DOI:10.12441/spyswjs.20241119001 [文章编号] 1673-1689(2025)04-0009-12

常见食用红色素的合成生物学研究进展

时苗均[1] 敬 丹[1] 李岩哲[1] 薛 威[1] 李 昊[1] 陈历水[1] 翟征远[1,2*]

(1. 中原食品实验室,河南 漯河 462300; 2. 中国农业大学食品科学与营养工程学院,北京 100083)

摘要:红色素在食品中的应用非常广泛,除了具备着色功能外,还具有抗氧化、抗炎等对健康有益的特性。大多数商业食用红色素是通过动植物提取或化学合成获得的。而这些方法往往存在成本高、易造成环境污染、不能满足市场需求等问题。近年来,合成生物学和代谢工程已被用于开发微生物细胞工厂来生产食用红色素。通过微生物表达异源蛋白质、分析和优化代谢通路、借助AI辅助设计关键酶等手段,可实现从头合成红色素并提高产量。食用红色素的生物合成法具有环境友好、可持续、高效等优点。作者概述了番茄红素、辣椒红、甜菜红、胭脂红酸及红曲红的功能、来源和应用,以及利用微生物表达系统来合成这些红色素的研究进展。

关键词:食用红色素;生物合成;微生物表达系统;细胞工厂

Progress in Synthetic Biology of Edible Red Pigments

SHI Miaojun[1] *JING Dan*[1] *LI Yanzhe*[1] *XUE Wei*[1] *LI Hao*[1] *CHEN Lishui*[1] *ZHAI Zhengyuan*[1,2*]

(1. Food Laboratory of Zhongyuan, Luohe 462300, China; 2. College of Food Science & Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

Abstract: The application of red pigments in food is extensive, providing not only coloring but also beneficial health properties such as antioxidant and anti-inflammatory effects. Most commercial edible red pigments are extracted from plants and animals or synthesized by chemical methods. However, these methods often suffer from high costs, environmental pollution, and failure to meet market demands. In recent years, synthetic biology and metabolic engineering have been employed to develop microbial cell factories for producing edible red pigments. Through microbial expression of heterologous proteins, metabolic pathway analysis and optimization, and AI-assisted key enzyme design, de novo synthesis of red pigments can be achieved with improved yields. Biosynthesis of edible red pigments offer advantages such as environmental friendliness, sustainability, and high efficiency. The author provides an overview of the functions, sources, and applications of lycopene, capsanthin, betanin, carminic acid, and *Monascus* red pigment, as well as the current status of research on the synthesis of these pigments *via* microbial expression systems.

Keywords: edible red pigment; biosynthesis; microbial expression systems; cell factory

颜色是影响食物接受度的首要因素之一,当食物的颜色更加浓郁和均匀时,消费者的兴趣和接受度会更高[1]。黄色素、红色素和蓝色素等食用色素作为食品添加剂广泛应用于食品生产,能赋予食品各种各样的色彩。研究表明,红色调可以刺激人脑,使其兴奋,进而增强食欲和消费意愿[2]。因此,红色素作为一种非常重要的食品添加剂广泛应用于肉制品[3]、调味品、面制品和糖果等产品中[4]。食用色素分为天然食用色素和合成食用色素2大类。随着消费者日益重视食品安全与健康,天然红色素愈加受到青睐。

天然食用红色素的种类繁多且各具特色。例如,番茄红素、辣椒红、红曲红具有降血脂、降血压和防腐保鲜等功能[5-6];胭脂红酸具有较强的抗氧

基金项目:河南省重点研发专项项目(241112110500)。

通信作者:翟征远(1985—),男,博士,副教授,博士研究生导师,主要从事食品微生物学研究。E-mail:zhaizy@cau.edu.cn

收稿日期:2024-11-19 **修回日期:**2025-01-08

化特性和稳定性。然而，部分天然红色素存在价格昂贵、合成难度大、存在过敏源等问题，因此人们愈发关注通过微生物合成食用红色素的途径。近年来，基于代谢工程和合成生物学策略，研究者正致力于对微生物进行工程化改造，以实现色素的高效生产。目前番茄红素、辣椒红、甜菜红、胭脂红酸等均可采用微生物作为底盘细胞，构建工程菌株进行生物合成。作者将综述几种研究较多的食用红色素的微生物合成进展，旨在助力微生物合成色素技术的发展。

1 食用红色素的简介与应用现状

1.1 番茄红素的简介与应用现状

番茄红素广泛存在于红色的蔬菜和水果中[7]，以不溶于水的结晶形式存在，属于脂溶性色素[8-9]，对光、热、酸等高度敏感，详细特征见表 1。番茄红素具有抗氧化、抗癌和抗炎等功能[10]。体外和体内研究表明，摄入富含番茄红素的食物有利于降低癌症、心血管疾病、糖尿病等疾病的患病风险[15]。番茄红素能够抑制多种癌细胞的增殖，并且可以减少多种炎症因子的产生，如 TNF-α、IL-1、IL-6、IL-8 等[16]。因此，番茄红素既可以作为色素，也可以作为功能性食品原料，广泛应用于医药、化妆品、营养保健品和食品添加剂等领域，具有良好的商业前景。到 2023 年，番茄红素在中国的市场规模已达到 10 亿元以上，并在人们健康意识持续提升及消费者需求稳步增长的驱动下保持良好的发展态势。

1.2 辣椒红的简介与应用现状

辣椒红是一种在辣椒果皮色素母细胞的类囊体膜中发现的红色类胡萝卜素，主要成分是辣椒素类化合物和辣椒玉红素。辣椒红易溶解于油脂，不溶于水。在稳定性方面，辣椒红在中等温度下相对稳定，但在高温下会发生分解；对光敏感，易发生光降解；对氧气敏感，易被氧化，从而导致颜色褪变。因此，辣椒红适合在避光或油性环境中使用，以最大程度保持其色泽和稳定性。由于辣椒红具有抗氧化特性及潜在的健康益处（如降血脂、减肥、抗糖尿病和抗癌等）[11]，被广泛用作食品色素和功能性添加剂，也可应用于化妆品行业。2023 年，辣椒红在中国的行业市场规模约为 5.4 亿元。总之，辣椒红已成为食品科学和药物研究领域的重点关注对象。

1.3 甜菜红的简介与应用现状

甜菜红只来源于石竹目植物[17]，色泽鲜艳，主要成分是甜菜碱类化合物。甜菜红易溶于水，不溶于油。甜菜红对高温、光和氧气敏感，易发生褪色，但它具有多种潜在的健康功效。甜菜红是一种强抗氧化剂，能够清除自由基，减少氧化应激，从而保护细胞免受氧化损伤。研究表明，甜菜红可以通过降低炎症因子（如 TNF-α、IL-6 和 CRP）的水平来缓解慢性炎症相关的疾病，包括关节炎、动脉粥样硬化等。基于甜菜红的来源和潜在健康益处，其在功能性食品、保健品和医学研究中受到关注[12]。

1.4 胭脂虫酸的简介与应用现状

胭脂虫红的主要成分是胭脂红酸，它是一种颜色鲜艳、性质稳定的天然色素，广泛应用于食品添加剂、纺织品和化妆品等领域[18-19]。2021 年全球胭脂虫红市场规模达 4 720 万美元，预计 2027 年将达 6 850 万美元，2022—2027 年的复合年增长率为 6.1%。国内纯度为 50% 的胭脂虫红的价格为 1 100~1 400 元/kg。胭脂虫红的生产过程包括：将胭脂虫晒干，研磨成粉，通过醇提等方法提取胭脂红酸，约 70 000 只胭脂虫才能提取 453.6 g 胭脂红酸[20-21]。胭脂虫是一种非常珍贵的红色素原料[22]，但胭脂虫的生产周期长，养殖占用空间大，抗逆性差，产量受到温度和降水等的影响较大。胭脂虫红耐高温、耐光照，对氧气不敏感，稳定性极好，可应用于酸奶、蛋糕、糖果、饮料和肉类等食品。全球对胭脂红酸的需求量以及劳动力成本的增加，导致胭

表 1 5 种常见食用红色素的特征

Table 1 Characteristics of five common edible red pigments

食用红色素	来源	溶解性	稳定性	功能
番茄红素	红色蔬菜和水果	脂溶性色素，不溶于水	对光、热、酸等高度敏感	抗氧化、抗癌、抗炎等[10]
辣椒红	辣椒果皮	脂溶性色素，不溶于水	对光、氧气等敏感	抗氧化、降血脂等[11]
甜菜红	石竹目植物	易溶于水，不溶于油	对高温、光、氧气敏感	抗氧化、抗炎等[12]
胭脂红酸	胭脂虫	溶于水和乙醇，不溶于石油醚、苯等	耐高温、耐光照，对氧气不敏感	抗氧化等[13]
红曲红	红曲霉	溶于水和乙醇	耐高温、耐酸碱，对光敏感	降血脂、降血压、防腐保鲜等[14]

脂红酸产业的供应链压力日益紧张。也有研究表明，除了价格昂贵的问题，残留的昆虫蛋白质会造成少部分人对胭脂虫染料产生过敏反应[13]。因此，科研人员将生产胭脂虫红的方法转向代谢工程，即改造生物内部的代谢途径来生产胭脂红酸，以期在提高生产效率的同时满足市场需求。

1.5 红曲红的简介与应用现状

红曲红是一种典型的聚酮类色素，主要是通过红曲霉发酵而来，在水和乙醇中的溶解度良好，耐高温、耐酸碱，但对光敏感[14]。红曲红作为食品添加剂广泛应用于发酵豆腐、米酒和肉制品等领域。除了作为食品着色剂之外，红曲红在制药、化妆品、纺织等行业也有广阔的应用前景。中国每年红曲红的产量接近2万t，超过10亿人口在日常生活中食用含有红曲红的产品[23]。然而，红曲霉发酵过程中可能会产生微量的有毒物质，如具有肾脏毒性和致癌、致畸作用的桔青霉素[24]。因此研究者开始关注利用生物合成的方法制备红曲红。

2 食用红色素的来源与存在的问题

食用红色素一般来源于动植物提取、化学合成和微生物发酵等多种方式。例如，胭脂虫红主要是从胭脂虫干中提取的，甜菜红主要是从石竹目植物（如甜菜等）中提取的，番茄红素主要存在于成熟的红色蔬菜和水果中，红曲红主要是通过微生物发酵获得的[25]。化学合成的红色素着色力强、色彩鲜艳、成本低，但其潜在的健康风险使其应用受到严格监管[26]。近年来，人们对化学合成色素的接受度越来越低，更加偏向于天然色素。天然色素虽然相对绿色安全，但其着色力较弱，颜色暗沉，稳定性差且成本高。随着合成生物学的发展，人们尝试通过细胞工厂来表达合成红色素所需要的酶，在底盘细胞中构建代谢通路，获得工程菌株，通过发酵实现红色素的生产。这种方法制备红色素不仅能够减少传统养殖业对资源的消耗，降低生产成本，减轻对环境的压力，同时能够减少人体的过敏反应。采用合成生物学的方式实现红色素的微生物异源合成，具有绿色、安全、健康的特点，这种微生物合成方法已成为一种前景广阔的替代方案。

3 食用红色素的合成生物学研究现状

应用合成生物学技术构建高效的细胞工厂，利用葡萄糖、淀粉等可再生碳源为原料，可以生产功能性蛋白质、酶类、糖类和色素等功能性基料。该工艺通常遵循“原料输入—菌株培育—发酵控制—提取纯化—产品输出”的路线，实现利用生物技术生产目标物质。目前已有研究将重要代谢通路的外源基因经过密码子优化后，以pY26为表达载体，构建重组表达载体并转化至底盘细胞酿酒酵母中，实现了红色素的异源高效表达[27]。以下将对异源合成的食用红色素，如较常见的番茄红素、辣椒红、甜菜红、胭脂红酸和红曲红的合成生物学研究现状进行综述，这5种食用红色素的合成生物学研究案例见表2。

3.1 番茄红素异源生物合成的研究现状

3.1.1 利用原核表达系统生物合成番茄红素

原核生物常通过2-*C*-甲基-*D*-赤藓糖醇-4-磷酸（2-*C*-methyl-*D*-erythritol-4-phosphate，MEP）途径合成番茄红素等萜类化合物[43]。常用的原核表达系统有大肠杆菌、乳酸菌、芽孢杆菌等。大肠杆菌可以利用自身糖酵解产生甘油醛-3-磷酸和丙酮酸，再经过一系列代谢酶类（如dxs、dxr、mct等）催化得到3，3-二甲基烯丙基焦磷酸（dimethylallyl diphosphate，DMAPP），DMAPP在FPP合酶ispA的作用下合成香叶酰二磷酸（geranyl diphosphate，GPP）和FPP作为前体，通过表达外源基因*crtE*、*crtB*和*crtI*逐级催化来合成番茄红素。

苟宗芹等[28]利用大肠杆菌Top10表达3个外源基因（*crtE*、*crtB*和*crtI*）来构建工程菌，在发酵过程中选择果糖作为碳源，NH_4Cl作为氮源，再添加正十二烷，优化发酵条件最终得到29.3 mg/g（以细胞干质量计）的番茄红素。Zhu等[29]以大肠杆菌作为底盘细胞，利用甘油作碳源，最终在2.5 L发酵罐中得到1.44 g/L的番茄红素。Sun等[30]通过增加大肠杆菌TCA循环的碳通量，并增加ATP和NADPH的供应，在7 L发酵罐中合成了3.52 g/L的番茄红素。苟宗芹[31]通过分析代谢通路，发现乳酸菌有完整的内源甲羟戊酸MVA途径，于是利用乳酸菌作为底盘细胞，将穿梭质粒pNZ44与*crtEIB*通过无缝克隆连接起来，构建重组质粒pGZQ01，将其转化到乳酸乳球菌NZ9000中，得到能够合成番茄红素的重组菌株GZQ01，初始产量为0.48 mg/L，为增加合成番茄红素前体（乙酰辅酶A）的水平，敲除了乳酸脱氢酶ldh，使更多的丙酮酸进入乙酰辅酶A合成途径，使得番茄红素的产量提高至0.92 mg/L；在此基础上，过表达MVA

表 2 番茄红素、辣椒红、甜菜红、胭脂红酸、红曲红生物合成案例

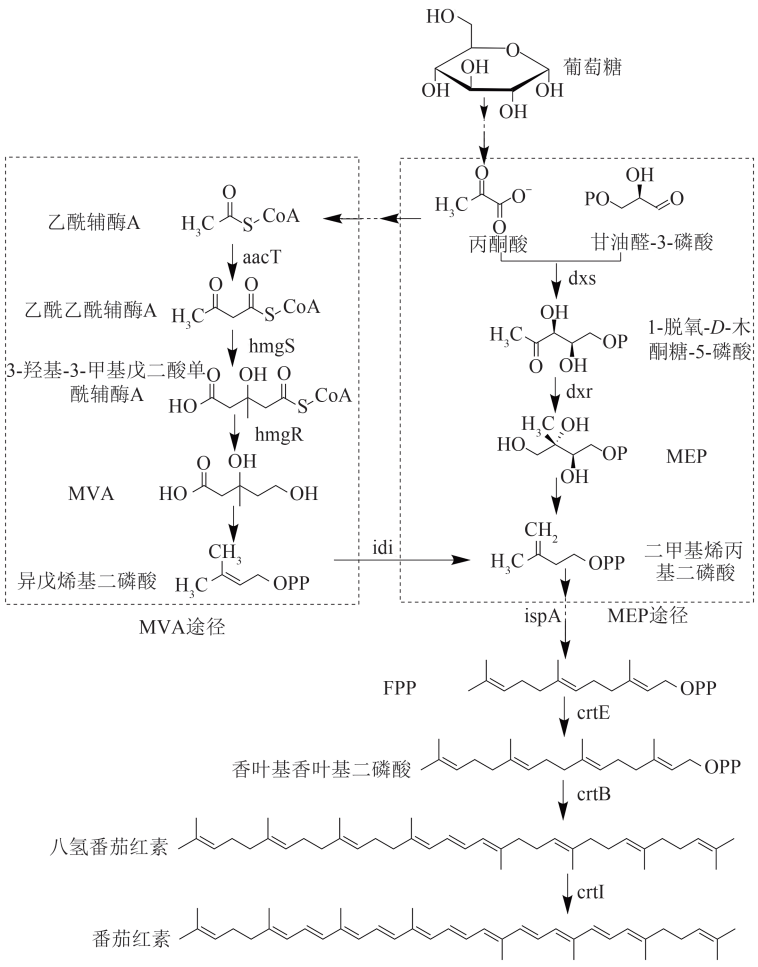
Table 2 Biosynthesis cases of lycopene, capsanthin, betanin, carmine acid, and *Monascus* red pigment

食用红色素		表达系统	表达载体	代谢改造策略	产量	参考文献
番茄红素	细菌	大肠杆菌 Top10	pACLYC	优化发酵条件等	29.3 mg/g（以细胞干质量计）	[28]
		大肠杆菌	pET28a(+)	利用甲羟戊酸（mevalonate，MVA）途径过量生产法尼烯、扩大发酵规模等	1.44 g/L	[29]
		大肠杆菌 CAR001		增加 NADPH 和 ATP 供应、过表达异戊烯基焦磷酸（isopentenyl pyrophosphate，IPP）异构酶 IDI 等	3.52 g/L	[30]
		乳酸菌	pNZ44	敲除乳酸脱氢酶 ldh、过表达 MVA 途径基因、优化发酵条件等	1.44 mg/L	[31]
	真菌	解脂耶氏酵母 PO1h	pUAxp7166II、pUAxp7166III	纤维素或半纤维素为碳源合成番茄红素	24.1 mg/L	[32]
		卷枝毛霉 MU218	pMAT18、pEPMk	将番茄红素环化酶失活、过表达 HMG-CoA 还原酶等	（261.28±9.62）mg/L	[33]
		毕赤酵母 G115	PHKA、pPICZA	筛选不同来源的关键基因、阻断了合成法尼基二磷酸（farnesyl pyrophosphate，FPP）和角鲨烯的旁支途径等	7.5 g/L	[34]
		酿酒酵母		增加 FPP 的供应、提高 *crtE* 的表达并引入工程化的 *crtI* 突变体	8.15 g/L	[35]
辣椒红	细菌	大肠杆菌	pACCRT、pACHP 等	引入外源基因	0.5 mg/L	[36]
甜菜红	真菌	酿酒酵母 BY4741	pZNR0521、pWCD1934、pML1371	环多巴的糖基化、提高细胞色素 P450 酶的活性等	17 mg/L	[37]
		酿酒酵母 CEN.PK2-1C	pCDFDuet-1、pXP320、pRS415K、pACYCDuet-1	筛选和修饰生物合成酶、优化发酵条件等	28.7 mg/L	[12]
		酿酒酵母 CEN.PK113-5D		表达酪氨酸羟化酶、*L*-多巴双加氧酶、葡萄糖基转移酶	（30.80±0.14）mg/L	[38]
		酿酒酵母 CEN.PK2-1C		提高 CYP76AD 的催化活性、增强酪氨酸和葡萄糖的供应等	134.1 mg/L	[39]
		解脂耶氏酵母		改善酪氨酸的产生、删除 *β*-葡萄糖苷酶、减少甜菜素降解、优化发酵条件等	（1 271±141）mg/L	[40]
胭脂红酸	细菌	大肠杆菌 BAP1	pDS00、pCDF	引入 dnrF 和 GtCGT 突变体、过表达乙酰辅酶 A 羧化酶 accBCD1	（0.63±0.02）mg/L	[41]
	真菌	构巢曲霉	pIS 系列			[42]
		酿酒酵母 CEN.PK2-1D	pY26、pRS423	异源基因整合至底盘基因组上、过表达聚酮合酶 oks	7.6 mg/L	[27]
红曲红	真菌	红曲霉 M7		引入外源基因、化学反应等		[23]

途径的基因 *mvaA*，可进一步将产量提高至 1.22 mg/L；然后通过优化发酵条件，以葡萄糖、胰蛋白胨、酵母粉为底料，于 30 ℃、pH 7 的条件下发酵 12 h，番茄红素的产量可达到 1.44 mg/L。

3.1.2 利用真核表达系统生物合成番茄红素

真核微生物常用的表达系统有酿酒酵母、毕赤酵母、解脂耶氏酵母等，目前这 3 种酵母菌都可以用来进行番茄红素的生物合成，真核生物主要通过 MVA 途径合成番茄红素，生物合成番茄红素的路径见图 1。朱家瑞[32]利用解脂耶氏酵母 PO1h 为底盘细胞，引入外源基因 *crtE*、*crtB* 和 *crtI*，并引入纤维素降解酶基因，构建重组菌株 Y-32，重组菌株利用纤维素或半纤维素为碳源，进行番茄红素的从头合成，摇瓶发酵得到 24.1 mg/L 番茄红素。Zhang 等[33]利用丝状真菌卷枝毛霉 MU218 为出发菌株，敲除 *crgA* 基因，通过使番茄红素环化酶失活



aacT—乙酰乙酰辅酶A硫醇酶；hmgS—羟甲基戊二酰辅酶A合酶；hmgR—HMG-CoA还原酶；dxs—1-脱氧-*D*-木酮糖5-磷酸合酶；dxr—1-脱氧-*D*-木酮糖5-磷酸还原异构酶；idi—IPP异构酶；ispA—FPP合成酶；crtE—GGPP合成酶；crtB—八氢番茄红素合成酶；crtI—番茄红素合成酶。

图1　微生物合成番茄红素路径

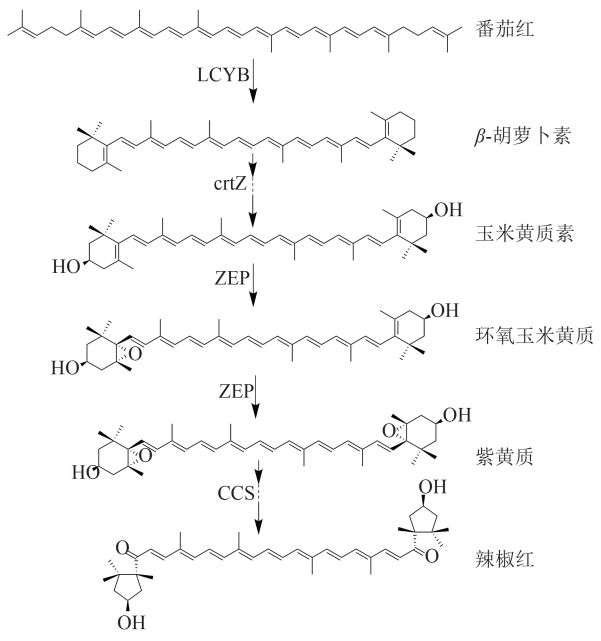
Fig. 1　Biosynthesis pathway of lycopene

来降低番茄红素损失，通过过表达HMG-CoA还原酶hmgR，抑制*fas*和*acc*的表达进而抑制脂肪酸合成途径，得到卷枝毛霉重组菌MUhr3-1。在发酵罐中，通过优化碳源、氮源等条件，工程菌MUhr3-1可以生产出（261.28±9.62）mg/L的番茄红素。张新颖[34]利用毕赤酵母G115作为底盘细胞，异源表达了来自谷氨酸棒状杆菌（*Corynebacterium glutamicum*）的基因*crtE*、*crtB*、*crtI*，成功合成了番茄红素，但是产量较低，摇瓶发酵5 d的产量为0.115 mg/g（以细胞干质量计）。在此基础上，筛选了不同物种来源的番茄红素合成途径所需要的基因，其中以来源于法夫酵母（*Xanthophyllomyces dendrorhous*）的基因（*crtE*、*crtB*、*crtI*）组合的产量最佳，番茄红素产量达到20.59 mg/g（以细胞干质量计）。进一步过表达NADH激酶pos5，增加辅因子NADPH的供给，使番茄红素的产量增至33.19 mg/g（以细胞干质量计）。结合CRISPR-Cpf1技术，阻断了合成FPP和角鲨烯的旁支途径，得到重组工程菌株ELP2OZPP，番茄红素的产量达到38.99 mg/g（以细胞干质量计）。对工程菌ELP2OZPP的固醇调节元件基因*Sre*进行过表达，得到重组菌SELP，番茄红素的产量达到43.23 mg/g（以细胞干质量计），在5 L发酵罐中高密度发酵SELP菌株，番茄红素的产量可提高至79.05 mg/g（以细胞干质量计）。Zhou等[35]采用酿酒酵母作为底盘细胞，构建了生产番茄红素的工程菌，然后利用大气和室温等离子体（atmospheric and room-temperature plasma，ARTP）诱变结合H_2O_2诱导的适应性实验室进化（adaptive laboratory evolution，ALE）的整合策略，改善上游代谢通量向FPP的供应，提高*crtE*的表达并引入工程化的*crtI*突变体（Y160F和N576S），增

加了FPP的利用率，摇瓶发酵后，番茄红素的产量达到703 mg/L。最终，在7 L生物反应器中，酿酒酵母工程菌以葡萄糖、胰蛋白胨和酵母浸粉为底料，在30 ℃、pH 6.0的条件下，通过乙醇补料策略使番茄红素的产量提升至8.15 g/L，该研究强调了一种有效的策略，即代谢工程和适应性进化的协同互补性促进了自然产物的合成。尽管微生物合成番茄红素的研究取得了一定进展，但仍面临着一些挑战，如合成路径复杂、存在微生物代谢的负担等。此外，生物合成番茄红素的研究均未进行到实质性生产阶段，还需进一步提高产量并压缩成本。

3.2 辣椒红异源生物合成的研究现状

近年来，有研究者将辣椒红素的合成转向了基因工程，但利用微生物异源合成辣椒红的案例仍然较少。Furubayashi等[36]在2021年利用大肠杆菌BL21（DE3）为底盘细胞，通过pACCRT、pACLAC、pACHP等载体表达来源于土壤细菌的*crtE*、*crtB*、*crtI*、*crtY*、*crtZ*基因，可以生成玉米黄质素，进一步表达来源于绿藻的IPP异构酶idi、来源于辣椒的辣椒红素合酶CCS以及玉米黄质环氧化酶ZEP，成功合成了辣椒红，产量达到0.5 mg/L，但无法实现工业化生产。辣椒红的生物合成途径见图2。也有研究者尝试了添加甘油作为工程菌可利用的碳源，但是辣椒红的产量并未得到提高，且辣椒红前体的产量并未对其产量有很大影响，推测辣椒红素合酶CCS的活性是合成辣椒红的关键限速步骤。目前还未有真核微生物表达系统生产辣椒红的案例，后续研究可着力于开发新的底盘细胞用于辣椒红的生物合成。此外，通过优化微生物代谢途径，增强前体物质的供应，抑制竞争性代谢途径，或许可以提高辣椒红的合成效率。



LCYB—番茄红素-*β*-环化酶；crtZ—*β*-胡萝卜素羟化酶；ZEP—玉米黄质环氧化酶；CCS—辣椒红素合酶。

图2 辣椒红的生物合成途径

Fig. 2 Biosynthetic pathway of capsanthin

3.3 甜菜红异源生物合成的研究现状

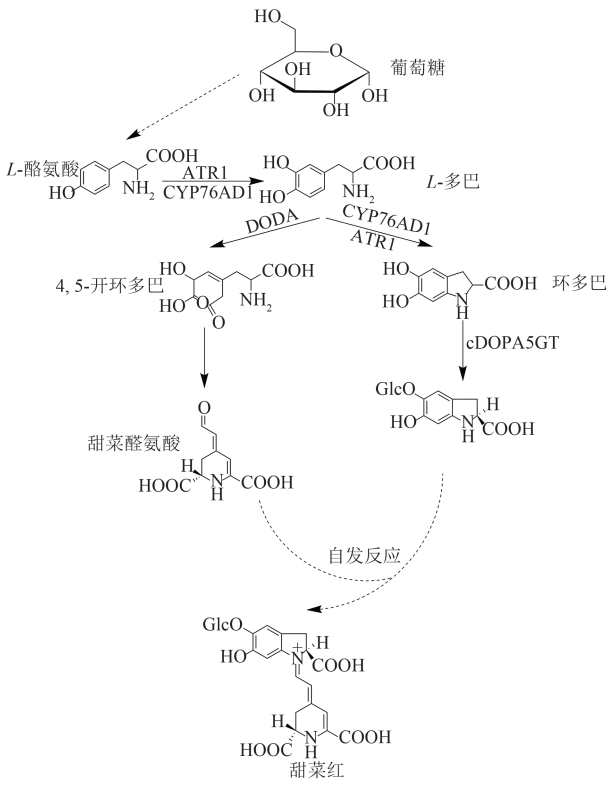
3.3.1 利用原核表达系统生物合成甜菜红

合成甜菜红的通路中，最主要的核心物质是甜菜醛氨酸，甜菜醛氨酸经过氧化或者糖基化能够生成甜菜红色素。目前可以采用大肠杆菌合成甜菜醛氨酸，侯亚男[44]分别采用大肠杆菌BL21（DE3）、大肠杆菌BAK10（DE3）、大肠杆菌BAK12作为底盘细胞，构建了用于生产甜菜醛氨酸的工程菌，其中以大肠杆菌BAK10（DE3）为底盘细胞，采用pHYN1载体共表达*hpaBC*和*MjDODA*基因构建的工程菌BTA6的甜菜醛氨酸产量最高。CYP76AD1属于细胞色素P450酶的一种，能够催化*L*-酪氨酸生成*L*-多巴，也能使*L*-多巴发生氧化进一步生成环多巴，甜菜醛氨酸可以和环多巴结合生成甜菜红。然而，在大肠杆菌中表达CYP76AD1后，菌液中未检测到红色，HPLC也未检测到甜菜红苷。可能是不同微生物细胞代谢之间存在差异，环多巴在大肠杆菌中不稳定，不能使甜菜醛氨酸发生氧化反应而产生甜菜红。如果利用AI等技术检索到能够在大肠杆菌中稳定表达且使甜菜醛氨酸发生氧化反应的酶，或许能够打破这一技术壁垒。

3.3.2 利用真核表达系统生物合成甜菜红

有研究表明，可以利用模式菌株酿酒酵母合成甜菜红，其合成路径见图3。2017年，Grewal等[37]利用酿酒酵母作为底盘细胞合成了甜菜红，产量为17 mg/L，其颜色强度对应于从甜菜根中提取到的10 g/L甜菜红。这项工作为开发合成酵母细胞工厂提供了参考，克服了甜菜红只能从石竹目植物中提取的限制，为甜菜红的从头生物合成奠定了基础。

2023年，Babaei等[38]通过在酿酒酵母中表达酪氨酸羟化酶、*L*-多巴双加氧酶、葡萄糖基转移酶等合成了甜菜红，利用葡萄糖为底物，使产量达到（30.80±0.14）mg/L。2023年，Zhang等[12]将紫茉莉的双加氧酶MjDODA和环多巴5-*O*-葡萄糖基转移



CYP76AD1—细胞色素P450酶；DODA—多巴双加氧酶；ATR1—细胞色素P450还原酶；cDOPA5GT—环多巴5-*O*-葡萄糖基转移酶。

图3　利用酿酒酵母合成甜菜红的路径

Fig. 3　Synthetic pathway of betanin in *Saccharomyces cerevisiae*

酶MjcDOPA5GT在酿酒酵母中整合表达，构建底盘菌株BET1。在此基础上，通过酶工程改造CYP76AD，将第13位的色氨酸突变为亮氨酸，最后通过增强途径基因的表达，构建了从头合成甜菜红的重组菌株。该重组菌株在25 ℃的摇瓶培养条件下，获得了28.7 mg/L的甜菜红。2024年，该团队通过进一步改善酿酒酵母中甜菜红生产的酶和通路，对植物细胞色素P450酶和前体代谢开展了组合工程，提高了CYP76AD1的催化活性。通过丙氨酸扫描和定点饱和突变筛选，获得了一个组合突变体，该突变体的甜菜红产量较野生型提高了约7倍，最后经过优化发酵工艺，工程菌株BEW10以蔗糖为碳源可产生134.1 mg/L甜菜红[39]。Thomsen等[40]采用解脂耶氏酵母为底盘细胞，构建了能够生产甜菜红的工程菌，工程菌以葡萄糖为碳源，发酵51 h，甜菜红产量达到（1 271±141）mg/L，这项工作展示了利用微生物高效生产天然复合产物的代谢工程策略，为甜菜红产量的提升提供了新的解决方案。

3.4　胭脂红酸异源生物合成的研究现状

3.4.1　利用原核表达系统生物合成胭脂红酸

原核和真核表达系统均能够实现胭脂红酸的异源合成，大肠杆菌是原核表达中使用最广泛的底盘细胞，具有培养条件简单、生长速度快、基因背景明确、适宜使用基因编辑工具、操作简单且不易污染等特点，是原核表达系统中的优势菌株[45]。但大肠杆菌也存在一定缺陷，比如它缺少翻译后修饰的功能，因此在表达外源真核基因编码的蛋白质过程中可能会出现蛋白质不能正确折叠的现象。大肠杆菌表达的目标蛋白质常以包涵体的形式存在，存在难以分离纯化等问题。

2021年，Yang等[41]采用大肠杆菌BAP1作为底盘细胞，通过pDS00和pCDF载体表达三花龙胆（*Gentiana triflora*）来源的II型聚酮合成酶（antDEFBG）、链霉菌R1128（*Streptomyces* sp. R1128）来源的环化酶zhuI和芳香化酶zhuJ、白皮链霉菌（*Streptomyces peucetius*）来源的单加氧酶dnrF、三花龙胆来源的*C*-葡萄糖基转移酶GtCGT，通过同源建模和分子对接对dnrF和GtCGT进行酶工程改造，最终在大肠杆菌中构建胭脂红酸生物合成途径，通过补料分批发酵，胭脂红酸在发酵罐中产量为（0.63±0.02）mg/L。然而目前胭脂红酸的产量仍处于较低水平，而中间物质黄胭脂酮酸的积累量却很高，因此猜测后面两步酶的催化反应效率较低，以及黄胭脂酮酸在代谢中可能产生了其他副产物，更换单加氧酶和*C*-葡萄糖基转移酶的来源可能对提升胭脂红酸产量有一定帮助。

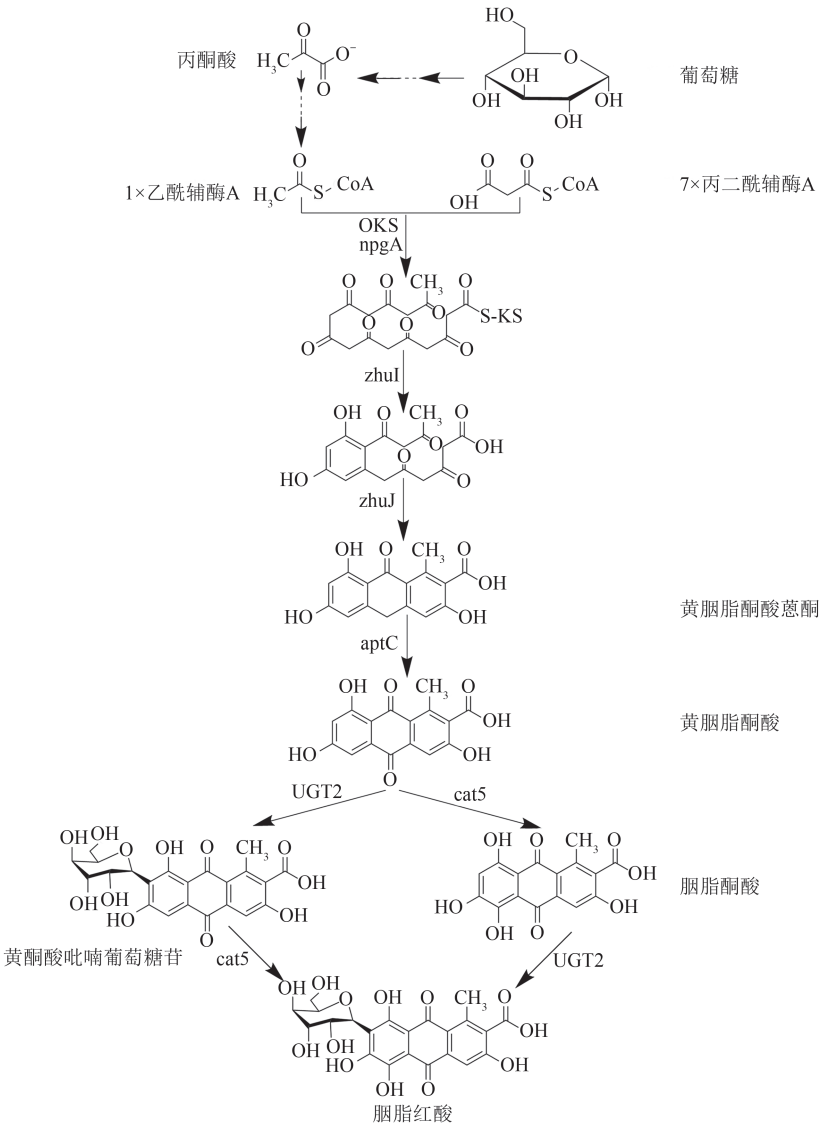
3.4.2　利用真核表达系统生物合成胭脂红酸

基因工程研究中常用的真核表达系统有酵母表达系统、昆虫细胞表达系统和哺乳动物细胞表达系统。酵母菌培养条件简单，能够利用低成本的碳源，不含内毒素，且具有翻译后修饰加工的能力，适用于功能性表达，与昆虫或哺乳动物细胞相比，更易于放大规模，因此常应用于重组蛋白的异源表达，尤其是真核生物蛋白质的表达[46]。

Frandsen等[42]预测了生产胭脂红酸所需的起始成分、关键生化反应步骤和相应的催化酶类，设计了8种可能产生胭脂红酸的潜在生化途径，并筛选测试了多种潜在宿主进行基因工程改造，最终选定构巢曲霉（*Aspergillus nidulans*）为最优宿主系统。2018年，该团队利用构巢曲霉为底盘细胞，表

达聚酮合酶OKS、环化酶zhuI、芳香酶zhuJ和*C*-葡萄糖基转移酶UGT2，构建了一株能够合成胭脂红酸的工程菌株，文章中没有提供产量相关信息，但该反应效率远不足以进行大规模生产。

酿酒酵母是最早用于异源蛋白质表达的真核细胞，目前也是已完成全基因组测序的真核模式生物。2023年，Zhang等[27]以酿酒酵母CEN.PK2-1D为底盘细胞进行改造，敲除了基因*gal80*，基于已报道的构巢曲霉中合成胭脂红酸的基因，进行初步分析和验证，将来源于芦荟（*Aloe arborescens*）的聚酮合酶OKS、来源于链霉菌的环化酶zhuI和芳香酶zhuJ、来源于胭脂虫的*C*-葡萄糖基转移酶UGT2在酿酒酵母中异源表达，但未检测到胭脂红酸。此外，已报道的基因在酿酒酵母中不能构成完整的胭脂红酸合成途径，因此推测构巢曲霉中存在内源基因参与胭脂红酸的合成，于是通过对构巢曲霉基因组进行分析和基因表达验证，挖掘和鉴定了与胭脂红酸合成相关的构巢曲霉内源基因*npgA*和*aptC*。胭脂红酸的异源合成路径见图4。Zhang等[27]将*npgA*整合到酿酒酵母ady2的转座子位点，采用pY26载体表达异源基因*OKS*、*zhuI*、*zhuJ*、*UGT2*和*aptC*，并将这5个基因整合于酿酒酵母基因组的多拷贝转座子位点Ty2，在此基础上，过表达聚酮合酶OKS，构建了基于葡萄糖合成胭脂红酸的生产菌株。在5 L的发酵罐中加入维生素，胭脂红的产量可以达到7.6 mg/L，但仍然不足以实



OKS—聚酮合酶；npgA—4-磷酸戊二烯基转移酶；zhuI—环化酶；zhuJ—芳香酶；UGT2—*C*-葡萄糖基转移酶；aptC—单加氧酶。

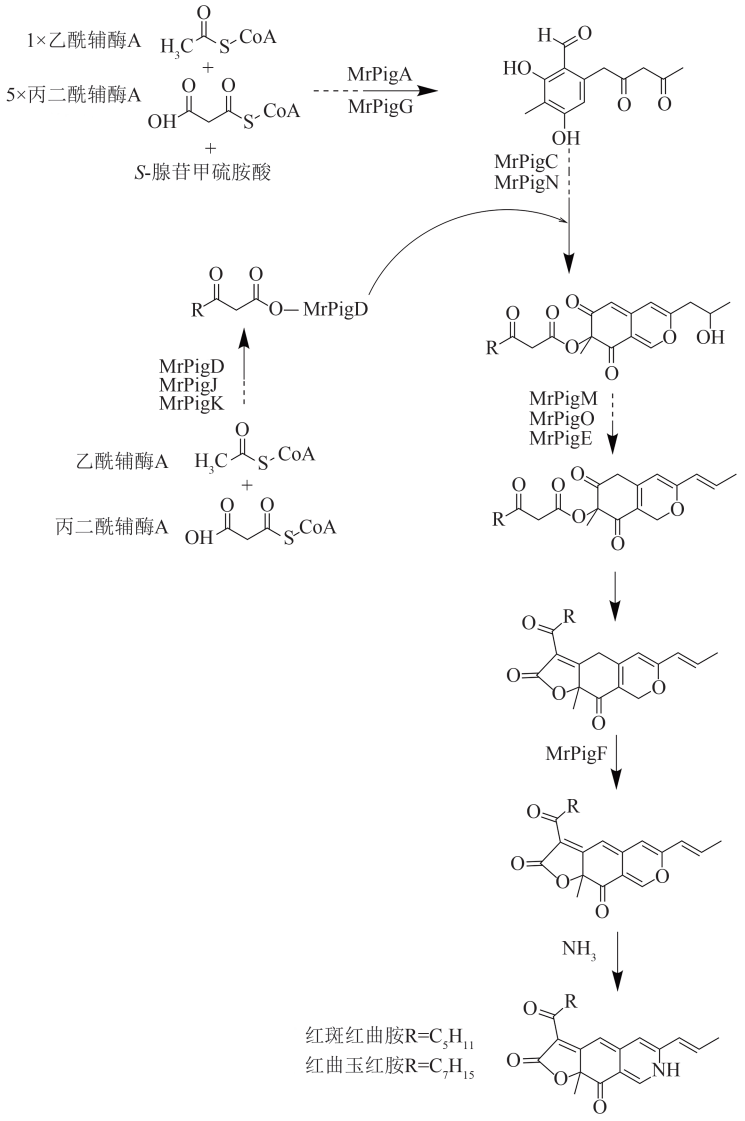
图4 利用酿酒酵母异源合成胭脂红酸的路径

Fig. 4 Heterologous synthesis of carmine acid in *Saccharomyces cerevisiae*

现工业化生产。未来的研究可以从优化微生物代谢路径、开发新型微生物宿主、挖掘胭脂虫中参与合成胭脂红酸的关键基因和提高胭脂红酸的生物利用率等方面开展，可能会为胭脂红酸的高效合成开辟新的途径。

3.5　红曲红异源生物合成的研究现状

红曲霉色素是含有共同氮杂酮骨架化合物的复杂混合物，根据吸光度分为黄色色素、橙色色素和红色色素。目前暂时无法通过原核生物实现红曲红生物合成，而 Chen 等[23]利用红曲霉 M7（*Monascus ruber* M7）为底盘细胞，通过表达基因簇（非还原性聚酮合酶 MrPigA、丝氨酸水解酶 MrPigG、C11-酮还原酶 MrPigC、单加氧酶 MrPigN、乙酰转移酶 MrPigM、脂肪酸合成酶 α 亚基 MrPigJ、脂肪酸合成酶 β 亚基 MrPigK、4-*O*-酰基转移酶 MrPigD、脱乙酰酶 MrPigO、氧化还原酶 MrPigE、氧化还原酶 MrPigF），以及经过一系列的酶促反应生成橙色色素（红斑红曲素和红曲玉红）。橙色色素通过与胺的非酶促反应，衍生出红曲红（红斑红曲胺和红曲玉红胺），其生物合成途径见图 5。



MrPigA—非还原性聚酮合酶；MrPigG—丝氨酸水解酶；MrPigC—C11-酮还原酶；MrPigN—单加氧酶；MrPigM—乙酰转移酶；MrPigJ—脂肪酸合成酶 α 亚基；MrPigK—脂肪酸合成酶 β 亚基；MrPigD—4-*O*-酰基转移酶；MrPigO—脱乙酰酶；MrPigE—NAD(P)H 依赖的氧化还原酶；MrPigF—FAD 依赖的氧化还原酶。

图 5　红曲霉异源合成红曲红的路径

Fig. 5　Heterologous synthesis of *Monascus* red pigment in *Monascus ruber*

4 展望

用于生产食用红色素的传统方法成本高、产量低。红色素的生物合成法具有安全性高、稳定性好的特点，且能在可控的环境中实现高效生产，符合现代消费者对食品安全的要求。中华人民共和国国家卫生健康委员会于2019年发布了《合成生物学生命科学前沿行动计划》。中华人民共和国国家发展和改革委员会于2022年印发了《“十四五”生物经济发展规划》，明确指出了包括合成生物学在内的生物经济是未来中国经济转型的新动力。目前利用微生物合成食用色素仍面临产量低的“瓶颈”问题，番茄红素和甜菜红的产量均在10 g/L以下，辣椒红和胭脂红酸每升仅达到毫克的水平。目前尚无法利用大肠杆菌合成甜菜红，红曲红及高粱红等的合成生物学研究也鲜有报道。微生物合成食用红色素面临着诸多挑战：现有的产量水平无法满足大规模生产；生产成本仍远高于商业化的可接受范围；复杂的代谢途径阻碍了研究和生产的发展。

针对这些问题，需从以下几个方面突破：1）底盘细胞改造，通过基因敲除阻断代谢通路中的旁支途径、增加前体供应、优化代谢流；2）合成生物学技术的优化，包括密码子、启动子和载体的优化，以及提升转录和翻译的效率；3）发酵条件的优化，在培养条件、诱导策略、底物方面进行精调；4）酶的优化，大数据筛选最优的异源基因，优化基因拷贝数等。总体而言，未来需加强多学科交叉研究，完善安全评价体系与行业法规。微生物合成红色素作为绿色制造新方向，虽面临产业化挑战，但具有显著的经济和社会效益及广阔的应用前景。

参考文献

[1] RODRÍGUEZ-MENA A，OCHOA-MARTÍNEZ L A，GONZÁLEZ-HERRERA S M，et al. Natural pigments of plant origin：classification，extraction and application in foods[J]. Food Chemistry，2023，398：133908.

[2] 陈毅怡，刘晓静，曾晓房，等. 食用天然红色素的研究进展[J]. 广州化工，2017，45(23)：6-8.
CHEN Y Y，LIU X J，ZENG X F，et al. Research and progress on edible natural red pigments[J]. Guangzhou Chemical Industry，2017，45(23)：6-8.(in Chinese)

[3] 汤沈杨，陈梦瑶，肖花美，等. 胭脂虫及胭脂虫红色素的应用研究进展[J]. 应用昆虫学报，2019，56(5)：969-981.
TANG S Y，CHEN M Y，XIAO H M，et al. Progress in research on the commercial use of cochineal insects and cochineal dye[J]. Chinese Journal of Applied Entomology，2019，56(5)：969-981.(in Chinese)

[4] JUNG H，KIM C，KIM K，et al. Color characteristics of *Monascus* pigments derived by fermentation with various amino acids [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry，2003，51(5)：1302-1306.

[5] LI H L，ZHAO X B，MA Y K，et al. Enhancement of gastrointestinal absorption of quercetin by solid lipid nanoparticles[J]. Journal of Controlled Release，2009，133(3)：238-244.

[6] YANG H，PAN R H，WANG J，et al. Modulation of the gut microbiota and liver transcriptome by red yeast rice and *Monascus* pigment fermented by purple *Monascus* SHM1105 in rats fed with a high-fat diet[J]. Frontiers in Pharmacology，2020，11：599760.

[7] KHAN U M，SEVINDIK M，ZARRABI A，et al. Lycopene：food sources，biological activities，and human health benefits [J]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity，2021(1)：2713511.

[8] LIANG X P，MA C C，YAN X J，et al. Advances in research on bioactivity，metabolism，stability and delivery systems of lycopene [J]. Trends in Food Science & Technology，2019，93：185-196.

[9] HERNÁNDEZ-ALMANZA A，MONTAÑEZ J，MARTÍNEZ G，et al. Lycopene：progress in microbial production[J]. Trends in Food Science & Technology，2016，56：142-148.

[10] XUE D，ABDALLAH I I，DE HAAN I E M，et al. Enhanced C30 carotenoid production in *Bacillus subtilis* by systematic overexpression of MEP pathway genes[J]. Applied Microbiology and Biotechnology，2015，99(14)：5907-5915.

[11] 雷建军，朱张生，陈长明，等. 辣椒红色素及其生物合成的分子机理研究进展[J]. 园艺学报，2023，50(3)：669-684.
LEI J J，ZHU Z S，CHEN C M，et al. Research progress on pepper main red pigments and their molecular mechanisms of biosynthesis [J]. Acta Horticulturae Sinica，2023，50(3)：669-684.(in Chinese).

[12] ZHANG L J，LIU X，LI J W，et al. Improvement of betanin biosynthesis in *Saccharomyces cerevisiae* by metabolic engineering [J]. Synthetic and Systems Biotechnology，2023，8(1)：54-60.

[13] ZAIMA K，FUKAMACHI A，YAGI R，et al. Kinetic

study of the equilibration between carminic acid and its two isomers isolated from cochineal dye[J]. Chemical & Pharmaceutical Bulletin，2017，65(3)：306-310.

[14] 郝佳，范丽影，许朵霞，等. 红曲色素生物合成、制粒及其理化性质研究进展[J]. 粮食与食品工业，2019，26(5)：30-34.
HAO J，FAN L Y，XU D X，et al. The progress of the research on the preparation of *Monascus* pigment，microcapsule spray granulating and its physical and chemical properties[J]. Cereal & Food Industry，2019，26(5)：30-34.(in Chinese)

[15] KONG K W，KHOO H E，PRASAD K N，et al. Revealing the power of the natural red pigment lycopene [J]. Molecules，2010，15(2)：959-987.

[16] CAMPOS K K D，ARAÚJO G R，MARTINS T L，et al. The antioxidant and anti-inflammatory properties of lycopene in mice lungs exposed to cigarette smoke[J]. The Journal of Nutritional Biochemistry，2017，48：9-20.

[17] DAVIES K M. Swapping one red pigment for another [J]. Nature Genetics，2015，47(1)：5-6.

[18] 林钊. 焙烤食品中胭脂红酸和紫草素同时检测方法的研究[D]. 湛江：广东海洋大学，2021.

[19] 唐一诺，章肖肖，宋文文，等. 胭脂虫红色素口红制备工艺优化及品质分析[J]. 中国食品添加剂，2024，35(8)：139-147.
TANG Y N，ZHANG X X，SONG W W，et al. Preparation process optimization and quality analysis of cochineal carmine pigment lipstick [J]. China Food Additives，2024，35(8)：139-147.(in Chinese)

[20] GONZÁLEZ M，MÉNDEZ J，CARNERO A，et al. Optimizing conditions for the extraction of pigments in cochineals (*Dactylopius coccus* Costa) using response surface methodology [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry，2002，50(24)：6968-6974.

[21] DAPSON R. The history，chemistry and modes of action of carmine and related dyes [J]. Biotechnic & Histochemistry，2007，82(4/5)：173-187.

[22] 严旎萍. 从“洋红”到“胭脂虫”：18—20世纪中文文献所见美洲红色染料的命名与认知[J]. 海洋史研究，2024(1)：47-66.
YAN N P. From Yanghong to Yanzhichong：naming and knowing American cochineal in China from the eighteenth to the twentieth centuries [J]. Studies of Maritime History，2024(1)：47-66.(in Chinese)

[23] CHEN W P，CHEN R F，LIU Q P，et al. Orange，red，yellow：biosynthesis of azaphilone pigments in *Monascus* fungi[J]. Chemical Science，2017，8(7)：4917-4925.

[24] 殷倩倩，左勇. 高产色素低产桔青霉素红曲霉菌筛选及发酵工艺优化研究[J]. 中国调味品，2024，49(2)：62-68，78.
YIN Q Q，ZUO Y. Study on screening and fermentation process optimization of *Monascus* with high-yield pigment and low-yield citrinin[J]. China Condiment，2024，49(2)：62-68，78.(in Chinese)

[25] 张婵，杨强，张桦林，等. 超声辅助法优化提取红曲红、红曲黄色素[J]. 食品与生物技术学报，2014，33(8)：805-813.
ZHANG C，YANG Q，ZHANG H L，et al. Optimization for ultrasonic-assisted on extraction of *Monascus* red pigment and yellow pigments [J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2014，33(8)：805-813.(in Chinese)

[26] 汪文秀. 人工合成色素对人体的危害及天然色素的应用前景[J]. 食品安全导刊，2019(25)：72-73.
WANG W X. Harm of artificial pigments to human body and application prospect of natural pigments[J]. China Food Safety Magazine，2019(25)：72-73.(in Chinese)

[27] ZHANG Q，WANG X L，ZENG W Z，et al. *De novo* biosynthesis of carminic acid in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Metabolic Engineering. 2023，76：50-62.

[28] 苟宗芹，音提扎尔•吐尔逊买买提，田园，等. 响应面法优化大肠杆菌异源合成番茄红素[J]. 食品与发酵工业，2022，48(15)：110-117.
GOU Z Q，TUERXUNMAIMAITI Y，TIAN Y，et al. Optimization of heterogeneous lycopene synthesis in *Escherichia coli* using response surface methodology[J]. Food and Fermentation Industries，2022，48(15)：110-117.(in Chinese)

[29] ZHU F Y，LU L，FU S，et al. Targeted engineering and scale up of lycopene overproduction in *Escherichia coli* [J]. Process Biochemistry，2015，50(3)：341-346.

[30] SUN T，MIAO L T，LI Q Y，et al. Production of lycopene by metabolically-engineered *Escherichia coli* [J]. Biotechnology Letters，2014，36(7)：1515-1522.

[31] 苟宗芹. 乳酸菌异源合成番茄红素研究[D]. 上海：上海理工大学，2022.

[32] 朱家瑞. 以纤维素为碳源的解脂耶氏酵母从头生物合成对香豆酸及番茄红素[D]. 武汉：华中科技大学，2023.

[33] ZHANG Y T，CHEN H Q，NAVARRO E，et al. Generation of lycopene-overproducing strains of the fungus *Mucor circinelloides* reveals important aspects of lycopene formation and accumulation[J]. Biotechnology Letters，2017，39(3)：439-446.

[34] 张新颖. 毕赤酵母合成番茄红素代谢重构及CRISPR-Cpf1系统开发应用[D]. 广州：华南理工大学，2022.

[35] ZHOU K，YU C，LIANG N，et al. Adaptive evolution and metabolic engineering boost lycopene production in *Saccharomyces cerevisiae via* enhanced precursors supply and utilization[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry，2023，71(8)：3821-3831.

[36] FURUBAYASHI M，KUBO A，TAKEMURA M，et al. Capsanthin production in *Escherichia coli* by overexpression of capsanthin/capsorubin synthase from *Capsicum annuum*[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry，2021，69(17)：5076-5085.

[37] GREWAL P S，MODAVI C，RUSS Z N，et al. Bioproduction of a betalain color palette in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Metabolic Engineering，2018，45：180-188.

[38] BABAEI M，THOMSEN P T，DYEKJÆR J D，et al. Combinatorial engineering of betalain biosynthesis pathway in yeast *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Biotechnology for Biofuels and Bioproducts，2023，16(1)：128.

[39] LI J W，WANG L M，ZHANG N，et al. Enzyme and pathway engineering for improved betanin production in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. ACS Synthetic Biology，2024，13(6)：1916-1924.

[40] THOMSEN P T，MERAMO S，NINIVAGGI L，et al. Beet red food colourant can be produced more sustainably with engineered *Yarrowia lipolytica* [J]. Nature Microbiology，2023，8(12)：2290-2303.

[41] YANG D，JANG W D，LEE S Y. Production of carminic acid by metabolically engineered *Escherichia coli*[J]. Journal of the American Chemical Society，2021，143(14)：5364-5377.

[42] FRANDSEN R J N，KHORSAND-JAMAL P，KONGSTAD K T，et al. Heterologous production of the widely used natural food colorant carminic acid in *Aspergillus nidulans*[J]. Scientific Reports，2018，8：12853.

[43] 孙瑞，尚坤，武琪琪，等. 番茄红素生物合成及抗氧化研究进展[J]. 食品科技，2023，48(6)：246-252，260.
SUN R，SHANG K，WU Q Q，et al. Advances on lycopene biosynthesis and antioxidant research[J]. Food Science and Technology，2023，48(6)：246-252，260.(in Chinese)

[44] 侯亚男. 工程大肠杆菌共培养系统从头合成甜菜素[D]. 天津：天津大学，2020.

[45] 李航，戚睿斌，陈宗艳，等. 外源蛋白表达系统及其应用的研究进展[J]. 黑龙江畜牧兽医，2021(7)：34-37，47.
LI H，QI R B，CHEN Z Y，et al. Progress in research on foreign protein expression system and its application[J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine，2021(7)：34-37，47.(in Chinese)

[46] 祁浩，刘新利. 大肠杆菌表达系统和酵母表达系统的研究进展[J]. 安徽农业科学，2016，44(17)：4-6，52.
QI H，LIU X L. Research progress of expression systems of *Escherichia coli* and yeast[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences，2016，44(17)：4-6，52.(in Chinese)

（责任编辑：闫林红）