

中国科学院大连化学物理研究所

优秀博士后支持计划申请书

申请 人: 余飞

研究 组: 1823 组

学科专业: 生物化工

合作导师: 周雍进

填表日期: 2025 年 12 月 1 日

姓 名	余飞	性 别	男				
出生日期		民 族	汉				
学历/学位	博士	授予博士学位时间	2023.12.29				
博士毕业院校	江南大学	(拟)入站时间	2024.01.15				
E-Mail		联系电话					
研究领域	天然产物酵母细胞工厂的设计与构建						
学习经历 从本科起	起止年月	所在单位/专业	所获学位				
	2019.09-2023.12	江南大学/发酵工程	工学博士				
	2016.09-2019.07	安徽工程大学/发酵工程	工学硕士				
	2012.09-2016.07	安徽工程大学/生物技术	理学学士				
工作经历	起止年月	所在单位	职务				
	2024.01.15-至今	中国科学院大连化学物理研究所	博士后				
入站前期及入站后科研情况简介	1、主持或参与项目情况:						
	序号	项目名称	项目来源	项目金额	起止年度	角色	入站前/入站后
	1	多形汉逊酵母从头合成(+) - 诺卡酮及其调控机制研究	国家自然科学基金青年科学基金 C类项目	30万元	2025-2027	主持	入站后
	2	CYP706M1 催化(+) - 瓦伦烯合成(+) - 诺卡酮的调控机制研究	中国博士后科学基金第77批面上项目	8万元	2025-2027	主持	入站后
	3	基于油酸原位萃取与利用强化的广藿香醇绿色生物制造	2026年辽宁省自然科学基金计划博士科研启动项目	5万元	2026-2027	主持	入站后(所推荐参审)
	4	高端香料前体香紫苏醇的绿色生物制造及产业化示范研究	辽宁省科技计划联合计划(重点研发计划项目)	300万元	2026-2027	项目骨干(第一参与者)	入站后
	5	人造肉高效生物制造技术	国家重点研发计划	2425万元	2021-2024	参与	入站前
	6	基于 P450 调控的自由基反应催化合成氮、硫杂环分子	国家重点研发计划	470万元	2020-2024	参与	入站前

入站 前期 及入 站后	2、代表性论文（10篇以内）						
	注：第一作者或共同一作第一，“作者排序”中，如为通讯作者请填写“C”。						
	序号	论文题目	期刊名	影响因子	发表年度/卷期/页码	排序	入站前/入站后
	1	CO ₂ availability shapes acetate and ethanol production in <i>Clostridium aceticum</i> : An omics-guided study	Biofuel Research Journal	11.9	Under Review	C	入站后
	2	Sustainable production of porphyrins through synthetic biology	Trends in Biotechnology	14.9	2025/43 (5)/996-999	第一作者兼 C	入站后
	3	Biosynthesis of high-active hemoproteins by the efficient heme-supply <i>Pichia pastoris</i> chassis	Advanced Science	14.1	2023/10 (30)/e23 02826	第一作者	入站前
	4	Developing a novel heme biosensor to produce high-active hemoproteins in <i>Pichia pastoris</i> through comparative transcriptomics	Metabolic Engineering	6.8	2024/84/59-68	第一作者	入站前
5	Biosynthesis, acquisition, regulation, and upcycling of heme: Recent advances	Critical Reviews in Biotechnology	7.7	2024/44 (7)/1422-1438	第一作者	入站前	
其他论文发表情况							
6	Point mutation of V252 in neomycin C epimerase enlarges substrate-binding pocket and improves neomycin B accumulation in <i>Streptomyces fradiae</i>	Bioresource s and Bioprocessi ng	5.1	2022/9/123	共同一作第二	入站前	
入站 前期 及入 站后	3、专利情况：						
	序号	专利名称	授权/申请	授权/申请号	起始日期	排序	入站前/入站后
	1	一种合成高活性血红素类蛋白毕赤酵母底盘菌株的构建及应用	授权	CN1167903 95B	2024.07.19	2	入站前
2	一种高效表达不同来源肌红蛋白/血红蛋白毕赤酵母重组菌株的构建	授权	CN1131363 49B	2023.03.31	2	入站前	

科研情况简介	3	具有 α -葡萄糖苷酶抑制活性的芳基苯并呋喃类衍生物	授权	CN1089972 82B	2022.04.2 9	2	入站前							
	4	一种高效合成血红素的毕赤酵母重组菌株的构建	授权	CN1148749 29B	2024.02.2 7	4	入站前							
4、获奖情况:														
序号	奖励名称	奖励等级	授奖单位	奖励年度	排序	入站前/入站后								
1	江南大学优秀博士学位论文	校级	江南大学	2023	1	入站前								
2	江南大学蔚蓝奖学金二等奖	校级	青岛蔚蓝生物股份有限公司与江南大学	2022	1	入站前								
3	江南大学 IFF 健康和生物科学奖学金三等奖	校级	杰能科(中国)生物工程有限公司与江南大学	2021	1	入站前								
4	第八届江苏省“互联网+”大学生创新创业大赛三等奖	省部级	江苏省教育厅	2022	2	入站前								
博士后工作研究计划	博士后研究题目：油酸驱动型广藿香醇酵母细胞工厂的构建与优化													
	(简述研究计划的可行性、先进性和创新性，理论和现实意义)													
1. 研究背景														
广藿香醇是一种独特且具有持久香味的功能性倍半萜醇，兼具抗菌、抗炎、抗病毒等多种药理活性，广泛应用于食品、医药和化妆品等领域。据 Business Research Insights 研究报告显示，2025 年全球广藿香醇市场规模约为 35 亿美元，预计到 2030 年将增长至 50 亿美元左右，市场需求快速增长。然而，当前主要依赖的植物提取方式存在含量低、生产成本高、受气候和土壤等自然条件制约等问题，已难以满足产业化需求。相比之下，基于微生物发酵的生物制造可利用廉价碳源实现广藿香醇的从头合成，具有工艺简便、成本低、绿色可持续等优势，已成为该领域的重要发展方向。与此同时，《中共中央关于制定国民经济和社会发展第十四个五年规划和 2035 年远景目标纲要》明确要培育壮大新兴产业和未来产业，加快生物制造等重点领域关键核心技术攻关。因此，加快构建高效、可持续的广藿香醇生物制造技术体系，不仅有助于提升我国在该领域的自主创新能力与国际竞争力，也对推动生物经济高质量发展、实现“碳中和”目标具有重要战略意义。														
酵母因其细胞质中天然具备甲羟戊酸途径，已成为合成萜类化合物的理想底盘细胞。在近期研究中，研究者们在解脂耶氏酵母中优化广藿香醇合成途径，并通过抑制副产物角鲨烯的生成，使得广藿香醇生物反应器中的产量提升至 2.9 g/L，创下目前报道的最高水平。然而，其产量的进一步提升仍面临瓶颈，主要受限于其疏水性导致产物在细胞膜中过度积累，从而引发膜应激并抑制细胞生长。														

研究发现，采用原位萃取策略可有效促进产物分泌并缓解膜应激。例如，十二烷广泛用于提升广藿香醇和 β -法尼烯等萜类的产率。但十二烷也存在毒性问题，如在 5% (v/v) 浓度下会显著抑制酿酒酵母生长、产物生育三烯酚分泌比例仅为 12.31%；对某些氧化敏感萜类产物（如视黄醇）也易诱发氧化；此外，在大型发酵系统中还会引起设备腐蚀。因此，开发性能优异、条件温和、兼具萃取与氧化保护作用的新型原位萃取剂，已成为提升广藿香醇微生物生产效率和实现产业化应用的关键突破口。

植物油被认为是传统有机萃取剂的理想替代品。在双相发酵中，葵花籽油可显著促进类胡萝卜素的合成和分泌。近期研究表明，橄榄油作为萃取剂可将酿酒酵母分泌生育三烯酚的比例提高至 85.6%。此外，橄榄油具有优良的抗氧化能力，可有效保护视黄醇等易氧化萜类化合物。在视黄醇发酵中，橄榄油实现了迄今为止的最高产量。因此，开发橄榄油等植物油型萃取剂具有广阔的应用前景和产业潜力。

基于上述背景，本项目拟开发一种性能优异、条件温和的新型原位萃取剂——油酸，并创新性地将其作为多形汉逊酵母的碳源，推动高附加值萜类化合物广藿香醇的高效合成。具体研究内容包括：首先，构建过氧化物酶体-细胞质双区室化合成通路，改善前体乙酰辅酶与辅因子 NADPH 供给，提高广藿香醇的合成效率；接着，通过适应性实验室进化策略，增强酵母对油酸的代谢适应能力，并结合多组学技术系统解析油酸代谢相关的调控网络，筛选关键调控靶点；随后，将筛选获得的核心靶点整合至双通路工程菌株中，构建具备油酸（兼具辅助碳源和萃取剂功能）与葡萄糖（主要碳源）协同利用能力的高产广藿香醇细胞工厂；最后，系统评估油酸在碳源供给与原位萃取中的双重作用，全面验证其在天然产物绿色生物制造中的应用潜力。

2. 研究内容

1) 构建细胞质-过氧化物酶体双通路合成广藿香醇

① 广藿香醇双通路代谢网络的构建：以课题组先前构建的高产 β -榄香烯多形汉逊酵母工程菌株 (*Metabolic Engineering*, 2023, 76: 225-231) 为底盘，首先将 β -榄香烯合酶基因 *LsLtc2* 替换为广藿香醇合酶基因 *PTS*，并与关键限速酶法尼基焦磷酸合酶 (*ERG20*) 进行融合表达，通过多拷贝整合实现细胞质中广藿香醇的合成。进一步采用区室化策略，在过氧化物酶体中重构甲羟戊酸 (MVA) 途径并引入 *PTS*，从而建立广藿香醇合成的第二条代谢通路。

② 强化前体乙酰辅酶 A 与辅因子 NADPH 的供应：通过表达乙酰辅酶 A 羧化酶 (*ACCI*)、脂肪酸合成酶 (*FAS*) 与 β -氧化途径关键酶（脂酰辅酶 A 合成酶 *FAA1* 和脂酰辅酶 A 氧化酶 *POX1*），并敲除酰基辅酶 A 硫酯酶 (*ACOT*)，改善乙酰辅酶 A 的供应。同时，引入来自酿酒酵母的 NADP⁺依赖性异柠檬酸脱氢酶 (*ScIDP2*)，以增强 NADPH 生成，为广藿香醇合成提供充足的还原力。最终，构建得到广藿香醇合成性能较优的工程菌株 YF-1。

2) 多组学解析油酸利用的关键调控机制

① 不同碳源辅助下的油酸利用适应性实验室进化 (ALE)：鉴于多形汉逊酵母对油酸的天然利用能力较弱，设计以葡萄糖、甲醇或甘油作为辅助碳源，与油酸组成混合碳源体系，逐步提高油酸比例进行 ALE 驯化，筛选获得具备高效油酸利用能力的菌株。随后，结合全基因组重测序、比较转录组学及蛋白质组学分析，系统挖掘参与油酸转运与代谢调控的关键基因、功能蛋白及调控元件。

② 关键靶点的反向代谢工程验证：基于组学数据筛选得到的潜在功能靶点，在野生型多形汉逊酵母中进行弱化、敲除或过表达，通过考察菌株生长速度、油酸摄取及代谢速率，验证其具体功能。随后，将油酸利用的关键靶点整合至广藿香醇合成较优菌株

博士后工作研究计划	<p>YF-1 中，并进行组合表达优化，比较其在葡萄糖-油酸与葡萄糖-十二烷条件下的广藿香醇产量差异，筛选获得广藿香醇合成性能最优菌株 YF-2。</p> <p>3. 可行性分析</p> <p>1) 广藿香醇合成体系的初步构建：基于高产 β-榄香烯底盘菌株 (<i>Metabolic Engineering</i>, 2023, 76: 225-231)，申请人构建了表达广藿香醇合成酶 PTS 与法尼基焦磷酸合酶 ERG20 融合蛋白的多拷贝工程菌株，实现摇瓶产量 83 mg/L，与文献报道的最高摇瓶水平相当 (<i>Journal of Agricultural and Food Chemistry</i>, 2023, 71(11): 4638-4645)，为本课题后续构建广藿香醇双通路合成体系奠定了基础。</p> <p>2) 毕赤酵母合成血红素结合蛋白的代谢优化：申请人通过强化前体合成、组装限速酶以及抑制血红素降解，显著提升了血红素相关蛋白的活性：如透明颤菌血红蛋白的氧结合能力增强 85.24%、细胞色素 P450-BM3 的全细胞催化活性提升 7.47 倍等 (<i>Advanced Science</i>, 2023, 10(30): e2302826; <i>Metabolic Engineering</i>, 2024, 84: 59-68)，为本课题广藿香醇在酵母中的高效合成提供了技术支撑。</p> <p>3) 发酵体系调控机制研究：申请人利用比较转录组学揭示了硫酸铵促进费氏链霉菌合成新霉素的机制：EMP 和 TCA 循环受到抑制，而新霉素生物合成相关基因显著上调，从而促进了还原糖的高效利用。进一步的基因功能验证表明，<i>neoE</i> 过表达菌株产量提升了 51.20% (<i>Fermentation (Basel)</i>, 2022, 8(12): 678-689)，为本课题多组学解析酵母油酸利用及萜类合成调控提供了借鉴。</p> <p>4) 工业化应用前景：课题组与大连医诺生物股份有限公司等企业保持长期紧密合作，具备从基础研究到工艺应用的全链条技术支撑能力，可有效验证基于具有辅助碳源与原位萃取双重功能的新型绿色萃取剂——油酸的多形汉逊酵母细胞工厂在天然产物绿色生物制造中的应用潜力。</p> <p>4. 课题特色与创新之处</p> <p>1) 课题特色：本课题立足于《“十四五”生物经济发展规划》与《中共中央关于制定国民经济和社会发展第十四个五年规划的建议》战略背景，针对传统毒性原位萃取剂（如十二烷）易导致生物反应器设备腐蚀、并引发视黄醇等对氧敏感萜类产物氧化降解等突出工程问题，拟开发一种条件温和、性能优良、兼具辅助碳源与原位萃取双重功能的新型绿色萃取剂-油酸。课题的实施将为广藿香醇的工业化生产提供具有自主知识产权的创新技术路线，可显著简化分离纯化过程、降低生产成本，并为其他萜类化合物的生物制造提供重要示范。</p> <p>2) 课题创新之处：①揭示多形汉逊酵母油酸利用的关键调控机制；②构建高效合成广藿香醇的多形汉逊酵母细胞工厂。</p>
本人承诺	<p>本人承诺：申请表所填内容均真实可靠。对因虚报、伪造等行为引起的后果及法律责任均由本人承担。</p> <p>本人签字：余心怡 2025年12月1日</p>