中国科学: 生命科学 2025 年 第 55 卷 第 10 期: 2140 ~ 2159
SCIENTIA SINICA Vitae lifecn.scichina.com
《中国科学》杂志社 SCIENCE CHINA PRESS
评 述 中国知名大学及研究院所专栏 天津大学合成生物学20周年专辑

木质素合成生物增值利用

李娜, 付宁, 李炳志, 刘志华*

合成生物技术全国重点实验室, 天津大学合成生物与生物制造学院, 天津 300072
* 联系人, E-mail: zhliu@tju.edu.cn

收稿日期: 2025-06-30; 接受日期: 2025-08-22; 网络版发表日期: 2025-09-26
国家重点研发计划(批准号: 2023YFC3403500)资助

摘要 木质素是自然界中储量最丰富的可再生零碳芳香聚合物资源, 是可持续生产能源、化学品和材料的理想芳烃原料. 目前, 生物转化是木质素增值利用的最有潜力的途径之一. 然而, 木质素结构异质性阻碍其生物增值利用. 开发高效木质素定向生物解聚和转化策略是当前研究的前沿热点. 新兴的合成生物学和人工智能为木质素高效生物增值开辟新方法. 本文介绍芳香木质素生物解聚转化通路的设计原则, 重点讨论木质素合成生物制造增值的三大路径, 并展望未来合成生物学与人工智能赋能的木质素生物转化研究与应用.

关键词 芳香木质素, 生物增值, 合成生物学, 高附加值化学品

木质素作为自然界最丰富的可再生芳香聚合物, 是可持续生产高价值化学品、燃料和材料的理想原料. 木质素由对香豆醇(H)、松伯醇(S)和芥子醇(G)三种单体通过醚键和碳碳键等聚合形成. 结构中含有*β-O-4*, *β-1*, *β-β*, *β-5*, *5-5*等复杂多样的键型. 木质素全球年产量约1亿吨, 但其复杂的单元结构和固有异质性, 导致目前大部分被低值化利用或废弃[1]. 生物转化利用假单胞菌和红球菌等微生物的转化代谢系统, 可将木质素及其衍生物高效转化为聚羟基脂肪酸酯(PHA)、香草醛等高价值产品[2]. 这不仅克服传统利用瓶颈, 为木质素增值提供可行方案, 也对推动生物经济发展和实现“双碳”目标具有重要战略意义.

面对木质素固有的异质性和大分子结构, 通过芳香木质素合成生物解聚与转化路径, 实现异质芳烃的高特异性转化, 微生物多样的代谢网络为木质素定向增值转化提供可能. 近年来, 合成生物学与人工智能的高速发展为芳香木质素的生物增值利用注入强大动力[3]. 合成生物学通过理性设计、重构和优化微生物细胞工厂, 显著提升芳香底物的转化效率和产物得率. 酶工程与人工智能通过大数据挖掘、机器学习模型和智能筛选, 加速高效菌株与最优工艺的开发. 前沿技术的深度融合, 正推动木质素生物转化定制化智能化.

实现木质素高值化利用的首要环节是获取细胞可跨膜摄取的低聚物和单体. 高效预处理策略和氧化还原解聚等先进木质素解聚技术已被用于获取生物可利用的木质素衍生物. 自然界也提供微生物解决方案, 进化出潜在的降解聚合木质素的天然途径. 木质素降解微生物分泌的胞外解聚酶(如漆酶和锰过氧化物酶等)通过自由基介导反应断裂大分子木质素结构中的醚键, 生成低聚物或单体.

数十亿年的进化使自然界中的木质素分解微生物

引用格式: 李娜, 付宁, 李炳志, 等. 木质素合成生物增值利用. 中国科学: 生命科学, 2025, 55: 2140–2159
Li N, Fu N, Li B-Z, et al. Synthetic biology-driven lignin valorization (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2025, 55: 2140–2159, doi: 10.1360/SSV-2025-0204

© 2025《中国科学》杂志社 www.scichina.com
https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2025-0204

发展出多功能酶工具箱和多样化代谢途径，以分解解聚得到的异质芳香衍生物. 上游代谢“生物漏斗”途径将其汇聚为原儿茶酸、邻苯二酚等统一平台化合物以克服异质性. 这些中心化合物可通过开环途径进入三羧酸循环，作为能量供应来源. 鉴于芳香族单体与黄酮等高价值天然产物在结构上的契合，原子经济功能化路径将木质素单元直通天然产物. 但该过程仍然存在关键酶催化效率低、微生物生理失衡和辅因子依赖等限制. 合成生物学与人工智能快速发展, 为应对这些挑战, 实现高效木质素增值提供有前景的策略.

本工作旨在总结芳香木质素合成生物增值利用的最新进展与策略，阐述芳香木质素生物解聚转化通路设计原则. 木质素合成生物制造中存在生物漏斗途径、原子经济功能化和芳环开环的三条增值路径，高效转化为芳香族化学品. 合成生物学与人工智能助力开发定向化和高效化木质素生物解聚转化技术体系.

1　芳香木质素生物解聚与转化通路

木质素大分子含有多种连接键和功能性官能团, 导致解聚可控性差，酶表达与底物难适配和酶解后缩合等挑战[4]. 通过胞外多酶协同生物催化解聚与胞内多酶级联生物转化代谢的耦合，设计芳香木质素全流程定向生物解聚转化通路，是其生物增值利用的关键策略(图1).

1.1　木质素聚合物胞外多酶协同生物解聚

微生物主要通过其木质素降解酶系统实现木质素大分子聚合物的解聚，具有温和、环保和节能的特点. 根据催化反应类型，降解酶可以分为漆酶(Lac)、锰过氧化物酶(MnP)、木质素过氧化物酶(LiP)、多功能过氧化物酶(VP)、染料脱色过氧化物酶(DyP)和新发现的β-酯酶等[5,6]. 它们通过独特的催化机制在木质素的生物解聚中发挥关键作用[7]. 漆酶含铜离子, 利用氧气或具有电子转移能力的小分子作为介质，生成大量自由基以氧化木质素中的酚类和非酚类结构[8]. 漆酶在真菌中鉴定的，随后在细菌中发现并得到广泛研究. 锰过氧化物酶在过氧化氢的辅助下将Mn^{2+}氧化为Mn^{3+}, 非特异性攻击并氧化木质素分子中的酚类结构. 与锰过氧化物酶类似，木质素过氧化物酶具有高氧化还原电位，在H_2O_2的触发下氧化木质素中其他酶难以降解

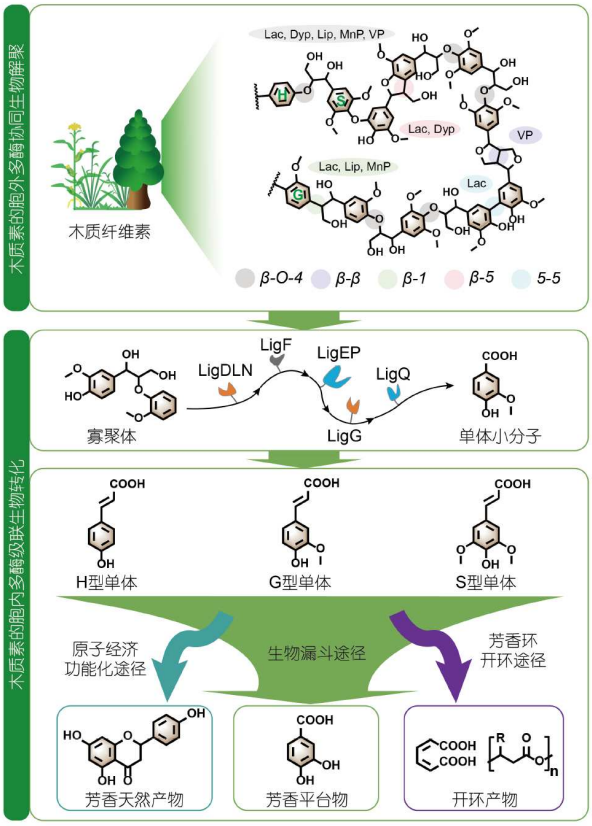


图 1　木质素生物解聚与转化通路. 木质素中β-*O*-*4*, β-β, β-*1*, β-*5*, *5*-*5*键在木质素降解酶胞外多酶协同作用下断裂，使木质素实现生物解聚. 解聚得到的寡聚体通过胞内多酶级联生物转化成芳香族小分子. 小分子通过生物漏斗途径、原子经济功能化途径和芳香环开环途径进行胞内多酶级联生物转化，分别生产出芳香平台物、芳香天然产物和开环产物. 图中运用灰色、紫色、绿色等不同颜色标记不同木质素降解酶系对应断裂木质素中的不同键型. 图中以木质素二聚体β-*O*-*4*模型化合物愈创甘油集甘油β-愈创甘油醚为代表展示木质素寡聚体胞内多酶级联生物转化过程. Lac, 漆酶; Dyp, 染料脱色过氧化物酶; Lip, 木质素过氧化物酶; MnP, 锰过氧化物酶; VP, 多功能过氧化物酶

Figure 1　Lignin depolymerization and conversion pathways. The β-*O*-*4*, β-β, β-*1*, β-*5*, and *5*-*5* linkages in lignin can be cleaved through the extracellular synergistic multi-enzyme systems of lignin-degrading enzymes. The resulting oligomers are then converted into aromatic monomers through intracellular multi-enzyme cascade reactions. These small molecules can be further transformed via three intracellular multi-enzyme cascade pathways: the biological funneling pathway for producing aromatic platform compounds, the atom-economic functionalization pathway for aromatic natural products, and the aromatic ring-opening pathway for ring-cleavage products. Different lignin-degrading enzyme systems are color-coded in gray, purple, green, etc., according to their specific cleavage of different lignin linkages. The figure uses the β-*O*-*4* lignin dimer model compound guaiacylglycerol-β-guaiacyl ether (GGE) to demonstrate the intracellular multi-enzyme cascade conversion process of lignin oligomers. Lac, laccase; Dyp, dye-decolorizing peroxidase; Lip, lignin peroxidase; MnP, manganese peroxidase; VP, versatile peroxidase

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2025-0204

的酚类和非酚类化合物[9]. 多功能过氧化物酶既能氧化Mn^{2+}, 又能像木质素过氧化物酶一样氧化还原电位的物质. 染料脱色过氧化物酶是一种血红素过氧化物酶, 可分为A, B, C和D型. 其中D型主要由真菌分泌, 前三种由细菌分泌. 他们的催化机制与上述过氧化物酶相似, 对木质素及其模型化合物有良好分解能力. 这些木质素分解酶促进高分子量木质素聚合物解聚为芳香族二聚体和单体.

近期发现具备多样化多糖氧化裂解功能的裂解性多糖单加氧酶(LPMOs)表现出过氧化物酶活性, 具有木质素降解能力[10,11].目前推测LPMOs可通过两条主要途径参与木质素衍生芳香化合物、大分子和木质素-碳水化合物复合键的降解: 通过H_2O_2驱动木质素降解过氧化物酶活性和醌氧化还原循环途径增强胞外芬顿反应, 进而氧化断裂木质素和木质素-碳水化合物复合物(LCC)内部的交联结构, 参与木质素生物降解[12]. 另外, 在木质纤维素降解真菌的进化过程中, LPMOs可能与木质素降解酶发生协同进化[13].

微生物利用不同类型木质素降解酶系统胞外协同催化木质素解聚. 例如, 黄孢原毛平革菌通过漆酶、锰过氧化物酶、木质素过氧化物酶介导的自由基反应催化木质素中化学键氧化断裂, 生成低聚物和藜芦醇、香草醛等多种有用芳香族单体[14]. 褐腐真菌通常产生草酸、Fe^{3+}还原化合物和过氧化氢等低分子量化合物, 在Fe^{3+}与Fe^{2+}的持续氧化还原循环中不断生成攻击木质素结构的羟基自由基, 实现木质素解聚[15]. 红球菌和假单胞菌中B型染料脱色过氧化物酶(DypBs)高效攻击木质素的C_α-C_β键, 利用内源芳香族化合物代谢途径, 生成有价值的香草醛或其他低分子量芳香衍生物[16,17].

尽管自然界中的菌株已显示出木质素降解能力, 但目前对木质素生物解聚的分子机制和工程应用仍存在挑战. 比如, 真菌木质素降解酶系统构建难、细菌酶系统生物解聚木质素能力较弱、木质素降解酶的协同相互作用机制不明确、解聚过程存在再聚合等. 为突破这些瓶颈, 近年来开发多种合成生物学工程化策略以提高工程菌株对木质素的解聚和利用能力, 使其解聚转化过程可控, 或可直接生产高价值产品. 如通过敲除香草醛脱氢酶基因, 约氏红球菌RHA1可从小麦秸秆木质素中积累0.096 g/L香草醛[18]. 定向进化被应用于荧光假单胞菌Pf-5[19]和恶臭假单胞菌MET94[20]中的DypBs, 以增强其对酚类和木质素底物的氧化活性. 红球菌RHA1中DypB的Asp153和Asn246位点定向突变被用于增强其木质素转化能力[21]. 对于解聚过程中再聚合现象限制木质素生物增值转化问题, 通过解析恶臭假单胞菌A514的醌氧化还原循环机制, 揭示DypBs与辅助酶协同作用的多酶催化网络, 有效抑制木质素解聚中的再聚合现象, 使木质素分子量降低27%, 为绿色降解木质素提供新型生物催化策略[22].

1.2 木质素芳香衍生物胞内多酶级联生物转化

木质素解聚产生的*β-O-4*, *β-5*, *5-5*, *β-β*和*β-1*等多种类型的二聚体和H, G, S型芳香单体, 可进入细胞内通过多酶级联反应实现高效生物转化. 目前鞘氨醇杆菌SYK-6等微生物已进化出多种复杂的参与芳香族二聚体和单体生物转化的关键酶系统, 能够利用其作为碳源进行代谢[23,24].

鞘氨醇杆菌和嗜芳烃新鞘氨醇菌能够将木质素衍生的芳香族化合物作为唯一碳源, 尤其能利用*β*-芳基醚、苯基香豆烷、联苯和二芳基丙烷等芳香族二聚体[25]. *β-O-4*模型化合物愈创木基甘油-*β*-愈创木基醚(GGE)具有四种立体异构体, 鞘氨醇杆菌SYK-6通过三步级联的立体特异性反应(氧化脱氢、醚键断裂和硫醚键断裂)将其转化为非手性的*β*-羟基丙酰香草酮(HPV). 首先, *LigD*, *LigL*和*LigN*编码的三种C_α-脱氢酶将GGE氧化为具有两种立体异构体的α-(2-甲氧基苯氧基)-*β*-羟基丙酰香草酮(MPHPV). 随后, 立体选择性谷胱甘肽*S*-转移酶LigF, LigE和LigP通过谷胱甘肽的亲核攻击介导醚键断裂, 生成两种不同立体异构体的*α*-谷胱甘肽基-*β*-羟基丙酰香草酮(GS-HPV)和愈创木酚. 最后, 另一种谷胱甘肽S-转移酶LigG和LigQ催化GS-HPV的硫醚键断裂, 生成非立体选择性的HPV, 最终易转化为香草酸并进入芳香族单体的同化途径[26].

*β-5*模型化合物去氢二松柏醇(DCA)通过多酶级联催化实现高效转化. 在SYK-6中, 其结构中的两个醇羟基先后被醇脱氢酶ADH、醛脱氢酶ALDH和立体特异性氧化酶PhcC, PhcD羧基化, 再由立体特异性脱羧酶PhcF和PhcG催化形成3-(4-羟基-3-(4-羟基-3-甲氧基苯乙烯基)-5-甲氧基苯基)丙烯酸酯(DCA-S). 随后木质二苯乙烯*α,β*-双加氧酶LsdD催化苯环间双键断裂, 生成5-甲酰阿魏酸和香草醛. 在嗜芳烃新鞘氨醇菌中

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2025-0204

FdhA和FerD将B环的羟基羧基化后，新发现的γ-甲醛裂解酶PcfL可直接将其苯基香豆满环打开生成二苯乙烯类化合物(DCA-S)与甲醛. LsdD催化生成的5-甲酰阿魏酸先后由醛脱氢酶FerD和LigW脱羧后生成阿魏酸[27,28].

*5-5*模型化合物5,5′-脱氢二香草酸(DDVA)首先由三组分单加氧酶LigXaXcXd催化生成2,2′,3-三羟基-3′-甲氧基-5,5′-二羧基联苯(OH-DDVA). 随后，该联苯结构的一个芳环被LigZ编码的双加氧酶在间位氧化断裂，并进一步经LigY介导的酶水解生成5-羧基香草酸. 5-羧基香草酸最终通过酶促脱羧转化为香草酸[24].

*β-β*模型化合物松脂醇完整的同化途径尚未阐明. 松脂醇还原酶PinZ可催化其醚键还原断裂生成落叶松脂醇，进一步还原为开环异落叶松脂醇[29]. 下游代谢产物可能为香草醛和香草酸等[23].

*β-1*模型化合物双愈创木基丙二醇(DGPD)具有苏式和赤式两种同分异构体，其分解途径略有不同. 苏式-DGPD的C_α羟基需先被LigD/LigL氧化为酮，再被LdpB/LdpC还原为赤式构型，实现立体反转[30]. 赤式-DGPD通过LsdE直接被转化为木质二苯乙烯中间体，随后类胡萝卜素加氧酶LsdA将其转化为两分子香草醛[31]. 工程化改造的恶臭假单胞菌可将赤式-DGPD转化为产物顺,顺-黏糠酸. 鞘氨醇单胞菌SYK-6中的转录因子LigS(SLG_35860)通过结合启动子序列抑制GGE与DGPD的代谢路径，但其效应物仍未知. 工程化LigS突变株合成2-吡喃酮-4,6-二羧酸(PDC)的速率较野生型提高1.5~6.0倍[32].

上述研究表明，木质素分解微生物的胞内多酶级联生物转化代谢有望将木质素衍生的芳香族二聚体生物转化为平台芳香族单体，这些单体可作为有价值产品的前体或细胞生长的合适碳源.

2 芳香木质素生物增值路径

芳香木质素高效转化为高值化学品是实现生物炼制经济性的关键. 面对木质素解聚得到的异质芳香混合物，微生物介导的“生物漏斗”途径通过将异质木质素衍生物转化为原儿茶酸、香草醛等平台化合物. 在此基础上，原子经济性官能化途径可直接利用木质素碳骨架合成香豆素、黄酮类等高价值天然产物，而芳香环开环途径则可进一步生成PHA、黏糠酸等聚合物前体[33]. 如表1所示，当前许多木质素基高值产物已实现其合成生物制造.

2.1 “生物漏斗”路线生产芳香平台化合物

恶臭假单胞菌和鞘氨醇单胞菌等木质素分解菌天然的“生物漏斗”途径，可分解由解聚产生的多种木质素衍生物，并生成统一的芳香平台化学品(图2). 这是克服木质素异质性有前景的解决方案，有底物广谱性和代谢收敛性[52]. 这一系统将木质素衍生的芳香族化合物汇入芳香酸、芳香醛或芳香烯等平台化合物.

生物漏斗途径通常将H型和G型木质素衍生化合物转化成原儿茶酸(PCA)，一种具有多种生物活性的有价值药物前体. 生物合成系统通过使木质素分解微生物中的PCA降解途径失活来积累PCA. 在恶臭假单胞菌中，通过敲除原儿茶酸3,4-双加氧酶基因*pcaHG*阻断降解路径，并采用多基因位点和多启动子驱动表达限速酶对羟基苯甲酸羟化酶(PobA)和香草酸脱甲氧基酶(VanAB)，成功构建染色体稳定的PCA1601工程菌株. 该菌株从木质素衍生物和真实木质素水解液分别高效合成17.5和2.35 g/L原儿茶酸，创造目前报道的最高产量纪录[35].

而由于木质素分解菌的脱甲基化性能较差, S型芳香衍生物的微生物代谢性能不理想. SYK-6中的丁香酸降解途径由依赖四氢叶酸的*O*-脱甲基酶DesA启动，生成3-甲基没食子酸. 随后被*O*-脱甲基酶LigM进一步*O*-脱甲基化，生成没食子酸. 这两种脱甲基酶区别于VanAB，不需要氧化还原即可进行脱甲基. 没食子酸是一种高附加值酚酸类化合物，具有较强抗氧化和多种生理活性，广泛应用于食品和医疗等领域. 通过敲除没食子酸降解酶、整合羟基化、脱甲基化和芳香侧链氧化模块至红球菌PD630中，实现了“一锅法”将H-, G-和S-木质素组分转化为没食子酸. 以碱处理木质素和碱裂解AFEX木质素为底物进行生物转化，分别获得了0.407和0.630 g/g木质素的没食子酸得率[53].

香草醛是食品、化妆品和医药领域中使用的最重要的芳香醛类化合物之一. 从木质素衍生物通过微生物合成香草醛，是当前生产工艺的潜在可持续替代方案. 通过系统代谢工程改造酿酒酵母，构建木质纤维素全组分协同转化的“超级细胞工厂”，实现从真实生物质原料到香兰素的高效合成[54]. 通过基于对羟基苯甲酸的路径重构、特异性启动子时序调控、整合位点

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2025-0204

表 1 木质素基高值产物的合成生物制造

Table 1 Synthetic biomanufacturing of high-value products derived from lignin

路线	产物	底物	菌株	策略	产率/产量	参考文献
生物漏斗路线	原儿茶酸	香草醛	鞘氨醇杆菌属SYK-6	敲除编码原儿茶酸降解酶的*ligB*基因	95%	[34]
		木质素衍生物、真实木质素水解液	恶臭假单胞菌	敲除原儿茶酸3,4-双加氧酶*pcaHG*基因; 多基因位点和多启动子驱动表达限速酶对羟基苯甲酸羟化酶PobA和香草酸脱甲氧基酶VanAB	分别为17.5, 2.35 g/L	[35]
		对香豆酸、阿魏酸	恶臭假单胞菌	动态共表达4-羟基苯甲酸羟化酶和香草酸-*O*-脱甲基酶关键限速酶、转运蛋白HcnK	12.7 g/L	[36]
		真实木质素预处理液	酿酒酵母	构建辅酶A依赖的非*β*-氧化“生物漏斗”途径; 异源基因拷贝数调控和四氢叶酸代谢调控模块整合	810 mg/L	[37]
	香草醛	真实生物质原料	酿酒酵母	基于对羟基苯甲酸的路径重构、特异性启动子时序调控、整合位点调控糖-木质素跨途径碳源竞争与糖基化盾牌破解香兰素糖苷水解	7476.5 mg/L	[38]
	4-乙烯基苯酚类化合物	木质素衍生单体	恶臭假单胞菌	重构内源代谢途径和异源表达酚酸脱羧酶; 开发双相萃取系统, “一锅法”实现木质素三类单体同步转化	4-乙烯基苯酚: 235.3 g/L 4-乙烯基愈创木酚: 203.0 g/L 4-乙烯基紫丁香酚: 35.8 g/L	[39]
原子经济功能化路线	秦皮素	阿魏酸及真实木质素水解液	酿酒酵母	构建表达东莨菪亭8-羟化酶和香豆素合酶的酿酒酵母工程菌株	阿魏酸: 19.1 mg/L 真实木质素水解液: 7.7 mg/L	[40]
	东莨菪亭	对香豆酸、阿魏酸	酿酒酵母	阿魏酰辅酶A 6′-羟化酶F6′H1和4-香豆酸辅酶A连接酶4CL在酿酒酵母中融合表达, 并采用$(Gly\text{-}Gly\text{-}Gly\text{-}Gly\text{-}Ser)_4$连接肽设计	4.79 mg/L	[41]
	伞形酮	酪氨酸	大肠杆菌	功能性表达AdPAL, Ad4CL和AdC2′H并经蛋白质工程引入突变	356.6 mg/L	[42]
	山柰酚、槲皮素	对香豆酸、咖啡酸	谷氨酸棒状杆菌	工程化谷氨酸棒状杆菌并通过异源表达双加氧酶基因	山柰酚: 23 mg/L 槲皮素: 10 mg/L	[43]
	高圣草酚	木质素衍生单体	酿酒酵母	增强乙酰辅酶A供应、抑制支路代谢、辅因子工程以及关键限速酶的理性设计	3.2 mmol/L	[44]
	(2*S*)-柚皮素	对香豆酸	酿酒酵母	基于RNA-Seq数据筛选66个酿酒酵母天然启动子库, 建立启动子强度定量表征体系, 并从中优选30个启动子精细调控对香豆酸至(2*S*)-柚皮素的合成途径	1.21 g/L	[45]
芳香环开环路线	2-吡喃酮-4,6-二羧酸	原儿茶酸	恶臭假单胞菌	敲除*pcaGH*基因阻断降解途径, 在Ptac启动子控制下引入异源*ligABC*	22.7 g/L	[46]
	β-酮己二酸	木质素衍生物	恶臭假单胞菌	通过*β*-酮己二酸琥珀酰辅酶A转移酶基因*PcaIJ*的敲除并强化PobA和VanAB	14.80 g/L	[47]
		对香豆酸、阿魏酸	恶臭假单胞菌	过表达*O*-脱甲基酶、羟基酶和开环途径酶, 删除全局转录因子Crc	44.5 g/L	[48]
	顺,顺-黏糠酸	己二酸	毕赤酵母	高通量筛选对尼龙前体己二酸高耐受的酵母菌库; 补料发酵	38.8 g/L	[49]
		木质素衍生芳烃	恶臭假单胞菌	开发脱甲基酶系统, 异源表达原儿茶酸脱羧酶和阻断顺,顺-粘康酸环异构酶基因*catBC*, 构建转化H, G, S全类型木质素单体合成黏糠酸的全新合成路径	46.51 mmol/L	[50]
	3-羟基辛酸酯单体	阿魏酸、辛酸	恶臭假单胞菌	敲除*phaZ*以阻断PHA降解途径、强化合成基因*pcaC1*及重构脂肪酸*β*-氧化途径; 前体调控与补料分批发酵策略	2.46 g/L	[51]

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2025-0204

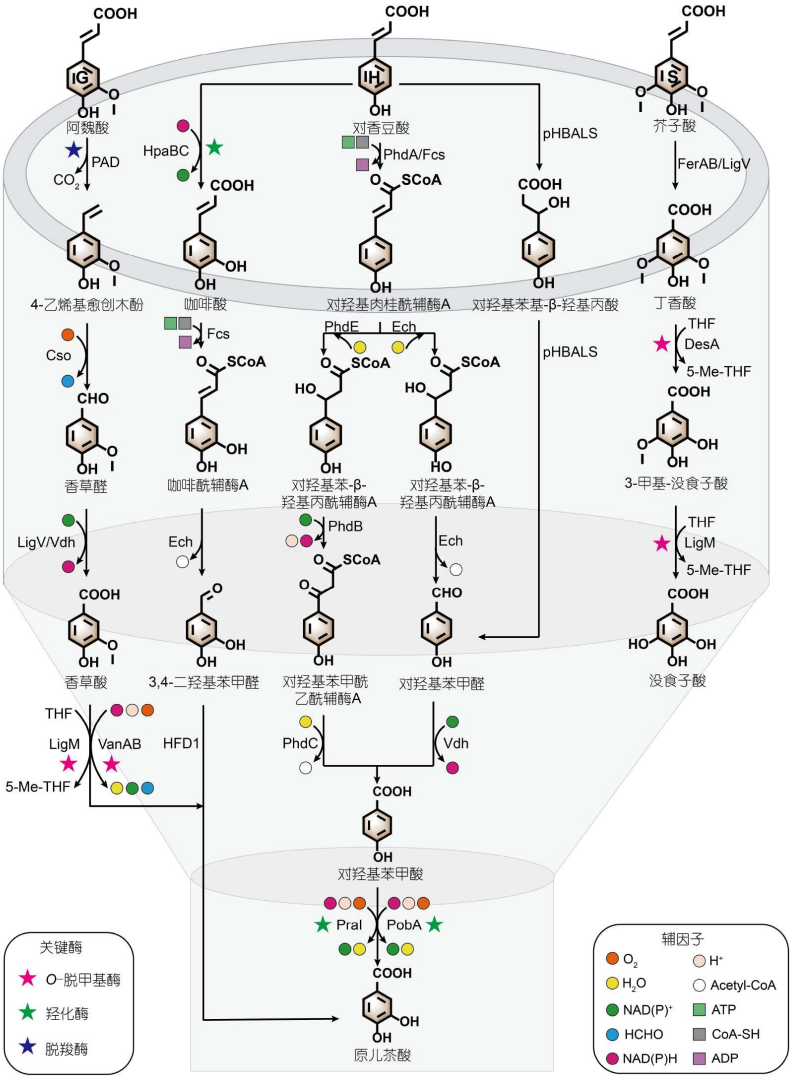


图 2　木质素“生物漏斗”路线生产芳香平台化合物. H型芳香族单体(如对香豆酸)可通过辅酶A依赖的*β*-氧化途径、CoA依赖的非*β*-氧化途径及CoA非依赖途径转化为原儿茶酸; G型芳香族单体(如阿魏酸)可通过非氧化脱羧途径转化为原儿茶酸; S型芳香族单体(如丁香酸)可转化为没食子酸. 路线中的*O*-脱甲基酶、羟化酶、和脱羧酶分别用梅红色、绿色和蓝色五角星标示. 辅助因子以靠近各酶的彩色圆点标示. PAD, 阿魏酸脱羧酶; Cso2, 类胡萝卜素裂解加氧酶; LigV/Vdh, 香草醛脱氢酶; VanAB, 香草酸*O*-脱甲基酶; LigM, 香草酸*O*-脱甲基酶; HpaBC, 4-羟基苯乙酸3-单加氧酶; Fcs, 酰基-辅酶A合成酶; Ech, 烯酰辅酶A水合酶; HFD1, 十六烯醛脱氢酶; PhdA, 对羟基肉桂酰-辅酶A合成酶; PhdB, 3-羟基酰基-辅酶A脱氢酶; PhdC, 3-氧代酰基-辅酶A酮水解酶; PhdE/Ech, 烯酰辅酶A水合酶; Vdh, 香草醛脱氢酶; PraI/PobA, 对羟基苯甲酸羟化酶; pHBALS, 对羟基苯甲醛合成酶; FerA, 阿魏酰-辅酶A合成酶; FerB, 阿魏酰-辅酶A水合酶/裂合酶; LigV, 香草醛脱氢酶; DesA, *O*-脱甲基酶; LigM, 香草酸/3-O-甲基没食子酸*O*-脱甲基酶

Figure 2　Biological funneling routes of lignin for producing aromatic platform compounds. H-type aromatic monomers (e.g., *p*-coumaric acid) can be converted into protocatechuic acid through three pathways: the CoA-dependent *β*-oxidation pathway, the CoA-dependent non-*β*-oxidation pathway, and the CoA-independent pathway. G-type aromatic monomers (e.g., ferulic acid) can be transformed into protocatechuic acid via the non-oxidative decarboxylation pathway. S-type aromatic monomers (e.g., syringic acid) can be converted into gallic acid. In the pathways, *O*-demethylases, hydroxylases, and decarboxylases are marked with magenta, green, and blue pentagrams, respectively. Cofactors are indicated by colored dots adjacent to the corresponding enzymes. PAD, ferulic acid decarboxylase; Cso2, carotenoid cleavage oxygenase; LigV/Vdh, vanillin dehydrogenase; VanAB, vanillate *O*-demethylase; LigM, vanillate *O*-demethylase; HpaBC, 4-hydroxyphenylacetate 3-monooxygenase; Fcs, acyl-CoA synthetase; Ech, enoyl-CoA hydratase; HFD1, hexadecenal dehydrogenase; PhdA, *p*-hydroxycinnamoyl-CoA synthetase; PhdB, 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase; PhdC, 3-oxoacyl-CoA thiolase; PhdE/Ech, enoyl-CoA hydratase; Vdh, vanillin dehydrogenase; PraI/PobA, p-hydroxybenzoate hydroxylase; pHBALS, *p*-hydroxybenzaldehyde synthase; FerA, feruloyl-CoA synthetase; FerB, feruloyl-CoA hydratase/lyase; LigV, vanillin dehydrogenase; DesA, *O*-demethylase; LigM, vanillate/3-*O*-methylgallate *O*-demethylase

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2025-0204

调控糖-木质素跨途径碳源竞争与糖基化盾牌破解香兰素糖苷水解，5 L发酵罐得到香草醛糖苷达7476.5 mg/L(折合香兰素3619.4 mg/L)，原位发酵报道最高水平，为生物质高值化利用和天然香兰素绿色制造提供突破性解决方案[38].

4-乙烯基苯酚及其衍生物，是广泛用于聚合物制造的芳香烯类重要前体. 通过相应羟基肉桂酸(如对香豆酸和阿魏酸)的一步脱羧反应生物合成4-乙烯基苯酚及其衍生物，为当前方法提供经济可持续的替代方案[55]. 在恶臭假单胞菌中重构内源代谢途径和异源表达酚酸脱羧酶, 构建高效微生物细胞工厂, 通过原子经济性路线将木质素衍生物转化为4-乙烯基苯酚类化合物. 开发双相萃取系统成功解除产物抑制, “一锅法”实现木质素三类单体同步转化为4-乙烯基苯酚(235.3 g/L)、4-乙烯基愈创木酚(203.0 g/L)和4-乙烯基紫丁香酚(35.8 g/L)的创纪录产量，为木质素高值化利用和生物基高分子材料开发提供突破性解决方案[39]. 通过在谷氨酸棒杆菌等宿主中高效表达酚酸脱羧酶，开发了基于十一醇覆盖层的原位萃取技术，实现从木质素提取的对香豆酸酶法转化4-乙烯基苯酚，其中谷氨酸棒杆菌体系从木质素提取的对香豆酸中以73%的产率生产17 g/L的4-乙烯基苯酚[56]. 这些研究成果表明, 通过采用“生物漏斗”路径的新型工程策略，可充分利用微生物的代谢能力实现芳香族平台化学品的高效合成.

2.2 原子经济功能化路线合成芳香天然产物

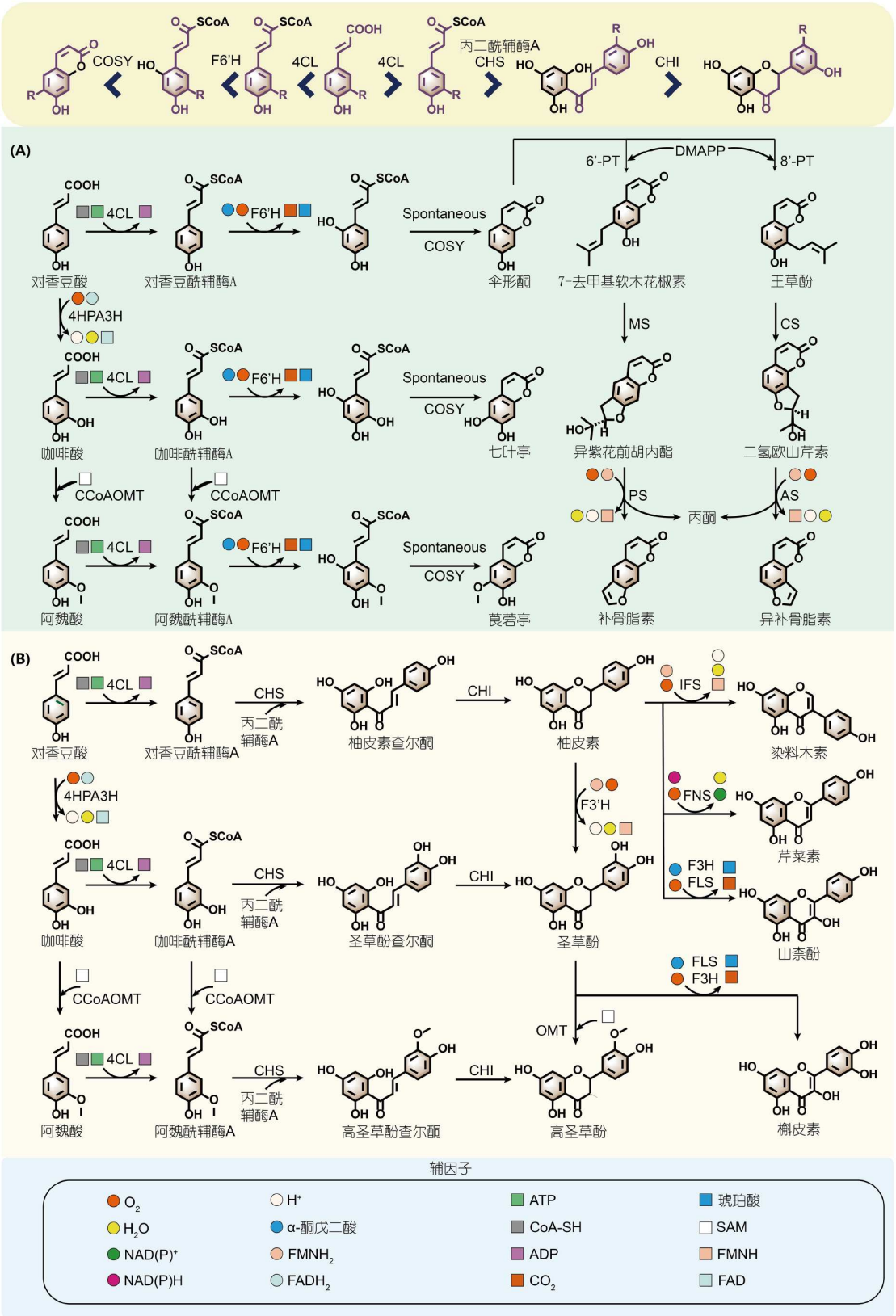
木质素在生物活性化合物中具有显著的芳香性, 在结构上与香豆素、黄酮类等众多高价值芳香天然产物高度契合. 这一固有特性推动了生产芳香天然产物的原子经济性转化途径的研究. 木质素中存在的芳香基团可通过原子经济性官能化途径作为香豆素和黄酮类等芳香天然产物的起始前体(图3). 该路径最大限度地利用木质素碳骨架, 避免冗长的从头合成步骤, 显著提升转化效率和原子经济性.

香豆素是一类具有2H-1-苯并吡喃-2-酮母核的天然产物，其芳香环上常带有羟基、甲氧基或异戊烯基取代基. 这类化合物可直接通过木质素衍生的对香豆酸和阿魏酸经酰化、羟基化和自发内酯化等功能化路径合成[57]. 对香豆酸辅酶A连接酶(4CL)在香豆素生物合成中起关键作用: 羟基肉桂酸首先在ATP存在下转化为腺苷酸中间体, 随后被烟草中的Nt4CL2亚型转化为硫酯形式，该酶具有腺苷酸形成和硫酯形成两种构象[58]. 2-酮戊二酸依赖的双加氧酶(2OGDs)家族如对香豆酰辅酶A 2′-羟化酶(C2′H)和阿魏酰辅酶A 6′-羟化酶(F6′H), 具有不同的底物亲和力, 可催化邻位羟基化反应[59]. 例如, 拟南芥中的AtF6′H1仅催化阿魏酰辅酶A的邻位羟基化，而芸香中的RtC2′H是能同时催化对香豆酰辅酶A和阿魏酰辅酶A邻位羟基化的双功能酶[60]. 拟南芥中发现的一种能够介导反式-顺式异构化和内酯化的香豆素合成酶，该过程未必如先前认为的那样是自发的, 这为香豆素提供新的生物合成方案[61].

从木质素衍生物进行香豆素的微生物合成已通过合成生物学策略取得很大进展. 通过构建表达东莨菪亭8-羟化酶(S8H)和香豆素合酶(COSY)的酿酒酵母工程菌株，首次实现从阿魏酸及真实木质素水解液高效合成秦皮素，产量分别达到19.1和7.7 mg/L[40]. 将阿魏酰辅酶A 6′-羟化酶F6′H1和4-香豆酸辅酶A连接酶4CL在酿酒酵母中融合表达，采用$(Gly\text{-}Gly\text{-}Gly\text{-}Gly\text{-}Ser)_4$连接肽设计使东莨菪亭产量提升3.3倍，并实现阿魏酸和对香豆酸协同转化及真实木质素水解液高效利用得到4.79 mg/L东莨菪亭，为木质素高值化转化香豆素类化合物提供突破性解决方案[41]. 通过对当归中伞形酮合成相关基因的RNA测序分析，在大肠杆菌中成功功能性表达AdPAL，Ad4CL和AdC2′H，经蛋白质工程引入突变后，伞形酮产量提高至356.6 mg/L[42]. 然而，由于4CL, F6′H和C3H编码的关键酶活性低且不稳定, 底盘菌株与异源酶的兼容性, DMAPP等前体的供应也影响香豆素的异源合成效率. 基因组挖掘、蛋白质工程和动态调控网络等有望提高酶催化效率，指导香豆素的生物合成.

黄酮类作为最大的植物次生代谢物家族，具有抗氧化、抗炎和抗癌等独特生物活性[62]. 通过酰化、克莱森缩合、环化和羟基化等功能化路线可实现从木质素衍生物微生物合成黄酮类化合物[62]. 查尔酮合成酶(CHS)催化合成柚皮素查尔酮是黄酮类合成的第一个限速步骤，该酶具有底物混杂性且选择性和催化效率较低; 第二个限速步骤是查尔酮异构酶(CHI)介导查尔酮的分子内立体特异性环化，其中Ⅰ型CHI仅异构化柚皮素查尔酮, 而Ⅱ型CHI可催化多种底物[63]. 细胞色素P450家族酶或几种抗坏血酸依赖性羟化酶通过羟基化在黄酮骨架上引入羟基，形成多样化的黄酮类化合物[64].

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2025-0204



https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2025-0204

图 3 木质素原子经济功能化路线合成芳香天然产物. 利用木质素固有的芳香特性, 将木质素单体转化为芳香族天然产物. A: 人工构建的微生物使木质素衍生物通过酰化、羟基化以及内酯化反应生成香豆素; B: 人工构建的微生物使木质素衍生物通过酰化、克莱森缩合、幻化及羟基化反应生成黄酮类化合物. 酶催化过程中辅因子的利用通过靠近各酶的彩色圆点和彩色方框标示. 4CL, 4-香豆酸辅酶A连接酶; F6′H, 阿魏酰辅酶A6′-羟化酶; COSY, 香豆素合成酶; CHI, 查尔酮异构酶; CHS, 查尔酮合成酶; DMAPP, 异戊烯基焦磷酸; 6′-PT, 6′-异戊烯基转移酶; 8′-PT, 8′-异戊烯基转移酶; 4HPA3H, 4-羟基苯乙酸3-羟化酶; CCoAOMT, 咖啡酰辅酶A *O*-甲基转移酶; MS, 异紫花前胡素合成酶; PS, 补骨脂素合成酶; CS, 二氢欧山芹醇合成酶; AS, 补骨脂素合成酶; F3′H, 黄酮3′-羟化酶; OMT, *O*-甲基转移酶; IFS, 异黄酮合成酶; FNS, 黄酮合成酶; F3H, 黄烷酮3-羟化酶; FLS, 黄酮醇合成酶

Figure 3 Atom-economic functionalization routes of lignin for synthesizing aromatic natural products. By utilizing the inherent aromatic characteristics of lignin, lignin monomers are converted into aromatic natural products. A: Engineered microorganisms enable lignin derivatives to undergo acylation, hydroxylation, and lactonization reactions to produce coumarins; B: engineered microorganisms facilitate the conversion of lignin derivatives through acylation, Claisen condensation, cyclization, and hydroxylation reactions to generate flavonoids. The utilization of cofactors in enzymatic catalysis is indicated by colored dots and squares adjacent to the corresponding enzymes. 4CL, 4-coumarate-CoA ligase; F6′H, feruloyl-CoA 6′-hydroxylase; COSY, coumarin synthase; CHI, chalcone isomerase; CHS, chalcone synthase; DMAPP, dimethylallyl pyrophosphate; 6′-PT, 6′-prenyltransferase; 8′-PT, 8′-prenyltransferase; 4HPA3H, 4-hydroxyphenylacetate 3-hydroxylase; CCoAOMT, caffeoyl-CoA *O*-methyltransferase; MS, marmesin synthase; PS, psoralen synthase; CS, columbianetin synthase; AS, angelicin synthase; F3′H, flavonoid 3′-hydroxylase; OMT, *O*-methyltransferase; IFS, isoflavone synthase; FNS, flavone synthase; F3H, flavanone 3-hydroxylase; FLS, flavonol synthase

利用对香豆酸、咖啡酸和阿魏酸等木质素衍生前体在模式生物中进行黄酮类生物合成已有较多研究. 工程化谷氨酸棒状杆菌从对香豆酸和咖啡酸合成(2*S*)-黄烷酮柚皮素和芪类白藜芦醇的核心结构, 再通过异源表达双加氧酶基因合成23 mg/L山柰酚和10 mg/L槲皮素[43]. 在酿酒酵母中构建木质素衍生单体向高圣草酚的生物转化, 通过增强乙酰辅酶A供应、抑制支路代谢、辅因子工程以及关键限速酶的理性设计, 最终实现3.2 mmol/L的最高产量, 为木质素芳香性的高值化利用及黄酮类天然产物的绿色制造提供原子经济性新路径[44]. 基于RNA-Seq数据筛选的66个酿酒酵母天然启动子库, 建立启动子强度定量表征体系, 并从中优选30个启动子精细调控对香豆酸至(2*S*)-柚皮素的合成途径, 最终在5 L生物反应器中实现1.21 g/L的(2*S*)-柚皮素产量[45].

木质素衍生的羟基肉桂酸作为关键分支节点, 为黄酮类微生物合成提供重要前体来源. 但要获得高产率, 需对CHS和CHI这两种限速酶进行工程改造以提高催化选择性和活性. 其他功能酶的异源表达面临代谢工程挑战, 需借助合成生物学和蛋白质工程工具等新兴技术进行酶分子改造. 黄酮类合成途径复杂, 涉及多种中间产物, 因此识别潜在瓶颈和关键分支点至关重要, 如将代谢通量引导向柚皮素可显著促进黄酮类合成. 此外, 开发潜在木质素衍生物作为前体对调控和促进芳香天然产物的微生物合成至关重要, 构建S型衍生物的代谢途径可为微生物细胞生长提供额外碳源, 从而提升天然产物合成效率.

2.3 芳香环开环路线生产高附加值产品

部分微生物物种已进化出固有的芳香环开环途径, 可将“生物漏斗”产生的原儿茶酸和儿茶酚等中心平台化合物代谢生成二元羧酸、生物塑料等高价值产品(图4). 邻苯二酚双加氧酶是木质素开环路线的关键酶. 最普遍的芳香环开环途径是由邻位双加氧酶介导的*β*-酮己二酸途径, 而部分细菌则通过间位双加氧酶介导的辅酶A依赖性非*β*-氧化途径催化芳香环开环[65,66].

多种微生物已实现通过芳香环开环途径高效合成各类高值产物. 2-吡喃酮-4,6-二羧酸(PDC)作为一种含有吡喃环的化学稳定的拟芳香二元羧酸, 是生物可降解聚酯材料合成的关键单体. 通过多拷贝整合、共表达血红蛋白及动态代谢调控多策略协同优化构建了高效大肠杆菌细胞工厂, 实现了葡萄糖合成PDC. 补料分批发酵条件下, 78小时产量达129.37 g/L, 摩尔产率0.528 mol/mol, 平均生产率1.65 g/(L h)[67]. 现有研究为木质素衍生化合物应用于新型聚酯材料合成提供了突破性解决方案. *β*-酮己二酸作为芳香环开环途径的关键中间体, 其微生物合成技术为聚酯制造提供新途径. 通过*β*-酮己二酸琥珀酰辅酶A转移酶基因*PcaIJ*的敲除并强化*PobA*和*VanAB*, 工程菌株HE65分别转化混合木质素衍生物和组合预处理木质素合成14.80和2.48 g/L的*β*-酮己二酸[47]. 通过表达*O*-去甲基化、羟基化和开环途径的酶, 删除全局转录因子Crc, 得到的工程化恶臭假单胞菌KT2440, 实现对香豆酸和阿魏酸高效转化为*β*-酮己二酸. 产量最高达44.5 g/L, 其1.15 g/(L h)的生

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2025-0204

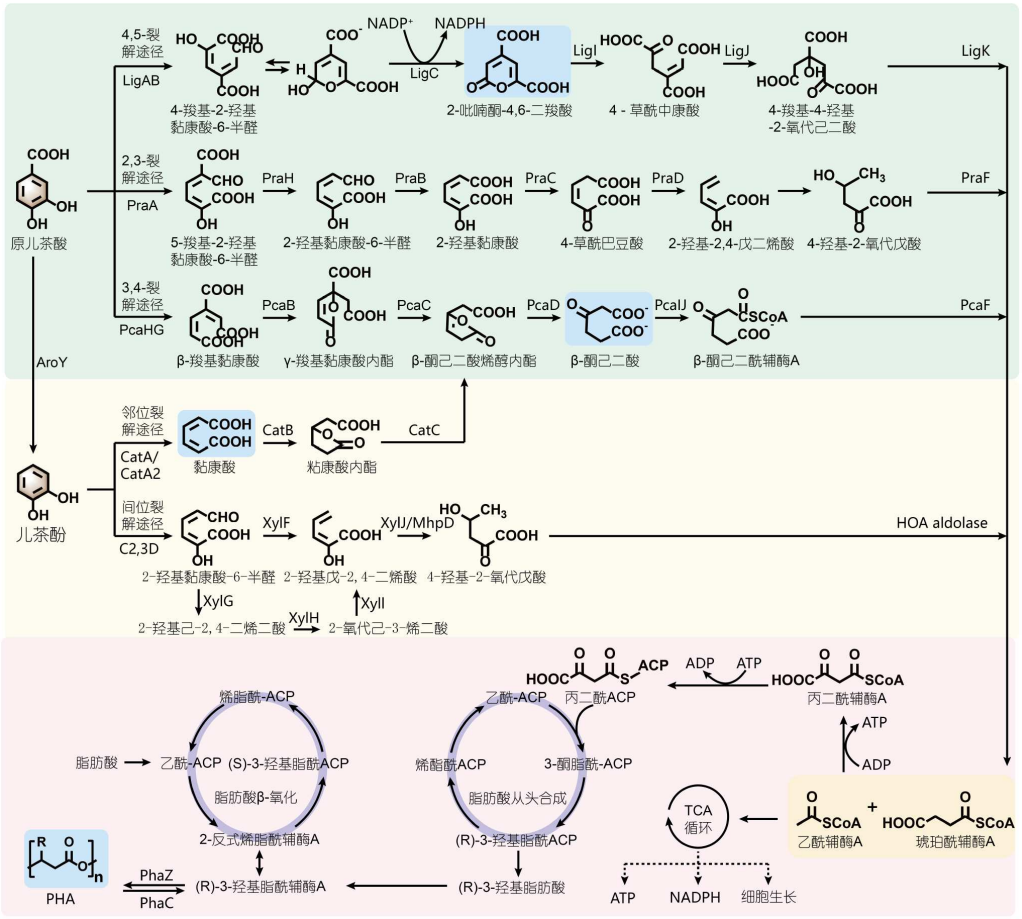


图 4　木质素芳香环开环路线生产高附加值产品. 利用特定微生物固有的木质素分解能力, 通过芳香环开环途径将异质性木质素衍生物转化为生物塑料及其他高价值化学品. 原儿茶酸的芳香环裂解途径包括4,5-裂解途径、2,3-裂解途径和3,4-裂解途径. 原儿茶酸的裂解途径以绿色底纹标示. 邻苯二酚的邻位裂解途径包括邻位裂解途径和间位裂解途径, 以黄色底纹标示. 其他重要化学品包括2-吡喃酮-4,6-二羧酸、*β*-酮己二酸、黏糠酸、PHA以蓝色底纹标示. LigAB, 原儿茶酸4,5-双加氧酶; LigC, 4-羧基-2-羟基黏糠酸-6-半醛脱氢酶; LigI, 2-吡喃酮-4,6-二羧酸水解酶; LigJ, 4-草酰间康酸水合酶; LigK, 4-羧基-4-羟基-2-氧代己二酸醛缩酶; PraA, 原儿茶酸2,3-双加氧酶; PraH, 5-羧基-2-羟基黏糠酸-6-半醛脱羧酶; PraB, 2-羟基黏糠酸-6-半醛脱氢酶; PraC, 4-草酰巴豆酸互变异构酶; PraD, 4-草酰巴豆酸脱羧酶; PraF, 4-羟基-2-氧代戊酸醛缩酶; PcaHG, 原儿茶酸3,4-双加氧酶; PcaB, 3-羧基-顺,顺-黏糠酸环异构酶; PcaC, 4-羧基黏糠酸内酯脱羧酶; PcaD, 3-氧代己二酸烯醇内酯酶; PcaIJ, 3-氧代己二酸辅酶A转移酶; PcaF, 4-羟基-2-氧代戊酸醛缩酶; AroY, 原儿茶酸脱羧酶; CatA/CatA2, 邻苯二酚1,2-双加氧酶; CatB, 顺,顺-黏糠酸环异构酶; CatC, 黏糠酸环异构酶; C2,3D, 邻苯二酚2,3-双加氧酶; XylF, 2-羟基黏糠酸半醛水解酶; XylJ/MhpD, 2-氧代戊-4-烯酸水合酶; XylG, 2-羟基黏糠酸半醛脱氢酶; XylH, 2-羟基黏糠酸互变异构酶; XylI, 2-氧代-3-己烯二酸脱羧酶; HOA aldolase, 4-羟基-2-氧代戊酸醛缩酶

Figure 4　Aromatic ring-opening routes of lignin for producing high-value products. Utilizing the inherent lignin-degrading capabilities of specific microorganisms, heterogeneous lignin derivatives can be converted into bioplastics and other high-value chemicals through aromatic ring-opening pathways. The aromatic ring cleavage pathways of protocatechuic acid include the 4,5-cleavage pathway, 2,3-cleavage pathway, and 3,4-cleavage pathway, highlighted with green shading. The catechol cleavage pathways consist of the ortho-cleavage pathway and meta-cleavage pathway, marked with yellow shading. Other important chemicals, including 2-pyrone-4,6-dicarboxylic acid, *β*-ketoadipic acid, muconic acid, and PHA, are indicated with blue shading. LigAB, protocatechuate 4,5-dioxygenase; LigC, 4-carboxy-2-hydroxymuconate-6-semialdehyde dehydrogenase; LigI, 2-pyrone-4,6-dicarboxylate hydrolase; LigJ, 4-oxalomesaconate hydratase; LigK, 4-carboxy-4-hydroxy-2-oxoadipate aldolase; PraA, protocatechuate 2,3-dioxygenase; PraH, 5-carboxy-2-hydroxymuconate-6-semialdehyde decarboxylase; PraB, 2-hydroxymuconate-6-semialdehyde dehydrogenase; PraC, 4-oxalocrotonate tautomerase; PraD, 4-oxalocrotonate decarboxylase; PraF, 4-hydroxy-2-oxovalerate aldolase; PcaHG, protocatechuate 3,4-dioxygenase; PcaB, 3-carboxy-cis,cis-muconate cycloisomerase; PcaC, 4-carboxymuconolactone decarboxylase; PcaD, 3-oxoadipate enol-lactonase; PcaIJ, 3-oxoadipate CoA-transferase; PcaF, 4-hydroxy-2-oxovalerate aldolase; AroY, protocatechuate decarboxylase; CatA/CatA2, catechol 1,2-dioxygenase; CatB, cis,cis-muconate cycloisomerase; CatC, muconate cycloisomerase; C2,3D, catechol 2,3-dioxygenase; XylF, 2-hydroxymuconic semialdehyde hydrolase; XylJ/MhpD, 2-oxopent-4-enoate hydratase; XylG, 2-hydroxymuconic semialdehyde dehydrogenase; XylH, 2-hydroxymuconate tautomerase; XylI, 2-oxo-3-hexenedioate decarboxylase; HOA aldolase, 4-hydroxy-2-oxovalerate aldolase

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2025-0204

产速率和2.01美元/千克的最低预估售价，标志着木质素高值化转化达到工业化竞争力水平[48]. 顺,顺-黏糠酸(CCMA)因其可作为尼龙、聚酯和聚氨酯前体而在木质素生物转化领域备受关注. 通过开发脱甲基酶系统，异源表达原儿茶酸脱羧酶(AroY)和阻断黏糠酸环异构酶基因(*catBC*)，构建了转化H，G和S全类型木质素单体合成黏糠酸的全新合成路径. 引入辅助蛋白EcdB、辅因子工程和共底物发酵策略提高黏糠酸生成效率并减少中间产物积累，最终生成46.51 mmol/L的黏糠酸，摩尔得率为96.9%[50]. 芳香环开环途径具有高原子经济型，可生成具有特定功能的可再生聚合物前体，但部分工程菌株对原料和产物的耐受性仍较差，产物产率仍然较低. 适应性进化、全集调控改造和发酵优化开发等策略可加快木质素全组分高值化利用.

PHA的生物降解性和生物相容性使其成为绿色生物塑料和其他生物材料的优质前体，逐步运用于包装和医疗等领域[68]. 与其他菌种相比，假单胞菌属展现出芳香代谢稳定性和优异的PHA合成能力，是将木质素生物转化为PHAs的理想候选[69]. 通过敲除*phaZ*以阻断PHA降解途径、强化合成基因*pcaC1*及重构脂肪酸*β*-氧化途径，结合前体调控与补料分批发酵策略，工程化恶臭假单胞菌成功实现木质素高效转化为高均一性PHA，生产出2.46 g/L的91.4%3-羟基辛酸酯单体[51]. 为进一步提升PHA合成效率，需要明确适合于生物转化的木质素衍生物特性，并开发相应木质素解聚新方法. 恶臭假单胞菌在缺乏辅助能源时无法分解S型衍生物，因此需设计代谢途径和发酵策略以实现三类木质素的完全转化. 另外，识别和优化关键酶的催化效率、增强菌株对木质素降解物毒性的耐受性，仍是推动木质素基PHA工业化生产的关键挑战.

“生物漏斗”途径将异质性木质素衍生物转化为统一的芳香平台化合物时，芳香木质素衍生物底物、中间代谢物和酚醛等芳香产物通常对微生物细胞具有较强毒性，抑制细胞生长的同时阻碍高浓度底物的转化效率. 另外脱甲基效率低仍是突破其异质性的核心障碍. 当前亟需通过挖掘并设计新型高效脱甲基酶资源与构建芳香化合物高耐受工程菌株来破解这一难题. 原子经济功能化路线在合成香豆素和黄酮类等高价值天然产物中，相比于传统从头合成路径显著提升碳利用效率. 但其合成仍面临着关键酶催化效率低、特异性不足和辅因子依赖性强等瓶颈. 芳环开环路径虽能实现木质素碳骨架向PHA等大宗化学品的转化，但其开环分支的复杂代谢和加氧酶的效率影响着单一高附加值产物的生产. 总之，三类路径各具优势和瓶颈，但也面临着保持路径高通量的同时维持细胞生长鲁棒性、从实验室走向产业化等共性挑战. 当前合成生物学与人工智能或许为这些瓶颈问题提供潜在的解决方案.

3 合成生物学与人工智能赋能木质素生物增值

木质素的生物增值面临着天然代谢途径复杂性与宿主资源分配失衡等挑战. 合成生物学与人工智能为突破这一瓶颈提供全新范式(图5). 分子生物学提供强大的工具包，可在基因组水平上稳定重编程宿主细菌的遗传特性. 通过酶工程对关键酶进行精确调控有望促进木质素芳香环的激活. 基因组尺度代谢模型的精准预测以及机器学习驱动的途径优化使木质素的高效生物转化正迈向理性设计时代. 这些集成策略共同为设计用于木质素增值的高效细胞工厂提供系统框架，推动木质素定向转化，为可持续生物基经济的发展注入革新动力.

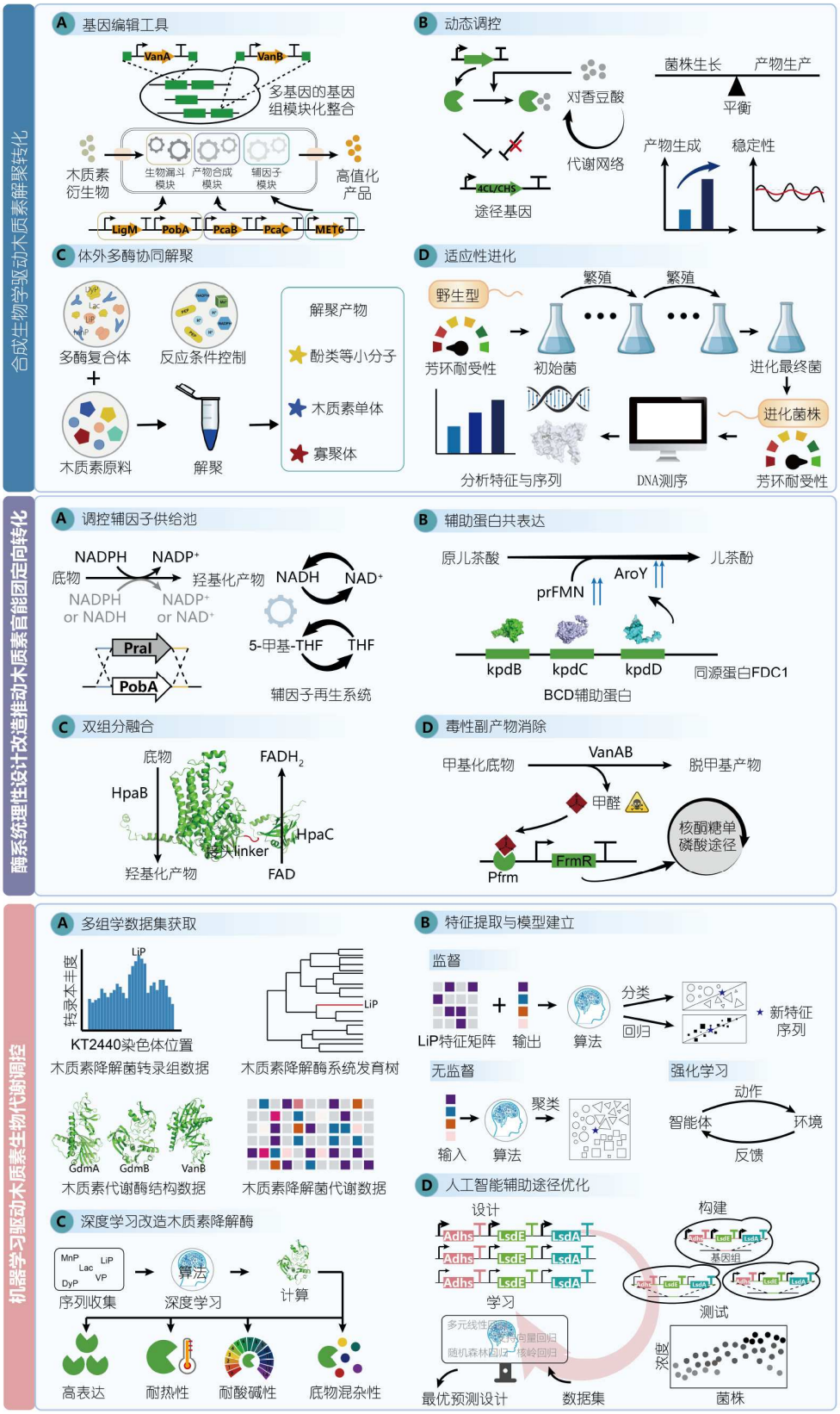
3.1 合成生物学驱动木质素生物解聚转化

合成生物学凭借强大的综合性技术平台，实现工程菌株构建与代谢调控，开发多维度系统优化策略，推动木质素生物转化向工业规模应用发展.

合成生物学指导下的新发现及工程菌株的构建与途径的理性优化设计，可促进木质素解聚与转化并提升木质素生物利用度. 例如，通过两阶段筛选策略，从土壤中分离出4种高效木质素降解菌，成功实现木质素衍生芳香化合物向PHA的高效转化[70]. 通过构建工程化恶臭假单胞菌，结合前体调控与补料分批发酵策略，成功实现木质素高效转化为高均一性PHA[51]. 通过异源基因拷贝数调控和四氢叶酸代谢调控模块整合，实现了从对香豆酸和阿魏酸高效合成平台化合物原儿茶酸. 酿酒酵母工程菌株从实际木质素预处理液中生产810 mg/L原儿茶酸，为木质素高值化利用提供可持续的生物转化策略[37].

异质芳香族化合物的“漏斗化”需要平衡多条代谢

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2025-0204



https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2025-0204

图 5 合成生物学与人工智能赋能木质素生物增值. 基因编辑、动态调控、体外多酶协同解聚和适应性进化等合成生物学策略, 通过设计构建新型生物系统, 驱动木质素的解聚与转化. 调控辅因子供给池、辅助蛋白共表达、双组分融合和毒性副产物消除等酶系统理性手段精准推动木质素功能基团的定向转化, 从而实现其高值化利用并减少副产物的生成. 多组学数据集收集、特征提取与模型建立、深度学习改造木质素降解酶和人工智能辅助途径优化等机器学习技术提升生物催化过程的效率和可控性, 驱动木质素生物代谢调控

Figure 5 Synthetic biology and artificial intelligence empower lignin biovalorization. Synthetic biology strategies including gene editing, dynamic regulation, multi-enzyme synergistic depolymerization *in vitro*, and adaptive evolution drive lignin depolymerization and conversion through the design and construction of novel biological systems. Rational approaches for enzyme system optimization, such as regulating cofactor supply pools, co-expressing auxiliary proteins, two-component fusion, and eliminating toxic byproducts, precisely promote the directional transformation of lignin functional groups, thereby achieving its high-value utilization while reducing byproduct formation. Machine learning technologies including multi-omics data collection, feature extraction and model establishment, deep learning-based modification of lignin-degrading enzymes, and AI-assisted pathway optimization enhance the efficiency and controllability of biocatalytic processes, facilitating the metabolic regulation of lignin bioconversion

途径以生成特定产物. 利用合成生物学持续开发基因工具以优化天然或异源途径设计, 可助力微生物完全转化异质芳香族化合物[69,71]. 深入挖掘并理解微生物代谢机制, 有效设计和调控生物系统, 使碳通量最大化流向目标产物[72,73]. 例如, 针对活性低或表达量不足的关键酶, 如细胞色素P450家族, 通过蛋白质工程改造可提升其特异性、活性和表达效率[19]. 已鉴定的多功能细胞色素P450酶可高效催化愈创木酚及多种木质素衍生单体的脱甲基化[74], 而结构导向的蛋白质工程改造后得到的GcoA-F169A变体, 可使微生物利用并代谢丁香酚[75].

基于合成生物学的多维度系统优化策略可提升微生物细胞工厂的产物合成性能. 例如, 通过耐受性适应性进化策略可快速提高宿主菌株对芳香族底物、产物及不利环境的耐受性[76]. 在木质素生物转化反应中, 辅因子和溶解度等因素也可能限制酶活性和反应效率. 系统生物学工具可进一步识别并优化辅因子再生路径, 维持氧化还原平衡[77,78]. 通过重构木质素单体代谢途径和重导向碳通量, 可平衡细胞生长、消除竞争途径并生产目标产物, 设计用于木质素生物转化的新型微生物细胞工厂[79,80]. 开发双相发酵和大孔树脂在线分离等策略可提升产物合成产量[81]. 此外, 木质纤维素拆分与木质素的生物可用性, 木质素解聚、芳香族代谢和产物合成等多步级联过程, 每个环节需与整个转化链条协同. 例如, 针对木质素三组分解构-拆分-转化协同性差, 通过建立木质素原位增溶策略并与“即插即用木质素转化(PIPOL)”框架时空耦合, 推动生物质三组分可持续协同生物转化. 基于合成生物学驱动的假单胞菌的构建, 最大PHA产量达4.5 g/L, 最低售价降至6.18美元/千克[82]. 综合这些技术策略将显著提升木质素生物转化效率, 实现可持续木质素增值利用.

3.2 酶系统理性推动木质素功能基团定向转化

木质素衍生物生物转化过程高度依赖*O*-脱甲基酶、羟化酶和脱羧酶三种关键酶[83]. 理解这些酶的催化机制、酶学性质及合理调控策略, 对优化木质素增值至关重要. 基于催化反应的特异性, 采取增加辅因子供给和增强酶活性的“加法”策略以及减少副产物积累和消除反馈抑制等“减法”策略是优化关键酶催化性能的有效策略.

O-脱甲基酶的系统优化聚焦于毒性副产物管理与辅因子平衡. 微生物可通过四类酶进行*O*-脱甲基反应, 即Rieske非血红素铁加氧酶(ROs)、细胞色素P450 (CYP450s)、四氢叶酸(THF)依赖性脱甲基酶和真菌来源的短链多酚氧化酶[83,84]. 对于氧化型脱甲基酶(ROs/CYP450s), 强化核酮糖单磷酸途径(RuMP)可有效解除催化产生的甲醛毒性制约, 调控*O*-脱甲基酶的催化活性[85]. 如增强RuMP途径的工程化恶臭假单胞菌KT2440以乙醇辅助解聚的木质素为底物时, 原儿茶酸产量达6.73 mg/mL, 提升49.2%, 细胞生长稳定性显著改善[86]. 目前已开发出多种响应甲醛的生物传感器, 有望动态调控*O*-脱甲基酶和甲醛同化途径酶的表达水平[85,87]. 同时, 构建NADH与所需辅因子再生系统是维持电子传递效率的关键. 在大肠杆菌中耦合香草酸*O*-脱甲基酶(VanAB)、甲酸脱氢酶和NADH再生系统, 实现甲醛同步消除与辅因子循环, 使原儿茶酸产率增至84.4%, 生物催化剂的最高滴度达到4.1 mmol/L[88]. 在酿酒酵母中过表达内源甲硫氨酸合成酶MET6和双歧根瘤Ndbn-20来源的MetF1, 并敲除竞争基因*MHT1*和*SAM4*, 以最大化THF的可及性, 使原儿茶酸产量达33 mg/L[37].

催化木质素衍生物羟基化的酶主要是黄素单加氧酶, 其性能提升依赖于持续供给的NAD(P)H与双组分相互作用. 恶臭假单胞菌KT2440中将严格依赖

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2025-0204

NADPH的内源PobA替换为同时接受NADH和NADPH的Pral后，12小时内4-羟基苯甲酸积累减少50%，最终黏糠酸产量达40 g/L，产率100%[89]. 针对双组分羟化酶HpaBC，通过柔性连接肽$(GGGGS)_3$构建融合蛋白，协调组分之间的相互作用，使酿酒酵母中羟基苯甲醛羟基化为原儿茶醛滴度达0.78 mmol/L，较对照菌株增加超过100%[54]. 构建FADH2再生系统和NADH再生系统，也可促进HpaBC催化的芳香族羟基化反应[90,91].

辅助蛋白共表达与辅因子合成策略被应用于增强脱羧酶的活性. 非氧化型UbiD家族中阿魏酸脱羧酶(FDC1)的合成需要辅因子异戊烯基黄素(prFMN)，该辅因子由苯丙烯酸脱羧酶PAD1利用二甲基烯丙基焦磷酸原位合成[92,93]. 研究发现，原儿茶酸脱羧酶的功能发挥依赖操纵子内BCD辅助蛋白. 蛋白共表达使黏糠酸滴度、产率和生产力提升3倍，滴度至4.92 g/L[94].

木质素生物炼制的未来在于定制化酶系统的智能化构建. 这一目标的实现需要针对关键酶特定催化特性，系统性地整合副产物消除、辅因子再生系统构建等多种优化策略，提升关键酶的催化效率. 随着生物技术的不断进步，我们对木质素代谢酶的认识不断深化，这为开发多维度、精准化的酶工程策略奠定坚实基础.

3.3 机器学习驱动木质素生物代谢调控

机器学习凭借其强大的数据挖掘和学习预测能力，正成为优化木质素代谢调控的新兴工具[95]. 通过整合多组学数据分析、蛋白质工程和途径预测设计，机器学习能够解析木质素降解的分子机制，并指导高效生物催化系统的构建.

通过深度挖掘与分析多组学数据，机器学习算法能够揭示木质素代谢网络中的关键调控模块和功能基因. 随着基因组测序蓬勃发展和成本降低，呈指数级增长的组学数据可为机器学习提供更多训练数据集，从而获得更准确的学习函数以指导木质素代谢新预测[96]. 独立成分分析(independent component analysis, ICA)的无监督算法已成功运用于恶臭假单胞菌KT2440的RNA-seq数据分析，鉴定出84个与木质素代谢相关的iModulons(即独立调控基因)，揭示木质素衍生物代谢的转录调控网络[97,98]. 结合RB-TnSeq适应性数据，ICA进一步识别出参与*O*-脱甲基、辅因子再生和芳香族转运等代谢过程的功能模块(如fModules_28和fModules_20)，有望揭示功能基因模块表达转录调控机制[99]. 同时，随机森林机器学习算法通过分析基因组木质素降解酶的分布特征，以98%的准确率实现对白腐真菌的分类，为筛选高效降解菌株提供新方法[100]. 这为机器学习揭示木质素代谢的复杂机制和指导代谢调控提供机会，推动木质素生物增值进入人工智能时代.

在蛋白质工程领域，深度学习技术正在重塑木质素降解酶的设计与改造范式. 基于深度学习和Rosetta开发的工具trRosetta可从头预测蛋白质结构[101]. 其与PROSS进行的稳定性设计计算相结合，成功设计出在酵母表达系统中展现出高效木质素解聚能力的多功能过氧化物酶[102]. MutCompute优化的PETase突变体展现出优异的PET降解能力，其催化机制与木质素降解酶具有相似性，均能高效断裂芳香族聚合物的*C*-*O*键[103,104]. 研究发现，部分PETase可同时降解植物细胞壁，而某些木质纤维素酶也具备PET解聚活性[105,106]. 这种交叉催化特性揭示芳香族聚合物生物降解的共性机制，为开发新型木质素催化剂开辟新途径. 此外，计算机算法可协助预测未经验证的突变体酶学性质，节省筛选成本. 通过GRASP算法预测酚酸脱羧酶的热稳定性，获得的突变体在高温下仍保持活性，为木质素生物炼制过程的工业化应用奠定基础[107].

机器学习正成为解析木质素代谢中转录调控与优化其代谢途径的有力工具. 通过卷积神经网络训练的PADDLE模型成功预测和解码转录因子激活结构域的氨基酸特征，并揭示木质素降解酶的调控机制[108]. 在白腐真菌毛栓菌中，Zn2Cys6型转录因子TH8421和TH4300被预测结合漆酶基因lacA和lacB启动子形成异二聚体，来响应木质素单体愈创木酚和结构相似的化合物邻甲苯胺调控上调漆酶表达[109]. 通过分析高质量实验数据集，机器学习可揭示微生物行为模式，显著加速代谢途径设计与优化[110]. 在酿酒酵母中已实现机器学习辅助的对香豆酸生产中启动子-开放阅读框-终止子组合优化. 通过算法训练与机器学习，仅两个“设计-构建-测试-学习”循环即实现产量提升68%[111]. 基于ProEnsemble算法的启动子工程有效缓解大肠杆菌生产柚皮素代谢途径中的上位效应，使产量突破性达到3.65 g/L[112]. 此外，机器学习与多维液相色谱-离子迁移谱-质谱测量的结合，能够对工程菌株

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2025-0204

进行代谢组学分析，有助于精准预测关键限速步骤并指导有针对性的代谢调控策略的设计. PeakDecoder算法揭示了在胶红酵母产双萜烯研究中，高灰分条件下法尼基焦磷酸积累会诱导关键还原酶HMGR降解，阻断甲羟戊酸途径通量[113].

当前关于木质素生物增值的高质量数据集如芳香族底物胁迫下的转录组和代谢组变化、酶结构与调控元件等日益丰富，这为应用机器学习预测代谢调控靶点、工程化限速酶和精准优化代谢途径提供强大基础. 人工智能驱动的代谢调控以增强木质素生物增值正成为日益切实的现实.

4 结论与展望

木质素作为自然界最丰富的可再生芳香资源，其高效生物增值利用对实现绿色可持续发展和“双碳”目标具有重要意义. 近年来, 合成生物学与人工智能的快速发展，为木质素的高值化利用提供突破性解决方案. 通过构建胞外多酶协同解聚与胞内级联代谢的耦合体系，木质素可定向转化为香草醛、PHA等高附加值产品；而“生物漏斗”途径、原子经济功能化及芳环开环策略的优化，进一步提升碳利用效率. 合成生物学驱动的细胞工厂设计，结合机器学习辅助的代谢网络优化，显著提高木质素生物转化的经济性与工业化可行性.

未来木质素生物增值技术仍需持续突破. 开发新型天然酶或人工酶催化体系，实现木质素解聚的可控性，减少副反应并提高单体产率. 结合基因组尺度代谢模型与深度学习，预测最优代谢通量分配，通过代谢途径智能化设计平衡细胞生长与产物合成. 解析木质素解聚酶与微生物转化细胞互作机制，实现木质素解聚、芳香单体代谢及产物合成的全链条协同转化, 提高转化通量, 进行工艺协同优化. 通过适应性进化与动态调控,提升菌株对芳香物质的耐受性，进行工业适配性优化.

随着生物制造领域新兴技术的迅猛发展，木质素有望成为替代石油的绿色原料，推动生物基经济的全面崛起. 通过建立“木质素解聚-生物转化-高值产品”的全链条技术体系，不仅可显著提升生物炼制的经济性，还将为减少化石资源依赖、实现“双碳”目标提供重要支撑. 这一领域的突破不仅将重塑传统化工产业链, 更将推动循环经济与可持续发展.

参考文献

1 Bajwa D S, Pourhashem G, Ullah A H, et al. A concise review of current lignin production, applications, products and their environmental impact. Ind Crop Prod, 2019, 139: 111526

2 Zhang X L, Liu Z H, Li B Z, et al. Tapping into the natural aromatic potential: microbial lignin valorization towards aromatic fine chemicals. Green Chem, 2024, doi: 10.1039.D4GC03567D

3 Liu R Y, Li B Z, Yuan Y J, et al. Multiscale metabolic engineering in biological lignin valorization. Innovation, 2025

4 Liu Z H, Liu H, Xu T, et al. Lignin valorization reshapes sustainable biomass refining. Renew Sustain Energy Rev, 2025, 211: 115296

5 Sugano Y, Yoshida T. DyP-type peroxidases: recent advances and perspectives. Int J Mol Sci, 2021, 22: 5556

6 Marinović M, Nousiainen P, Dilokpimol A, et al. Selective cleavage of lignin β-*O*-4 aryl ether bond by β-etherase of the white-rot fungus *Dichomitus squalens*. ACS Sustain Chem Eng, 2018, 6: 2878–2882

7 Kumar A, Chandra R. Ligninolytic enzymes and its mechanisms for degradation of lignocellulosic waste in environment. Heliyon, 2020, 6: e03170

8 Zerva A, Simić S, Topakas E, et al. Applications of microbial laccases: patent review of the past decade (2009–2019). Catalysts, 2019, 9: 1023

9 Park G W, Gong G, Joo J C, et al. Recent progress and challenges in biological degradation and biotechnological valorization of lignin as an emerging source of bioenergy: a state-of-the-art review. Renew Sustain Energy Rev, 2022, 157: 112025

10 Li F, Zhang J, Ma F, et al. Lytic polysaccharide monooxygenases promote oxidative cleavage of lignin and lignin-carbohydrate complexes during fungal degradation of lignocellulose. Environ Microbiol, 2021, 23: 4547–4560

11 Munzone A, Eijsink V G H, Berrin J G, et al. Expanding the catalytic landscape of metalloenzymes with lytic polysaccharide monooxygenases. Nat Rev Chem, 2024, 8: 106–119

12 Li F, Zhao H, Shao R, et al. Enhanced fenton reaction for xenobiotic compounds and lignin degradation fueled by quinone redox cycling by lytic

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2025-0204

polysaccharide monooxygenases. J Agric Food Chem, 2021, 69: 7104–7114
13 Li F, Zhao Y, Xue L, et al. Microbial lignin valorization through depolymerization to aromatics conversion. Trends Biotechnol, 2022, 40: 1469–1487
14 Su Y, Xian H, Shi S, et al. Biodegradation of lignin and nicotine with white rot fungi for the delignification and detoxification of tobacco stalk. BMC Biotechnol, 2016, 16: 81
15 Andlar M, Rezić T, Marđetko N, et al. Lignocellulose degradation: an overview of fungi and fungal enzymes involved in lignocellulose degradation. Eng Life Sci, 2018, 18: 768–778
16 Ahmad M, Roberts J N, Hardiman E M, et al. Identification of DypB from *Rhodococcus jostii* RHA1 as a lignin peroxidase. Biochemistry, 2011, 50: 5096–5107
17 Bugg T D H, Williamson J J, Rashid G M M. Bacterial enzymes for lignin depolymerisation: new biocatalysts for generation of renewable chemicals from biomass. Curr Opin Chem Biol, 2020, 55: 26–33
18 Sainsbury P D, Hardiman E M, Ahmad M, et al. Breaking down lignin to high-value chemicals: the conversion of lignocellulose to vanillin in a gene deletion mutant of *Rhodococcus jostii* RHA1. ACS Chem Biol, 2013, 8: 2151–2156
19 Rahman Pour R, Ehibhatiomhan A, Huang Y, et al. Protein engineering of *Pseudomonas fluorescens* peroxidase Dyp1B for oxidation of phenolic and polymeric lignin substrates. Enzyme Microb Tech, 2019, 123: 21–29
20 Brissos V, Tavares D, Sousa A C, et al. Engineering a bacterial DyP-type peroxidase for enhanced oxidation of lignin-related phenolics at alkaline pH. ACS Catal, 2017, 7: 3454–3465
21 Singh R, Grigg J C, Qin W, et al. Improved manganese-oxidizing activity of DypB, a peroxidase from a lignolytic bacterium. ACS Chem Biol, 2013, 8: 700–706
22 Liang C, Lin L, Xu T, et al. The *Pseudomonas* ligninolytic catalytic network reveals the importance of auxiliary enzymes in lignin biocatalysts. Proc Natl Acad Sci USA, 2025, 122: e2417343122
23 Cai C, Xu Z, Li J, et al. Developing *Rhodococcus opacus* and *Sphingobium* sp. coculture systems for valorization of lignin-derived dimers. Biotech Bioeng, 2022, 119: 3162–3177
24 Kamimura N, Takahashi K, Mori K, et al. Bacterial catabolism of lignin-derived aromatics: new findings in a recent decade: update on bacterial lignin catabolism. Environ Microbiol Rep, 2017, 9: 679–705
25 Higuchi Y, Sato D, Kamimura N, et al. Roles of two glutathione *S*-transferases in the final step of the *β*-aryl ether cleavage pathway in *Sphingobium* sp. strain SYK-6. Sci Rep, 2020, 10: 20614
26 Higuchi Y, Kato R, Tsubota K, et al. Discovery of novel enzyme genes involved in the conversion of an arylglycerol-*β*-aryl ether metabolite and their use in generating a metabolic pathway for lignin valorization. Metab Eng, 2019, 55: 258–267
27 Kamimura N, Masai E. Bacterial catabolism of a lignin-derived β-5 Dimer. Lignin, 2022, 3: 9–14
28 Metz F, Olsen A M, Lu F, et al. Catabolism of β-5 linked aromatics by *Novosphingobium aromaticivorans*. mBio, 2024, 15: e0171824
29 Fukuhara Y, Kamimura N, Nakajima M, et al. Discovery of pinoresinol reductase genes in sphingomonads. Enzyme Microb Tech, 2013, 52: 38–43
30 Kato R, Maekawa K, Kobayashi S, et al. Stereoinversion via alcohol dehydrogenases enables complete catabolism of β-1-Type lignin-derived aromatic isomers. Appl Environ Microbiol, 2023, 89: e0017123
31 Presley G N, Werner A Z, Katahira R, et al. Pathway discovery and engineering for cleavage of a β-1 lignin-derived biaryl compound. Metab Eng, 2021, 65: 1–10
32 Kato R, Kuatsjah E, Fujita M, et al. Metabolic modification of *Sphingobium lignivorans* SYK-6 for lignin valorization through the discovery of an unusual transcriptional repressor of lignin-derived dimer catabolism. Green Chem, 2025, 27: 1540–1555
33 Liu H, Liu Z H, Zhang R K, et al. Bacterial conversion routes for lignin valorization. Biotechnol Adv, 2022, 60: 108000
34 Homma T, Tsurusaki Y, Kamimura N, et al. Protocatechuic acid fuel cell: a sustainable energy generation system based on microbial metabolism of lignin-derived aromatic compounds. Biomass Bioenerg, 2021, 154: 106254
35 Chen Z, Liu H, Zong Q J, et al. Engineering strategies enabled protocatechuic acid production from lignin by *Pseudomonas putida* KT2440. ACS Sustain Chem Eng, 2024, 12: 17726–17738
36 Li J, Yue C, Wei W, et al. Construction of a *p*-coumaric and ferulic acid auto-regulatory system in *Pseudomonas putida* KT2440 for protocatechuate production from lignin-derived aromatics. Bioresource Tech, 2022, 344: 126221

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2025-0204

37 Zhang R K, Tan Y S, Cui Y Z, et al. Lignin valorization for protocatechuic acid production in engineered *Saccharomyces cerevisiae*. Green Chem, 2021, 23: 6515–6526

38 Xin X, Liu D F, Liu S C, et al. Redesigned pathway for *de novo* synthesis of vanillin and co-conversion of multiple renewable substrates in *Saccharomyces cerevisiae*. JACS Au, 2025, 5: 1133–1145

39 Liu R Y, Wang C, Li B Z, et al. One-pot bioconversion of lignin to 4-vinylphenol derivatives. Chem Eng J, 2024, 499: 156286

40 He B T, Li B Z. Engineering yeast to produce fraxetin from ferulic acid and lignin. Appl Microbiol Biotechnol, 2025, 109: 26

41 Zhao C H, Zhang R K, Qiao B, et al. Engineering budding yeast for the production of coumarins from lignin. Biochem Eng J, 2020, 160: 107634

42 Zhao Y, Jian X, Wu J, et al. Elucidation of the biosynthesis pathway and heterologous construction of a sustainable route for producing umbelliferone. J Biol Eng, 2019, 13: 44

43 Kallscheuer N, Vogt M, Bott M, et al. Functional expression of plant-derived O-methyltransferase, flavanone 3-hydroxylase, and flavonol synthase in *Corynebacterium glutamicum* for production of pterostilbene, kaempferol, and quercetin. J Biotechnol, 2017, 258: 190–196

44 Zhu S Y, Liu S C, Zhang C X, et al. Pathway and enzyme engineering for the bioconversion of lignin derivatives into homoeriodictyol in *Saccharomyces cerevisiae*. Green Chem, 2024, 26: 5260–5272

45 Gao S, Zhou H, Zhou J, et al. Promoter-library-based pathway optimization for efficient (2*S*)-naringenin production from *p*-coumaric acid in *Saccharomyces cerevisiae*. J Agric Food Chem, 2020, 68: 6884–6891

46 Lee S, Jung Y J, Park S J, et al. Microbial production of 2-pyrone-4,6-dicarboxylic acid from lignin derivatives in an engineered *Pseudomonas putida* and its application for the synthesis of bio-based polyester. Bioresour Tech, 2022, 352: 127106

47 Liu H, Chen Z, Cui J Q, et al. Funneling lignin hydrolysates into *β*-ketoadipic acid by engineered *Pseudomonas putida KT2440*. Ind Crops Prod, 2024, 218: 118956

48 Werner A Z, Cordell W T, Lahive C W, et al. Lignin conversion to β-ketoadipic acid by *Pseudomonas putida* via metabolic engineering and bioprocess development. Sci Adv, 2023, 9: eadj0053

49 Pyne M E, Bagley J A, Narcross L, et al. Screening non-conventional yeasts for acid tolerance and engineering *Pichia occidentalis* for production of muconic acid. Nat Commun, 2023, 14: 5294

50 Liu H, Tao X, Ntakirutimana S, et al. Engineering *Pseudomonas putida* for lignin bioconversion into *cis-cis* muconic acid. Chem Eng J, 2024, 495: 153375

51 Wang C, Liu R Y, Xu T, et al. Valorizing lignin and coprecursors into homogeneous polyhydroxyalkanoates by engineered *Pseudomonas putida*. ACS Sus Chemi Eng, 2024, 12: 8402–8414

52 Linger J G, Vardon D R, Guarnieri M T, et al. Lignin valorization through integrated biological funneling and chemical catalysis. Proc Natl Acad Sci USA, 2014, 111: 12013–12018

53 Cai C, Xu Z, Zhou H, et al. Valorization of lignin components into gallate by integrated biological hydroxylation, *O*-demethylation, and aryl side-chain oxidation. Sci Adv, 2021, 7: eabg4585

54 Xin X, Zhang R K, Liu S C, et al. Engineering yeast to convert lignocellulose into vanillin. Chem Eng J, 2024, 485: 149815

55 Liu R Y, Liu Z H, Li B Z, et al. Biotransformation of lignin into 4-vinylphenol derivatives toward lignin valorization. Green Chem, 2024, 26: 1770–1789

56 Rodriguez A, Meadows J A, Sun N, et al. Evaluation of bacterial hosts for conversion of lignin-derived *p*-coumaric acid to 4-vinylphenol. Microb Cell Fact, 2021, 20: 181

57 Liu R Y, Lan H N, Liu Z H, et al. Microbial valorization of lignin toward coumarins: challenges and perspectives. Renew Sustain Energy Rev, 2024, 191: 114205

58 Li Z, Nair S K. Structural basis for specificity and flexibility in a plant 4-coumarate: CoA ligase. Structure, 2015, 23: 2032–2042

59 Hagel J M, Facchini P J. Expanding the roles for 2-oxoglutarate-dependent oxygenases in plant metabolism. Nat Prod Rep, 2018, 35: 721–734

60 Vialart G, Hehn A, Olry A, et al. A 2-oxoglutarate-dependent dioxygenase from *Ruta graveolens* L. exhibits *p*- coumaroyl CoA 2′-hydroxylase activity (C2′H): a missing step in the synthesis of umbelliferone in plants. Plant J, 2012, 70: 460–470

61 Vanholme R, Sundin L, Seetso K C, et al. COSY catalyses *trans-cis* isomerization and lactonization in the biosynthesis of coumarins. Nat Plants, 2019, 5: 1066–1075

62 Lan H N, Liu R Y, Liu Z H, et al. Biological valorization of lignin to flavonoids. Biotechnol Adv, 2023, 64: 108107

63 Kaltenbach M, Burke J R, Dindo M, et al. Evolution of chalcone isomerase from a noncatalytic ancestor. Nat Chem Biol, 2018, 14: 548–555

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2025-0204

64 Zhu S Y, Li N, Liu Z H, et al. Harnessing aromatic properties for sustainable bio-valorization of lignin derivatives into flavonoids. Green Carbon, 2025, 3: 172–195

65 Zhao Z M, Liu Z H, Zhang T, et al. Unleashing the capacity of Rhodococcus for converting lignin into lipids. Biotechnol Adv, 2024, 70: 108274

66 Zhang R, Wang J, Milligan S, et al. Microbial utilization of lignin-derived aromatics *via* a synthetic catechol meta-cleavage pathway. Green Chem, 2021, 23: 8238–8250

67 Wu F, Wang S, Zhou D, et al. Metabolic engineering of *Escherichia coli* for high-level production of the biodegradable polyester monomer 2-pyrone-4,6-dicarboxylic acid. Metab Eng, 2024, 83: 52–60

68 Jia H Y, Xu T, Wang C, et al. Emerging biotechnological strategies advancing biological lignin valorization towards polyhydroxyalkanoates. Bioresour Tech, 2025, 424: 132278

69 Martin-Pascual M, Batianis C, Bruinsma L, et al. A navigation guide of synthetic biology tools for *Pseudomonas putida*. Biotechnol Adv, 2021, 49: 107732

70 Xu T, Zong Q J, Liu H, et al. Identifying ligninolytic bacteria for lignin valorization to bioplastics. Bioresour Tech, 2022, 358: 127383

71 Li B Z, Guo Y M. Synthetic biology paves the way of lignin valorization. 2024, 3: 83–93

72 Varman A M, He L, Follenfant R, et al. Decoding how a soil bacterium extracts building blocks and metabolic energy from ligninolysis provides road map for lignin valorization. Proc Natl Acad Sci USA, 2016, 113: E5802

73 Lee S, Kang M, Bae J H, et al. Bacterial valorization of lignin: strains, enzymes, conversion pathways, biosensors, and perspectives. Front Bioeng Biotechnol, 2019, 7: 209

74 Mallinson S J B, Machovina M M, Silveira R L, et al. A promiscuous cytochrome P450 aromatic *O*-demethylase for lignin bioconversion. Nat Commun, 2018, 9: 2487

75 Machovina M M, Mallinson S J B, Knott B C, et al. Enabling microbial syringol conversion through structure-guided protein engineering. Proc Natl Acad Sci USA, 2019, 116: 13970–13976

76 Mohamed E T, Werner A Z, Salvachúa D, et al. Adaptive laboratory evolution of *Pseudomonas putida* KT2440 improves *p*-coumaric and ferulic acid catabolism and tolerance. Metab Eng Commun, 2020, 11: e00143

77 Li N, Zhu S Y, Zhang C X, et al. Biotransformation of kaempferol to icaritin in Engineered *Saccharomyces cerevisiae*. J Agric Food Chem, 2025, 73: 13767–13780

78 Zhu S Y, Li N, Liu Z H, et al. Engineering budding yeast for the *de novo* synthesis of valuable flavanone derivatives. Green Chem, 2025, 27: 3477–3493

79 Borchert A J, Henson W R, Beckham G T. Challenges and opportunities in biological funneling of heterogeneous and toxic substrates beyond lignin. Curr Opin Biotechnol, 2022, 73: 1–13

80 Liu Q, Yu T, Li X, et al. Rewiring carbon metabolism in yeast for high level production of aromatic chemicals. Nat Commun, 2019, 10: 4976

81 Liu S C, Xin X, He Z J, et al. Biological conversion of lignin-derived ferulic acid from wheat bran into vanillin. Int J Biol Macromol, 2024, 281: 136406

82 Liu Z H, Hao N, Wang Y Y, et al. Transforming biorefinery designs with 'Plug-In Processes of Lignin' to enable economic waste valorization. Nat Commun, 2021, 12: 3912

83 Erickson E, Bleem A, Kuatsjah E, et al. Critical enzyme reactions in aromatic catabolism for microbial lignin conversion. Nat Catal, 2022, 5: 86–98

84 Li N, Zhu S Y, Bai L L, et al. Revolutionizing lignin valorization: key advances in demethylation, methylation, and methyl metabolism. Biotechnol Adv, 2025, 83: 108634

85 Zhang Z, Wang Y, Zheng P, et al. Promoting lignin valorization by coping with toxic C1 byproducts. Trends Biotechnol, 2021, 39: 331–335

86 Nguyen L T, Tran M H, Lee E Y. Co-upgrading of ethanol-assisted depolymerized lignin: a new biological lignin valorization approach for the production of protocatechuic acid and polyhydroxyalkanoic acid. Bioresource Tech, 2021, 338: 125563

87 Lee J Y, Sung B H, Oh S H, et al. C1 compound biosensors: design, functional study, and applications. Int J Mol Sci, 2019, 20: 2253

88 Lanfranchi E, Trajković M, Barta K, et al. Exploring the selective demethylation of aryl methyl ethers with a *Pseudomonas* rieske monooxygenase. Chembiochem, 2019, 20: 118–125

89 Kuatsjah E, Johnson C W, Salvachúa D, et al. Debottlenecking 4-hydroxybenzoate hydroxylation in *Pseudomonas putida* KT2440 improves muconate productivity from *p*-coumarate. Metab Eng, 2022, 70: 31–42

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2025-0204

90 Zhang Q, Zhang Z, Chen Y, et al. Engineering of 4-hydroxyphenylacetate-3-hydroxylase from *Escherichia coli* for efficient biosynthesis of piceatannol. Process Biochem, 2023, 135: 33–39

91 Wang H, Wang L, Chen J, et al. Promoting $FADH_2$ regeneration of hydroxylation for high-level production of hydroxytyrosol from glycerol in *Escherichia coli*. J Agric Food Chem, 2023, 71: 16681–16690

92 Payne K A P, White M D, Fisher K, et al. New cofactor supports α,β-unsaturated acid decarboxylation via 1,3-dipolar cycloaddition. Nature, 2015, 522: 497–501

93 Marshall S A, Payne K A P, Fisher K, et al. UbiD domain dynamics underpins aromatic decarboxylation. Nat Commun, 2021, 12: 5065

94 Johnson C W, Salvachúa D, Khanna P, et al. Enhancing muconic acid production from glucose and lignin-derived aromatic compounds via increased protocatechuate decarboxylase activity. Metab Eng Commun, 2016, 3: 111–119

95 Konno N, Iwasaki W. Machine learning enables prediction of metabolic system evolution in bacteria. Sci Adv, 2023, 9: eadc9130

96 Patra P, B.r. D, Kundu P, et al. Recent advances in machine learning applications in metabolic engineering. Biotechnol Adv, 2023, 62: 108069

97 Liebermeister W. Linear modes of gene expression determined by independent component analysis. Bioinformatics, 2002, 18: 51–60

98 Lim H G, Rychel K, Sastry A V, et al. Machine-learning from *Pseudomonas putida* KT2440 transcriptomes reveals its transcriptional regulatory network. Metab Eng, 2022, 72: 297–310

99 Borchert A J, Bleem A C, Lim H G, et al. Machine learning analysis of RB-TnSeq fitness data predicts functional gene modules in *Pseudomonas putida* KT2440. mSystems, 2024, 9: e00942-23

100 Hasegawa N, Sugiyama M, Igarashi K, et al. Random forest machine-learning algorithm classifies white- and brown-rot fungi according to the number of the genes encoding Carbohydrate-Active enZyme families. Appl Environ Microbiol, 2024, 90: e00482–24

101 Du Z, Su H, Wang W, et al. The trRosetta server for fast and accurate protein structure prediction. Nat Protoc, 2021, 16: 5634–5651

102 Barber-Zucker S, Mindel V, Garcia-Ruiz E, et al. Stable and functionally diverse versatile peroxidases designed directly from sequences. J Am Chem Soc, 2022, 144: 3564–3571

103 Lu H, Diaz D J, Czarnecki N J, et al. Machine learning-aided engineering of hydrolases for PET depolymerization. Nature, 2022, 604: 662–667

104 Lee K, Jing Y, Wang Y, et al. A unified view on catalytic conversion of biomass and waste plastics. Nat Rev Chem, 2022, 6: 635–652

105 Mamtimin T, Ouyang X, Wu W M, et al. Novel feruloyl esterase for the degradation of polyethylene terephthalate (PET) screened from the gut microbiome of plastic-degrading mealworms (*Tenebrio Molitor* larvae). Environ Sci Technol, 2024, 58: 17717–17731

106 Sulaiman S, Yamato S, Kanaya E, et al. Isolation of a novel cutinase homolog with polyethylene terephthalate-degrading activity from leaf-branch compost by using a metagenomic approach. Appl Environ Microbiol, 2012, 78: 1556–1562

107 Myrtollari K, Calderini E, Kracher D, et al. Stability increase of phenolic acid decarboxylase by a combination of protein and solvent engineering unlocks applications at elevated temperatures. ACS Sustain Chem Eng, 2024, 12: 3575–3584

108 Sanborn A L, Yeh B T, Feigerle J T, et al. Simple biochemical features underlie transcriptional activation domain diversity and dynamic, fuzzy binding to Mediator. eLife, 2021, 10: e68068

109 Wang C, Zhang X, Wu K, et al. Two Zn_2 Cys_6-type transcription factors respond to aromatic compounds and regulate the expression of laccases in the white-rot fungus *Trametes hirsuta*. Appl Environ Microbiol, 2024, 90: e00545-24

110 Zhang J, Petersen S D, Radivojevic T, et al. Combining mechanistic and machine learning models for predictive engineering and optimization of tryptophan metabolism. Nat Commun, 2020, 11: 4880

111 Moreno-Paz S, van der Hoek R, Eliana E, et al. Machine learning-guided optimization of *p*-coumaric acid production in yeast. ACS Synth Biol, 2024, 13: 1312–1322

112 Deng H, Yu H, Deng Y, et al. Pathway evolution through a bottlenecking-debottlenecking strategy and machine learning-aided flux balancing. Adv Sci, 2024, 11: 2306935

113 Bilbao A, Munoz N, Kim J, et al. PeakDecoder enables machine learning-based metabolite annotation and accurate profiling in multidimensional mass spectrometry measurements. Nat Commun, 2023, 14: 2461

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2025-0204

Synthetic biology-driven lignin valorization

LI Na, FU Ning, LI Bing-Zhi & LIU Zhi-Hua*

State Key Laboratory of Synthetic Biology, School of Synthetic Biology and Biomanufacturing, Tianjin University, Tianjin 300072, China
** Corresponding author, E-mail: zhliu@tju.edu.cn*

Lignin is the most abundant renewable carbon-neutral aromatic polymer resource in nature, serving as an ideal feedstock for the sustainable production of energy, chemicals, and materials. Currently, biological conversion represents one of the most promising pathways for lignin valorization. However, the structural heterogeneity of lignin hinders its valorization. Developing advanced strategies for directional lignin depolymerization and bioconversion is a cutting-edge research frontier. Emerging synthetic biology and artificial intelligence technologies provide novel approaches for enhancing lignin valorization. This review outlines the design principles of aromatic lignin depolymerization and conversion pathways, with a focus on three major routes for lignin valorization through synthetic biomanufacturing. Furthermore, prospects for lignin bioconversion research and applications empowered by synthetic biology and artificial intelligence are discussed.

aromatic lignin, bio-valorization, synthetic biology, high-value chemicals

doi: 10.1360/SSV-2025-0204

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2025-0204