

DOI: 10.13376/j.cblls/2021173

文章编号: 1004-0374(2021)12-1544-07



唐鸿志, 上海交通大学生命科学技术学院 / 微生物代谢国家重点实验室长聘教授, 博士生导师。2012年12月—2013年12月美国麻省理工学院访问学者。国家重点研发计划-合成生物学-特殊环境微生物底盘细胞的设计与构建项目负责人。曾获得上海市“优秀学术带头人”(2020)、上海市“曙光学者”(2017年)、“科学中国人2016年度人物杰出青年科学家奖”、国家自然科学基金委“优秀青年基金”(2014年)、上海市“青年科技启明星”(2013年)、上海市“晨光学学者”(2010年)。长期从事环境微生物和合成生物学研究。以第一或通讯作者(含共一或共通讯)在重要刊物(*Nat Commun*、*Mol Microbiol* (5篇)、*mBio* (2篇)、*Environ Microbiol*、*Cell Discov*、*PLoS Genet*、*J Biol Chem*、*Appl Environ Microbiol* (9篇)等)发表论文60余篇,于2016年获得教育部自然科学一等奖(2/5)。担任中国生物工程学会合成生物学专业委员会委员、中国微生物学会环境微生物专业委员会委员、中国微生物学会普通微生物专业委员会委员、上海市生物工程学会理事、上海市生物工程学会合成生物学专业委员会副主任委员。担任*Appl Environ Microbiol*、*Bioresour Bioprocess*、《合成生物学》、《生物工程学报》、《微生物学通报》等杂志编委。

## 环境遇见合成生物学

王伟伟<sup>1</sup>, 蒋建东<sup>2</sup>, 唐鸿志<sup>1\*</sup>, 宋茂勇<sup>3\*</sup>

(1 上海交通大学生命科学技术学院, 上海 200240; 2 南京农业大学生命科学学院, 南京 210095; 3 中国科学院生态环境研究中心, 北京 100085)

**摘要:** 经过筛选、驯化而来的降解微生物菌株以及与之相应的生物修复技术被广泛用于去除环境污染物。该类微生物经过改造还可以成为有效的生物传感器, 实现环境污染物的灵敏和原位检测。研究者发现, 许多天然状态下的生物资源在环境修复与检测应用中并不能达到预期, 但经过对生物降解资源的挖掘与机理研究积累, 合成生物学大大推动了环境生物传感器开发以及污染物生物降解的发展。随着现代分子生物学以及代谢工程、系统生物学等领域的快速发展, 环境合成生物学已经成为世界各国实现持续发展的战略需求。基于现有分子生物学技术的不断拓展深化以及和人工智能、新型材料等前沿技术的深度交叉, 未来的环境合成生物学将实现生物安全、极端抗逆、智能可控的单细胞或多细胞人工生命系统的设计、构建及应用。

**关键词:** 环境污染检测; 环境修复; 人工多细胞体系; 合成生物学

中图分类号: Q81      文献标志码: A

## Environmental monitoring and bioremediation meet synthetic biology

WANG Wei-Wei<sup>1</sup>, JIANG Jian-Dong<sup>2</sup>, TANG Hong-Zhi<sup>1\*</sup>, SONG Mao-Yong<sup>3\*</sup>

(1 School of Life Sciences and Biotechnology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China; 2 School of Life Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 2100095, China; 3 Research Center for Eco-Environmental Sciences,

收稿日期: 2021-11-22

基金项目: 国家重点研发计划(2021YFA0909500), 国家自然科学基金项目(32030004, 32000062)

\*通信作者: E-mail: tanghongzhi@sjtu.edu.cn (唐鸿志); E-mail: mysong@rcees.ac.cn (宋茂勇)

Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China)

**Abstract:** Pollutant-degrading microorganisms strain screened and domesticated from the environment, and corresponding bioremediation technologies, are widely used to remove environmental pollutants. Such microorganisms can also become effective biosensors after modification to achieve sensitive *in-situ* detection of environmental pollutants. Researchers have found that many natural microorganisms strains can not meet the expectations in practical environmental remediation and detection applications. However, based on the exploration of biodegradable resources and accumulated-over-years research in biochemical and genetic mechanisms, synthetic biology has greatly promoted the development of environmental biosensors and biodegradation technology. With the rapid advance in molecular biology, metabolic engineering, systems biology, and other fields, environmental synthetic biology has become a strategic demand for governments around the world to achieve sustainable development. Based on the continuous expansion and deepening of the existing molecular biology technology and deep intersection with artificial intelligence, advanced materials, and other cutting-edge technologies, the future environmental synthetic biology will realize the design, construction, and application of bio-safe, extremely stress-resistant, intelligent, and controllable single-cell or multi-cell artificial life systems.

**Key words:** environmental pollution detection; environmental remediation; artificial multi-cell system; synthetic biology

## 1 发展历史简述

天然微生物体系是地球循环的重要驱动力, 深度参与了人类活动的各类场景, 在各类污染物环境修复中具有重大的应用潜力。微生物把有机物转化为简单无机物, 使得生命元素的循环往复成为可能, 使各种复杂的有机化合物得到降解, 从而保持生态系统的良性循环。自然界中广泛存在各种降解天然有机物的微生物, 部分微生物经过长期的自然驯化, 也具备了降解人工合成有机化合物的能力。自 1989 年以来, 通过自然筛选、驯化微生物而来的降解菌株, 以及随之开发的大量高效、低成本、环境友好型的生物修复技术, 已被广泛用于清除受污染农田、地下水、河流、湖泊和海洋等环境中的污染物。20 世纪 80 年代末, 美国首次利用生物修复技术成功清除了 Valdez 油轮在阿拉斯加海域漏油造成的大面积污染。2010 年, 微生物治理技术在墨西哥湾钻井平台溢油事件中又一次发挥了重要作用<sup>[1]</sup>。在我国, 2016 年多种石油烃降解菌被用于修复厦门市观音山人造沙滩的重油污染, 石油污染物的总降解率达到 99.7%, 降解后的油泥达到重新填埋标准。

在不断获得具备有机污染物降解能力的纯培养菌株的基础上, 科学家们开始聚焦系统挖掘降解菌株代谢潜能, 解析污染物降解途径, 鉴定关键降解基因和酶, 并阐明污染物代谢的分子机制, 不断拓展着人类在分子生物学层面的认知。例如早在 1953 年, Wada 和 Yamasaki<sup>[2]</sup> 就首次报道了尼古丁的微

生物代谢途径。随后的六十多年间, 国内外学者先后发现并深入阐明了 4 种不同的尼古丁微生物代谢途径(吡咯途径、吡啶途径、杂合途径和甲基化途径), 对途径涉及的降解、调控基因进行了功能鉴定、体外表征和机理解析。其中, 我国许平和唐鸿志团队完整揭示了尼古丁吡咯降解途径的代谢、分子和调控机理, 填补了当时世界上相关研究领域的空白<sup>[3-4]</sup>。

经过前期对于生物降解资源挖掘与机理研究的积累, 研究者发现许多天然状态下的生物资源在环境修复应用中并不能达到预期。在进入 21 世纪后, 大量新兴技术如合成生物学、微生物组学开始涌现。高通量筛选、机器学习、数学模拟等技术开始在生物修复领域得到广泛应用。与此同时, 近一个世纪以来工农业生产技术变革也导致环境中有害物质的种类变得日趋复杂, 传统环境科学沿用的基于分析化学的检测方法逐渐体现出了操作复杂、设备庞大、不适用现场检测、不能覆盖新兴污染物种类的不足。环境发展高效经济的持久性有机污染物与新型污染物的分析方法日渐成为各个发达国家的战略需求, 并进一步演变为应对环境监测与环境管理国际竞争的重要技术支撑。1967 年, Updike 和 Hicks<sup>[5]</sup> 将固定有葡萄糖氧化酶的聚丙烯酰胺膜修饰到电极上用于检测葡萄糖, 标志着生物传感器技术的诞生。生物传感器在工业生产、医药健康等高产值领域应用的成功经验, 启发着利用污染物降解生物资源, 进行识别与传感的元件构建与分子组装的研究和应

用进展。1985年,瑞士CIBA-GEIGY公司报道了利用单甲基硫酸盐降解细菌 *Hyphomicrobium* MS 219 固定在组合玻璃电极上制成生物传感器,用于检测环境中的甲基硫酸盐含量,对浓度低至 1 mmol/L、高至 1 mol/L 的甲基硫酸盐进行响应,响应时间从 5 min 到 30 min 不等<sup>[6]</sup>。此后,针对汞离子等重金属离子、DDT 等卤化有机物、微囊藻毒素等生物污染物的生物传感器被陆续创制出来,应用于环境检测领域。

## 2 现有状况水平

得益于传统微生物学积累和现代分子生物学、生物信息学等学科以及代谢工程、系统生物学等门类领域的快速发展,合成生物学在环境检测与生物修复领域的应用得到了一定的进展。在当今学界,元件进化、单细胞重构、合成微生物组是合成生物学的研究前沿,也是日后开发生物传感器、提高生物修复效能的必要手段。

自 1985 年生物传感器首次被用于环境监测以来,针对其抗干扰能力弱、背景信号嘈杂、检测限相对较高等缺陷,分子生物学、细胞生物学以及微流控技术、芯片技术、高通量检测技术、纳米新材料、自动化分析、系统工程等新学科、新技术的发展推动生物传感器不断更新换代,发展出了酶生物传感器、核酸生物传感器、微生物传感器等不同感应元件的生物传感器。2010年,王红等<sup>[7]</sup>将乙酰胆碱酯酶固定在硝酸纤维素膜上,利用乙酰胆碱酯酶受有机磷类农药抑制的特性,开发了测定有机磷农药含量的酶生物传感器。Mirkin 实验室基于胸腺嘧啶与汞离子特异性反应原理,利用核酸修饰的金纳米颗粒开发了特异性检测  $Hg^{2+}$  离子的核酸生物传感器<sup>[8]</sup>。2005年,Gu 团队使用 20 种基因重组发光细菌固定化在细胞芯片上,构建微生物传感器阵列,与高灵敏度 CCD 相机联用,用于百草枯、丝裂霉素 C 和水杨酸的环境毒物分析<sup>[9]</sup>。

许多天然状态下的元件在场地实际应用中并不能达到预期,提高这些关键酶的活性或拓展这些关键酶的功能,成为了一个研究热点。Turner 实验室在 2013 年对单胺氧化酶 MAO-N 的底物口袋进行了定向进化,使得其能催化降解的底物从苯甲胺拓展到二苯甲胺,且其降解产物的手性是特定的,纯度可达 99%,这对于有严格手性要求的制药行业而言意义重大<sup>[10]</sup>。而在环境应用领域,2020年,Toumier 等<sup>[11]</sup>对降解 PET 的关键酶 leaf-branch compost cutinase

(LCC)进行了定向进化,使其拥有更快的降解率、更高的 Tm 值,并且在特定温度下,LCC 解聚 PET 的产物能重新形成 PET 晶体,这对工业化回收再利用 PET 塑料提供了一个全新、高效的方案。

单细胞重构也是提高微生物效能的方式,具体而言即为将不同的生物元件通过基因工程方法重新组合,定向改造微生物代谢路径,构建人工代谢线路,使无降解性能的菌株获得降解靶标污染物的能力,提高降解菌株降解效率,增强降解菌株环境适应性能。例如,由于目前未分离出好氧降解 1,2,3-三氯丙烷 (TCP) 的天然菌株,研究者将来自三个不同菌株的酶,包括卤代烷脱卤素酶 (DhaA)、卤代醇脱卤素酶 (HheC) 和环氧化物水解酶 (EchA) 组装到大肠杆菌,并在大肠杆菌中实现了 TCP 的高效降解<sup>[12]</sup>。又如 Lieder 等<sup>[13]</sup>使用同源重组无痕敲除方法删去假单胞菌 KT2440 基因组上约 4.3% 的冗余片段后,敲除菌株表现出明显更优的生长特性,包括更短的滞后时间、更高的生物量产量和更快的生长速率。该团队还利用双顺反子 GFP-LuxCDABE 报告系统对菌株代谢活力进行表征,结果显示菌株的整体生理活性增加了 50% 以上。丢弃不必要的细胞功能,不仅在生物合成上大有潜力,而且在生物降解和生物修复方面也有着不可忽视的作用和潜力。

随着合成生物学的快速发展,越来越多的科学家不再局限于将多个基因模块进行组装以实现特定生物功能,转而开始对不同的微生物菌株进行整合,人工创建可满足特定需求的稳定微生物群落,将代谢路径分配到多个独立细胞,降低单菌株的代谢负担。进一步设计并优化单个底盘细胞的代谢能力,获得各单细胞模块的最佳组合,实现对复杂污染物的高效降解。例如,蒋建东团队利用代谢模型技术人工设计并合成除草剂阿特拉津代谢微生物组,定量解析不同微生物组代谢污染物的动态过程,有效设计高效微生物组并用于污染环境的修复<sup>[14]</sup>。2020年,Studer 团队构建了一套固定化微生物组,表层用好氧的 *Trichoderma reesei* 分泌的纤维素裂解酶将木质素裂解为葡萄糖、木糖等寡糖,中部用兼性厌氧的 *Lactobacillus pentosus* 通过代谢寡糖为厌氧菌提供氧化还原电势和碳源,底部用厌氧的 *Veillonella criceti*、*Clostridium tyrobutyricum*、*Megasphaera elsdenii* 生产乙酸、丙酸、丁酸、戊酸、己酸等短链脂肪酸,借助上述人工微生物组生产丙酸,其产量可与商业化木质素裂解酶媲美<sup>[15]</sup>。北京大学吴晓磊团队通过

深入研究菌株间相互作用, 揭示了自私驱动的微生物群落相互依赖模式, 为人工创建微生物组提供了新的思路<sup>[16]</sup>。而利用微生物代谢的多样性机制, 科学家已经可以改造微生物, 如利用 PET 为碳源合成短链脂肪酸等生物可降解材料或其他化学品, 从而实现“变废为宝”。

### 3 应用瓶颈问题

近 15 年来, 基于合成生物学的环境检测与生物修复技术得到了一定的突破, 但从整体层面而言, 其仍存在一些直接制约大规模实际应用的瓶颈性问题。

#### 3.1 应用广泛性

尽管微生物具有几乎无穷的代谢潜力, 从理论上可以完成一切自然和人工化合物的分解代谢, 但如何将微生物的代谢潜力兑现为降解能力, 为新的非天然化合物创制相应的人工降解元件和降解菌株, 从而将可降解污染物谱拓展开来, 并将这一过程自动化、高通量化, 使其适应化工等行业的发展进程, 成为了限制合成生物学环境监测与生物修复应用的瓶颈之一。目前, 包括聚乙烯 (PE)、聚丙烯 (PP)、聚苯乙烯 (PS)、聚氯乙烯 (PVC)、聚对苯二甲酸乙二醇酯 (PET) 在内的可见污染物, 因其高度的环境耐受性, 极难被自然降解, 会造成严重的土地侵占和巨大的环境隐患; 多环芳烃 (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs) 及二噁英类污染物是一类广泛存在于环境中的有机污染物, 能够通过食物链富集作用严重威胁人类健康和生态安全; 重金属污染物, 包括汞、镉、铅以及砷等生物毒性显

著的重金属物质具有富集性, 很难在环境中被固定矿化。另外, 新兴污染物包括持久性有机污染物 (POPs)、环境内分泌干扰物 (EDCs)、药品和个人护理品 (PPCPs) 等, 具有生物毒性, 痕量污染即具有高环境和健康风险。针对各类传统污染物和新兴污染物, 仍需广泛挖掘和创制降解元件, 并总结出一般化的设计规律和创制方法。

#### 3.2 空间适应性

未来合成生物学在环境检测与生物修复领域应用中, 一项重要的目标是实现在污染场地的原位环境治理, 这一目标的前提是人工生命在自然环境的释放和稳定生存。但受污染场地实际应用环境相比于实验室理想环境, 存在营养贫瘠、条件极端恶劣且波动剧烈等问题, 使得人工生命系统在实际应用中的效率达不到预期, 甚至完全无法在实际环境中维持稳定存在。如何使人工生命适应强酸、强碱、高温、极寒、干旱、高压、盐碱、辐射等极端环境并稳定繁殖, 与此同时按照设想执行代谢功能, 成为了限制环境检测与生物修复应用的瓶颈之一。

#### 3.3 生物安全性

随着合成生物学的快速发展, 人工改造或创制生命系统变得越来越容易, 随之而来的则是人工生命系统的生物安全性问题日益凸显。未来合成生物学在环境检测与生物修复领域应用中, 一项重要的目标是实现在污染场地的原位环境治理, 这一目标的前提是人工生命在自然环境中的释放, 需要抑制合成生物的恶性快速生长、自然环境逃逸, 避免人工生物元件通过水平转移造成基因入侵, 预见并预防人工生物合成有毒代谢物。目前我国在人工生物

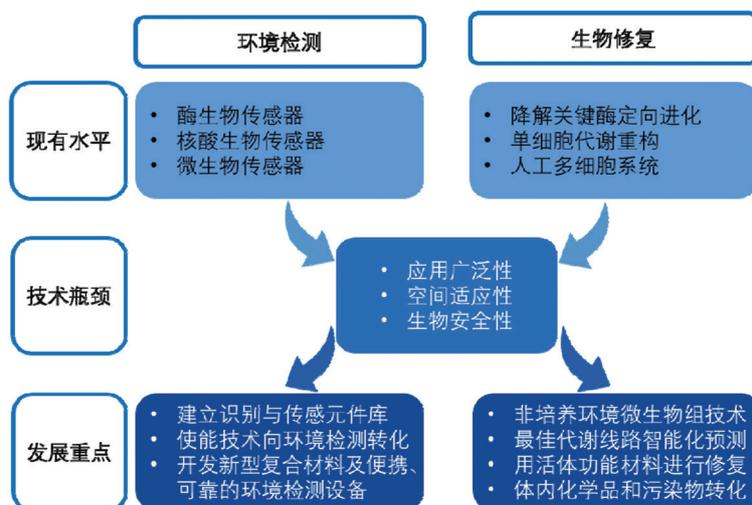


图1 环境检测与生物修复的现有水平、技术瓶颈及未来发展重点

安全性的伦理问题、立法问题等领域纸上讨论较多,实际人工生物安全性控制技术储备较少。因此,亟需加强合成生物安全防控的研究,实现人工生命系统全过程可知、可控,为合成生物学环境领域应用提供安全性保障。

## 4 未来优先发展方向及领域

### 4.1 生物传感与环境检测

环境健康问题关系公共健康保障事业的发展,因此对环境健康危害的评估将成为环境监测的重要内容之一,发展兼具污染物识别与毒性指示功能的生物传感器势在必行,而基于多线路并行或多模块整合的多功能生物传感器将为此提供技术支撑。近年来高效基因组编辑以及DNA合成技术等合成生物学先进核心使能技术创新成果的涌现,使得对基因组进行“编”和“写”的能力得到了进一步提升,同时扩大了宿主的应用范围,为在真核细胞内实现以合成、基因组编辑为目标的基因组工程乃至细胞工程提供了可能。在此基础上,结合机器学习等计算机辅助手段对元件与模块设计能力的提升与生物支架的进展与应用,基于污染物生物识别与传感的元件构建与分子组装将有望在五年内获得实质性的进展。此外,随着基于RNA线路工程的进展与合成生物学记录装置的发展,污染物生物传感器在线路工程方面也将形成新的发展思路,为基于无细胞污染物生物传感器的发展,实现便携生物传感环境监测设备的技术突破创造了条件。

为顺应生物传感在环境监测方面的发展趋势,未来的五到十五年应当针对不断涌现的新污染物,解决污染物生物识别分子、传感通路及毒性效应分子对不同结构特征污染物响应的共性与特异性等关键科学问题,为发展多功能生物传感监测技术奠定理论基础;借助大数据与计算机辅助手段建立污染物生物识别与传感元件智库,为发展以新型有毒污染物发现为目标的生物传感器提供设计思路。关键技术问题包括使能技术向污染物生物传感器研究与应用的转化,适用于污染物生物传感的底盘与生物支架的构建及元件与线路高效工程化平台的建立,以及基于RNA线路工程设计思路的污染物生物传感器与基于人工生物组件的新型复合材料在发展便携、可靠的环境监测设备中的技术问题。

根据国家层面环境监管对持久性有机污染物与新型污染物的分析方法技术储备的需求,应优先开展基于生物响应特征的复杂样品持久性有机污染物

成分解析生物传感系统,及以新型毒性污染物发现为目标的集成生物传感系统。针对环境健康危害评估纳入环境监测项目的趋势,继以污染物分析为目标的生物传感系统之后,还应开展多功能环境持久性污染物生物识别与毒性评价偶联系统的研究;最后在使能技术向环境监测转化条件成熟的基础上,开展污染物环境过程指示性人工生物模拟记录装置的研发,聚焦环境过程等难点问题,促进“由创造到理解”的研究范式转化。

### 4.2 污染物多靶点和细胞毒性评价

基于多组学分析方法和计算毒理学,揭示化学污染物的关键分子起始事件和调控网络,明确其特异性生物识别与感知受体。结合受体类型,合成可特异性识别效应污染物浓度变化的人工感知元件。构建对应底盘细胞中的相应基因回路,合成特异性的毒性响应回路,提升污染物多靶点毒性效应筛选的灵敏度。通过实现细胞内基因的不同步表达、细胞之间信号转导以及细胞之间不同功能的相互配合,构建人工合成生态系统即多细胞体系,开展污染物对复杂生物学功能影响的体外研究。应用新型CRISPR/Cas9基因组编辑技术,针对不同种类化合物的毒性通路特征,通过对回路的结构特异性的筛查,以受体活性到基因转录响应,定向筛选高特异性突变体,通过改造典型信号通路中生物传感器核心元件,构建具有特定功能靶点的人源细胞系、酿酒酵母、斑马鱼等新型毒物识别与感知系统,用于污染物的精准筛查及毒性机制研究。

开展体内化学品和污染物的转化研究,揭示人体内微生物对污染物转化的构效关系,明确化学品转化中的关键转化酶、相关基因与信号通路。选择特定底盘生物,通过构建与污染物代谢相关的核心生物元件,发展污染物转化与体内代谢生物系统,结合多靶点生物感知系统,揭示污染物的转化和代谢对污染物毒性效应的贡献。结合复杂样品代谢物识别高通量筛选技术,开展环境污染物在生物体内的转化方式、转化途径、转化代谢与多靶点毒性效应研究。

通过构建信号通路特定受体调控元件、酶活性元件、基因线路调控元件或组装包括细胞、酵母在内的新型工程生物体系,开发一体化的高通量筛选检测模块,发展针对有毒化学品的快速、简便的高通量筛选技术及平台。结合色谱制备和质谱鉴定解析技术,集成过滤、富集、分离等功能的小型化样品前处理装置,开发特异性有毒物质分析与识别模

块, 开展未知污染物的快速分离与效应识别研究。

创制具有我国自主知识产权的多靶点效应污染物筛查仪器。开展包括环境样品、食品、中药等复杂实际样品的多靶点高通量毒性效应筛查研究。

### 4.3 微生物改造和污染物生物降解

在确保生物安全的前提下, 基于特定目标污染物, 针对性地构建高效稳定的人工微生物体系具有极强的应用潜力; 同时, 综合考虑工程细胞应用会导致与环境的相互作用问题, 采用酶制剂和原生细胞等非增殖系统, 可为环境修复提供颠覆性的科学理念和技术工具。

针对特定目标污染物, 对降解相关元器件进行挖掘与创制。系统研究微生物降解难降解污染物过程的本质、规律、网络和分子基础, 深度挖掘或人工进化与降解各类污染物的分解代谢相关的菌种和基因元器件。采用不依赖于培养的环境微生物组技术, 直接从所取样品中提取宏基因组 DNA, 深度宏基因组和宏转录组测序探明样品中微生物功能基因组成和表达谱。开发快速进化工具, 建立高通量筛选平台技术, 借助计算化学的手段, 开发高通量的分子模拟、分子对接、计算机虚拟等元件设计工具, 建立高通量的筛选技术, 比如基于微流控的技术等, 在筛选出的天然元件基础上, 进行高通量筛选, 开展人工定向进化, 创制新型、高效的降解元件。建立超进化元件库, 综合计算化学和分子生物学方法, 实现功能元件的分子机制更替、功能域重组、催化中心及周边优化等, 扩大元件对底物的识别范围, 提高降解效率, 获得系列超进化元件, 建立相应元件库。

设计构建目标污染物高效降解线路并与环境底盘菌株进行适配。通过计算模拟降解合成细胞/体系, 优化代谢线路装配, 构建合成细胞的基因组水平代谢模型, 定量模拟污染物的动态降解过程, 预测合成细胞降解污染物的效率, 实现合成细胞/体系最佳代谢线路装配模式的自动智能化预测。利用并开发新的基因装配编辑和调控技术, 从而快速构建出高效降解的合成生物体系。以合成生物学设计理念消除代谢瓶颈和增强适配性, 开发高性能胞内分子传感器, 以此为基础构建降解代谢途径的实时动态调控系统, 为智能化的生物合成降解体系提供基础。进行降解菌株抗逆性改造, 并将抗逆元件和高效降解途径进行合理装配, 构建高效和抗逆多功能微生物降解网络, 检测其适配性和降解效率, 从而构建多种抗逆性污染物的降解细胞, 构建人工合

成的多细胞体系, 提高其对环境有毒污染物的降解耐受性和降解速率, 构建复合功能代谢网络。

设计与装配目标污染物的智降解体系。针对污染物降解合成细胞在环境应用中的适应性和安全性技术瓶颈开展工作, 以提高合成生物体系的环境适应和降解效率为目标, 建立目标污染物的智能降解体系。①整合污染物感应的基因线路, 扩大元件对底物的识别范围, 建立多重污染物感应的生物被膜平台或者菌群协同作用平台, 实现活体功能材料对污染物的修复, 结合 3D 打印和微胶囊技术, 搭建活体微生物传感器阵列; ②针对环境中污染物分布不均的特点, 设计重构合成细胞的运动和趋化行为, 实现合成细胞对污染物的定向趋化与聚集; ③在人工细胞中引入环境适应、群体感应、生态竞争等元件, 强化其对污染环境的适应性和与其他细菌的竞争性, 提高人工细胞的生态占位能力; ④利用生物围堵理念和毒素-抗毒素等元件, 设计构建能响应污染物的条件自毁基因线路和遗传物质自清除线路, 建立主动生态安全技术, 实现人工细胞生态行为的主动控制; ⑤解析合成细胞间的代谢互作机制, 并结合生态学、计算生物学等设计构建高效智能的人工生物降解体系, 协调人工降解体系在代谢水平上的互作, 控制代谢流在不同降解细胞间的定向分布, 实现人工降解体系的稳定高效运行; ⑥强化人工细胞的适应性和生态占位; 基于荧光报告及表面展示技术, 建立人工生物被膜实时精准监测技术; 引入条件级联自毁系统, 集成弱电介入、污染物募集、自适应仿人智能的低浓度污染物降解过程控制技术, 进行人工细胞的情景应用与安全评估。

### 4.4 人工多细胞系统构建和生物修复

以合成生物学“理性设计、人工构建”为基本思想的合成微生物组构建技术被认为是最有效控制微生物组活动与功能的方法之一。它采用工程化设计理念, 基于微生物组功能进行有目标的人工多细胞体系设计、构建和定向调控, 从而实现对微生物组功能的完全控制, 对了解微生物组学基本理论问题有重要意义。同时, 由于人工构建多细胞体系比传统菌群或单一微生物具有更高的稳定性与鲁棒性, 特别适合于复杂环境和极端环境的应用, 在环境、健康、农业、工业乃至军事领域具备巨大的应用潜力。

针对环境生物修复的具体问题, 合成微生物组研究将以人工多细胞体系的功能高效性、群落稳定性、安全可控性为研究目标, 开发代谢功能设计与

重构技术、多细胞体系动态模拟与预测技术、微生物组实时解析技术、工程化微生物组的人工选择与定向控制技术为核心技术,实现简单多细胞体系的全人工构建和复杂微生物组的工程化控制,开展石油烃污染等常见污染环境修复的工程化应用,POPs、EDCs等新兴污染物的示范性应用。

目前,关于合成微生物组基本理论基础、原理和技术手段的研究有限,微生物组的人工构建及应用仍面临重大挑战,未来研究将重点解决以下基础问题。未来5年左右,仍将以基础理论和原理研究为主,激励定量生物学、物理学、工程学、数学等研究者深入参与人工多细胞体系构建和合成微生物组的研究中,实现生物学-生态学-工程学等学科的实质性交叉,建立人工多细胞体系研究的重点实验室,及其环境修复应用的工程化研究中心等研究平台,以推动合成微生物组研究的基本理论框架和基础技术体系建设,包括:(1)微生物组与功能关系。针对特定功能应用,通过多组学的研究,在不同层次上对微生物或微生物组的结构与功能进行解耦,建立微生物组成与功能的定量关系。基于高通量表征与数学仿真技术,对细胞间代谢耦合进行计算预测,实现人工多细胞生物体系的代谢网络重构。(2)微生物相互作用、代谢分布与微生物组演替规律。定量研究微生物相互关系、代谢分布等微观过程对群落构建、演替与微生物进化等宏观过程的影响,揭示群落生态过程的影响与机制,预测群落演替方向。实现常见微生物相互作用、代谢分工等简单多细胞体系的模块化设计,并进一步研究模块化组合对微生物组动态过程的影响机制。(3)实时群落解析技术。建立污染环境特征微生物参考基因集,开发以纳米孔测序等为代表的便携、实时测序技术及对应的快速分析技术,实现污染环境微生物群落的实时解析。(4)微生物组构建的机理模型和计算仿真技术,实现基于互作、代谢等微观机理的简单多细胞体系的快速预测,以及基于多细胞模块的复杂微生物组动态的预测。

未来15年,将以复杂体系-微生物组的工程化设计与控制为主,建立人工微生物组构建与调控的工程化原理与控制技术体系,包括:(1)人工合成微生物组的生物安全性评估,建立可实施的人工微生物组的环境应用标准。(2)研究复杂微生物组的人工选择原则、干预手段与调控技术,研究信号分子、代谢物、微生物及噬菌体调控微生物群落组成与功能的作用和途径。(3)微生物组人工构建的

工程技术,通过物理学、化学、数学、工程学等学科的交叉研究,进行复杂环境中复杂微生物组的人工构建和工程化改造。(4)以石油烃等常见污染环境的生物修复为研究对象,进行合成微生物组工程化应用。

### [参 考 文 献]

- [1] Hazen TC, Dubinsky EA, T. Desantis T2, et al. Deep-sea oil plume enriches indigenous oil-degrading bacteria. *Science*, 2010, 330: 204-8
- [2] Wada E, Yamasaki K. Mechanism of microbial degradation of nicotine. *Science*, 1953, 117: 152-3
- [3] Tang H, Wang L, Wang W, et al. Systematic unraveling of the unsolved pathway of nicotine degradation in *Pseudomonas*. *PLoS Genet*, 2013, 9: e1003923
- [4] Liu G, Zhao Y, He F, et al. Structure-guided insights into heterocyclic ring-cleavage catalysis of the non-heme Fe (II) dioxygenase NicX. *Nat Commun*, 2021, 12: 1301
- [5] Updike S, Hicks G. The enzyme electrode. *Nature*, 1967, 214: 986-8
- [6] Schar H, Ghisalba O. Hyphomicrobium bacterial electrode for determination of monomethyl sulfate. *Biotechnol Bioeng*, 1985, 27: 897-901
- [7] 王红,肖藏岩,何姗. 酶生物传感器对农药的测定. *化学工程师*, 2008, (156): 33-4
- [8] Lytton-Jean A, Han M, Mirkin C. Microarray detection of duplex and triplex DNA binders with DNA-modified gold nanoparticles. *Anal Chem*, 2007, 79: 6037-41
- [9] Lee JH, Mitchell RJ, Kim BC, et al. A cell array biosensor for environmental toxicity analysis. *Biosens Bioelectron*, 2005, 21: 500-7
- [10] Ghislieri D, Green A, Pontini M, et al. Engineering an enantioselective amine oxidase for the synthesis of pharmaceutical building blocks and alkaloid natural products. *J Am Chem Soc*, 2013, 135: 10863-9
- [11] Tournier V, Topham CM, Gilles A, et al. An engineered PET depolymerase to break down and recycle plastic bottles. *Nature*, 2020, 580: 216-9
- [12] Kurumbang N, Dvorak P, Bendl J, et al. Computer-assisted engineering of the synthetic pathway for biodegradation of a toxic persistent pollutant. *ACS Synth Biol*, 2014, 3: 172-81
- [13] Lieder S, Nikel P, de Lorenzo V, et al. Genome reduction boosts heterologous gene expression in *Pseudomonas putida*. *Microb Cell Fact*, 2015, 14: 23
- [14] Xu X, Zarecki R, Medina S, et al. Modeling microbial communities from atrazine contaminated soils promotes the development of biostimulation solutions. *ISME J*, 2019, 13: 494-508
- [15] Shahab R, Brethauer S, Davey M, et al. A heterogeneous microbial consortium producing short-chain fatty acids from lignocellulose. *Science*, 2020, 369: eabb1214
- [16] Wang M, Liu X, Nie Y, et al. Selfishness driving reductive evolution shapes interdependent patterns in spatially structured microbial communities. *ISME J*, 2020, 15: 1387-401