

基于合成生物学的米尔贝霉素高产菌株构建

李建宋¹ 李亚² 龚顺泽¹ 张明涛¹

1. 台州职业技术学院医学与制药工程学院 浙江省台州市 318000

2. 浙江海正药业股份有限公司 浙江省台州市 318000

摘要: 合成生物学给米尔贝霉素高产菌株创建带来新机遇。通过对基因编辑, 代谢调控等技术加以运用, 探究这些技术在米尔贝霉素高产菌株创建中的应用意义、现状以及策略。论述不同策略下的理论依据和实际案例结合状况, 体现合成生物学助力米尔贝霉素高产菌株创建的潜力, 给相关产业发展给予理论参照和实际操作方向引导。

关键词: 合成生物学; 米尔贝霉素; 高产菌株; 基因编辑

引言:

米尔贝霉素属于大环内酯类化合物, 具备重要的生物活性。在农业和畜牧业中有重要作用, 米尔贝霉素有着很强的驱虫活性, 可以有效地防止多种寄生虫病害, 保证农作物健康成长、畜禽健康养殖。传统的米尔贝霉素生产方式存在着产量低, 成本高等问题, 制约了它的广泛应用, 合成生物学是一门新兴学科, 它融合了工程学, 生物学等多学科知识, 给米尔贝霉素高产菌株创建赋予了新的思路和办法。利用合成生物学手段, 有望冲破传统生产瓶颈, 做到米尔贝霉素的高效生产, 符合市场不断增长的需求。

1. 基于合成生物学的米尔贝霉素高产菌株构建的意义

1.1 提升生产效率

现代工业生产中, 提升生产效率是削减成本, 优化产品竞争力的关键。就米尔贝霉素生产而言, 创建高产菌株, 能明显缩减生产周期, 加大单位时间内产量, 也就是说, 在同样的生产设备和资源投入下, 会得到更多产品, 进而改善企业的经济效益^[1]。

1.2 削减生产成本

传统的米尔贝霉素生产过程常常要耗费大量原材料和能源, 而且因为产量有限, 分摊到每单位产品上的成本就比较高。通过创建高产菌株, 一方面可以削减原材料的消耗, 另一方面也能削减能源的损耗, 从而有效地削减生产成本, 使得产品在市场上具有价格优势。

1.3 推进产业升级

合成生物学技术在米尔贝霉素高产菌株构建中的应用。这是生物技术领域前沿的方向, 有益于改进米尔贝霉素生产

行业的技术水平, 而且能够带动相关上下游产业的发展, 促使整个产业结构的改良升级, 朝向绿色, 高效, 可持续的方向迈进^[2]。

2. 基于合成生物学的米尔贝霉素高产菌株构建的现状

2.1 传统生产方式的局限

当下, 米尔贝霉素的传统生产大多依靠野生型菌株发酵。不过野生型菌株的产量比较低, 不能满足日益增长的市场需求, 而且传统发酵会受到环境因素的影响, 生产稳定程度差, 造成产品质量波动, 从而制约了其大规模的工业化生产。

2.2 现有研究的进展

近些年来, 伴随着生物技术的不断发展, 有关米尔贝霉素高产菌株构建的研究已有所进展。一些研究试图利用诱变育种等传统手段提升菌株产量, 但成效不大, 基因工程技术也开始介入, 对米尔贝霉素生物合成途径中的重要基因展开改造和调节, 收获了一些成果^[3]。

2.3 创建面临的挑战

不过, 当前米尔贝霉素高产菌株的创建还碰上不少难题。比如米尔贝霉素生物合成途径的繁杂调控机制尚不清楚, 这就造成在基因编辑和代谢调控时很难精确操作。而且, 创建起来的高产菌株在遗传稳定性上存有毛病, 很容易出现产量退化现象, 这妨碍了它们的实际应用。

3. 基于合成生物学的米尔贝霉素高产菌株构建的策略

3.1 基因编辑改良生物合成途径

基因编辑技术属于合成生物学范畴里的一项重要工具, 它给科研人员提供了对生物体基因组实施精确控制的能力, 可以在指定的基因位点做到准确的敲除, 添加或者替换碱基

等操作,进而对目标基因的结构和功能展开定向修改。在米尔贝霉素的生物合成进程中,要想要深入剖析米尔贝霉素复杂的生物合成路径,这是十分关键的前提条件。通过系统生物学,代谢组学这些技术手段的应用,已经确定不少与米尔贝霉素合成有关的关键基因。这些关键基因编码的酶在合成途径中催化特定的化学反应,决定了代谢流的走向和米尔贝霉素的合成效率,采用基因编辑技术对这些关键基因进行针对性优化改造,可以提高关键基因的表达水平,增加其编码酶的活性和丰度,加快合成反应的进行。也可以对基因的调控序列进行修饰,精细调控基因的表达模式,使得代谢流更合理地分配,让更多的代谢中间产物流向米尔贝霉素的合成方向,从而达到提高产量的目的^[4]。

以“基因操作基本技术”作为理论根基。在前沿的研究项目里,科研人员针对米尔贝霉素生物合成途径实施了详细的分子生物学分析,他们发觉到有一个编码关键限速酶的基因,其启动子区域的活性比较低,使得这个基因在细胞内部的表达程度不高,进而影响到了米尔贝霉素的合成速度。通过精准的基因编辑操作,对启动子区域的一些关键碱基序列展开改进改造,提升了启动子同 RNA 聚合酶等转录因子之间的亲和力,从而明显改善该基因的转录起始频率。这样的成功例子很好地表现出基因编辑技术在精确改良米尔贝霉素生物合成途径上的强大力量,给后面创建高产菌株给予了珍贵的操作经验与技术范例。

3.2 代谢网络全局调控

细胞内代谢网络是一个非常复杂又相互关联的动态系统,就像一张精心编织的“生命之网”。各个代谢途径并不是独立存在的,它们之间通过共享中间代谢产物、能量传递以及复杂的调控机制相互联系、协同工作。在米尔贝霉素的生物合成过程中,如果只是简单地优化单个基因或者代谢途径,往往很难使产量大幅度提高。因为局部的改变可能会引起整个代谢网络的连锁反应,造成代谢失衡,所以需要从系统生物学的角度出发,对整个代谢网络实施全局调控,利用代谢通量分析、基因表达调控网络解析等技术手段,全面掌握细胞内代谢物流动规律及基因表达动态变化情况,找出代谢网络中的关键节点和瓶颈步骤。针对上述关键节点和瓶颈步骤,利用基因工程、蛋白质工程等多种手段,对相关基因的表达量、酶的活性以及不同代谢途径之间相互影响等进行调整,从而实现整个代谢网络的优化。通过对各代谢途径之

间关系的协调,保证米尔贝霉素生物合成所需的各种前体物质、能量和还原力能够得到充足的供应,并且保持平衡状态,防止出现代谢中间产物过度堆积或者不足的情况发生,为米尔贝霉素高效合成提供良好的代谢条件。

在一次开创性的研究工作中,科研人员选取了大肠杆菌作为底盘细胞,努力去创建一种可以高效生产米尔贝霉素的工程菌株,先用先进的代谢通量分析技术,再加上稳定同位素标记实验和核磁共振等分析手段。对大肠杆菌已有的代谢网络执行全面又细致的定量分析,从而绘制出详细的代谢通量图谱,经过深入的数据挖掘以及模型分析,找出了一些和米尔贝霉素合成密切相关的代谢节点,这些节点就像是代谢网络中的“交通枢纽”,对代谢流的分配有着决定性的影响。对于这些关键节点,研究小组利用基因工程技术执行精准调节,通过基因过表达技术提升有关前体物质合成途径的基因表现量,从而加强前体物质的合成水平,历经很多次细致的改良以及严苛的筛选之后,他们顺利塑造起一株具备高程度改良代谢网络的工程菌。

3.3 外源基因引入增强合成能力

自然界里存在众多不同的生物资源,各种各样的生物经过漫长的进化历程发展出了各自的代谢路径与生理机能。有些生物体内也许含有编码某种特别酶或是调节蛋白的基因。这样的基因所表达出来的产物具备特殊的催化性能或者调控作用,把这类外来的基因加入到米尔贝霉素的生产菌株当中,或许可以给米尔贝霉素的生物合成途径增添新的生机和功能,外来的基因所编码出的酶也许有着更高的催化速率,更大的底物选择范围或者独一无二的催化机理,它们能催化米尔贝霉素生物合成过程中的关键反应,亦或是开辟新的代谢分支线路。避开原本存在的代谢障碍环节,进而给米尔贝霉素的合成供应更多的前体物质或者更为有效的合成途径。

在一项前沿探索性研究当中,科研人员一直在努力从不同生态环境的微生物群落里寻找有潜力的基因资源。以此来改进米尔贝霉素的合成能力,经过大量筛选并加以功能检验,他们在一种生长于极端环境中的特别微生物体内找到一个同米尔贝霉素合成前体物质合成紧密关联的基因。这个基因所编码的酶具备与众不同的催化活性,可以利用一种在平常微生物代谢过程中不太被采用的底物,高效地合成米尔贝霉素生物合成所需的前体物质。研究人员采用基因克隆与表达载体构建技术,把外源基因有效地植入米尔贝霉素生产菌

株之中,经过改良表达条件,使得该基因能在生产菌株里稳定而高效地表现出来,在之后的发酵实验当中,带有外源基因的菌株表现出明显的合成能力加强现象,这个成功的例子清楚显示了采用引入外源基因策略在提升米尔贝霉素合成能力上的可行性和有效性,给日后拓展米尔贝霉素生物合成途径并改进产量给予了新的思路和办法。

结论

合成生物学给米尔贝霉素高产菌株创建带来了宽广前景。通过基因编辑改良生物合成途径,代谢网络全局调控,引进外源基因加强合成能力,塑造细胞工厂以完成高效合成等办法,在理论和实际层面均收获了积极成果。不过,当前依然碰上不少难题,可是,合成生物学技术持续发展并完善,将来大概会创建出更为高效,更为稳定的米尔贝霉素高产菌株,从而推动米尔贝霉素产业蓬勃生长,为农业和畜牧业的健康发展给予有力支撑。

参考文献:

[1] 焦国慧,陈静瑜.基因编辑异种器官移植技术的发展及趋势思考[J/OL].中国医学前沿杂志(电子版),2025,(04):1-6[2025-05-10].

[2] 张莉,米贯东,戴梦,等.ATP 诱变及高通量筛选选育米尔贝霉素高产菌株[J].中国兽药杂志,2025,59(03):25-33.

[3] 祝亚杰,王佳彬,李珊珊,等.全局调控子 MtrAsbh 影响米尔贝霉素生物合成的研究[J].中国生物防治学报,2023,39(05):1083-1093.

[4] 陈德刚,张萍,丁亚莲,等.利用原生质体融合选育米尔贝霉素高产菌株[J].生物资源,2022,44(03):316-321.

作者简介:

李建宋(1987.11),男,汉,浙江台州人,博士,台州职业技术学院学院 副教授,主要研究方向为微生物药物。

李亚(1988.04),女,汉,浙江台州,学士,浙江海正药业股份有限公司 工程师,主要研究方向为药学。

龚顺泽(1992.06),男,汉,江苏常州人,硕士,台州职业技术学院 副教授,主要研究方向为绿色化学。

张明涛(1988.02),男,汉,浙江台州人,硕士,台州职业技术学院医学与制药工程学院 副教授,主要研究方向为医化设备高效率控制设计与开发。

基金项目:台州市科技计划项目(23gya10),米尔贝霉素高产菌株的构建及组合生物合成新阿维菌素