

## 生物制造研究进展\*

# Recent Advances in Biological Manufacturing

欧阳平凯\*\*,冯 娇,许 晟,王 昕,陈可泉

OUYANG Pingkai,FENG Jiao,XU Sheng,WANG Xin,CHEN Kequan

(南京工业大学生物与制药工程学院,江苏南京 211816)

(College of Biotechnology and Pharmaceutical Engineering,Nanjing University of Technology,  
Nanjing,Jiangsu,211816,China)

**摘要:**近年来,生物制造(Biological Manufacturing)已成为社会可持续发展的重要途径。合成生物学等生物技术的飞速发展大大提高了生物质原料的利用效率,改善了人工合成生物催化剂性能,为生物制造在医药、材料及燃料化学品领域的应用奠定了良好的基础。本文从医药、材料、燃料化学品方面介绍生物技术的进步给生物制造带来的变革,并对合成生物学在生物制造领域的应用进行展望。

**关键词:**生物制造 合成生物学 医药 材料 燃料化学品

中图分类号:Q81 文献标识码:A 文章编号:1005-9164(2016)02-0097-05

**Abstract:** Recently, the biological manufacturing has become an important way for the sustainable social development. With the rapid development of biological technology such as synthetic biology, it can greatly improve the efficiency of biomass utilization and the performance of the biological catalyst or build synthetic approaches. It has a good foundation for biological applications in the field of medicine, materials and fuel chemicals. This paper briefly reviewed the contribution of synthetic biology in the biological manufacturing, including medicine, materials and fuel chemicals. Moreover, it gave a prospection on the future development.

**Key words:** biological manufacturing, synthetic biology, medicine, materials, fuel chemicals

DOI:10.13656/j.cnki.gxkx.2016.02.001

## 0 引言

当前,全球生物经济已进入快速成长期,生物制造(Biological Manufacturing)正受到世界各国的广泛关注 and 高度重视。通过生物制造生产医药、材料及燃料化学品已经取得显著成绩。长期以来,化石资源是支持社会经济发展的重要因素,而其带来的资源不可再生和环境污染等问题却制约着经济和社会的

可持续发展。生物制造不仅可以避免传统化工制造对石油、煤炭等不可再生资源的依赖以及其在制造过程中带来的环境污染问题,同时还可以通过生物催化大大降低原料成本、水和能量消耗量,减少污染物排放。生物制造可谓是解决人类社会可持续发展瓶颈的有效手段,其中生物技术的突破是带动生物制造不断发展的核心因素。合成生物学是新兴的多学科技术和方法交叉的学科,是工程学与生物科学发展到现阶段的产物,它可以突破自然进化的限制,改造和优化现有自然生物体系,甚至从头合成创建具有特定功能的人工生命体,实现人工生命体在生物制造领域的应用,克服传统化工制造高耗能、高污染的特性,生产传统化工制造难以高效制造或者产量极低的产品,为生物制造注入新的活力。

收稿日期:2016-04-11

作者简介:欧阳平凯(1945—),男,教授,主要从事生物化工相关领域的研究。

\* 广西科技重大专项项目(桂科重 1598004-4)资助。

\*\* 通讯作者:E-mail:ouyangpk@njtech.edu.cn.

## 1 生物制造概述

随着现代工业的不断发展,日益紧张的化石资源和日益加剧的环境污染迫切需要传统化工制造模式的革新。生物制造具有低碳循环、绿色清洁等典型特征,可以突破传统化学制造的理念和原理,为我国的可持续发展提供关键的革新技术。

生物制造是以生物体机能进行大规模物质加工与物质转化、为社会发展提供工业商品的新行业,是以微生物细胞或酶蛋白为催化剂进行化学品合成、或以生物质为原料转化合成医药、材料和能源化学品,促使其脱离石油化学工业路线的新模式,主要表现为先进发酵工程、现代酶工程、生物炼制、生物过程工程等新技术的发明与应用<sup>[1]</sup>。

现如今,全球生物经济处于快速发展时期,生物制造已经在生产中大显身手。据估计,目前生物制造已用于超过 300 个工业生产过程,大部分为氨基酸、维生素、有机酸、医药中间体的生产。如辛伐他丁是一种有效治疗高胆固醇的药物,加利福尼亚州大学 Tang 教授研发了一种使用工程酶和低成本原料合成辛伐他丁的工艺,随后 Codexis 公司对其进行优化。这项新工艺使得 Tang 教授和 Codexis 公司获得 2012 年美国绿色化学挑战的合成路线奖<sup>[2]</sup>。

经济合作与发展组织(OECD)提出:“生物催化是工业可持续发展最有希望的技术。”生物制造的实质是以生物催化剂来代替化学催化剂的工艺路线。随着生物技术的发展,生物催化剂从自然进化的缓慢改变过程到农业育种时期的加速进化,到现在对分子生物学、基因工程、转录组学、蛋白组学等学科技术与理论不断成熟,生物催化剂的改造进入极快进化的时代。近年来,随着合成生物学研究的不断深入,生物催化剂开始新的变革。

## 2 合成生物学在生物制造领域的应用

合成生物学是新兴的多学科技术和方法交叉的学科。合成生物学以生命科学为基础,结合工程学的模块化概念和系统设计理论,在人工合成 DNA 的基础上,进行合理而系统的设计创建元件、器件或模块,通过生物学改造和优化现有生物体,甚至从头构建和组装合成人工生命体<sup>[3]</sup>。其基本目标是设计并合成人工生命体,解决医药、农业、工业现在与未来的问题。

合成生物学已经在医药、材料和燃料化学品等生物制造领域有突出表现。到 2025 年,合成生物学将会对药物、生物燃料等产业产生深远影响,产生约

0.7 万亿~1.6 万亿美元的经济效益<sup>[4]</sup>。

### 2.1 医药生物制造

我国作为全球第三大医药市场,对医药的需求越来越大,生产技术作为医药制造产业的关键因素,在不断发展、革新。生物制造为医药产业的技术带来新一轮的创新和提高。

生物制造在医药产业中的应用已有很多例子,其中最典型的莫过于 Keasling 小组在人工细胞中合成抗疟疾药物青蒿素的工作。Martin 等<sup>[5]</sup>和 Ro 等<sup>[6]</sup>利用合成生物学的工具,先后在大肠杆菌和酵母中设计出其本身不存在的青蒿素前体——青蒿酸的合成途径,从而可以完全不受自然条件控制,将每一个细胞当作微生物制药工厂,摆脱自然条件和高成本的生产过程的限制,这不仅将青蒿酸的生产能力提高了 100 万倍,而且将其药物的成本从每剂量 10 美元降为低于 1 美元。此外,Stephanopoulos 小组<sup>[7]</sup>于 2010 年在大肠杆菌中将其自身的异戊烯焦磷酸酯(IPP)合成途径和异源的紫衫醇前体——紫衫二烯合成途径这两个模块的通路,通过质粒拷贝数和启动子强度的改变进行微调组合,使紫衫二烯的产量提高到 1 020 mg/L。2014 年,张学礼课题组<sup>[8]</sup>利用代谢工程技术构建了能同时合成齐墩果酸、原人参二醇和原人参三醇 3 种人参基本皂苷元的第一代“人参酵母”。2015 年,用酵母合成阿片类药物被美国 Science 杂志评选为 10 大科学突破之一。斯坦福大学合成生物学家 Christina Smolke 及其同事通过改造酵母菌,一共表达来源于不用物种的 21 个基因,使其成功地将其糖转化为蒂巴因,蒂巴因是吗啡等止痛药的前体,而这种药物的生产依赖于罂粟的种植,该通路进一步扩展表达两种酶后可生产氢可酮——一种由蒂巴因化学合成的止痛药<sup>[9]</sup>。

随着合成生物学研究的逐渐深入,合成生物学也必将不断促进整个医药领域的发展。

### 2.2 材料生物制造

材料的开发是生物制造的一项重要内容,它是以可再生的生物质资源为原料,利用微生物细胞或酶的催化功能来生产多种高附加值平台化合物,这些化合物可经进一步加工或者直接使用来生产多种高附加值化工产品。2011 年生物基材料的市场大约为 120 万 t,预计 2016 年将增长 5 倍,达到 600 万 t,到 2020 年生物基材料占材料市场份额将从 2011 年的 1.5% 提高到 3%,而合成生物学技术的发展将带动生物基材料的革新。

生物基聚合单体是合成生物基材料的前体物质。如乳酸是自然界最小的手性分子,广泛存在的羟基

酸,是聚乳酸(PLA)合成的原料之一,其D型和L型的组成和含量直接影响PLA的物理性质和降解性能。一般化学法合成的乳酸是消旋的DL-乳酸,无法满足聚乳酸合成需要的极高化学纯度和较高光学纯度的乳酸单体,Zhu等<sup>[10]</sup>将经过*aceEF*、*pfl*、*poxB*、*pps*突变,同时敲除*frdABCD*基因的重组菌株*E. coli* ALS974经两阶段发酵后,利用葡萄糖产生138 g/L乳酸,转化率达97%。乙二醇是一种重要的基本有机原料,可用于生产聚对苯二甲酸乙二醇酯(PET)、聚乙二醇(PEG)等,用途广泛。相较于传统的石油化工生产工艺,利用生物质发酵制备可降低原料成本,工艺路线也较灵活。刘颖<sup>[11]</sup>以小麦秸秆为原料,通过系统分析和实验,采用黄孢原毛平革菌为发酵菌株,发酵生产乙二醛,后将乙二醛加氢得到乙二醇,预处理产率为99.50%、发酵产率为93.60%、秆转化总产率为29.50%,并且得到的乙二醇质量达到国家标准水平,属于合格产品。丹麦Novozymes公司利用自己研究的具有水解酶活性的多肽,对预处理的纤维素进行同步糖化发酵,最终获得乙二醇、烷烃、烯烃等产物<sup>[12-13]</sup>,并向全球最大生物质乙二醇生物炼厂——M&G化学独家供给酶制剂。

对于一些新型材料单体的研究,如丁二酸,又名琥珀酸,是一个重要的生物基聚合单体,可以用来合成己二酸、1,4-丁二醇、四氢呋喃等大宗化学品和聚丁二酸丁二醇酯(PBS)这类可降解生物材料。丁二酸作为三羧酸循环的中间代谢产物,在大多微生物中存在,其中主要的生产菌株是大肠杆菌,对其的生产途径研究也很多,主要是通过强化合成丁二酸途径、抑制或阻断丁二酸副产物途径及构建丁二酸有氧生产<sup>[14-15]</sup>。Lee等<sup>[16]</sup>采用计算机模拟分析后,实验验证敲除大肠杆菌与丙酮酸生产相关的3个酶的基因(*ptsG*、*pykF*和*pykA*)可以提高琥珀酸的产量。Yang等<sup>[17]</sup>利用计算机模拟分析丙酮酸羧化酶、苹果酸酶和PEP羧化酶对琥珀酸产率的影响,分析得到丙酮酸羧化酶对丁二酸的产率影响最大,之后通过补料分批发酵实验验证,得到丁二酸生产强度为2.75 mmol·gDCW<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup>。我国973项目“人工合成细胞工厂”资助的张学礼课题组<sup>[18]</sup>通过改变菌株内的还原当量使得丁二酸产量达到125 g/L,产物对葡萄糖的转化率为105%(部分固定二氧化碳)。戊二胺又名尸胺,是一种生物胺类,在工业上与二元酸发生聚合反应生成高分子材料——尼龙5.6,是一类优质的材料,具有良好的机械强度、较高熔点和耐各种有机溶剂的特点<sup>[19]</sup>。Fritz等<sup>[20]</sup>建立了在大肠杆菌中由戊二胺诱导合成的戊二胺操纵子调控机制。King

等<sup>[21]</sup>构建谷氨酸棒状杆菌生产戊二胺的细胞工厂,随后批量生产得到88 g/L戊二胺。Ma等<sup>[22]</sup>成功构建了一株可通过全细胞转化法生产1,5-戊二胺的基因工程菌株,通过融合*Erwinia carotovora*的*pelB*信号肽序列,成功将大肠杆菌的戊二胺-赖氨酸的双向转运蛋白(CadB)在膜上表达,使菌体摄取L-赖氨酸和外排1,5-戊二胺的能力显著提高,单位菌体的1,5-戊二胺产量提高2.3倍,通过优化L-赖氨酸分批补料供给,1,5-戊二胺产量达到221 g/L。

以上生物基聚合单体的生产瓶颈都是生产强度较低,随着合成生物学的发展,人们对生产菌株代谢和调控的认识不断深入,技术手段不断进步,通过改造或构建高效的生产菌株,将大大提高生物基聚合单体的合成效率,推动生物制造业的发展。同时也为直接利用生物技术生产聚合物提供更广阔和有利的手段。聚羟基脂肪酸酯(PHA)是一种生物可再生、生物可降解、生物相容性好的高分子聚合物,其单体也非常多,所以结构多样,包括由单一单体聚合而成的均聚物和由两种或两种以上单体形成的共聚物,其中,共聚物又可分为无规共聚物和嵌段共聚物。Zhang等<sup>[23]</sup>通过构建反式脂肪酸 $\beta$ -氧化途径,实现大肠杆菌以葡萄糖为唯一碳源生产中长链PHA(mcl-PHA),之后通过删除硫酯酶,构建来源于*Pseudomonas stutzeri* 1317的PHA合成酶,可以合成12.10 wt%细胞干重的单体比例不同的短链中长链PHA共聚物(scl-mclPHA)。3-羟基丙酸与4-羟基丁酸的共聚物P(3HP-co-4HB)是一种PHA材料的嵌段共聚物,即由两个或两个以上单体共价连接。Meng等<sup>[24]</sup>利用合成生物学方法在大肠杆菌中构建一条合成P(3HP-co-4HB)的通路,通过异源表达醇脱氢酶、醛脱氢酶、辅酶A连接酶、4-羟基丁酰辅酶A转移酶、PHA合酶5个基因,实现大肠杆菌利用1,3-丙二醇和1,4-丁二醇为碳源合成P(3HP-co-4HB),并可以通过控制单体比例来调节聚合物。聚乳酸是生物可降解的脂肪族聚酯类高分子材料,属于热塑性硬性材料,可用于面包、果蔬包装、枕头填充物、无纺布等领域,应用广泛。Jung等<sup>[25]</sup>在大肠杆菌中引入异源代谢途径实现聚乳酸均聚物PLA及羟基丁酸与乳酸的共聚物P(3HB-co-LA)的直接合成,之后进一步改造大肠杆菌——敲除*ackA*、*ppc*和*adhE*基因,将*ldhA*和*acs*基因的启动子替换成*trc*启动子,使其可以葡萄糖为碳源生成11 wt%的PLA,在包含55~86 mol%乳酸情况下,可以利用葡萄糖和3HB生成56 wt%的P(3HB-co-LA)。

### 2.3 燃料化学品生物制造

全球,尤其是发展中国家,现如今已进入经济发展与污染治理不协调时期,化石资源日益枯竭,国际能源市场价格波动,温室气体的排放造成环境日益恶化,寻求绿色清洁的可再生能源成为各国关注的重点,生物燃料可以作为替代燃料,有着良好的发展前景。传统的生物燃料以粮食作物为原料,存在“与人争粮”和“与粮争地”的问题,因此开发以非粮生物质为原料,进行可持续性的先进生物燃料的制造越来越重要。木质纤维素是一类农业废弃物,可作为发酵碳源,经过处理水解后,产物有六碳糖(如葡萄糖、甘露糖等)和五碳糖(如木糖、阿拉伯糖等),如何利用五碳糖是现在纤维素乙醇的关键研发问题之一。Wis-selink 等<sup>[26]</sup>在啤酒酵母中引入植物乳杆菌的阿拉伯糖途径,使得乙醇产率达到 0.29 g/(g·L)。Wei 等<sup>[27]</sup>则将五碳糖、六碳糖利用和乙酸还原途径整合到酿酒酵母中,这些研究都为木质纤维素的利用打下良好基础。异丁醇可作为一种具有巨大潜能的汽油替代燃料,Higashide 等<sup>[28]</sup>从腐烂的草中分离到一株梭菌 *Clostridium cellulolyticum*,通过构建工程的缬氨酸合成途径可以直接从丙酮酸生产异丁醇,再利用宿主自身的纤维素分解途径和氨基酸合成途径等使其可以直接利用纤维素合成异丁醇,产量达到 660 mg/L。Steen 等<sup>[29]</sup>利用合成生物学方法改造大肠杆菌,使其无需化学改质直接从单糖生产脂肪酸酯(生物柴油)、脂肪醇和蜡,在此基础上在大肠杆菌中引入半纤维素代谢模块,使其可以利用自身生产的脂肪酸生产生物燃料,有利于降低生产成本。林丽华等<sup>[30]</sup>以丙酮丁醇梭菌(*Clostridium acetobutylicum*, gx-as18-1)为模板,克隆其丁醇合成相关基因并导入大肠杆菌,成功构建产丁醇的大肠杆菌工程菌。近年来,LS9 公司的研究团队在合成生物学生产先进燃料方面有突出贡献,通过对光合自养蓝细菌进行重组,使其含有一个脂酰 ACP 还原酶和烷烃脱羧加氧酶,该重组菌可以利用脂肪酸合成途径的中间代谢物脂酰 ACP 为底物合成烷烃类和烯烃类。之后为实现链烷烃大规模生产,他们又将蓝细菌中与烷烃合成相关的 17 个基因转入大肠杆菌,构建可以生产链烷烃酶的重组大肠杆菌<sup>[31]</sup>。

生产菌株由于本身特性或异源途径的引入等原因,生产能力低,如何改良自身特性,引入可行途径,提高生物燃料的开发效率是现如今研究需要解决的难题,核心途径是突破生物技术的创新。合成生物学位于生物技术的前沿,无疑会为生物燃料带来技术突破。

### 3 展望

将合成生物学应用于生物制造,有利于简化原料的处理、提高生物质产量、增强抗逆境能力,突破传统制造难以获得的化学活性成分的合成,以及环境友好的制造工艺的开发等,可谓是生物制造的关键推动技术。合成生物学作为未来“颠覆性”技术,更是成为各国科技发展的重要战略。奥巴马政府发布的“国家生物经济”蓝图,将合成生物学技术作为推动美国科技创新和经济发展的主要驱动者之一。英国政府把合成生物学视为非常有商业前景的革命性平台,热切期望在合成生物学领域占据世界领先地位。我国政府认为合成生物学将带来技术推动的新一轮经济增长,努力成为该领域的国际领先者,并制定了合成生物学战略路线图。合成生物学的发展,必将为生物制造在更多领域的应用带来重大突破。

参考文献:

- [1] 李祯祺,徐萍,于建荣.生物制造领域相关专利国际发展态势分析[J].生物产业技术,2013(6):73-78.  
LI Z Q, XU P, YU J R. International patent analysis for bio-manufacturing [J]. *Biotechnology & Business*, 2013 (6):73-78.
- [2] 杨双春,潘一,张金辉.2012 年美国绿色化学挑战奖项目介绍[J].当代化工,2012,41(12):1325-1329.  
YANG S C, PAN Y, ZHANG J H. Reviews of presidential green chemistry challenge awards of USA in 2012 [J]. *Contemporary Chemical Industry*, 2012, 41(12): 1325-1329.
- [3] CHENG A A, LU T K. Synthetic biology: An emerging engineering discipline[J]. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 2012, 14:155-178.
- [4] The McKinsey Global Institute. Disruptive technologies: Advances that will transform life, business, and the global economy [EB/OL]. [2016-01-23]. [http://www.mckinsey.com/insights/business\\_technology/disruptive\\_technologies](http://www.mckinsey.com/insights/business_technology/disruptive_technologies).
- [5] MARTIN V J J, PITERA D J, WITHERS S T, et al. Engineering a mevalonate pathway in *Escherichia coli* for production of terpenoids[J]. *Nature Biotechnology*, 2003, 21(7):796-802.
- [6] RO D K, PARADISE E M, OUELLET M, et al. Production of the antimalarial drug precursor artemisinic acid in engineered yeast [J]. *Nature*, 2006, 440(7086):940-943.
- [7] AJIKUMAR P K, XIAO W H, TYO K E, et al. Isoprenoid pathway optimization for Taxol precursor overproduction in *Escherichia coli* [J]. *Science*, 2010, 330(6000):70-74.
- [8] DAI Z, LIU Y, ZHANG X, et al. Metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for production of ginsenosides [J]. *Metabolic Engineering*, 2013, 20:146-156.

- [9] STEPHANIE G, KATE T, TRENCHARD I J, et al. Complete biosynthesis of opioids in yeast[J]. *Science*, 2015, 349(6252):1095-1100.
- [10] ZHU Y, EITEMAN M A, DE WITT K, et al. Homolactate fermentation by metabolically engineered *Escherichia coli* strains [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73:456-464.
- [11] 刘颖. 以小麦秸秆为原料生产乙二醇的可行性探索 [J]. *广州化工*, 2012, 40(17):83-84.  
LIU Y. Feasibility study of wheat straw as raw material to produce glycol[J]. *Guangzhou Chemical Industry*, 2012, 40(17):83-84.
- [12] SPODSBERG N. Polypeptides Having Cellobiohydrolase Activity and Polynucleotides Encoding Same: 2012103293[P]. 2012-08-02.
- [13] MORANT M, PATKAR S, DING H S, et al. Polypeptides Having Beta-Glucosidase Activity and Polynucleotides Encoding Same: 2012003379[P]. 2012-01-05.
- [14] 王乐, 倪子富, 惠明, 等. 代谢控制发酵产琥珀酸研究进展[J]. *化工学报*, 2015, 66(4):1243-1251.  
WANG L, NI Z F, HUI M, et al. Research advances in metabolic control of succinic acid fermentation [J]. *Journal of Chemical Industry and Engineering*, 2015, 66(4):1243-1251.
- [15] 吴昊, 马江锋, 吴明科, 等. 非粮生物质制备生物基丁二酸的研究进展[J]. *广西科学*, 2015, 22(1):20-26.  
WU H, MA J F, WU M K, et al. Progress in microbial production of succinic acid using non-food biomass feedstock[J]. *Guangxi Sciences*, 2015, 22(1):20-26.
- [16] LEE S J, LEE D Y, KIM T Y, et al. Metabolic engineering of *Escherichia coli* for enhanced production of succinic acid, based on genome comparison and in silico gene knockout simulation [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(12):7880-7887.
- [17] YANG J, WANG Z, ZHU N, et al. Metabolic engineering of *Escherichia coli* and in silico comparing of carboxylation pathways for high succinate productivity under aerobic conditions [J]. *Microbiological Research*, 2014, 169(5/6):432-440.
- [18] ZHU X N, TAN Z G, XU H T, et al. Metabolic evolution of two reducing equivalent-conserving pathways for high-yield succinate production in *Escherichia coli* [J]. *Metabolic Engineering*, 2014, 24:87-96.
- [19] KIYOHICO N, SHUICHI E, YUKIKO M. Enzymatic Method for Producing Cadaverine Dicarboxylate and Its Use for the Production of Nylon: 147688[P]. 2003-05-26.
- [20] FRITZ G, KOLLER C, BURDACK K, et al. Induction kinetics of a conditional pH stress response system in *Escherichia coli* [J]. *Journal of Molecular Biology*, 2009, 393(2):272-286.
- [21] KING S, NEYBAUER S, BECKER J, et al. From zero to hero-production of bio-based nylon from renewable resources using engineered *Corynebacterium glutamicum* [J]. *Metabolic Engineering*, 2014, 25:113-123.
- [22] MA W C, CAO W J, ZHANG B W, et al. Engineering a pyridoxal 5'-phosphate supply for cadaverine production by using *Escherichia coli* whole-cell biocatalysis [J]. *Scientific Reports*, 2015, 5:15630.
- [23] ZHUANG Q, WANG Q, LIANG Q, et al. Synthesis of polyhydroxyalkanoates from glucose that contain medium-chain-length monomers via the reversed fatty acid-oxidation cycle in *Escherichia coli* [J]. *Metabolic Engineering*, 2014, 24:78-86.
- [24] MENG D C, SHI Z Y, WU L P, et al. Production and characterization of poly(3-hydroxypropionate-co-4-hydroxybutyrate) with fully controllable structures by recombinant *Escherichia coli* containing an engineered pathway[J]. *Metabolic Engineering*, 2012, 14:317-324.
- [25] JUNG Y K, KIM T Y, PARK S J, et al. Metabolic engineering of *Escherichia coli* for the production of polylactic acid and its copolymers [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2010, 105(1):161-171.
- [26] WISSELINK H W, TOIRKENS M J, BERRIEL M D F, et al. Engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for efficient anaerobic alcoholic fermentation of L-arabinose [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2007, 73(15):4881-4891.
- [27] WEI N, OH E J, MILLION G, et al. Simultaneous utilization of cellobiose, xylose, and acetic acid from lignocellulosic biomass for biofuel production by an engineered yeast platform [J]. *Acs Synthetic Biology*, 2015, 4(6):707-713.
- [28] HIGASHIDE W, LI Y C, YANG Y F, et al. Metabolic engineering of *Clostridium cellulolyticum* for production of isobutanol from cellulose [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77(8):2727-2733.
- [29] STEEN E J, KANG Y S, BOKINSKY G, et al. Microbial production of fatty-acid-derived fuels and chemicals from plant biomass [J]. *Nature*, 2010, 463:559-562.
- [30] 林丽华, 郭媛, 裴建新, 等. 产丁醇大肠杆菌工程菌的构建 [J]. *广西科学*, 2014, 21(1):42-46.  
LIN L H, GUO Y, PEI J X, et al. The construction of recombinant *Escherichia coli* producing butanol [J]. *Guangxi Sciences*, 2014, 21(1):42-46.
- [31] SCHIRMER A, RUDE M A, LI X, et al. Microbial biosynthesis of alkanes [J]. *Science*, 2010, 329(5991):559-562.

(责任编辑:陆雁)