>	蔗糖	PHB	未指明	28.3	[25]
<i>S. elongatus</i> PCC 7942	<i>R. glutinis</i>	蔗糖	游离脂肪酸	39	1.2	[82]
<i>S. elongatus</i> PCC 7942	<i>P. putida</i>	蔗糖	PHA	156	9.8	[104]
<i>S. elongatus</i> PCC 7942	<i>S. cerevisiae</i>	蔗糖	促进生长	—	—	[105]
<i>S. elongatus</i> PCC 7942	<i>E. coli</i>	蔗糖	PHB	< 1	< 0.15	[105]
<i>S. elongatus</i> PCC 7942	<i>B. subtilis</i>	蔗糖	α-淀粉酶	未指明	未指明	[105]
<i>S. elongatus</i> PCC 7942	<i>P. putida</i>	蔗糖	PHA;降解2,4-DNT	5.1	5.1	[83]
<i>S. elongatus</i> PCC 7942	<i>P. putida</i>	蔗糖	HMF 转化为 FDCA	~750	~250	[106]
<i>S. elongatus</i> PCC 7942	<i>E. coli</i>	蔗糖	促进生长	—	—	[96]
<i>S. elongatus</i> PCC 7942	<i>Y. lipolytica</i>	蔗糖	促进生长	—	—	[96]
<i>S. elongatus</i> PCC 7942	<i>B. subtilis</i>	蔗糖	促进生长	—	—	[96]
<i>S. elongatus</i> PCC 7942	<i>E. coli</i>	蔗糖	异戊二烯	400	15.4	[87]
<i>S. elongatus</i> PCC 7942	<i>P. putida</i>	蔗糖	PHA	393	42.1	[24]

续表

自养微生物	异养微生物	中间碳	产物	滴度 (mg/L)	产率 (mg/L/天)	参考文献
<i>S. elongatus</i> PCC 7942	<i>E. coli</i>	蔗糖	乙烯	1.2	0.6	[84]
<i>S. elongatus</i> PCC 7942	<i>E. coli</i>	蔗糖	异戊二烯	0.051	0.026	[84]
<i>S. elongatus</i> PCC 7942	<i>E. coli</i>	蔗糖	促进生长	—	—	[27]
<i>S. elongatus</i> PCC 7942	<i>V. natriegens</i>	蔗糖	乳酸	313.3	52.2	[28]
<i>S. elongatus</i> PCC 7942	<i>V. natriegens</i>	蔗糖	2,3-丁二醇	137.3	22.9	[28]
<i>S. elongatus</i> PCC 7942	<i>V. natriegens</i>	蔗糖	对香豆酸	24.7	4.1	[28]
<i>S. elongatus</i> PCC 7942	<i>V. natriegens</i>	蔗糖	黑色素	9.1	1.5	[28]
<i>S. elongatus</i> PCC 7942	<i>A. nidulans</i>	蔗糖	Neosartoricin B	0.2	0.05	[107]
<i>S. elongatus</i> PCC 7942	<i>E. coli</i>	蔗糖	构建方法开发	—	—	[108]
<i>S. elongatus</i> PCC 7942	<i>E. coli</i>	蔗糖	匹配度预测	—	—	[101]
<i>S. elongatus</i> PCC 7942	<i>E. coli</i>	蔗糖	群体感应工具箱开发	—	—	[78]
<i>S. elongatus</i> UTEX 2973	<i>E. coli</i>	蔗糖	3-羟基丙酸	68.3	9.8	[26]
<i>S. elongatus</i> UTEX 2973	<i>P. putida</i>	蔗糖	天然蓝色素	7500	1250	[29]
<i>S. elongatus</i> UTEX 2973	<i>Y. lipolytica</i>	蔗糖	β -胡萝卜素	1300	260	[29]
<i>Synechococcus</i> sp. WH7803	<i>R. pomeroyi</i>	光合产物	促进生长	—	—	[109]
<i>Synechococcus</i> sp. PCC 7002	<i>S. putrefaciens</i>	光合产物	促进生长	—	—	[110]
<i>Synechococcus</i> sp. PCC 7002	<i>M. alcaliphilum</i>	光合产物	甲烷降解	—	—	[111]
<i>T. elongatus</i> PKUAC-SCTE542	<i>E. coli</i>	蔗糖	乙烯	1.5	0.74	[84]
<i>T. elongatus</i> PKUAC-SCTE542	<i>E. coli</i>	蔗糖	异戊二烯	0.027	0.013	[84]
<i>T. elongatus</i> BP-1	<i>M. ruber</i>	光合产物	促进生长	—	—	[112]
<i>Nostoc</i> sp. PCC 6720	<i>A. nidulans</i>	光合产物	促进生长	—	—	[113]
<i>Nostoc</i> sp. PCC 7413	<i>A. niger</i>	光合产物	促进生长	—	—	[114]
<i>Nostocaceae</i> sp. SAB-B866	<i>P. cypripedii</i>	光合产物	促进植物生长	—	—	[115]
<i>Nostocaceae</i> sp. SAB-B866	<i>P. putida</i>	光合产物	促进植物生长	—	—	[115]
<i>S. hyalinum</i>	废水内源微生物	光合产物	废水处理	—	—	[116]
<i>P. keuzingium</i>	活性污泥微生物	光合产物	氢气;废水处理	89.9	14.9	[117]
<i>T. obliquus</i> IS2	<i>V. paradoxus</i>	光合产物	废水处理	—	—	[118]
<i>Chlorella</i> sp. GY-H4	<i>S. cerevisiae</i>	光合产物	苯乙醇	2130	710	[119]

3.1 自养菌株的选择与优化

自养菌株为整个系统提供碳源，应当着重考虑菌种的代谢改造潜力来选择合适的蓝细菌底盘。系统考虑代谢改造潜力和未来工程化应用需要，选择合理的自养菌株，对于构建高效、稳定的光合群落有着重要的意义^[120]。相较于真核藻类如小球藻、莱茵衣藻等，蓝细菌等原核藻类遗传背景明确、遗传操作较为简单、营养需求较低，且其独特的羧酶体结构使得其具有更高的碳固定效率，

是极具潜力的光合底盘，也被广泛应用于人工光合群落的构建。蓝细菌种类繁多、分布广泛，在海洋、淡水、温泉甚至各种极端环境等均有分布^[121]。不同菌属中有单细胞、丝状体或者丝状不分化等多细胞形式，因此不同的菌株在光合固碳效率、碳汇途径、固氮能力等生理代谢上也会表现出较多的差异。目前较为常用的模式菌种有集胞藻（*Synechocystis* sp.）PCC 6803、鱼腥藻（*Anabaena* sp.）PCC 7120、聚球藻 PCC 7002、细长聚球藻

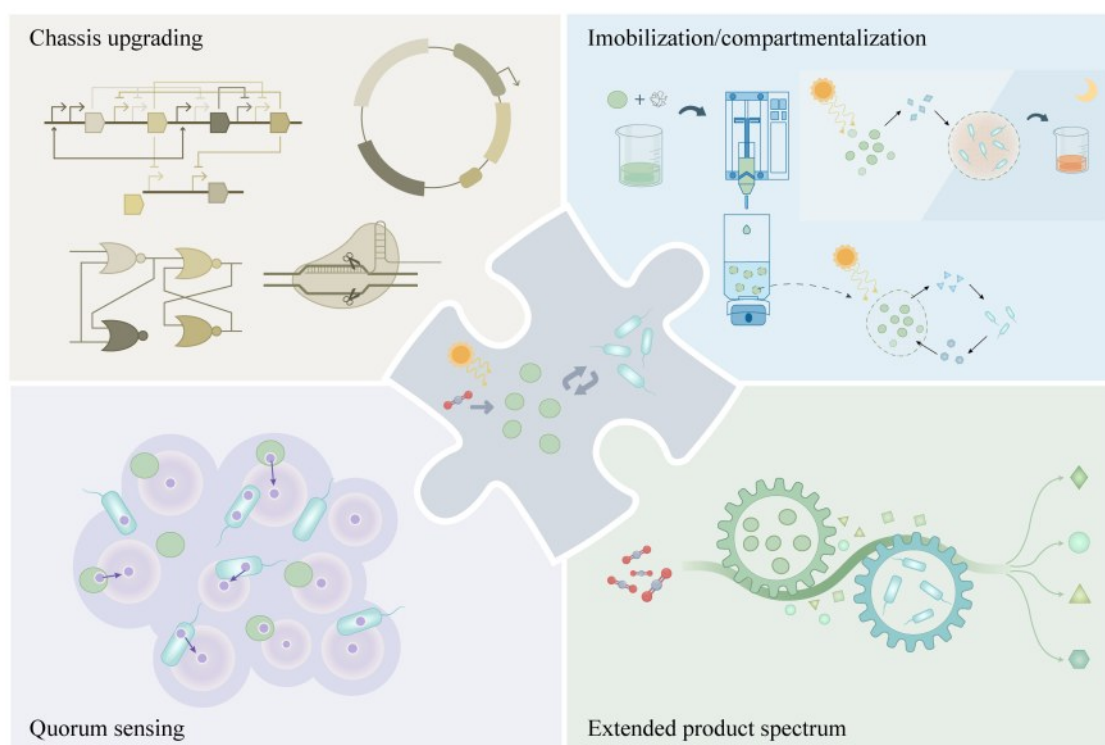


图4 通过多种策略优化人工光合群落

Fig. 4 Various strategies to improve the performance of synthetic phototrophic community

PCC 7942 和细长聚球藻 UTEX 2973 等。

原核蓝藻和真核微藻等光合微生物是构建人工光合群落的重要生产者。Ducat 等将大肠杆菌蔗糖透性酶在细长聚球藻 PCC 7942 中异源表达,并结合对内源糖消耗酶的敲除,实现了 36.1 mg/L/h 的蔗糖分泌生产,占其总生物量的 80%^[102]。同时,改造菌株在光系统 II 活性、固碳效率及叶绿素含量上都优于原始菌株,展现出改造蓝细菌生产碳水化合物,并进一步支持异养伙伴生长的潜力。Lin 等通过在细长聚球藻 UTEX 2973 中过表达蔗糖转运蛋白,使蔗糖产量高达 1.9 g/L^[122]。Ducat 等构建了由可分泌蔗糖的细长聚球藻和酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 组成的人工光养微生物群落,初步证实了蓝藻分泌的蔗糖可以作为支持异养微生物生长繁殖的可用碳水化合物,证实了人工构建光合微生物群落的可行性^[102]。以此为基础,该团队将产糖工程蓝藻与三种常用工业微生物 (大肠杆菌,酿酒酵母及枯草芽孢杆菌) 共培养状况,该体系具有较强的鲁棒性,实现了 PHB 和淀粉酶的生物合成^[105]。

细长聚球藻 UTEX 2973 是新近发现的对高温

和强光照条件具有良好耐受能力的菌株,与其他蓝细菌相比,它的生长速度较快,生长代时仅为 1.9 小时,具有巨大的生物生产潜力。细长聚球藻 UTEX 2973 基因组大小为 2.7 Mbp,三亲本接合是其常见的 DNA 转移方式^[123]。除此之外,Li 等将 *pilN* 基因导入细长聚球藻 UTEX 2973,使菌株可以实现自然转化^[124]。Tan 等人精确鉴定了聚球藻 UTEX 2973 全基因组范围的 4808 个转录起始位点,为后续转录调控以及代谢工程改造研究奠定了基础^[125]。Zhang 等构建了由可分泌蔗糖细长聚球藻 UTEX 2973 和产 3-羟基丙酸的大肠杆菌组成的光合微生物群落,在 7 天内生产了约 68.29 mg/L 的 3-羟基丙酸^[26]。Zhao 等将产蔗糖细长聚球藻 UTEX 2973 和藻酸钙包埋的产 β -胡萝卜素的解脂耶氏酵母以及产天然蓝色素 (indigoidine) 的恶臭假单胞菌分别进行共培养,凝胶中的 β -胡萝卜素、天然蓝色素产量分别达到 7.5 g/L 和 1.3 g/L^[29]。

3.2 异养菌株的选择与优化

合适的异养伙伴是构建稳定、健壮、可控光

驱动合成群落的关键。蔗糖是目前绝大多数人工光合群落中自养菌株的主要产物,这使得异养细菌必须具备同化利用蔗糖的能力,而许多工程菌株并不能天然利用蔗糖。尽管可以通过在体系中额外添加蔗糖酶(invertase)将蔗糖水解为葡萄糖和果糖,但这也对其大规模应用产生了限制^[29]。同时,一定的盐胁迫能够促进蔗糖的生产和分泌,在人工光合群落中已经被广泛采用。在此情况下,异养伙伴应当满足以下四条原则:1)在营养条件下能够快速生长。2)可高效利用蔗糖等中间碳水化合物。3)一定的耐盐性,以便蓝藻能够在盐胁迫条件下生产并分泌更多碳源物质。4)对氧具有一定耐受力,能够缓解光合体系下的活性氧损伤。

一种解决方法是改造工程菌株,使其能够代谢蔗糖。恶臭假单胞菌天然无法代谢蔗糖,Löwe等通过蔗糖酶CscA和蔗糖透性酶CscB在恶臭假单胞菌中的异源表达^[126],使得其能够以蔗糖作为碳源生长,构建了由产蔗糖蓝藻和可利用蔗糖的恶臭假单胞菌工程菌株组成的光合微生物群落,实现了从CO₂到聚羟基脂肪酸酯(PHA)的生物合成^[104]。在生物修复方面,工程蓝藻和恶臭假单胞菌组成的光养微生物群落能够利用光能和CO₂降解环境污染物2,4-二硝基甲苯,同时积累PHA作为副产物^[83]。

另一种有效策略则是筛选契合光合群落需求的异养菌株。Li等探索了产蔗糖蓝藻与不同酵母菌株组成的共培养体系,发现其中黏红酵母能够与外源添加的过氧化氢酶类似地消除环境中的活性氧积累,解除其对蓝细菌的生长抑制,凸显了合适的异养菌株选择对光合群落构建的重要性^[82]。Cui等构建了工程蓝藻和工程大肠杆菌共培养体系,该光合群落实现了从CO₂到乙烯和异戊二烯的生产^[84]。Li等设计并构建了一个高度兼容的光合微生物群落,由产蔗糖蓝藻和快速生长的需钠弧菌组成。需钠弧菌从数十种工业微生物中筛选而出,在生长速度、蔗糖利用、耐盐性、活性氧耐受等方面与工程蓝藻适配,有着较高的营养互补和环境相似性。通过在异养伙伴需钠弧菌中引入乳酸、2,3-丁二醇、对香豆酸、黑色素等4种异源物质生产途径,结合工程蓝藻成功实现了CO₂向不同的化学品的转化。经估算,通过光合群落生产

每千克目标产品可吸收22.27~606.59千克CO₂,同时实现了显著的CO₂封存以及高附加价值物质的生产^[28]。该工作的光驱动负碳生产路线直接将CO₂转化为多种增值化学品,有望帮助生物制造产业摆脱糖基原料的依赖,助力碳中和,并为光驱动合成群落的理性设计和可持续开发提供了新的思路。

3.3 包埋固定化/区室化策略

人工光合群落的培养条件需要同时兼顾两种或更多群落成员的不同营养、光照、渗透压等需求,以实现整个群落的协同生长。传统上,一般通过长期的演化和优化实验来确定最佳培养条件^[127]。此外,也可通过包埋等方式创造具有差异化环境的培养条件。

凝胶介导的包埋固定化/区室化策略是提升光驱动微生物群落的又一重要策略,已经被用于光养群落的生物合成。该策略可以为不同的群落成员提供其合适的微环境,促进光养群落成员有序分布。由于光驱动合成菌群成员之间可能需要不同的渗透压,例如,在盐胁迫的条件下,蓝藻才能将细胞内的蔗糖运输到细胞外,该条件可能会导致异养伙伴同样面临高盐胁迫。区室化策略有望解决这一挑战。Weiss等使用藻酸-钡凝胶封装产蔗糖细长聚球藻PCC 7942,并将其与天然生产生物塑料前体PHB的玻利维亚盐单胞菌构建共培养体系。通过对工程聚球藻的包埋固定化,一方面通过限制其生长,提高了其蔗糖分泌效率,减少了长期培养过程中由蓝藻活跃生长时的基因突变与反向选择带来的蔗糖生产退化,另一方面将自养菌群和异养菌群进行了物理上的分离,有助于对异养生物及其产物PHB的选择性回收。该体系在优化后实现了28.3 mg/L/d的PHB生产(最终积累的PHB占总体系干重的31%),并可在不使用抗生素等筛选压力的情况下抵抗外源微生物入侵,在超过5个月的时间内持续进行合成^[25]。除了包埋自养微生物,将异养微生物进行包埋也具有诸多潜在用途,例如异养微生物的生物量和生产光敏感化合物都不会影响蓝藻的光合作用,并且凝胶内的合成产物可以很方便的完成收获。Zhao等

将异养微生物恶臭假单胞菌包裹在海藻酸钙水凝胶珠中,与产糖的聚球藻UTEX 2973共培养,包埋后的色素产量是非固定化状态的15~22倍^[29]。Wang等使用天然多糖壳聚糖作为包埋材料,将大肠杆菌、两种酵母、谷氨酸棒杆菌(*Corynebacterium glutamicum*)、细长聚球藻等三十余种微生物封装为400微米左右尺寸的微胶囊,其交联结构实现了微生物种群间的隔离而孕育小分子及蛋白质的运输,能够完成各类微生物合成群落的有序组装和精确控制,从而实现种群间的交流和代谢分工调谐,解决了人工微生物菌群成员间分裂速度相差巨大造成的营养物质的消耗和生产速度不匹配问题^[27]。

3.4 设计并优化群落成员间的相互支持作用

氮循环同样是人工光合群落研究的焦点之一,通过固氮菌的加入,群落可以实现更为紧密双向的代谢协作,减少对额外氮源依赖的同时增强其鲁棒性。Smith等将产蔗糖细长聚球藻与棕色固氮菌(*Azotobacter vinelandii*)共培养,实现了PHB的积累,该系统中,细长聚球藻为棕色固氮菌提供蔗糖作为碳源,棕色固氮菌为细长聚球藻提供有机氮,无需额外添加任何有机碳源和有机氮源便实现了高附加值化合物的生产^[103]。Yu等构建了由集胞藻PCC 6803为固碳模块、沼泽红假单胞菌(*Rhodospseudomonas palustris*)为固氮模块、地衣芽孢杆菌为合成模块的三菌光合群落,并通过加入导电的苋-苯基共聚物促进电子转移,增强了69%和30%的合成模块ATP和NADPH供应,最终 γ -聚谷氨酸产量提高了104%^[128]。

群体感应作为群落成员间的互相交流机制,囿于其本身的复杂性,目前尚未被充分应用于人工光合群落构建。Alnahhas等设计合成了一种双菌感应互抑系统,可以将群体感应(QS)调控的基因表达与菌群内菌株的比例联系起来,突显了简单的通路编辑应用于菌群感知并响应种群状态的巨大潜力。具体来说,为了构建双菌感应互抑系统,作者在宿主大肠杆菌中分别导入了两组不同的质粒,成功构建了“青色”菌和“黄色”菌。这两组质粒各包含三个编码不同蛋白的基因:一个AHL合成酶(RhlI或CinI),一个转录抑制因子

(LacI-11或RbsR-L)和一个荧光报告因子(sfCFP或sfyfp)。当“青色”菌感应到“黄色”菌分泌到环境中的C14-HSL信号分子后,“青色”菌株上调了嵌合抑制因子RbsR-L的表达,同时下调了青色荧光蛋白(sfCFP)和RhlI(合成自身C4-HSL合成酶)。因此,当两种菌共培养时,数量较多的菌株产生更多的QS信号分子,最终关闭数量较少菌株产生的QS信号。以此为基础,作者分别设计了服从多数模式(majority wins patterns)和服从少数模式(minority wins patterns)两种双菌共抑调控系统,能够根据其组成菌株的比例调控基因表达,实现随时间变化的动态响应,有潜力在菌种控制和生物加工领域得到更广泛的应用^[129]。Kong等创建了六个双菌混合体系,每个混菌体系拥有独特的互动模式,包括共栖、偏害共生、中立、合作、竞争和掠夺。这些混菌体系遵循不同的种群数量动态,其特征由潜在的交互模式决定。研究表明,来源于两菌株混菌体系的模型可用于设计具有可预测行为的三和四菌株生态系统,并进一步扩展以提供对空间群落动态的探索。这项工作揭示了相互作用微生物物种的组织关系,为操纵和设计菌群打下基础,并提供了系统框架以指导为各种目的开发的综合生态系统^[130]。Kylilis等建立了大型群体感应特征数据库,量化了多种同源和非同源化学信号相互作用,同时,开发了一种可以自动选择正交性信通道设计联合体的软件,也有潜力用于光驱动合成群落研究^[131]。Kim等构建了具有两个正交群体感应系统(一个正反馈、一个负反馈)的双菌群落,发现其可以在群落空间范围远大于信号分子扩散距离时同样可以实现基因表达的同步时空震荡。研究者在分析中发现合理的、具有反馈的调节网络与关键的正反馈回路以放大局部信号是其系统实现时间一致性的关键,展现出单一细胞内分子相互作用对整体系统的重要性。研究强调了本地交互的分布式网络对于合成群落协同调控的意义,为构建大型合成群落提供了底层机制阐述^[132]。未来,群体感应系统有望被进一步应用于构建复杂的人工光合群落,通过更紧密的调控作用以充分发挥群落的优势。

3.5 拓展人工光合群落的产物谱和功能谱

人工光合群落可以通过适当的分工减少单一菌株代谢负担,促进代谢资源的平衡和分配,从而允许研究者设计复杂、可并行多项代谢任务的光合群落,形成高效的联合生产机制,增进产量^[133]。Li等通过构建三菌混合培养体系,分别负责咖啡酸、丹酚酸两种前体的合成和最终产物迷迭香酸的合成,实现了两种前体的供应平衡,相较于未分工的两菌共培养,产量提升了1.9倍^[134]。这一研究体现了群落中模块平衡的重要性,表明对于设计多个中间产物的长链条生产,中间产物的平衡对最终产率具有重要影响。

人工光合群落虽然可以被用于进行许多化合物的合成,然而其产物谱受到许多固有因素的限制^[135]。例如,光合作用需要持续的CO₂气体供给,而活跃的气体交换会导致挥发性产物的流失;同时强烈的光照会导致光敏感产物的降解。另一个主要问题在于内源性酶可能导致产物被非预期转化。考虑到对于许多光合生物,其基因组未得到充分研究,完全消除副反应可能会遇到很多困难^[136]。针对易挥发、光敏感和胞内不稳定化合物的生产,Li等通过新型组合策略,将光合群落拆分为碳固定模块和休止细胞催化模块,通过先光合生产稳定的中间物如肉桂酸等,再将其与不同的大肠杆菌休止模块结合,通过即插即用的方式生产姜黄素、东莨菪素等光敏感产物以及肉桂醛、香兰素等胞内不稳定产物。该研究首次实现了利用CO₂直接合成多种原有光合合成方法难以直接获取的高附加值产品,拓宽了光合群落的产物谱^[137]。

4 挑战与展望

将光合微生物与异养微生物组合成人工光合群落,能够把CO₂转化为不同的高值化合物。人工光合群落集成了自养和异养微生物的优势,并通过成员间的有机交流协作形成健壮稳定的群落体系,具有良好的柔性和拓展性,有望实现高效且经济的负碳生物合成,具有非常广阔的应用场景。受益于合成生物学工具及系统生物学手段的持续

丰富,近来已有多个人工光合群落被成功构建验证,取得了出色的成果。然而,目前相关体系的大规模生产实践依然面临着诸多限制,需要展开更多研究、创建新的策略。

从实验室摇瓶走向工厂批量化培养,还需要进一步评估其相关的经济、环境和社会影响^[138]。基于现有经验,在控制成本的情况下(包括反应器和过程处理成本),工业生产必须能够稳定积累起高生物量^[20]。大多数植物、真核藻类、蓝藻、光合细菌都通过Calvin-Benson-Bassham循环(CBB cycle,也称Calvin cycle或reductive pentose phosphate cycle还原型戊糖磷酸循环)进行CO₂固定^[139]。CBB循环以碳水化合物为核心,与磷酸戊糖途径密切关联。CBB循环中的核心酶和限速酶是核酮糖-1,5-二磷酸羧化加氧酶(RuBisCO),其总反应每从3分子CO₂固定产生1分子3-磷酸甘油醛,需要消耗9分子ATP和6分子还原型辅酶NADPH,对应于光反应中需要由24个光子驱动^[140]。正因如此,对于光合微生物而言,其与传统异养微生物最大的区别在于其对光照强度的高依赖性。在人工光合群落中,异养微生物的碳源、能源完全依赖于自养微生物提供的中间物质供给,蓝细菌的生长和有机碳生产已成为构建健壮、高效、可规模化人工光合群落的决定性因素。目前,人工光合群落依然多以传统的细长聚球藻PCC 7942等为自养菌株,采用新发掘的、生长更为迅速的菌株有望增强群落的能量和碳吸收效率,缩小群落成员间的生长速度差异,有利于更具生产力的群落构建。Włodarczyk等报道了一种新的聚球藻(*Synechococcus* sp.) PCC 11901。聚球藻PCC 11901可以通过自然转化完成DNA的转移,倍增时间已经接近酵母,约为2小时,生物量可积累到33 g/L(细胞干重)。聚球藻PCC 11901生产游离脂肪酸产量超过1.5 g/L,与经改造的异养微生物产量相当^[141],用于群落构建中有望进一步增强群落生长潜力。

对于群落中自养生物向异养生物传递的有机碳,目前广泛采用的是蔗糖。由于大多数异养微生物无法天然利用蔗糖,构建光驱动合成群落时便需要基因工程改造,甚至有些菌株如凝结芽孢杆菌目前还没有高效的基因编辑工具。其它分子

例如葡萄糖和羧酸,可以取代蔗糖成为更容易被代谢、合成和分解路径更短的中间碳水化合物。这对于不能代谢蔗糖且缺乏有效基因编辑工具的异养微生物是重要的。最近,蓝藻中的葡萄糖合成研究取得了新的突破,Zhang等通过多组学整合研究,确定了细长聚球藻PCC 7942的葡萄糖生产和转运途径,进而敲除菌株中的葡萄糖激酶基因 $glk1$ 、 $glk2$,多次尝试后获得了产生自发点突变从而能够分泌葡萄糖的工程菌株,通过进一步过表达磷酸葡萄糖变位酶基因 pgm 优化碳流分配,最终葡萄糖产量达到5 g/L,占改造藻株总固碳量的70%以上^[142]。

考虑到成本因素,在大规模的光合自养培养体系中,通常采用自然光作为光源。在目前初步建立的培养体系中,开放式跑道池是最为便捷经济的^[4],然而,其也对菌株的环境适应力提出了很高的挑战。在实验室条件下,自养蓝细菌的生长速度一般要慢于异养微生物,因而在构建人工光合群落时,往往需要先接种自养微生物,培养到较高密度后并积累了一定中间碳水化合物后再接种自养微生物以完成接种^[28]或是采用预先包埋等方法^[25],带来了额外的污染风险,并需要通过额外的检验以排除污染可能。而在扩大培养时,这一劣势进一步放大,使得光合群落在高接种量时依然可能发生外源污染引发的培养体系崩溃^[143]。事实上,即便对于那些经过细致设计以减少污染风险的半开放体系,外源生物污染也同样是其实现进一步放大的主要制约因素^[144]。有一些研究者另辟蹊径,使用嗜盐菌株^[144-145]和固氮菌株^[146],利用高盐、无氮等高选择性的培养条件在开放条件下实现了抗污染生产。但在多数蓝细菌培养过程中,为了控制污染,研究者需要在培养前对全部生物反应器和培养基进行灭菌,在培养过程中提高种子培养液接种比,并使用包括除草剂、抗生素、表面活性剂、次氯酸盐、苯酚等多种化学物质防止各类生物引发的过程性污染^[138-147]。这些措施能够很大程度上避免由入侵生物导致的整批次生产失败,但也使得人工光合群落的成本显著提高,同时抗生素等物质以及外源性抗性基因在开放式系统中的使用还会带来更多生态保护、生物安全层面上的不确定性,削减了

其相对于一般异养系统生产的优势,有待开展更深入的研究探索。

光合生物对光的适应是两重性的^[148]。如果光强过饱和,所导致的光抑制作用会显著抑制生长;而当光强低于生长平衡点,过弱的光照无法满足光合作用所需,生长同样会收到限制^[3]。同时,光在培养液中的穿透能力非常有限,且细胞对可见光具有显著的吸收作用(即光遮蔽效应,高密度培养下光的穿透距离可能仅为数毫米^[149]),这些因素进一步导致在大规模高密度培养中光生物反应器内的光耗散与光强不均匀分布。通常采用的策略是使用具有高比表面积的光生物反应器,如平板式反应器、管道式反应器等,然而,这些封闭式培养器的建设和维护成本都非常高昂^[3, 150],并在混合传质层面带来了新的挑战^[151]。为了更好地分配和利用光能,近年来已有多项研究尝试了将微型半导体材料与微生物结合的策略,已经在微生物-半导体材料人工杂合光合系统构建、提升天然光合生物固碳效率等方面取得了可观的成果。Lin等将镉离子和半胱氨酸加入大肠杆菌培养基,通过生物矿化作用在其周质空间原位合成硫化镉(CdS)纳米团簇,发现该杂合体在光照情况下胞内ATP产生是黑暗条件下的8.1倍,苹果酸产量从1.9 mg/L提升到12.1 mg/L,证明了该系统的应用潜力^[152]。Pi等进一步通过向需钠弧菌导入好氧硫酸盐还原途径,使其能够自发利用废水中的镉离子、硫酸盐和有机物合成CdS纳米半导体,进一步引入生产途径后以废水为原料,在光照反应器中合成了13.09 g/L的2,3-丁二醇^[153]。对于蓝细菌的纳米材料杂合,Hu等首先在蓝细菌中构建了甘油的合成通路,在光照条件下,成功将CO₂固定并转化为甘油。在此基础上,研究团队向培养体系中添加金纳米颗粒,利用共培养构建了金纳米颗粒-蓝细菌的杂合体,通过吸收光谱分析,观察到杂合体中同时具有金纳米颗粒和蓝细菌的特征吸收峰。此外,金纳米颗粒在525 nm附近吸收较强,与蓝细菌的吸收光谱性能互补,可以潜在提高杂合体的光能捕获效率。通过测试,在光照的条件下,与纯蓝细菌体系相比,杂合体生物量增长了10%,甘油产量增长了14.6%。进一步通过扫描透射电子显微镜(STEM)结合能谱(EDS)分析,

发现金纳米颗粒分布在蓝细菌细胞内,有利于材料光生电子向微生物细胞的传递。该研究为半导体材料-微生物人工杂合体系提供了新的实例,为提高蓝藻重定向碳通量到中间碳水化合物蔗糖提供了新的方法^[154]。Liang等将磷化铟(InP)纳米半导体与丝状蓝细菌拟球状念珠藻(*Nostoc sphaeroides*)杂合,增强了其光系统I活性及乙烯生产代谢强度,有效提高了其光合乙烯产量,为未来构建和优化高效太阳能驱动的高值化学品生产的纳米材料-微生物人工杂合系统提供了重要参考^[155]。以上例子表明,在人工光合群落中引入纳米光活性半导体材料,有望一石二鸟地同时促进异养和自养成员的代谢活性,提升整个系统对于光的有效利用,是极具潜力的未来研究方向之一。

为了深入挖掘并开发人工光合群落的潜能,未来的相关研究还应着重于两个方面:一是完善群落群体感应系统的构建,加强群落内的跨物种信息交流,充分利用群落的优势特性,进行成员间物质流及能量流的精细动态调控,建立具有持续生产能力的稳态人工光合群落;二是进一步加强人工光合群落的系统生物学分析,充分利用不断增长的多组学分析数据,建立具有适用性的群落模型,寻找强化人工光合群落的潜在策略,通过多种合成生物学工具对其进行升级改造,不断拓展其应用场景。

综上所述,以光合自养微生物与异养微生物组合而成的人工光合群落,已经在绿色生物化工、生物修复、生物农业等多个领域取得了一系列突出进展。同时,光合群落的互作机制也正得到持续深入研究,并积累了大量组学和生理生化数据,为实现人工光合群落的理性设计及精密调控提供了有力支撑,有望进一步促进其高速发展。面临未来多样化的学术和工业应用场景,人工光合群落还需要通过新思想、新原理和新策略持续进行升级和重塑,为最终实现可持续的负碳生物炼制提供解决方案。

参 考 文 献

- [1] CESTELLOS-BLANCO S, ZHANG H, KIM J M, et al. Photosynthetic semiconductor biohybrids for solar-driven biocatalysis[J]. *Nature Catalysis*, 2020, 3: 245-255.
- [2] LIAO J C, MI L, PONTRELLI S, et al. Fuelling the future: microbial engineering for the production of sustainable biofuels[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2016, 14(5): 288-304.
- [3] LIU Z H, WANG K, CHEN Y, et al. Third-generation biorefineries as the means to produce fuels and chemicals from CO₂[J]. *Nature Catalysis*, 2020, 3: 274-288.
- [4] CASE A E, ATSUMI S. Cyanobacterial chemical production[J]. *Journal of Biotechnology*, 2016, 231: 106-114.
- [5] GLEIZER S, BEN-NISSAN R, BAR-ON Y M, et al. Conversion of *Escherichia coli* to generate all biomass carbon from CO₂[J]. *Cell*, 2019, 179(6): 1255-1263.e12.
- [6] VENKATA MOHAN S, MODESTRA J A, AMULYA K, et al. A circular bioeconomy with biobased products from CO₂ sequestration[J]. *Trends in Biotechnology*, 2016, 34(6): 506-519.
- [7] KASHYAP M, CHAKRABORTY S, KUMARI A, et al. Strategies and challenges to enhance commercial viability of algal biorefineries for biofuel production[J]. *Bioresource Technology*, 2023, 387: 129551.
- [8] AHIRWAR A, DAS S, DAS S, et al. Photosynthetic microbial fuel cell for bioenergy and valuable production: a review of circular bio-economy approach[J]. *Algal Research*, 2023, 70: 102973.
- [9] ERDEM E, MALIHAN-YAP L, ASSIL-COMPANIONI L, et al. Photobiocatalytic oxyfunctionalization with high reaction rate using a Baeyer-Villiger monooxygenase from *Burkholderia xenovorans* in metabolically engineered cyanobacteria[J]. *ACS Catalysis*, 2022, 12(1): 66-72.
- [10] MASCIA F, PEREIRA S B, PACHECO C C, et al. Light-driven hydroxylation of testosterone by *Synechocystis* sp. PCC 6803 expressing the heterologous CYP450 monooxygenase CYP110D1[J]. *Green Chemistry*, 2022, 24(16): 6156-6167.
- [11] TAN C L, TAO F, XU P. Direct carbon capture for the production of high-performance biodegradable plastics by cyanobacterial cell factories[J]. *Green Chemistry*, 2022, 24(11): 4470-4483.
- [12] WANG Q K, YU Z Y, WEI D, et al. Mixotrophic *Chlorella pyrenoidosa* as cell factory for ultrahigh-efficient removal of ammonium from catalyzer wastewater with valuable algal biomass coproduction through short-time acclimation[J]. *Bioresource Technology*, 2021, 333: 125151.
- [13] ZHU B J, WEI D, POHNERT G. The thermoacidophilic red alga *Galdieria sulphuraria* is a highly efficient cell factory for ammonium recovery from ultrahigh-NH₄⁺ industrial effluent with co-production of high-protein biomass by photo-fermentation[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2022, 438: 135598.
- [14] BAI W, RANAIVOARISOA T O, SINGH R, et al. N-Butanol production by *Rhodopseudomonas palustris* TIE-1[J].

- Communications Biology, 2021, 4(1): 1257.
- [15] LI M J, XIA Q Q, LV S Z, et al. Enhanced CO₂ capture for photosynthetic lycopene production in engineered *Rhodospseudomonas palustris*, a purple nonsulfur bacterium[J]. Green Chemistry, 2022, 24(19): 7500-7518.
 - [16] DEMAY J, BERNARD C, REINHARDT A, et al. Natural products from cyanobacteria: focus on beneficial activities[J]. Marine Drugs, 2019, 17(6): 320.
 - [17] TAN C L, XU P, TAO F. Carbon-negative synthetic biology: challenges and emerging trends of cyanobacterial technology [J]. Trends in Biotechnology, 2022, 40(12): 1488-1502.
 - [18] KNOOT C J, UNGERER J, WANGIKAR P P, et al. Cyanobacteria: promising biocatalysts for sustainable chemical production[J]. Journal of Biological Chemistry, 2018, 293(14): 5044-5052.
 - [19] OPEL F, SIEBERT N A, KLATT S, et al. Generation of synthetic shuttle vectors enabling modular genetic engineering of cyanobacteria[J]. ACS Synthetic Biology, 2022, 11(5): 1758-1771.
 - [20] DERUYCK B, THI NGUYEN K H, DECAESTECKER E, et al. Modeling the impact of rotifer contamination on microalgal production in open pond, photobioreactor and thin layer cultivation systems[J]. Algal Research, 2019, 38: 101398.
 - [21] STUART R K, MAYALI X, LEE J Z, et al. Cyanobacterial reuse of extracellular organic carbon in microbial mats[J]. The ISME Journal, 2016, 10(5): 1240-1251.
 - [22] SENEVIRATNE G, INDRASENA I K. Nitrogen fixation in lichens is important for improved rock weathering[J]. Journal of Biosciences, 2006, 31(5): 639-643.
 - [23] ZUÑIGA C, LI C T, YU G, et al. Environmental stimuli drive a transition from cooperation to competition in synthetic phototrophic communities[J]. Nature Microbiology, 2019, 4(12): 2184-2191.
 - [24] KRATZL F, KREMLING A, PFLÜGER-GRAU K. Streamlining of a synthetic co-culture towards an individually controllable one-pot process for polyhydroxyalkanoate production from light and CO₂[J]. Engineering in Life Sciences, 2022, 23(1): e2100156.
 - [25] WEISS T L, YOUNG E J, DUCAT D C. A synthetic, light-driven consortium of cyanobacteria and heterotrophic bacteria enables stable polyhydroxybutyrate production[J]. Metabolic Engineering, 2017, 44: 236-245.
 - [26] ZHANG L, CHEN L, DIAO J J, 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 CO₂[J]. Biotechnology for Biofuels, 2020, 13: 82.
 - [27] WANG L, ZHANG X, TANG C W, et al. Engineering consortia by polymeric microbial swarmbots[J]. Nature Communications, 2022, 13(1): 3879.
 - [28] LI C F, WANG R Y, WANG J W, et al. A highly compatible phototrophic community for carbon-negative biosynthesis[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2023, 62(2): e202215013.
 - [29] ZHAO R Y, SENGUPTA A, TAN A X, et al. Photobiological production of high-value pigments *via* compartmentalized co-cultures using Ca-alginate hydrogels[J]. Scientific Reports, 2022, 12(1): 22163.
 - [30] SHU W S, HUANG L N. Microbial diversity in extreme environments[J]. Nature Reviews Microbiology, 2022, 20(4): 219-235.
 - [31] SCHIPPERS A, NERETIN L N, KALLMEYER J, et al. Prokaryotic cells of the deep sub-seafloor biosphere identified as living bacteria[J]. Nature, 2005, 433(7028): 861-864.
 - [32] CASTENHOLZ R W. The effect of sulfide on the blue-green algae of hot springs II. Yellowstone National Park[J]. Microbial Ecology, 1977, 3(2): 79-105.
 - [33] THOMAS D N, DIECKMANN G S. Antarctic Sea ice: a habitat for extremophiles[J]. Science, 2002, 295(5555): 641-644.
 - [34] XIONG Q, HU L X, LIU Y S, et al. Microalgae-based technology for antibiotics removal: from mechanisms to application of innovational hybrid systems[J]. Environment International, 2021, 155: 106594.
 - [35] KUMARI M, GHOSH P, SWATI, et al. Development of artificial consortia of microalgae and bacteria for efficient biodegradation and detoxification of lindane[J]. Bioresource Technology Reports, 2020, 10: 100415.
 - [36] MOHSENPOUR S F, HENNIGE S, WILLOUGHBY N, et al. Integrating micro-algae into wastewater treatment: a review[J]. Science of the Total Environment, 2021, 752: 142168.
 - [37] SANTOS C A, REIS A. Microalgal symbiosis in biotechnology [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2014, 98(13): 5839-5846.
 - [38] PARK Y, JE K W, LEE K, et al. Growth promotion of *Chlorella ellipsoidea* by co-inoculation with *Brevundimonas* sp. isolated from the microalga[J]. Hydrobiologia, 2008, 598(1): 219-228.
 - [39] BUCHAN A, LECLEIR G R, GULVIK C A, et al. Master recyclers: features and functions of bacteria associated with phytoplankton blooms[J]. Nature Reviews Microbiology, 2014, 12(10): 686-698.
 - [40] JAMES C C, BARTON A D, ALLEN L Z, et al. Influence of nutrient supply on plankton microbiome biodiversity and distribution in a coastal upwelling region[J]. Nature Communications, 2022, 13(1): 2448.
 - [41] SEYMOUR J R, AMIN S A, RAINA J B, et al. Zooming in on the phycosphere: the ecological interface for phytoplankton-

- bacteria relationships[J]. *Nature Microbiology*, 2017, 2: 17065.
- [42] MISHRA A, KAVITA K, JHA B. Characterization of extracellular polymeric substances produced by micro-algae *Dunaliella salina*[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2011, 83(2): 852-857.
- [43] VAN OOSTENDE N, MOERDIJK-POORTVLIET T C W, BOSCHER H T S, et al. Release of dissolved carbohydrates by *Emiliania huxleyi* and formation of transparent exopolymer particles depend on algal life cycle and bacterial activity[J]. *Environmental Microbiology*, 2013, 15(5): 1514-1531.
- [44] WICKER R J, DANESHVAR E, KUMAR GUPTA A, et al. Hybrid planktonic-biofilm cultivation of a Nordic mixed-species photosynthetic consortium: a pilot study on carbon capture and nutrient removal[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2023, 471: 144585.
- [45] COLE J J. Interactions between bacteria and algae in aquatic ecosystems[J]. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 1982, 13: 291-314.
- [46] ŽITNIK M, ŠUNTA U, GODIČ TORKAR K, et al. The study of interactions and removal efficiency of *Escherichia coli* in raw blackwater treated by microalgae *Chlorella vulgaris*[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2019, 238: 117865.
- [47] FOSTER R A, KUYPERS M M M, VAGNER T, et al. Nitrogen fixation and transfer in open ocean diatom-cyanobacterial symbioses[J]. *The ISME Journal*, 2011, 5(9): 1484-1493.
- [48] THOMPSON A W, FOSTER R A, KRUPKE A, et al. Unicellular cyanobacterium symbiotic with a single-celled eukaryotic alga[J]. *Science*, 2012, 337(6101): 1546-1550.
- [49] SYLVAN J B, DORTCH Q, NELSON D M, et al. Phosphorus limits phytoplankton growth on the Louisiana shelf during the period of hypoxia formation[J]. *Environmental Science & Technology*, 2006, 40(24): 7548-7553.
- [50] CARRIÓN O, LI C Y, PENG M, et al. DMSOP-cleaving enzymes are diverse and widely distributed in marine microorganisms[J]. *Nature Microbiology*, 2023, 8(12): 2326-2337.
- [51] BRINKHOFF T, BACH G, HEIDORN T, et al. Antibiotic production by a *Roseobacter clade*-affiliated species from the German Wadden Sea and its antagonistic effects on indigenous isolates[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(4): 2560-2565.
- [52] SEYEDSAYAMDOST M R, CARR G, KOLTER R, et al. Roseobacticides: small molecule modulators of an algal-bacterial symbiosis[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2011, 133(45): 18343-18349.
- [53] LIU H L, ZHOU Y Y, XIAO W J, et al. Shifting nutrient-mediated interactions between algae and bacteria in a microcosm: evidence from alkaline phosphatase assay[J]. *Microbiological Research*, 2012, 167(5): 292-298.
- [54] GURUNG T B, URABE J, NAKANISHI M. Regulation of the relationship between phytoplankton *Scenedesmus acutus* and heterotrophic bacteria by the balance of light and nutrients[J]. *Aquatic Microbial Ecology*, 1999, 17: 27-35.
- [55] LIU L, HALL G, CHAMPAGNE P. Effects of environmental factors on the disinfection performance of a wastewater stabilization pond operated in a temperate climate[J]. *Water*, 2015, 8(1): 5.
- [56] VASKER B, BEN-ZION M, KINEL-TAHAN Y, et al. Computerized optimization of microalgal photosynthesis and growth[J]. *Applied Phycology*, 2021, 2(1): 22-30.
- [57] CHO K H, WOLNY J, KASE J A, et al. Interactions of *E. coli* with algae and aquatic vegetation in natural waters[J]. *Water Research*, 2022, 209: 117952.
- [58] CROFT M T, LAWRENCE A D, RAUX-DEERY E, et al. Algae acquire vitamin B₁₂ through a symbiotic relationship with bacteria[J]. *Nature*, 2005, 438(7064): 90-93.
- [59] AMIN S A, GREEN D H, HART M C, et al. Photolysis of iron-siderophore chelates promotes bacterial-algal mutualism[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(40): 17071-17076.
- [60] TANG Y Z, KOCH F, GOBLER C J. Most harmful algal bloom species are vitamin B₁ and B₁₂ auxotrophs[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(48): 20756-20761.
- [61] DURHAM B P, SHARMA S, LUO H W, et al. Cryptic carbon and sulfur cycling between surface ocean plankton[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(2): 453-457.
- [62] PAERL R W, BOUGET F Y, LOZANO J C, et al. Use of plankton-derived vitamin B₁ precursors, especially thiazole-related precursor, by key marine picoeukaryotic phytoplankton [J]. *The ISME Journal*, 2017, 11(3): 753-765.
- [63] TORTELL P D, MALDONADO M T, GRANGER J, et al. Marine bacteria and biogeochemical cycling of iron in the oceans[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 1999, 29(1): 1-11.
- [64] YAO S, LYU S, AN Y, et al. Microalgae-bacteria symbiosis in microalgal growth and biofuel production: a review[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2019, 126(2): 359-368.
- [65] HOPKINSON B M, MOREL F M M. The role of siderophores in iron acquisition by photosynthetic marine microorganisms [J]. *BioMetals*, 2009, 22(4): 659-669.
- [66] RAINA J B, LAMBERT B S, PARKS D H, et al. Chemotaxis shapes the microscale organization of the ocean's microbiome [J]. *Nature*, 2022, 605(7908): 132-138.
- [67] CHEN S S, CHEN J, ZHANG L L, et al. Biophotoelectrochemical process co-driven by dead microalgae and live bacteria[J]. *The ISME Journal*, 2023, 17

- (5): 712-719.
- [68] MUKHERJEE S, BASSLER B L. Bacterial quorum sensing in complex and dynamically changing environments[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2019, 17(6): 371-382.
- [69] FEDERLE M J. Autoinducer-2-based chemical communication in bacteria: complexities of interspecies signaling[M/OL]// COLLIN M, SCHUCH R. *Contributions to microbiology: bacterial sensing and signaling*. Basel: Karger, 2009, 16: 18-32. <https://doi.org/10.1159/isbn.978-3-8055-9133-1>.
- [70] ZHOU J, LYU Y H, RICHLIN M, et al. Quorum sensing is a language of chemical signals and plays an ecological role in algal-bacterial interactions[J]. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2016, 35(2): 81-105.
- [71] JI X Y, JIANG M Q, ZHANG J B, et al. The interactions of algae-bacteria symbiotic system and its effects on nutrients removal from synthetic wastewater[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 247: 44-50.
- [72] ZHOU D D, ZHANG C F, FU L, et al. Responses of the microalga *Chlorophyta* sp. to bacterial quorum sensing molecules (N-acylhomoserine lactones): aromatic protein-induced self-aggregation[J]. *Environmental Science & Technology*, 2017, 51(6): 3490-3498.
- [73] PAPPENFORTH K, BASSLER B L. Quorum sensing signal-response systems in Gram-negative bacteria[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2016, 14(9): 576-588.
- [74] CHOI H, MASCUCH S J, VILLA F A, et al. Honaucins A-C, potent inhibitors of inflammation and bacterial quorum sensing: synthetic derivatives and structure-activity relationships[J]. *Chemistry & Biology*, 2012, 19(5): 589-598.
- [75] BORGES A, SIMÕES M. Quorum sensing inhibition by marine bacteria[J]. *Marine Drugs*, 2019, 17(7): 427.
- [76] ZHANG B, LI W, GUO Y, et al. Microalgal-bacterial consortia: from interspecies interactions to biotechnological applications[J]. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2020, 118: 109563.
- [77] KANAGASABHAPATHY M, YAMAZAKI G, ISHIDA A, et al. Presence of quorum-sensing inhibitor-like compounds from bacteria isolated from the brown alga *Colpomenia sinuosa*[J]. *Letters in Applied Microbiology*, 2009, 49(5): 573-579.
- [78] KOKARAKIS E J, RILLEMA R, DUCAT D C, et al. Developing cyanobacterial quorum sensing toolkits: toward interspecies coordination in mixed autotroph/heterotroph communities[J]. *ACS Synthetic Biology*, 2023, 12(1): 265-276.
- [79] RIQUELME C E, ISHIDA Y. Chemotaxis of bacteria to extracellular products of marine bloom algae[J]. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 1988, 34(5): 417-423.
- [80] LI X J, CAI F S, LUAN T G, et al. *Pyrene* metabolites by bacterium enhancing cell division of green alga *Selenastrum capricornutum*[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 689: 287-294.
- [81] ALLEN A E, DUPONT C L, OBORNÍK M, et al. Evolution and metabolic significance of the urea cycle in photosynthetic diatoms[J]. *Nature*, 2011, 473(7346): 203-207.
- [82] LI T T, LI C T, 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[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2017, 10: 55.
- [83] FEDESON D T, SAAKE P, CALERO P, et al. Biotransformation of 2,4-dinitrotoluene in a phototrophic co-culture of engineered *Synechococcus elongatus* and *Pseudomonas putida*[J]. *Microbial Biotechnology*, 2020, 13(4): 997-1011.
- [84] CUI Y X, RASUL F, JIANG Y, et al. Construction of an artificial consortium of *Escherichia coli* and cyanobacteria for clean indirect production of volatile platform hydrocarbons from CO₂[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 965968.
- [85] KRATZL F, URBAN M, PANDHAL J, et al. *Pseudomonas putida* as saviour for troubled *Synechococcus elongatus* in a synthetic co-culture - interaction studies based on a multi-OMICS approach[J]. *Communications Biology*, 2024, 7: 452.
- [86] 国陶红, 宋馨宇, 陈磊, 等. 人工微生物混菌系统机制解析中的组学应用及进展[J]. *生物工程学报*, 2022, 38(2): 460-477.
- GUO T H, SONG X Y, CHEN L, et al. Using OMICS technologies to analyze the mechanisms of synthetic microbial co-culture systems: a review[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2022, 38(2): 460-477.
- [87] LIU H, CAO Y J, GUO J, et al. Study on the isoprene-producing co-culture system of *Synechococcus elongates- Escherichia coli* through omics analysis[J]. *Microbial Cell Factories*, 2021, 20(1): 6.
- [88] NAIR S, ZHANG Z H, LI H M, et al. Inherent tendency of *Synechococcus* and heterotrophic bacteria for mutualism on long-term coexistence despite environmental interference[J]. *Science Advances*, 2022, 8(39): eabf4792.
- [89] ZHANG Z H, NAIR S, TANG L L, et al. Long-term survival of *Synechococcus* and heterotrophic bacteria without external nutrient supply after changes in their relationship from antagonism to mutualism[J]. *mBio*, 2021, 12(4): e0161421.
- [90] MA J J, GUO T H, REN M J, et al. Cross-feeding between cyanobacterium *Synechococcus* and *Escherichia coli* in an artificial autotrophic-heterotrophic coculture system revealed by integrated omics analysis[J]. *Biotechnology for Biofuels and Bioproducts*, 2022, 15(1): 69.
- [91] LIU H, XIAN M, CAO Y J, et al. Omics integration for in-depth understanding of the low-carbon co-culture platform system of *Chlorella vulgaris-Escherichia coli*[J]. *Algal Research*, 2023, 75: 103252.

- [92] BECKER S A, FEIST A M, MO M L, et al. Quantitative prediction of cellular metabolism with constraint-based models: the COBRA Toolbox[J]. *Nature Protocols*, 2007, 2(3): 727-738.
- [93] KUMAR M, JI B Y, ZENGLER K, et al. Modelling approaches for studying the microbiome[J]. *Nature Microbiology*, 2019, 4(8): 1253-1267.
- [94] ANTONAKOUDIS A, BARBOSA R, KOTIDIS P, et al. The era of big data: genome-scale modelling meets machine learning[J]. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 2020, 18: 3287-3300.
- [95] CHIU H C, LEVY R, BORENSTEIN E. Emergent biosynthetic capacity in simple microbial communities[J]. *PLoS Computational Biology*, 2014, 10(7): e1003695.
- [96] ZUÑIGA C, LI T T, GUARNIERI M T, et al. Synthetic microbial communities of heterotrophs and phototrophs facilitate sustainable growth[J]. *Nature Communications*, 2020, 11(1): 3803.
- [97] LLOYD C J, KING Z A, SANDBERG T E, et al. The genetic basis for adaptation of model-designed syntrophic co-cultures[J]. *PLoS Computational Biology*, 2019, 15(3): e1006213.
- [98] GARCÍA-JIMÉNEZ B, GARCÍA J L, NOGALES J. FLYCOP: metabolic modeling-based analysis and engineering microbial communities[J]. *Bioinformatics*, 2018, 34(17): i954-i963.
- [99] THOMMES M, WANG T Y, ZHAO Q, et al. Designing metabolic division of labor in microbial communities[J]. *mSystems*, 2019, 4(2): e00263-18.
- [100] KARKARIA B D, FEDOREC A J H, BARNES C P. Automated design of synthetic microbial communities[J]. *Nature Communications*, 2021, 12(1): 672.
- [101] SAKKOS J K, SANTOS-MERINO M, KOKARAKIS E J, et al. Predicting partner fitness based on spatial structuring in a light-driven microbial community[J]. *PLoS Computational Biology*, 2023, 19(5): e1011045.
- [102] DUCAT D C, AVELAR-RIVAS J A, WAY J C, et al. Rerouting carbon flux to enhance photosynthetic productivity[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(8): 2660-2668.
- [103] SMITH M J, FRANCIS M B. A designed *A. vinelandii*-*S. elongatus* coculture for chemical photoproduction from air, water, phosphate, and trace metals[J]. *ACS Synthetic Biology*, 2016, 5(9): 955-961.
- [104] LÖWE H, HOBMEIER K, MOOS M, et al. Photoautotrophic production of polyhydroxyalkanoates in a synthetic mixed culture of *Synechococcus elongatus cscB* and *Pseudomonas putida cscAB*[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2017, 10: 190.
- [105] HAYS S G, YAN L L W, SILVER P A, et al. Synthetic photosynthetic consortia define interactions leading to robustness and photoproduction[J]. *Journal of Biological Engineering*, 2017, 11: 4.
- [106] LIN T Y, WEN R C, SHEN C R, et al. Biotransformation of 5-hydroxymethylfurfural to 2,5-furandicarboxylic acid by a syntrophic consortium of engineered *Synechococcus elongatus* and *Pseudomonas putida*[J]. *Biotechnology Journal*, 2020, 15(6): e1900357.
- [107] FENG J, LI J W, LIU D X, et al. Generation and comprehensive analysis of *Synechococcus elongatus*-*Aspergillus nidulans* co-culture system for polyketide production[J]. *Biotechnology for Biofuels and Bioproducts*, 2023, 16(1): 32.
- [108] SINGH A K, DUCAT D C. Generation of stable, light-driven co-cultures of cyanobacteria with heterotrophic microbes[M/OL]//ZURBRIGGEN M D. *Methods in molecular biology: plant synthetic biology*. New York: Humana, 2022, 2379: 277-291[2023-12-01]. https://link.springer.com/protocol/10.1007/978-1-0716-1791-5_16.
- [109] CHRISTIE-OLEZA J A, SOUSONI D, LLOYD M, et al. Nutrient recycling facilitates long-term stability of marine microbial phototroph-heterotroph interactions[J]. *Nature Microbiology*, 2017, 2: 17100.
- [110] BELIAEV A S, ROMINE M F, SERRES M, et al. Inference of interactions in cyanobacterial-heterotrophic co-cultures via transcriptome sequencing[J]. *The ISME Journal*, 2014, 8(11): 2243-2255.
- [111] HILL E A, CHRISLER W B, BELIAEV A S, et al. A flexible microbial co-culture platform for simultaneous utilization of methane and carbon dioxide from gas feedstocks[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 228: 250-256.
- [112] BERNSTEIN H C, MCCLURE R S, THIEL V, et al. Indirect interspecies regulation: transcriptional and physiological responses of a *Cyanobacterium* to heterotrophic partnership[J]. *mSystems*, 2017, 2(2): e00181-16.
- [113] JIANG L Q, LI T T, JENKINS J, et al. Evidence for a mutualistic relationship between the cyanobacteria *Nostoc* and fungi *Aspergilli* in different environments[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2020, 104(14): 6413-6426.
- [114] LI T T, JIANG L Q, HU Y F, et al. Creating a synthetic lichen: mutualistic co-culture of fungi and extracellular polysaccharide-secreting cyanobacterium *Nostoc* PCC 7413[J]. *Algal Research*, 2020, 45: 101755.
- [115] TORIBIO A J, SUÁREZ-ESTRELLA F, JURADO M M, et al. Design and validation of cyanobacteria-rhizobacteria consortia for tomato seedlings growth promotion[J]. *Scientific Reports*, 2022, 12(1): 13150.
- [116] WU L, QUAN L H, DENG Z K, et al. Performance of a biocrust cyanobacteria-indigenous bacteria (BCIB) co-culture system for nutrient capture and transfer in municipal wastewater[J]. *The Science of the Total Environment*, 2023, 888: 164236.

- [117] MOHAMMED AL NUAIMI M, JAVED M A, EL-TARABILY K A, et al. Biohydrogen production of a halophytic cyanobacteria *Phormidium keutzingium* and activated sludge co-culture using different carbon substrates and saline concentrations[J]. *Energy Conversion and Management*: X, 2023, 20: 100487.
- [118] PERERA I A, ABINANDAN S, PANNEERSELVAN L, et al. Co-culturing of microalgae and bacteria in real wastewaters alters indigenous bacterial communities enhancing effluent bioremediation[J]. *Algal Research*, 2022, 64: 102705.
- [119] GAO H, WANG H X, ZHANG Y Q, et al. Design and optimization of artificial light-driven microbial consortia for the sustainable growth and biosynthesis of 2-phenylethanol[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2023, 466: 143050.
- [120] RUFFING A M, KALLAS T. Editorial: cyanobacteria: the green *E. coli*[J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2016, 4: 7.
- [121] HU Q, SOMMERFELD M, JARVIS E, et al. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances[J]. *The Plant Journal*, 2008, 54(4): 621-639.
- [122] LIN P C, ZHANG F Z, PAKRASI H B. Enhanced production of sucrose in the fast-growing cyanobacterium *Synechococcus elongatus* UTEX 2973[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): 390.
- [123] YU J J, LIBERTON M, CLIFTEN P F, et al. *Synechococcus elongatus* UTEX 2973, a fast growing cyanobacterial chassis for biosynthesis using light and CO₂ [J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 8132.
- [124] LI S B, SUN T, XU C X, et al. Development and optimization of genetic toolboxes for a fast-growing cyanobacterium *Synechococcus elongatus* UTEX 2973[J]. *Metabolic Engineering*, 2018, 48: 163-174.
- [125] TAN X M, HOU S W, SONG K, et al. The primary transcriptome of the fast-growing *Cyanobacterium Synechococcus elongatus* UTEX 2973[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2018, 11: 218.
- [126] LÖWE H, SCHMAUDER L, HOBMEIER K, et al. Metabolic engineering to expand the substrate spectrum of *Pseudomonas putida* toward sucrose[J]. *MicrobiologyOpen*, 2017, 6(4): e00473.
- [127] LIU J Z, WU Y H, WU C X, et al. Advanced nutrient removal from surface water by a consortium of attached microalgae and bacteria: a review[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 241: 1127-1137.
- [128] YU W, ZENG Y, WANG Z H, et al. Solar-powered multi-organism symbiont mimic system for beyond natural synthesis of polypeptides from CO₂ and N₂[J]. *Science Advances*, 2023, 9 (11): ead6772.
- [129] ALNAHHAS R N, SADEGHPOUR M, CHEN Y, et al. Majority sensing in synthetic microbial consortia[J]. *Nature Communications*, 2020, 11(1): 3659.
- [130] KONG W T, MELDGIN D R, COLLINS J J, et al. Designing microbial consortia with defined social interactions[J]. *Nature Chemical Biology*, 2018, 14(8): 821-829.
- [131] KYLILIS N, TUZA Z A, STAN G B, et al. Tools for engineering coordinated system behaviour in synthetic microbial consortia[J]. *Nature Communications*, 2018, 9(1): 2677.
- [132] KIM J K, CHEN Y, HIRNING A J, et al. Long-range temporal coordination of gene expression in synthetic microbial consortia[J]. *Nature Chemical Biology*, 2019, 15(11): 1102-1109.
- [133] ROELL G W, ZHA J, CARR R R, et al. Engineering microbial consortia by division of labor[J]. *Microbial Cell Factories*, 2019, 18(1): 35.
- [134] LI Z H, WANG X N, ZHANG H R. Balancing the non-linear rosmarinic acid biosynthetic pathway by modular co-culture engineering[J]. *Metabolic Engineering*, 2019, 54: 1-11.
- [135] WANG X, LIU W, XIN C P, et al. Enhanced limonene production in cyanobacteria reveals photosynthesis limitations [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2016, 113(50): 14225-14230.
- [136] RICHARDSON K N, BLACK W B, LI H. Aldehyde production in crude lysate- and whole cell-based biotransformation using a noncanonical redox cofactor system [J]. *ACS Catalysis*, 2020, 10(15): 8898-8903.
- [137] LI C F, YIN L J, WANG J W, et al. Light-driven biosynthesis of volatile, unstable and photosensitive chemicals from CO₂[J]. *Nature Synthesis*, 2023, 2: 960-971.
- [138] WANG H, ZHANG W, CHEN L, et al. The contamination and control of biological pollutants in mass cultivation of microalgae[J]. *Bioresource Technology*, 2013, 128: 745-750.
- [139] FUCHS G. Alternative pathways of carbon dioxide fixation: insights into the early evolution of life?[J]. *Annual Review of Microbiology*, 2011, 65: 631-658.
- [140] KUMAR M, SUNDARAM S, GNANSOUNOU E, et al. Carbon dioxide capture, storage and production of biofuel and biomaterials by bacteria: a review[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 247: 1059-1068.
- [141] WŁODARCZYK A, SELÃO T T, NORLING B, et al. Newly discovered *Synechococcus* sp. PCC 11901 is a robust cyanobacterial strain for high biomass production[J]. *Communications Biology*, 2020, 3(1): 215.
- [142] ZHANG S S, SUN J H, FENG D D, et al. Unlocking the potentials of cyanobacterial photosynthesis for directly converting carbon dioxide into glucose[J]. *Nature Communications*, 2023, 14(1): 3425.
- [143] ZHU Z, JIANG J H, FA Y. Overcoming the biological

- contamination in microalgae and cyanobacteria mass cultivations for photosynthetic biofuel production[J]. *Molecules*, 2020, 25(22): 5220.
- [144] FON SING S, ISDEPSKY A, BOROWITZKA M A, et al. Pilot-scale continuous recycling of growth medium for the mass culture of a halotolerant *Tetraselmis* sp. in raceway ponds under increasing salinity: a novel protocol for commercial microalgal biomass production[J]. *Bioresource Technology*, 2014, 161: 47-54.
- [145] BACELLAR MENDES L B, VERMELHO A B. Allelopathy as a potential strategy to improve microalgae cultivation[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2013, 6(1): 152.
- [146] SINGH J S, KUMAR A, RAI A N, et al. Cyanobacteria: a precious bio-resource in agriculture, ecosystem, and environmental sustainability[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 529.
- [147] SELÃO T T, WŁODARCZYK A, NIXON P J, et al. Growth and selection of the cyanobacterium *Synechococcus* sp. PCC 7002 using alternative nitrogen and phosphorus sources[J]. *Metabolic Engineering*, 2019, 54: 255-263.
- [148] GIFUNI I, POLLIO A, SAFI C, et al. Current bottlenecks and challenges of the microalgal biorefinery[J]. *Trends in Biotechnology*, 2019, 37(3): 242-252.
- [149] HOBISCH M, SPASIC J, MALIHAN-YAP L, et al. Internal illumination to overcome the cell density limitation in the scale-up of whole-cell photobiocatalysis[J]. *ChemSusChem*, 2021, 14(15): 3219-3225.
- [150] PRABHA S, VIJAY A K, PAUL R R, et al. Cyanobacterial biorefinery: towards economic feasibility through the maximum valorization of biomass[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 814: 152795.
- [151] JODLBAUER J, ROHR T, SPADIUT O, et al. Biocatalysis in green and blue: cyanobacteria[J]. *Trends in Biotechnology*, 2021, 39(9): 875-889.
- [152] LIN Y L, SHI J Y, FENG W, et al. Periplasmic biomineralization for semi-artificial photosynthesis[J]. *Science Advances*, 2023, 9(29): eadg5858.
- [153] PI S S, YANG W J, FENG W, et al. Solar-driven waste-to-chemical conversion by wastewater-derived semiconductor biohybrids[J]. *Nature Sustainability*, 2023, 6: 1673-1684.
- [154] HU Q S, HU H T, CUI L, et al. Ultrafast electron transfer in Au-cyanobacteria hybrid for solar to chemical production[J]. *ACS Energy Letters*, 2023, 8(1): 677-684.
- [155] LIANG J, CHEN Z, YIN P Q, et al. Efficient semi-artificial photosynthesis of ethylene by a self-assembled InP-cyanobacterial biohybrid system[J]. *ChemSusChem*, 2023, 16(20): e202300773.



通讯作者：倪俊(1987—)，男，副教授，博士生导师。研究方向为合成生物学；人工光合群落；多酶级联组装；负碳生物合成等。

E-mail: tearroad@sjtu.edu.cn



第一作者：郑皓天(2000—)，男，硕士研究生。研究方向为人工光合群落和光合细胞工厂的设计与优化。

E-mail: zhenghtjames@sjtu.edu.cn