

## Tổng hợp sinh học một số hợp chất carotenoid ở nấm men *Yarrowia lipolytica* cải biến di truyền

### Biosynthesis of selected Carotenoids in Genetically Engineered *Yarrowia lipolytica*

Nguyễn Huy Thuần<sup>a\*</sup>, Trần Thanh Việt<sup>b</sup>  
Nguyen Huy Thuan<sup>a\*</sup>, Tran Thanh Viet<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Trung tâm Công nghệ Sinh học Dược, Trường Y Dược, Đại học Duy Tân, Đà Nẵng, Việt Nam

<sup>a</sup>Center for Pharmaceutical Biotechnology (CPB), School of Medicine and Pharmacy, Duy Tan University, Da Nang, 550000, Viet Nam

<sup>b</sup>Khoa Y, Trường Y Dược, Đại học Duy Tân, Đà Nẵng, Việt Nam

<sup>b</sup>Faculty of Medicine, School of Medicine and Pharmacy, Duy Tan University, Da Nang, 550000, Viet Nam

(Ngày nhận bài: 27/11/2025, ngày phản biện xong: 23/12/2025, ngày chấp nhận đăng: 22/01/2026)

#### Tóm tắt

*Yarrowia lipolytica* (*Y. lipolytica*) là loài nấm men sinh dầu (oleaginous) nổi tiếng, có khả năng phân giải nhiều loại cơ chất kỵ nước khác nhau. Đặc tính này cho phép nấm men sản xuất hiệu quả một số lượng lớn các sản phẩm chuyển hóa có giá trị như protein, peptide, axit amin, khoáng vi lượng, vitamin, carbohydrate và dầu đơn bào (single-cell oil, SCO). Nhờ vào khả năng trao đổi chất mạnh mẽ và tiềm năng tích lũy lipid cao, *Y. lipolytica* đã nổi lên như một vật chủ tiềm năng đặc biệt trong sinh tổng hợp carotenoid. Kỹ thuật điều biến trao đổi chất (metabolic engineering) trên *Y. lipolytica* được thực hiện bằng cách thiết kế và ứng dụng các công cụ di truyền tiên tiến như plasmid/vector, các thành phần điều hòa biểu hiện gen, cùng với các giải pháp tối ưu hóa hệ thống nhằm cải thiện hiệu suất của toàn bộ con đường sinh tổng hợp mục tiêu. Trong bài tổng quan này, các tác giả thảo luận chi tiết về một số yếu tố điều hòa gen chủ chốt và các cải biến trao đổi chất đã được áp dụng để nâng cao hiệu suất quá trình sinh tổng hợp một số loại carotenoid quan trọng như lycopene,  $\beta$ -carotene và astaxanthin trong *Y. lipolytica*.

**Từ khóa:** *Yarrowia lipolytica*, trao đổi chất, tổng hợp sinh học, carotenoid, cải biến trao đổi chất

#### Abstract

*Yarrowia lipolytica* (*Y. lipolytica*) is a well-known oleaginous yeast capable of efficiently degrading a wide range of hydrophobic substrates. This characteristic allows the yeast to successfully produce a large number of valuable metabolites, including proteins, peptides, amino acids, trace minerals, vitamins, carbohydrates, and single-cell oils (SCO). Due to its robust metabolic capacity and high lipid accumulation potential, *Y. lipolytica* has emerged as a promising host, particularly in the field of carotenoid biosynthesis. Metabolic engineering in *Y. lipolytica* is performed by designing and applying advanced genetic tools such as plasmids/vectors, gene-expression regulatory components, along with system-wide optimization strategies. The goal of these interventions is to improve the efficiency of the entire target biosynthetic pathways. In this review, the authors discuss in detail the key gene regulatory factors and metabolic modifications that have been implemented to improve the biosynthesis efficiency of important carotenoids such as lycopene,  $\beta$ -carotene, and astaxanthin in *Y. lipolytica*.

**Keywords:** *Yarrowia lipolytica*, metabolism, biosynthesis, carotenoids, metabolic engineering

\*Tác giả liên hệ: Nguyễn Huy Thuần

Email: nguyenhuythuan@dtu.edu.vn

## 1. Giới thiệu

*Y. lipolytica*, trước đây được gọi là *Candida lipolytica*, *Endomycopsis lipolytica* hoặc *Saccharomycopsis lipolytica*, thuộc giới Nấm (Fungi), phân giới Dikaryota, ngành Ascomycota, phân ngành Saccharomycotina, lớp Ascomycetes, phân lớp Saccharomycetes (Hemiascomycetes), bộ Saccharomycetales. Loài nấm men này có khả năng sinh trưởng trong nhiều loại môi trường khác nhau và thường được tìm thấy trên các loại thực phẩm, trong nước biển và trong ruột mối [1].

*Y. lipolytica* được coi là vật chủ tiềm năng trong công nghệ sinh học nhờ các đặc điểm trao đổi chất độc đáo và khả năng thích ứng linh hoạt với điều kiện nuôi trồng công nghiệp [2]. Mặc dù các vật chủ tiêu biểu khác như *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae* và *Corynebacterium glutamicum*, đã được sử dụng rộng rãi trong công nghệ sinh học thực phẩm và dược phẩm, *Y. lipolytica* nổi bật với nhiều lợi thế riêng biệt. Đầu tiên, *Y. lipolytica* sở hữu các

enzyme cytochrome nội sinh (CYP P450) và enzyme UDP-glucose glycoprotein glucosyltransferase nội sinh. Các enzyme này hỗ trợ việc biến đổi và tiết protein trong lưới nội chất, tạo ra khả năng xử lý protein tương tự như ở sinh vật nhân chuẩn bậc cao. Thêm vào đó, tế bào có kích thước lớn giúp quá trình tách chiết trở nên dễ dàng. Thứ hai, *Y. lipolytica* có khả năng duy trì hàm lượng acetyl-CoA nội bào cao [3] và sở hữu con đường trao đổi chất mevalonate (MVA), cho phép cung cấp tiền chất trực tiếp cho sinh tổng hợp isoprenoid [4]. Hệ gen của nó có thể chỉnh sửa chính xác bằng công nghệ tiên tiến như CRISPR-Cas9 [5]. Thứ ba, *Y. lipolytica* là một loài nấm men GRAS (Generally Recognized As Safe), cho phép sử dụng an toàn trong công nghiệp thực phẩm. Đặc tính nổi bật khác là khả năng chịu được nhiều dạng stress môi trường, bao gồm dung môi hữu cơ (alkane), môi trường axit, và độ mặn cao [3] (Bảng 1). Nhờ những ưu điểm này, *Y. lipolytica* là lựa chọn lý tưởng cho các ứng dụng công nghiệp quy mô lớn.

Bảng 1. So sánh một số đặc tính sinh lý, trao đổi chất và sự an toàn của *Y. lipolytica*, *E. coli*, *S. cerevisiae* và *C. glutamicum* sử dụng làm vật chủ (host) để sản xuất các hợp chất tự nhiên [6].

Hệ thống	<i>E. coli</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>C. glutamicum</i>	<i>Y. lipolytica</i>
GRAS (được công nhận an toàn)	Không	Có	Có	Có
Xoang hóa nội bào (Cellular compartmentalization)	Không	Có	Không	Có
Công cụ di truyền sẵn có (Genetic tools availability)	***	***	*	**
Khả năng thao tác trên hệ gen (Genome manipulation)	***	***	*	**
Tiền chất terpenoid (acetyl-CoA / HMG-CoA flux)	*	**	*	***
Tiền chất polyketide (malonyl-CoA)	*	**	*	***
Cường độ biểu hiện enzyme màng quan trọng trong tổng hợp hợp chất tự nhiên	*	***	*	***
Đa dạng sản phẩm tự nhiên	***	***	*	**
Hàm lượng lipid cho lưu trữ hợp chất tự nhiên kỵ nước	*	*	*	***
Sản xuất amino acid thơm	**	**	***	**
Khả năng tiết (efflux) sản phẩm tự nhiên	**	**	Không	***

Ghi chú: \*\*\* = mức tối đa, \*\* = mức trung bình, \* = mức tối thiểu

Carotenoids, gồm các hợp chất hình thành từ isoprene, là nhóm sắc tố tự nhiên đa dạng với màu sắc rực rỡ, tham gia vào quá trình quang hợp, bảo vệ tế bào khỏi tổn thương do ánh sáng, và đặc biệt có tính chống oxy hóa mạnh, tốt cho sức khỏe con người. Nhờ nhiều hoạt tính sinh học như chống oxy hóa, chống ung thư, bảo vệ thị lực, carotenoids được ứng dụng rộng rãi trong thực phẩm, dược phẩm chức năng, mỹ phẩm và nông nghiệp [7].

Đến năm 2026, quy mô thị trường carotenoid toàn cầu được dự báo sẽ đạt khoảng 1,85 tỷ USD. Trong giai đoạn từ 2024 đến 2032, thị trường này tiếp tục tăng trưởng với tốc độ tăng trưởng kép hàng năm là 4,5%, và dự kiến đạt giá trị khoảng 2,43 tỷ USD vào năm 2032. Hiện nay, các nhà khoa học đã xác định được khoảng 1.158 loại carotenoids khác nhau, có nguồn gốc từ 691 loài sinh vật. Tuy nhiên, chỉ một số rất ít trong số đó có giá trị thương mại như lycopene, astaxanthin, zeaxanthin và lutein [8].

Hiện tại, nguồn carotenoids thương mại chủ yếu được cung cấp từ chiết xuất (từ thực vật và vi tảo) và tổng hợp hóa học. Tuy nhiên, các phương pháp truyền thống này có nhiều hạn chế: chiết xuất từ thực vật có hiệu suất thấp, phụ thuộc mùa vụ, chu kỳ sinh trưởng dài và chi phí nuôi trồng cao. Trong khi đó, tổng hợp hóa học thường tạo ra hỗn hợp đồng phân không mong muốn và ít được ưa chuộng trong thực phẩm. Do đó, các quy trình phức tạp và tốn kém này đang dần được thay thế bằng cách tiếp cận sinh học tổng hợp (synthetic biology). Phương pháp này sử dụng các “module sinh học” lắp ráp sẵn, nhằm sản xuất hiệu quả các hợp chất mục tiêu [9]. Sản xuất carotenoids bằng vi sinh vật trở thành một giải pháp bền vững thay thế dần phương pháp truyền thống. Cùng với sự tiến bộ của kỹ thuật chuyển hóa, các nhà khoa học đã phát triển nhiều hệ thống “nhà máy tế bào” (microbial factory) để tổng hợp carotenoids bằng cách tích hợp và tinh chỉnh các con đường sinh tổng hợp dị dòng

trong nhiều vật chủ khác nhau. Bài báo này sẽ giới thiệu khái quát về một số thành tựu nổi bật trong việc sử dụng nấm men *Y. lipolytica* cải biến di truyền như một nhà máy tế bào vi sinh vật hiệu quả để tổng hợp các hoạt chất carotenoid.

## 2. Một số yếu tố điều hòa biểu hiện gen ở *Y. lipolytica*

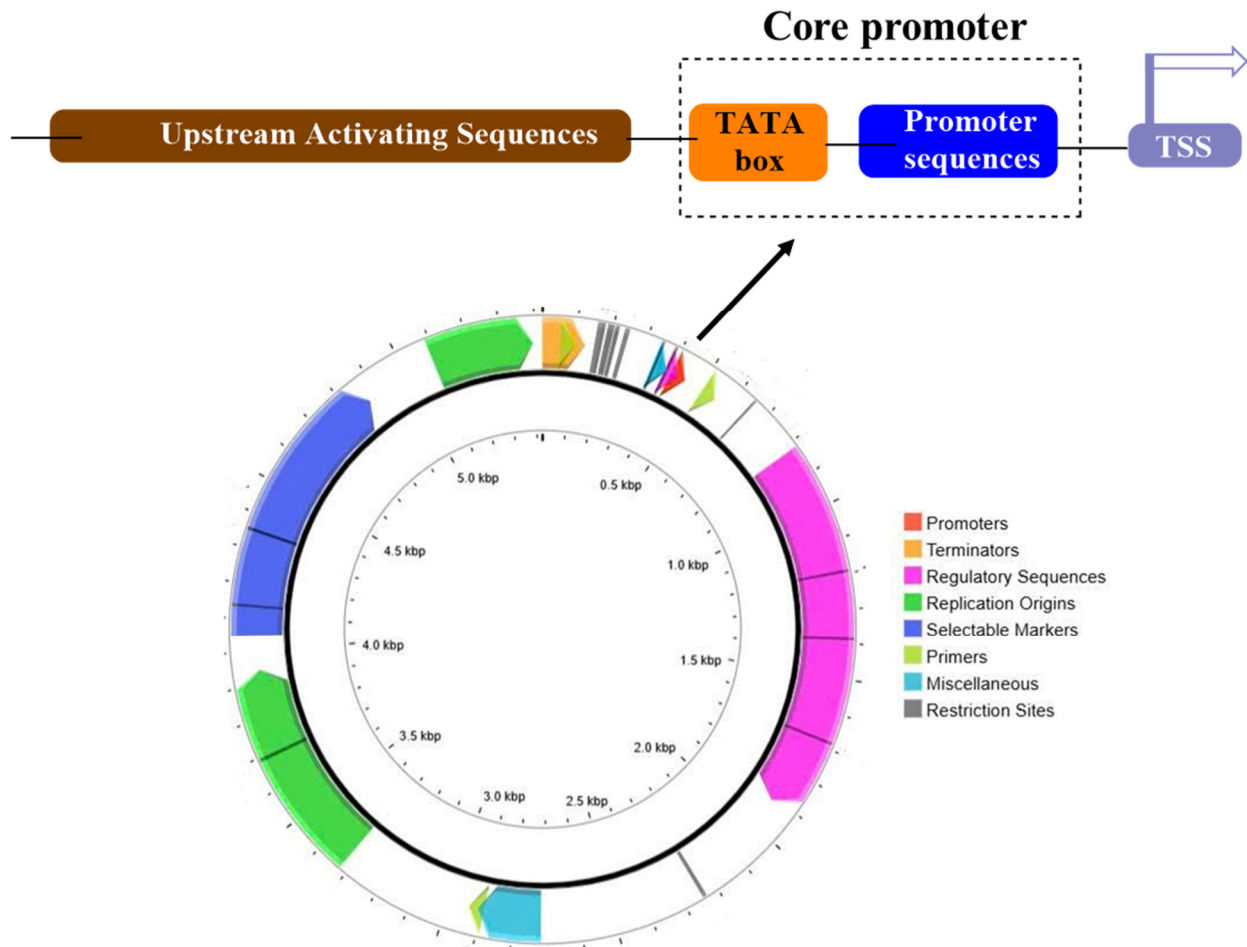
Một hệ thống biểu hiện gen hiệu quả phụ thuộc vào các yếu tố điều hòa chính xác, bao gồm trình tự khởi động phiên mã (promoter), yếu tố điều hòa, gen đánh dấu chọn lọc (selection marker) và trình tự kết thúc phiên mã (terminator). Việc tối ưu hóa và kết hợp các yếu tố này cho phép kiểm soát chặt chẽ mức độ biểu hiện, đặc hiệu không gian-thời gian và độ ổn định của gen mục tiêu, từ đó cải thiện đáng kể tiềm năng ứng dụng công nghiệp của *Y. lipolytica*.

### 2.1. Trình tự khởi động (Promoters)

Promoter là một trình tự DNA nằm phía trước gen, là vùng gắn với các yếu tố phiên mã để khởi động quá trình phiên mã. Ở *Y. lipolytica*, promoter thường bao gồm nhiều yếu tố, trong đó có vùng promoter lõi chứa hộp Pribnow (TATAAT) và vùng kích hoạt phía trước (UAS). Hộp TATA là trình tự bảo tồn cao, liên kết với TBP (TATA-binding protein), đóng vai trò điều khiển quá trình khởi đầu phiên mã. Trong khi đó, UAS là vùng tăng cường (enhancer) nằm cách điểm khởi đầu phiên mã (TSS) hàng trăm cặp nucleotide (bp), có chức năng điều hòa theo cách phụ thuộc vào khoảng cách [10]. Các nghiên cứu gần đây đã xây dựng thư viện promoter với các mức độ phiên mã đa dạng, cung cấp nguồn tài nguyên quý giá cho kỹ thuật di truyền trên *Y. lipolytica*. Trong số các promoter đặc trưng, pXPR2 là promoter mạnh đầu tiên được phát hiện từ gen XPR2 (mã hóa protease kiềm ngoại bào). Tuy nhiên cơ chế điều hòa phức tạp khiến việc ứng dụng nó trong công nghiệp bị hạn chế. Ngược lại, pTEF là promoter mạnh cấu thành,

bắt nguồn từ gen mã hóa yếu tố kéo dài dịch mã EF-1 $\alpha$ , hiện được xem là promoter được ứng dụng phổ biến nhất. Ngoài ra, nhiều promoter nội sinh khác như pGAP, pICL, pIDH2, pFAS1, pDGA1, pACC, pPOX4... cũng đã được khai thác với các mức độ biểu hiện khác nhau. Các promoter loại cảm ứng (inducible) cũng rất quan trọng, tiêu biểu là pPOX2 và pPOT1 (cảm ứng bởi acid béo và alkane) hoặc pEYKI (cảm ứng

bởi erythritol). Bên cạnh đó, promoter lai hp4d (chứa nhiều bản sao UAS từ pXPR2) được sử dụng rộng rãi cho biểu hiện gen ngoại lai. Hiện nay, nhiều promoter nhân tạo đã được thiết kế, bao gồm các promoter cảm ứng bởi ion đồng (Cu<sup>2+</sup>) hoặc đường erythritol, cho phép điều chỉnh mạnh mẽ và linh hoạt hoạt động phiên mã trong *Y. lipolytica* [11, 12, 13, 14, 15, 16].



Hình 1. Các yếu tố điều khiển sự biểu hiện gen trong plasmid tái tổ hợp được sử dụng ở chủng nấm *Y. lipolytica*.

Trong đó:

Hộp Pribnow có chứa trình tự TATAAT (Pribnow box), là điểm gắn của  $\sigma$ -factor (sigma subunit) để RNA polymerase khởi đầu phiên mã.

Trình tự hoạt hóa upstream (UAS), trình tự khởi đầu phiên mã (TSS) [16].

Promoters: trình tự khởi động.

Terminator: trình tự kết thúc.

Regulatory sequences: trình tự điều hòa.

Replication Origins: trình tự khởi đầu sao chép.

Selectable marker: gen chọn lọc (kháng kháng sinh).

Primers: trình tự môi.

Restriction sites: trình tự cắt cho enzyme giới hạn.

Miscellaneous: các trình tự khác.

## 2.2. Trình tự kết thúc (terminators)

Terminators là các trình tự DNA có vai trò báo hiệu kết thúc quá trình phiên mã, đảm bảo mRNA được tạo ra ổn định và hoàn chỉnh. Ở *Y. lipolytica*, nhiều terminator có nguồn gốc từ *S. cerevisiae* có thể hoạt động hiệu quả, cho thấy khả năng chuyển đổi loài cao. Trong số các terminator nội sinh, XPR2t và LIP2t được sử dụng phổ biến nhất. Tuy nhiên, việc sử dụng lặp lại quá nhiều một loại terminator có thể gây ra tái tổ hợp tương đồng (HR). Xu hướng mới hiện nay tập trung vào việc phát triển các terminator tổng hợp nhân tạo như GUO1t hay SYNTHt với kích thước ngắn hơn, hiệu quả cao hơn và giúp giảm nguy cơ HR. Đây là một lĩnh vực tiềm năng nhằm tăng cường độ ổn định của dòng biến nạp cũng như đơn giản hóa cấu trúc cassette biểu hiện [13, 17].

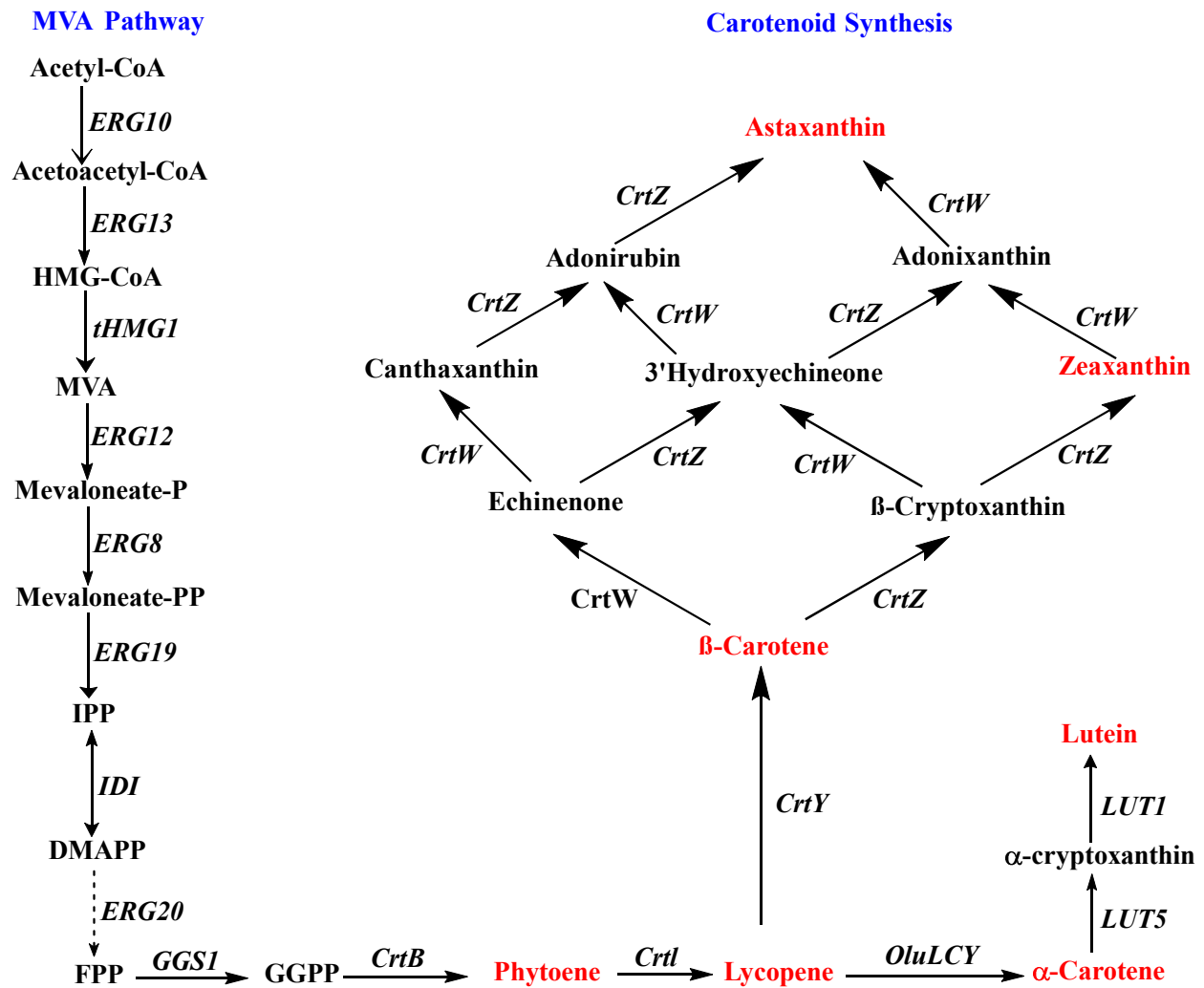
## 2.3. Dấu chuẩn chọn lọc (Selection markers)

Dấu chuẩn chọn lọc đóng vai trò quan trọng trong việc phân biệt các dòng tế bào biến nạp thành công. Ở *Y. lipolytica*, có thể sử dụng cả marker khuyết dưỡng (auxotrophy) lẫn marker kháng kháng sinh. Trong đó, các marker khuyết dưỡng phổ biến nhất là LEU2 và URA3; đặc biệt, URA3 có tính hữu ích cao vì có thể loại bỏ bằng 5-FOA, cho phép tái sử dụng trong nhiều vòng biến nạp. Ngoài ra, các marker kháng kháng sinh như hygromycin B và nourseothricin cũng đã được áp dụng. Những marker này là công cụ thiết yếu cho nhiều vòng biến nạp liên tiếp, hỗ trợ hiệu quả cho các giải pháp chỉnh sửa đa gen [13, 17, 18].

## 3. Cải biến trao đổi chất và tổng hợp một số loại carotenoid ở *Y. lipolytica*

Các con đường sinh tổng hợp carotenoid bắt đầu từ con đường mevalonate (MVA pathway)

(Hình 2), được chia thành ba giai đoạn chính. Giai đoạn cung cấp tiền chất Isoprenoid: Từ tiền chất acetyl-CoA, quá trình tổng hợp diễn ra thông qua các enzyme ERG10, ERG13, tHMG1, ERG12, ERG8 và ERG19 xúc tác để tạo ra các chất trung gian quan trọng như mevalonate, mevalonate-P, mevalonate-PP, rồi tiếp tục qua IPP (isopentenyl diphosphate) và DMAPP (dimethylallyl diphosphate). Giai đoạn hình thành khung carotenoid: Các phân tử IPP và DMAPP sau đó được enzyme ERG20 và GGS1 xúc tác để tạo ra FPP (farnesyl diphosphate) và GGPP (geranylgeranyl diphosphate), là tiền chất trực tiếp cho sinh tổng hợp carotenoid. Giai đoạn phân nhánh và đa dạng hóa sản phẩm: Trong nhánh carotenoid, GGPP được CrtB xúc tác thành phytoene, sau đó chuyển hóa thành lycopene nhờ enzyme CrtI. Lycopene là hợp chất trung tâm, từ đó phân nhánh thành nhiều carotenoid khác nhau. Lycopene có thể chuyển thành  $\beta$ -carotene nhờ enzyme CrtY và  $\beta$ -carotene tiếp tục được biến đổi thành zeaxanthin (qua CrtZ và CrtW) hoặc astaxanthin (qua chuỗi phản ứng do CrtW và CrtZ xúc tác tạo ra echinenone, canthaxanthin, adonixanthin, adonirubin). Ngoài ra, lycopene cũng có thể chuyển hóa thành  $\alpha$ -carotene nhờ enzyme Olucy, rồi tiếp tục thành lutein với sự có mặt của các enzyme LUT1 và LUT5. Như vậy, con đường MVA cung cấp tiền chất acetyl-CoA, NADH, và ATP để tạo thành các isoprenoid, từ đó hình thành carotenoid đa dạng, bao gồm lycopene,  $\beta$ -carotene,  $\alpha$ -carotene, lutein, zeaxanthin và astaxanthin. Đây là cơ sở quan trọng để khai thác *Y. lipolytica* trong kỹ thuật di truyền và công nghệ sinh học nhằm tăng cường sản xuất carotenoid có giá trị công nghiệp và dược phẩm [3, 6, 19, 20, 16].

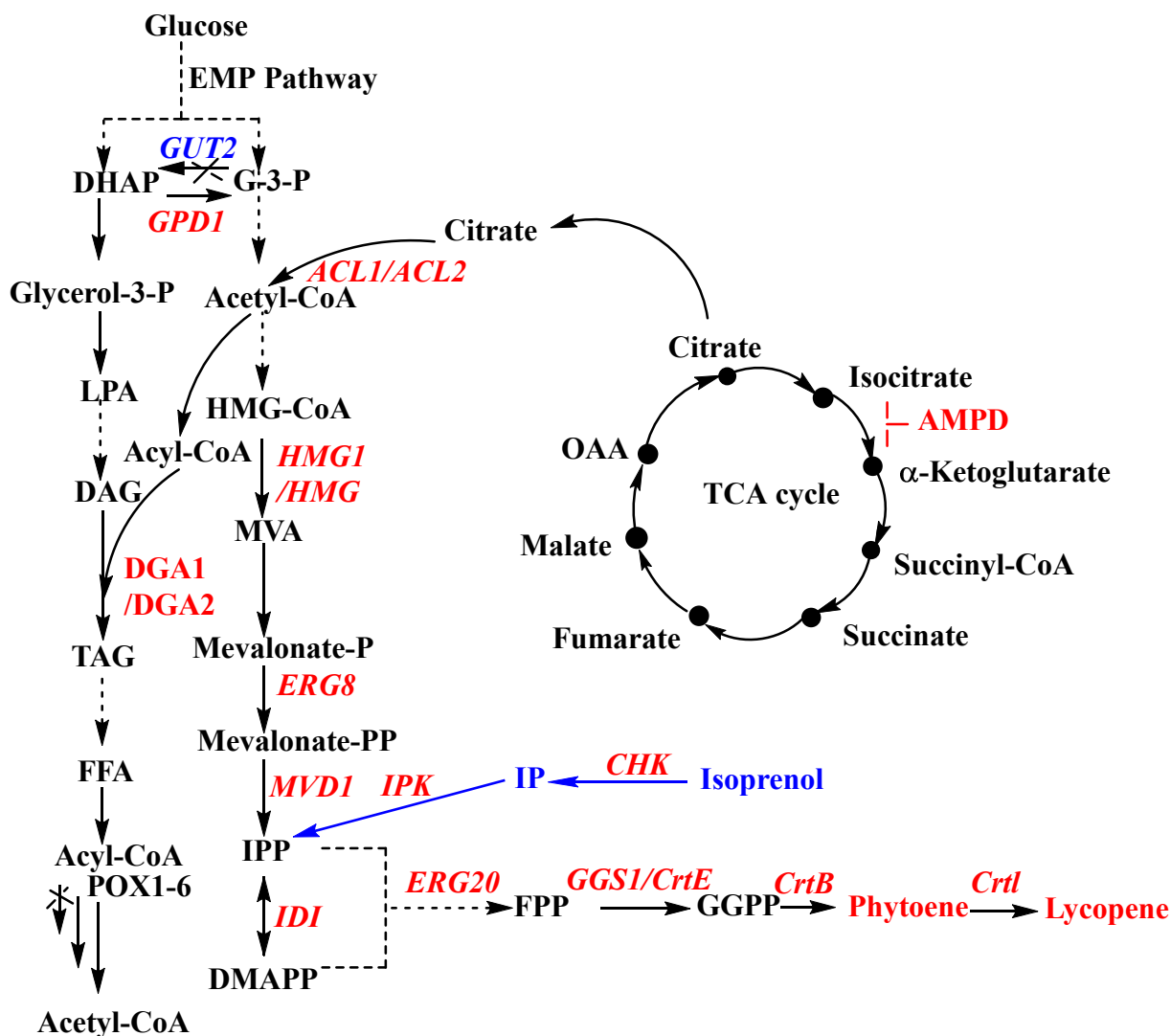


Hình 2. Tổng quan các con đường tổng hợp carotenoid.

Trong đó: ERG10, acetoacetyl-CoA thiolase; ERG13, HMG- CoA synthase; tHMG1, truncated HMG1; ERG12, mevalonate kinase; ERG8, phosphomevalonate kinase; ERG19, mevalonate diphosphate decarboxylase; IDI, isopentenyl diphosphate isomerase; ERG20, geranyl/farnesyl diphosphate synthase; IPP, isoprene diphosphate; DMAPP, dimethylallyl diphosphate; FPP, farnesyl diphosphate; GGS1, geranylgeranyl diphosphate synthase; CrtB, phytoene synthase; CrtI, phytoene dehydrogenase; CrtY, lycopene cyclase; CrtW,  $\beta$ -carotene ketolase; CrtZ,  $\beta$ -carotene hydroxylase [19, 20, 16].

Cho tới nay, người ta đã xây dựng được một số giải pháp kỹ thuật tác động lên chuỗi chuyển hóa trao đổi chất nhằm tăng cường sản xuất phytoene và lycopene ở *Y. lipolytica*. Glucose đi vào con đường đường phân (EMP pathway) tạo ra DHAP, G-3P và sau đó chuyển thành glycerol-3-P. Dòng chuyển hóa này có thể được điều chỉnh bằng cách ức chế enzyme GUT2 hoặc tăng cường GPD1 nhằm tối ưu phân bố nguồn carbon (carbon flux optimization). Acetyl-CoA đóng vai trò trung tâm, vừa tham gia vào chu trình TCA, vừa cung cấp tiền chất cho con

đường mevalonate (con đường MVA). Trong nhánh chuyển hóa MVA, hàm lượng của nhiều enzyme then chốt bao gồm HMG1/HMG, ERG8, MVD1, IDI và ERG20 đã được nâng cao hơn so với chủng đại (wild type) nhằm phục vụ tổng hợp nhiều hoạt chất đích. Bên cạnh đó, các enzyme như ACL1/ACL2 giúp tăng cường tổng hợp acetyl-CoA từ citrate, trong khi ức chế AMPD làm giảm dòng chảy trung gian TCA, nhờ đó duy trì lượng tiền chất cho sinh tổng hợp carotenoid (Hình 3) [3, 6, 14, 19, 20, 16].



Hình 3. Các giải pháp trao đổi chất nhằm tổng hợp phytoene và lycopene.

Trong đó: các gen được đánh dấu màu đỏ: tăng cường biểu hiện hoặc cài vào chuỗi trao đổi chất. Trong số này, *IPK* và *CHK* được cài vào con đường IUP. Các chữ viết tắt: DHAP, dihydroxyacetone phosphate; G-3-P, glyceraldehyde-3-phosphate; *GUT2*, glycerol-kinase; *GPD1*, glycerol-3-phosphate dehydrogenase; LPA, lysophosphatidic acid; DAG, diacylglycerol; TAG, triacylglycerol; FFA, free fatty acid; POX1 to POX6, acyl-CoA oxidases 1-6, respectively; *DGA1*, acyl-CoA: diacylglycerol acyltransferase 1; *DGA2*, acyl-CoA: diacylglycerol acyltransferase 2; *ACL1*, ATP-citrate lyase 1; *ACL2*, ATP-citrate lyase 2; *MVD1*, mevalonate pyrophosphate decarboxylase; *IPK*, isoprenyl - phosphate kinase; *CHK*, choline kinase; IUP, isopentenol utilization pathway; *AMPD*, AMP deaminase; *CrtE*, *GGPP* synthase [3, 16, 19, 20, 23].

Từ các tiền chất IPP và DMAPP, các bước tiếp theo được xúc tác bởi enzyme *GGS1/CrtE* để hình thành GGPP, sau đó *CrtB* và *CrtI* lần lượt xúc tác tạo thành phytoene và lycopene. Ngoài ra, việc điều chỉnh các enzyme liên quan đến chuyển hóa lipid như *DGA1/DGA2* và ức chế  $\beta$ -oxidation thông qua *POX1-6* giúp tăng dự trữ acetyl-CoA, góp phần nâng cao hiệu quả sản xuất lycopene. Tóm lại, các cải biến di truyền được đánh dấu đỏ trong hình cho thấy sự phối hợp giữa ức chế cạnh tranh dòng chuyển hóa và

tăng cường nhánh sinh tổng hợp đích, từ đó tối ưu hóa sản lượng carotenoid mong muốn.

Đối với tổng hợp lycopene: nhiều cách tiếp cận đã được áp dụng như biểu hiện các gen *CrtE*, *CrtB*, *CrtI*, kết hợp tăng cường *HMGI*, *GGS1*, đồng thời xóa các gen cạnh tranh như *POX1-POX6*, *GUT2* [21]. Nghiên cứu sử dụng kết hợp mô hình FBA và thiết kế Plackett-Burman để tối ưu môi trường sản xuất lycopene ở nấm *Y. lipolytica* cải biến di truyền. Hai loại môi trường được thiết kế cho thấy hiệu suất tổng hợp

lycopene lần lượt đạt 126 mg/L và 242 mg/L trong nuôi cấy kiểu fed-batch. Kết quả phiên mã cho thấy sự biểu hiện các gen dị dòng (heterologous expression) được tăng cường trong môi trường dựa trên FBA, điều này đã chứng minh tính chính xác của mô hình. Công trình này đã góp phần thúc đẩy ứng dụng mô hình hệ gen trong tối ưu hóa sản xuất lycopene và terpenoid ở nấm men công nghiệp [22]. Một số nghiên cứu khác tập trung vào việc khôi phục đột biến khuyết dưỡng và tăng cường gen trong con đường MVA như *MVD1*, *ERG8* [5]. Ví dụ, nghiên cứu nhằm tối ưu hóa con đường IUP trong *Y. lipolytica* đã giúp tăng mạnh hàm lượng tiền chất IPP + DMAPP và thúc đẩy đáng kể sự tích lũy lycopene. Việc bổ sung acid béo ngoại bào và điều chỉnh tính kỵ nước của tế bào đã cho phép tiếp tục nâng cao hàm lượng isoprenoid. Sự phối hợp các giải pháp kỹ thuật này giúp đạt nồng độ lycopene lên tới 4,3 g/L [24].

Đối với  $\beta$ -carotene: các giải pháp kỹ thuật chủ yếu được nhóm nghiên cứu của Yang và cộng sự sử dụng bao gồm đưa vào con đường IUP, tăng cường hàm lượng các enzyme HMG1, GGS1, CarRP, CarB và tích hợp Cre-loxP đã cho phép đạt được 410,2 mg/L  $\beta$ -carotene [25]. Trong một nghiên cứu khác, việc xác định ức chế cơ chất của lycopene cyclase là điểm nghẽn chính trong sinh tổng hợp carotenoid ở *Y. lipolytica*. Từ đó, hai giải pháp bao gồm: kỹ thuật protein có hướng dẫn cấu trúc (tạo biến thể Y27R) và điều tiết hàm lượng bằng enzyme GGPP synthase, đã loại bỏ được hiện tượng ức chế và duy trì con đường chuyển hóa tạo  $\beta$ -carotene. Các chủng được thiết kế tạo  $\beta$ -carotene gần như độc nhất với hiệu suất rất cao, đạt 39,5 g/L trong bioreactor. Kết quả này cho thấy việc triệt tiêu ức chế cơ chất là chìa khóa để tăng cường hiệu quả sản xuất các hợp chất tự nhiên [26].

Trường hợp astaxanthin: các nghiên cứu biểu hiện gene *CrtYB*, *CrtI*, tăng cường *HMG1*,

*GGSI*, đồng thời giảm biểu hiện *SQSI* và đưa vào *CrtW*, *CrtZ* đã cho hiệu suất đạt 54,6 mg/L và 3,5 mg/g trọng lượng khô [27]. Trong một nghiên cứu khác, ban đầu người ta sử dụng chủng *Y. lipolytica* với con đường sinh tổng hợp  $\beta$ -carotene đã được tối ưu hóa. Chủng này tạo ra  $331 \pm 66$  mg/L  $\beta$ -carotene trong điều kiện nuôi cấy quy mô nhỏ. Tiếp theo, các gen mã hóa  $\beta$ -ketolase và  $\beta$ -hydroxylase có nguồn gốc từ vi khuẩn (*Paracoccus sp.* và *Pantoea ananatis*) và vi tảo (*Haematococcus pluvialis*). Các chủng thu được đã được sàng lọc về khả năng sản xuất astaxanthin; trong đó, chủng tốt nhất chứa  $\beta$ -ketolase và  $\beta$ -hydroxylase có nguồn gốc từ vi tảo cho nồng độ astaxanthin đạt  $44 \pm 1$  mg/L. Khi chủng này được nuôi cấy trong bioreactor có kiểm soát, nồng độ astaxanthin đạt  $285 \pm 19$  mg/L sau 7 ngày lên men trên môi trường phức hợp chứa glucose. Nghiên cứu này cho thấy tiềm năng lớn của *Y. lipolytica* ứng dụng trong tổng hợp sinh học astaxanthin hiệu quả cao [28].

Đối với zeaxanthin: nghiên cứu tái cấu trúc enzyme và lắp ráp các module của chuỗi sinh tổng hợp  $\beta$ -carotene được tăng từ 19,9 lên 422 mg/L, và nâng tiếp lên 536,8 mg/L khi bổ sung các gen mã hóa con đường mevalonate dị dòng (heterologous expression). Ngoài ra, chuyển gen *crtZ* và kết hợp *CrtZ* với *RFNR1* giúp tăng cường bước hydroxyl hóa, đã thu được hàm lượng zeaxanthin đạt mức 775,3 mg/L trong nuôi cấy bình lắc (shake-flask). Kết quả này cho thấy *Y. lipolytica* là nền tảng đầy hứa hẹn cho sản xuất sắc tố zeaxanthin quy mô công nghiệp [29].

Tóm lại, các giải pháp này cho thấy sự kết hợp giữa tăng cường dòng tiền chất (acetyl-CoA, MVA), đa bản sao gen chủ chốt, loại bỏ nhánh cạnh tranh và tối ưu hóa lên men là những yếu tố quyết định để nâng cao hiệu quả sản xuất carotenoid trong *Y. lipolytica*. Các thông tin đã trình bày và một số kết quả bổ sung được trình bày tóm tắt trong Bảng 2.

Bảng 2. Một số kết quả tổng hợp carotenoid ở *Y. lipolytica* cải biến di truyền [16]

Sản phẩm	Kỹ thuật cải biến (Engineering strategies)	Nguồn carbon	Nồng độ / Hiệu suất
Lycopene	Đưa vào con đường IUP, điều biến tính kỵ nước nội bào và tối ưu hóa lên men	Glucose	6.5 g/L
Lycopene	Tăng cường <i>HMG1</i> , <i>GGSI</i> ; sử dụng 26S rRNA cho tích hợp đa bản sao <i>CrtE</i> , <i>CrtB</i> , <i>CrtI</i> ; tăng cường gen MVA	Glucose	5.1 g/L; 121 mg/g trọng lượng khô
$\beta$ -carotene	Đưa vào IUP; tăng cường <i>tHMGR</i> , <i>GGSI</i> , <i>CarRP</i> , <i>CarB</i> ; loại bỏ marker URA và tích hợp bằng Cre-loxP	Glucose	410.2 mg/L
$\beta$ -carotene	Tích hợp nhiều bản sao 14 gen trong con đường MVA ( <i>AtoB</i> , <i>HMG</i> , <i>HMGR</i> , <i>ERG8</i> , <i>ERG19</i> , <i>IDI1</i> , <i>ERG20</i> , <i>GGSI</i> , <i>CarRP</i> , <i>CarB</i> ...); loại bỏ URA3, LEU2, TRP1	Glucose	7.6 g/L; 159 mg/g DCW
$\beta$ -carotene	Biến thể Y27R của lycopene cyclase; tăng cường <i>tHMG</i> , <i>GGSI</i> , <i>CarRA</i> , <i>CarB</i> ; xây dựng bộ điều tiết dòng tiền chất GGPPs	Glucose	39.5 g/L
Astaxanthin	Biểu hiện <i>CrtE</i> , <i>GGPPS7</i> , $\beta$ -ketolase, $\beta$ -hydroxylase và thay đổi số bản sao của gen biểu hiện.	Glucose	285 mg/L; 6 mg/g DCW
Zeaxanthin	Chung tổng hợp carotene với <i>CrtI</i> , <i>CrtE</i> , <i>CrtYB</i> ; đưa vào <i>MVA<sup>E</sup></i> , <i>MVA<sup>MT</sup></i> ; chuyển <i>CrtZ</i> ; biểu hiện <i>RFNR1</i> và tăng cường hàm lượng gen mã hóa <i>CrtZ</i>	Glucose	775.3 mg/L
Zeaxanthin	Đánh giá 21 $\beta$ -carotene hydroxylase (PaCrtZ); nhắm mục tiêu đến peroxisome; gắn RIDD, RIAD peptide vào enzyme PaCrtZ	Glucose	369 mg/L

#### 4. Kết luận và định hướng tương lai

Kỹ thuật điều biến trao đổi chất ở *Y. lipolytica* đã chứng minh hiệu quả cao trong việc tổng hợp các carotenoid có giá trị công nghiệp, bao gồm lycopene,  $\beta$ -carotene, zeaxanthin và astaxanthin. Các giải pháp như tăng cường con đường mevalonate (MVA), biểu hiện trội (overexpression) các enzyme chủ chốt (*HMG1*, *ERG8*, *ERG19*, *IDI*, *ERG20*, *GGSI*), tích hợp đa bản sao các gen sinh tổng hợp carotenoid (*CrtE*, *CrtB*, *CrtI*, *CrtY*, *CrtZ*, *CrtW*), loại bỏ các con đường cạnh tranh (*POX1-6*, *GUT2*), cùng với việc sử dụng promoter tổng hợp mạnh và các yếu tố điều hòa đã góp phần cải thiện đáng kể năng suất. Hiệu suất sản phẩm thu được đã đạt tới 213 mg/L, 410 mg/L, 285 mg/L và lên đến 775,3 mg/L lần lượt với lycopene,  $\beta$ -carotene, astaxanthin và zeaxanthin, đã cho thấy hiệu quả vượt trội của các giải pháp kỹ thuật này [16, 20].

Với khả năng trao đổi chất lipid mạnh mẽ, phân giải cơ chất kỵ nước, cùng hệ công cụ di truyền ngày càng hoàn thiện, *Y. lipolytica* đang nổi lên như một vật chủ vi sinh vật linh hoạt phục vụ sản xuất carotenoid ở quy mô công nghiệp. Quá trình sinh tổng hợp carotenoid ở *Y. lipolytica* mang lại tiềm năng to lớn trong các lĩnh vực thực phẩm, dược phẩm, mỹ phẩm và thủy sản, đóng vai trò là chất tạo màu tự nhiên, chất chống oxy hóa và tác nhân tăng cường sức khỏe. Hơn nữa, khả năng sử dụng nguồn nguyên liệu tái tạo và phụ phẩm công nghiệp của loài này phù hợp với định hướng sản xuất sinh học bền vững, củng cố vai trò của nó như một nền tảng thế hệ mới cho sản xuất carotenoid giá trị cao [7, 24].

### Định hướng tương lai

Chúng nắm men *Y. lipolytica* có thể tiếp tục được phát triển thành một “nhà máy tế bào” hiệu quả để sản xuất carotenoid trong tương lai sẽ phụ thuộc vào hai yếu tố chính: Sự tích hợp thành công các công cụ chỉnh sửa và điều khiển di truyền tiên tiến (như CRISPR/Cas9, promoter mạnh, hệ thống biểu hiện đa gen,...) và việc tối ưu hóa toàn diện toàn bộ hệ thống sản xuất (bao gồm cả con đường trao đổi chất, cân bằng năng lượng, điều khiển lên men, và quá trình thu hồi sản phẩm). Công cụ CRISPR/Cas9, CRISPRi và các mạch điều hòa tổng hợp (synthetic circus) sẽ cho phép kiểm soát chính xác và linh hoạt các dòng chuyển hóa, giảm thiểu sản phẩm phụ trong khi tối đa hóa hàm lượng carotenoid. Sự tiến hóa thích nghi trong phòng thí nghiệm và mô hình chuyển hóa toàn hệ gen có thể nâng cao độ bền vững của chủng, cho phép phát triển hiệu quả trên nhiều cơ chất tái tạo như thủy phân lignoxenlulo và phụ phẩm công nghiệp. Bên cạnh đó, giải pháp tạo xoang hóa tế bào, ví dụ thiết kế peroxisome hoặc thể lipid, có thể tăng cường sự tập trung tiền chất và tích trữ sản phẩm. Cuối cùng, việc kết hợp kỹ thuật điều biến trao đổi chất (metabolic engineering) với tối ưu hóa quy trình nuôi cấy - thông qua lên men fed-batch hoặc lên men liên tục - sẽ là yếu tố then chốt để đạt được sản xuất carotenoid quy mô lớn với chi phí hợp lý. Những đổi mới này sẽ thúc đẩy ứng dụng công nghiệp của *Y. lipolytica* như một nền tảng bền vững (microbial platform) cho tổng hợp sinh học carotenoid bán tự nhiên [16, 17, 18].

### Tài liệu tham khảo

- [1] Zieniuk, B., Jasińska, K., Wierzchowska, K., Uğur, Ş., Fabiszewska, A. (2024). “*Yarrowia lipolytica* Yeast: A treasure trove of enzymes for biocatalytic applications - A review”. *Fermentation*, 10(5), 263. DOI.10.3390/fermentation10050263
- [2] Madzak, C. (2021). “*Yarrowia lipolytica* strains and their biotechnological applications: how natural biodiversity and metabolic engineering could contribute to cell factories improvement”. *Journal of Fungi*, 7(7):548. DOI. 10.3390/jof7070548
- [3] Ledesma-Amaro, R., Dulermo, T., Niehus, X., Nicaud, J.M. (2016). “Combining metabolic engineering and process optimization to improve production and secretion of metabolites in *Yarrowia lipolytica*”. *Metabolic Engineering*, 38, 38–46. DOI. <https://doi.org/10.1016/j.ymben.2016.06.004>
- [4] Lange, B.M., Rujan, T., Martin, W., Croteau, R. (2000). “Isoprenoid biosynthesis: The evolution of two ancient and distinct pathways across genomes”. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 97(24), 13172–13177. DOI. <https://doi.org/10.1073/pnas.240454797>
- [5] Schwartz, C., Wheeldon, I. (2018). “CRISPR-Cas9-mediated genome editing and transcriptional control in *Yarrowia lipolytica*”. *Methods in Molecular Biology*, 1772, 327–345. DOI. 10.1007/978-1-4939-7795-6\_18
- [6] Muhammad, A., Feng, X., Rasool, A., Sun, W., Li, C. (2020). “Production of plant natural products through engineered *Yarrowia lipolytica*”. *Biotechnology Advances*, 43, 107555. DOI. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2020.107555>
- [7] Rao, A. V., Rao, L. G. (2007). “Carotenoids and human health”. *Pharmacological Research*, 55(3), 207–216. DOI. 10.1016/j.phrs.2007.01.012
- [8] Generalić Mekinić, I., Šimat, V., Rathod, N. B., Hamed, I., Čagalj, M. (2023). “Algal carotenoids: Chemistry, sources, and application”. *Foods*, 12, 2768. DOI. <https://doi.org/10.3390/foods12142768>
- [9] Saubenova, M., Rapoport, A., Venkatachalam, M., Dufossé, L., Yermekbay, Z., Oleinikova, Y. (2024). “Production of carotenoids by microorganisms”. *Fermentation*, 10, 502. DOI. <https://doi.org/10.3390/fermentation10100502>
- [10] Fitz, E., Wanka, F., Seiboth, B. (2018). “The promoter toolbox for recombinant gene expression in *Trichoderma reesei*”. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 6, 135. DOI. 10.3389/fbioe.2018.00135
- [11] Markham, K.A., Alper, H.S. (2018). “Synthetic biology expands the industrial potential of *Yarrowia lipolytica*”. *Trends in Biotechnology*, 36(10), 1085–1095. DOI. 10.1016/j.tibtech.2018.05.004
- [12] Li, X., Ye, C., Liu, T., Li, S., Zhang, M., Zhao, Y., Jin, Y., Cheng, J., Yang, G., Li, P. (2025). “Engineering genetic elements for microbial protein expression systems: Advances, challenges, applications, and prospects”. *Synthetic and Systems Biotechnology*, 11, 370–384. DOI. 10.1016/j.synbio.2025.10.008
- [13] Xiong, X., Chen, S. (2020). “Expanding toolbox for gene expression of *Yarrowia lipolytica* to include novel inducible, repressible, and hybrid promoters”. *ACS Synthetic Biology*, 9(8), 2208–2213. DOI. 10.1021/acssynbio.0c00243

- [14] Blazeck, J., Liu, L., Redden, H., Alper, H. (2011). "Tuning gene expression in *Yarrowia lipolytica* by a hybrid promoter approach". *Applied and Environmental Microbiology*, 77(22), 7905–7914. DOI. <https://doi.org/10.1128/AEM.05763-11>.
- [15] Georgiadis, I., Tsiligkaki, C., Patavou, V., Orfanidou, M., Tsourekis, A., Andreadelli, A., Theodosiou, E., Makris, A. M. (2023). "Identification and construction of strong promoters in *Yarrowia lipolytica* suitable for glycerol-based bioprocesses". *Microorganisms*, 11, 1152. DOI. 10.3390/microorganisms11051152
- [16] Ma, S., Jing, Y., Liu, F., Zheng, X., Zhang, X., Qiao, M. (2026). "Metabolic engineering of carotenoid biosynthesis in *Yarrowia lipolytica*". *Journal of Biotechnology*, 409, 202–214. DOI. 10.1016/j.jbiotec.2025.11.005
- [17] Hu, M., Ge, J., Jiang, Y., Sun, X., Guo, D., Gu, Y. (2024). "Advances and perspectives in genetic expression and operation for the oleaginous yeast *Yarrowia lipolytica*". *Synthetic and Systems Biotechnology*, 9(4), 618–626. DOI. 10.1016/j.synbio.2024.05.003
- [18] Cao, L., Li, J., Yang, Z., Hu, X., Wang, P. (2023). "A review of synthetic biology tools in *Yarrowia lipolytica*". *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 39(5), 129. DOI. 10.1007/s11274-023-03557-9
- [19] Jing, Y., Wang, J., Gao, H., Jiang, Y., Jiang, W., Jiang, M., Xin, F., Zhang, W. (2023). "Enhanced  $\beta$ -carotene production in *Yarrowia lipolytica* through metabolic and fermentation engineering". *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 50, kuad009. DOI. 10.1093/jimb/kuad009
- [20] Zhou, T., Park, Y.K., Ledesma-Amaro, R. (2025). "Advances in the biosynthesis of beta-carotene and its derivatives in yeast". *Bioresource Technology*, 435, 132936. DOI. 10.1016/j.biortech.2025.132936
- [21] Matthäus, F., Ketelhot, M., Gatter, M., Barth, G. (2014). "Production of lycopene in the non-carotenoid-producing yeast *Yarrowia lipolytica*". *Applied and Environmental Microbiology*, 80, 1660–1669. DOI. 10.1128/AEM.03167-13
- [22] Nambou, K., Jian, X., Zhang, X., Wei, L., Lou, J., Madzak, C., Hua, Q. (2015). "Flux balance analysis inspired bioprocess upgrading for lycopene production by a metabolically engineered strain of *Yarrowia lipolytica*". *Metabolites*, 5, 794–813. DOI. 10.3390/metabo5040794.
- [23] Schwartz, C., Frogue, K., Misa, J., Wheeldon, I. (2017). "Host and pathway engineering for enhanced lycopene biosynthesis in *Yarrowia lipolytica*". *Frontiers in Microbiology*, 8, 2233. DOI. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02233>
- [24] Luo, Z., Liu, N., Lazar, Z., Chatzivasileiou, A., Ward, V., Chen, J., Zhou, J., Stephanopoulos, G. (2020). "Enhancing isoprenoid synthesis in *Yarrowia lipolytica* by expressing the isopentenol utilization pathway and modulating intracellular hydrophobicity". *Metabolic Engineering*, 61, 344–351. DOI. 10.1016/j.ymben.2020.07.010
- [25] Yang, F., Liu, L., Qiang, S., Hu, C.Y., Li, Y., Meng, Y.H. (2021). "Enhanced  $\beta$ -carotene production by overexpressing the DID2 gene, a subunit of ESCRT complex, in engineered *Yarrowia lipolytica*". *Biotechnology Letters*, 43, 1799–1807. DOI. 10.1007/s10529-021-03150-w
- [26] Ma, Y., Liu, N., Greisen, P., Li, J., Qiao, K., Huang, S., Stephanopoulos, G. (2022). "Removal of lycopene substrate inhibition enables high carotenoid productivity in *Yarrowia lipolytica*". *Nature Communications*, 13, 572. DOI. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-28277-w>
- [27] Kildegaard, K.R., Adiego-Pérez, B., Doménech Belda, D., Khangura, J.K., Holkenbrink, C., Borodina, I. (2017). "Engineering of *Yarrowia lipolytica* for production of astaxanthin". *Synthetic and Systems Biotechnology*, 2, 287–294. DOI. <https://doi.org/10.1016/j.synbio.2017.10.002>
- [28] Tramontin, L.R.R., Kildegaard, K.R., Sudarsan, S., Borodina, I. (2019). "Enhancement of astaxanthin biosynthesis in oleaginous yeast *Yarrowia lipolytica* via microalgal pathway". *Microorganisms*, 7, 472. DOI. 10.3390/microorganisms7100472
- [29] Zhang, G., Chen, J., Wang, Y., Liu, Z., Mao, X. (2023). "Metabolic engineering of *Yarrowia lipolytica* for zeaxanthin production". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 71, 13828–13837. DOI. 10.1021/acs.jafc.3c01772.