

DOI: 10.13376/j.cblls/2021174

文章编号: 1004-0374(2021)12-1551-09



钟超, 中国科学院深圳先进技术研究院研究员以及合成生物学研究所材料合成生物中心主任。本科、硕士和博士分别毕业于天津大学、北京化工大学和美国康奈尔大学。曾先后在华盛顿大学(西雅图)和麻省理工学院从事博士后研究, 2014~2020年于上海科技大学担任研究员(于2019年获聘特聘教授 tenured professor)。获得国家杰出青年基金、国家重点人才引进工程青年项目、科技部重点研发计划合成生物学重点专项等项目的资助。作为第一或通讯作者, 在 *Nat Nano*、*Nat Chem Biol*、*Nat Rev Mater* 等刊物发表 50 多篇学术论文。研究领域是国际上兴起的材料合成生物学前沿领域, 课题组主要研究方向是利用合成生物技术发展“活”材料和先进蛋白质材料。钟超博士目前担任 *Materials Today Bio*、*Current Research in Chemical Biology*、*Materials Futures* 编委, *Chinese Chemistry Letters (CCL)* 青年编委, 中国生物工程学会合成生物学专委会委员, 国内《合成生物学》编委及国家新兴产业百人会会员等社会职务。

合成生物技术在新材料发展中的应用

安柏霖, 王艳怡, 钟超*

(中国科学院深圳先进技术研究院, 深圳合成生物研究院, 材料合成生物学研究中心, 定量工程生物学重点实验室, 深圳 518000)

摘要: 合成生物学是一门运用基因操作工具调节和改造生命行为或再创生命形式的工程学科。近年来, 合成生物学的发展为新材料的发现、设计和生产等多方面带来了新的机遇。例如, 优化工业微生物发酵产物的代谢合成途径, 不仅可以提高材料的性能, 而且可以大规模地生产目标产品; 基于合成生物学的模块设计原理对生物功能分子理性组合, 所开发的材料在性能与应用方面有望突破天然材料的局限; 此外, 整合人工设计的基因线路来调节生物体内材料单体分子的表达、分泌, 以及在细胞外的自组装, 促进了具备动态和可控特征的“活”材料的发展。尽管近年来合成生物技术在新材料开发方面取得重要突破, 目前材料合成生物学领域仍然存在诸多困难与挑战。例如, 由微生物发酵制作的材料在性能上很难与天然材料相媲美, 而现有的工程“活”材料也很难实现准确与快速的环境响应。该文将从合成生物技术如何推进天然生物组分的异源发酵、仿生功能材料的模块化设计和设计制造功能“活”材料三个方面的进展进行概述, 并在这些进展的基础上, 进一步探讨该新兴领域面临的挑战以及可能的解决方案。

关键词: 合成生物学; 微生物工程; 基因线路; “活”材料

中图分类号: Q819 文献标志码: A

Design and production of new materials by synthetic biology

AN Bo-Lin, WANG Yan-Yi, ZHONG Chao*

(Center for Materials Synthetic Biology, Cas Key Laboratory of Quantitative Engineering Biology, Shenzhen Institute of Synthetic Biology, Shenzhen Institute of Advanced Technology, Chinese Academy of Sciences, Shenzhen 518055, China)

收稿日期: 2021-11-16

基金项目: 国家重点研发计划(2020YFA0908100, 2018YFA0902804); 国家自然科学基金杰出青年科学基金项目(32125023); 国家自然科学基金联合基金项目(U1932204)

*通信作者: E-mail: chao.zhong@siat.ac.cn

Abstract: Synthetic biology is an engineering discipline that employs genetic tools to regulate and modify the behaviors of living organisms or recreate new forms of life. The recent advances in synthetic biology have opened up new opportunities for the discovery, design, and fabrication of new materials. For example, optimizing the metabolic pathways of fermentation products in industrial microorganisms can both improve material performance and enable the large-scale production of target products. Rational combination of biological molecules or domains using modular genetic design strategies can lead to new materials that promise to outperform their natural counterparts in both properties and application scopes. Furthermore, the integration of artificially designed genetic circuits to regulate the expression and secretion of functional molecules in living organisms and their extracellular self-assembly promotes the development of "living" materials with dynamic and programmable characteristics. Although significant progress has been achieved in developing new materials in recent years, the field still faces several major challenges. For example, materials produced by microbial fermentation rarely match the performance of their natural counterparts, and it remains challenging to engineer "living" materials with precisely controlled and rapid environmental responses. This review provides an overview of how synthetic biology advances the heterologous fermentation of natural ingredients, the modular design of biomimetic materials, and the engineering of functional "living" materials. Based on these advances, we will further discuss the remaining challenges and potential solutions for this emerging field.

Key words: synthetic biology; microbial engineering; genetic circuits; "living" materials

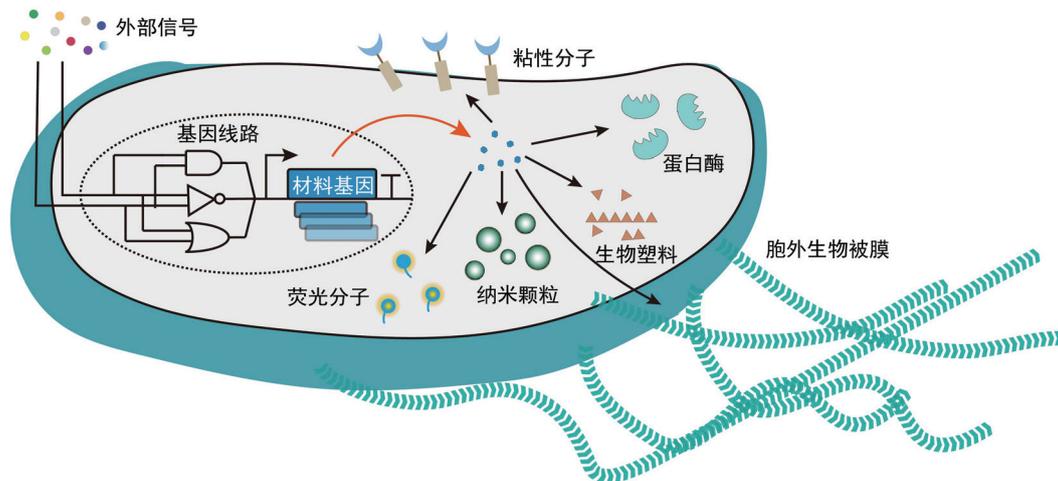
新材料的发展是人类文明进步的标志。人类发展的不同时期,包括从石器到青铜再到铁器时代、从蒸汽到电气再到信息时代,都是以材料的变革进行划分。近代材料发展的一个重要突破在于塑料的发明制造,然而无孔不入的塑料产品带来生活便捷的同时也给生态环境造成了巨大的负担。为减轻生态压力,发展低碳环保的可持续性替代品成为当今材料发展的趋势。自然界中的一些生物物质(如木材、蚕丝、棉花等)拥有诸多优越特性,如高机械强度、可编程性、多功能性、多层级结构以及自生长、自修复等动态特征,因此直接利用这些天然生物组分加工成的产品在当前的可持续材料中占主要地位^[1]。但是,很多生物功能组分在自然界中产量有限(例如从10 000只加州蓝贻贝中仅能收获1克黏性足丝蛋白),此外材料的提纯过程成本高昂且不可持续^[2],因此利用基因工程技术设计微生物异源发酵逐渐成为这类生物功能组分的主流生产方式。

细胞是合成自然生物分子的机器。数十亿年的自然选择和进化使得细胞拥有环境响应、特定分子合成以及环境适应等能力。在细胞的物质生产过程中,环境中的信号(如化合物小分子、机械力、光等)被细胞内感受器所捕获,经过细胞内感知线路的信息处理(信号放大、信息存储或信号转导等),有效地将外部信息流与胞内的代谢遗传联系在一起。根据细胞信号处理的结果,细胞可相应地表达蛋白酶来合成、分泌、修饰或降解特定的生物组分(如蛋白质、多糖、脂类等)^[3-4](图1)。合成生物学是

一门运用基因操作工具编程和改造生命行为和功能以及再造新生命形式的工程学科。合成生物学的发展为新材料的发现、设计和生产带来了新的机遇,如通过合成生物技术改造生命体可以赋予合成材料定制化的功能和特性。材料科学和合成生物学学科在近年来不断交叉融合,衍生出了一个新兴研究领域“材料合成生物学”^[5],该领域集成合成生物学与材料科学的工程原理,利用合成生物技术工程活体生命系统生产材料,并且生命系统也参与作为材料的组成部分,共同构成具有特定功能的活体材料。生命系统的参与赋予了活体材料一些有趣的特性,如环境响应、自修复、自我再生等动态特征。此外,生命系统的可编程性使得人们能够通过设计复杂逻辑线路来精确调控材料属性。材料合成生物学的探索可分为三类:(1)设计改造底盘细胞实现天然生物组分的高效异源表达;(2)通过“自下而上”的方式理性整合不同材料模块,实现功能可调的仿生功能材料设计;(3)借助基因线路调控底盘细胞原位合成特定功能组分,开发具有生命特征的“活”材料。因此,本文将从合成生物技术如何推进天然生物组分的异源发酵、仿生功能材料的模块化设计和功能“活”材料三个方面的进展分别进行概述,并进一步探讨材料合成生物学新兴领域面临的挑战以及可能的解决方案。

1 天然生物材料/组分的异源发酵

自20世纪80年代以来,科研人员对一些具备



细胞能够响应环境中的信号并调控目标基因的表达, 利用这一特点可设计各种基因调控线路来动态操纵各种功能分子及材料的表达、组装和生产。

图1 细胞是天然材料的合成机器

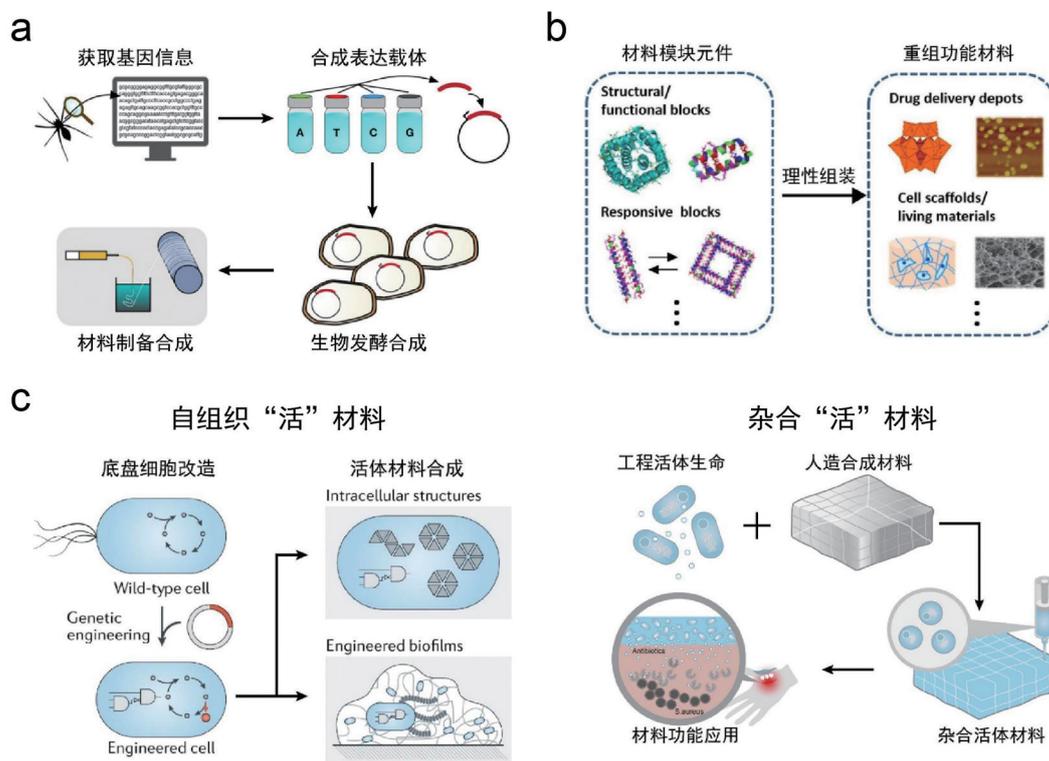
特殊性能的天然组分和生物材料的生产 and 改造产生了极大的兴趣。例如, 具备超强机械性能的蛛丝蛋白被应用于轻便高效防弹衣帽的制作; 潮汐带海洋生物(如海洋贻贝、藤壶等)的水下黏附现象激发了科学家们对水下黏合胶水的研究热情; 头足类海洋生物(如乌贼)用于伪装的反射分子也被尝试用于隐形涂层的开发^[6]。从人工饲养生物中提取相关功能组分从而制备相应特种材料是一种繁琐且昂贵的方法。随着基因测序、组学技术、生物信息学工具以及先进材料分子表征手段的发展, 天然生物材料的成分与功能关系得到充分的解析, 生物工程师现在很容易将天然材料的基因以及相关的生产或代谢途径转入大肠杆菌、毕赤酵母或需钠弧菌等成熟的工业菌株中进行异源发酵, 从而实现高效和低成本规模化生产(图2a)。利用合成生物技术, 科研人员可对发酵工程中的生物代谢途径进行优化设计, 最大程度集中细胞资源表达目标生物分子, 并通过灵活的基因转录水平调控, 实现产物各种性能的控制(如通过控制生物塑料聚羟基烷酸酯 PHA 的聚合度和共聚分子组成来调控材料机械性能^[7-8])。此外, 利用合成生物技术改造底盘宿主的代谢合成途径, 科研人员可以赋予表达的生物组分更接近自然的性能特征。例如, 工程的氨酰 tRNA 合成酶能够在细胞生产贻贝足丝黏性蛋白过程中引入非天然氨基酸 L-Dopa^[9]; 细菌中过量表达磷酸化酶以促进重组蛋白的翻译后磷酸化修饰^[10]。

随着异源表达技术和发酵体系的发展, 科研人

员不仅成功表达了多种从自然基因组中挖掘的特殊功能生物分子, 也从底盘细胞改造、代谢途径优化等过程中摸索出分子高效表达的经验。生物大分子的功能往往与特定基团的修饰以及分子多层级组装紧密关联, 而当前工业化的异源表达体系还难以完全满足这两种技术需求, 因而当前获得的材料分子的性能往往难以媲美天然材料。此外, 由于微生物表达体系的局限, 一些具有重复序列的超高分子量蛋白基因(如蛛丝蛋白、肌连蛋白等基因)不易被微生物翻译合成, 所生产的低分子量替代物在材料性能方面劣于高分子量蛋白, 因此在一定程度上限制了最终材料产品的应用。针对这一限制, 研究人员通过引入生物分子体内聚合反应解决了超高分子量蛋白在异源宿主的表达。例如, 科研人员通过将快速反应的 split-inteins 片段分别融合到肌联蛋白(titin)亚基两端, 成功发酵生产出百万道尔顿分子量的肌联蛋白聚合物, 所产材料展示出卓越的机械性能, 可用来制备防弹材料^[11]。

2 模块化设计组装的仿生材料

除了优化天然分子代谢合成途径外, 合成生物技术的模块化策略也被引入到材料设计中, 可以根据实际应用需求, 将不同性能的生物大分子(如蛋白质、多糖、脂质等)进行理性组合, 创造全新的重组生物材料^[12]。这些基因编码的生物大分子材料模块可大致分为结构模块与功能模块。结构模块包括能够自组装的淀粉样蛋白、S-layer 二维骨架蛋白,



(a)天然生物组分的异源发酵^[6]:以蛛丝蛋白为例,蛛丝蛋白基因经解码合成,制作表达载体并转入工程菌株实现异源发酵合成与材料制备。(b)模块化设计组装的仿生材料^[13]:不同结构与功能的材料模块理性组合搭配可设计出定制化的重组功能仿生材料。(c)功能“活”材料^[5]:利用工程微生物实现材料组分原位合成与应用;根据材料制作方式,“活”材料又分为自组装“活”材料以及杂合“活”材料。

图2 合成生物学指导设计的生物活性材料

以及亮氨酸拉链、弹性蛋白、细菌纤维素等。根据不同结构模块的分子自组装特性,可相应发展一维纳米纤维、二维纳米片或三维水凝胶等结构材料^[5](图2b)。功能模块包括催化酶、荧光发色团、生长因子、黏性蛋白等具备特定功能的生物分子,以及能够响应外界信号的传感分子等,可分别用于修饰材料特定性能或发展环境响应的生物活性材料^[13](图2b)。可编码的核酸分子(即DNA与RNA)既可以作为结构模块也可以作为功能模块。DNA折纸技术可以将核酸单链折叠成具有预设尺寸和结构的二维或三维纳米结构,可应用于精确制备光学材料或药物递送等领域;此外,核酸的数据存储功能也已被用于发展存储材料^[14-16]。上述的生物材料模块都可以借助模块化策略在分子层面进行组合,并在细胞工厂中合成、自组装成特定结构的生物活性材料,以满足多样的功能和性能需求。当前模块化设计的代表性“活”材料包含整合相分离蛋白凝聚特性与贻贝足丝蛋白界面黏性所制作的水下黏合涂层材料^[17]、智能感应光照引发自动降解的医用水凝

胶材料^[18]、CRISPR响应的智能凝胶材料^[19]以及基于生物自修复蛋白所制作的软体机器人等^[20]。尽管近二十年该领域取得了一系列重要成果,仍存在一个核心难点,即如何使得纳米尺度的生物分子改造能够在宏观级别材料中体现出显著的材料性质提升或高效的生物活性功能^[21]。另外,在材料设计过程中,缺乏对结构和功能模块标准化的表征也是限制其广泛应用的重要原因。材料基因组计划的提出拟针对生物功能分子实现高通量的计算模拟、合成制备、检测分析以及数据库搭建,未来有望为生物材料模块的标准化创造条件。

3 功能“活”材料

前面提及的两种生物活性材料的设计思路都是把细胞当作材料合成和加工工厂,如果把细胞也视为材料组成的一部分,就衍生出了新型的“活”材料(或称活体功能材料)。代谢途径转移和模块化组合都可以体现在“活”材料的设计中,在此基础上,“活”材料还可以利用细胞行为可编程的特点,引

入人工设计的基因逻辑线路实时调控材料的合成、分布与功能发挥(图2c)。由于模式微生物(如大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、酿酒酵母等)代谢途径相对清晰,基因操作成熟,因此“活”材料的相关研究大都是基于模式微生物展开的。典型的例子是以大肠杆菌、枯草芽孢杆菌以及红茶菌为代表的功能生物被膜材料的开发。一方面,合成生物技术可以对生物被膜主要结构模块(CsgA、TasA或细菌纤维素)进行功能修饰从而影响整个生物被膜材料的性能;另一方面,可以整合基因调控线路以时空可控的形式精确操纵生物被膜材料的分布与功能呈现^[3]。鉴于生命体系具有可再生的特点,合成的生物材料也可降解,因此“活”材料满足当代可持续技术发展的需求。当前基于生物被膜的“活”材料已经在代谢物催化、水下黏合、医学成像、污水处理、生物发电、土壤固化以及环境污染物检测等诸多领域得到了广泛应用^[5]。此外,生物分子在细胞内自组装形成的胞内材料近年来也被广泛报道,包括可提高催化效率的细胞微室^[22]、可操纵细胞行为的相分离蛋白液滴^[23]以及可实现活体组织深处超声成像和药物定点释放的气囊结构^[24-25]等(图2c)。

纯生命系统组装的“活”材料在实际应用中存在很多限制,如无法实现自支撑、机械强度弱、性能难以超越成熟的人工合成参照物等。解决以上问题的一种策略是设计同时包含生命体系和非生物组分(如高分子水凝胶等支架材料)的杂合“活”材料,非生物材料的引入能够为细胞提供机械支撑或者赋予材料某些特定的理化功能,很大程度提升了“活”材料的实际应用价值(图2c)。比如,涂覆于滤纸表面的感知型酵母菌可用于检测蔬菜病原体污染^[26];整合在可吞服电子设备的传感细菌有助于远程监测胃肠健康状况^[27];半导体与工业菌株的结合赋予了异养微生物利用太阳能提升发酵效率的能力^[28];基于微生物矿化所制备的建筑材料^[29]不仅大幅度减少传统砖块烧窑过程的温室气体排放,还具备执行生物功能的潜力:建筑砖块中存活的工程化微生物可实现建筑外墙裂痕缺陷的自动修复,或在建筑表层生长并释放驱虫分子或吸收降解空气污染物等。

当前发展的“活”材料主要利用工程化的生命系统合成与分泌有特定应用价值的代谢产物;在“活”材料的使用过程中,生物安全性依然是限制“活”材料应用的一个重要问题。如利用工程的乳酸菌、枯草芽孢杆菌或其孢子制备的活性敷料可用

于皮肤病菌感染或糖尿病足伤口的治疗护理^[30-32],但是泄露的微生物进入人体血液引发严重免疫反应是限制该类材料实际应用的重要因素。同时,基因改造的生命体对环境的影响也应当受到研究者的重视,如改造海洋微生物的生物被膜在帮助船体抵抗生物污染(如贻贝、藤壶等)方面有很好的应用前景,但船体表面上经过基因改造的微生物也有可能严重破坏海洋生态系统。因此,未来活体功能材料的发展还需要重点关注生物安全性的底盘细胞开发以及简易高效的生物容器设计,以保障“活”材料在不破坏生态环境的前提下得到推广应用。

4 材料合成生物学领域的挑战与解决方案

合成生物技术已在推进天然生物组分的异源表达生产、仿生功能材料的模块化设计和功能“活”材料的发展三个方面取得了重要的进展。随着各种生物技术的发展以及IT-BT技术(信息技术和生物技术)的不断融合,材料合成生物学新兴领域也将出现前所未有的新机遇,与此同时这一新兴领域也将面临新的挑战。

4.1 在合成材料中重现天然生物材料结构和性能的挑战

当前的底盘细胞及生物技术在天然材料发酵生产方面存在重大瓶颈。以贻贝足丝黏合蛋白为例,贻贝在水下的强力黏合性能很大程度上缘于多种特殊黏合蛋白,这些蛋白很多富含在特定位置进行翻译后修饰的特殊氨基酸,如邻苯二酚(Dopa)^[33-34],而利用常用的微生物底盘细胞难以准确表达天然的贻贝足丝黏合蛋白。因此,当前异源表达的材料产物在成分、组装复杂度以及材料性能等很多方面都难以媲美对应的天然来源材料或组分。为解决这些瓶颈,可通过直接利用和改造自然宿主内的材料合成体系(如足丝黏合蛋白的发酵可以选择海洋贻贝相应的分泌腺体)或者利用细胞工程模仿制备相应的类器官来表达这类天然材料。进一步,借助基因组合成技术可在这些宿主中逐步减少非必要的代谢途径,在降低真核细胞培养成本的同时增强目标材料的合成能力。而随着真核细胞培养成本越来越廉价、技术越来越成熟,这些解决方案有望在不久的将来得以实现。

除修饰的功能基团外,天然材料的性能与其在生命体内的组装或代谢途径也有重要关联。以蛛丝为例,蛛丝蛋白在体内纺丝时,会穿过细长的S形纺丝管,承受剪切应力的同时发生脱水以及离子交

换反应。此外, 纺丝管 pH 由起始的弱碱性向终端的酸性转变, 刺激蛛丝蛋白的自组装聚合^[6]。当前人工纺织的蛛丝蛋白一直无法再现天然蛛丝的机械性能, 因此面向仿生材料的生产和制备过程, 合成生物技术也需要和先进的材料制作加工工艺(如 3D 打印、胶囊封装、铸造等)有机结合, 从而实现高性能材料的自动化生产制造。例如, 可模仿蜘蛛体内的纺丝机理制备相应的微流控装置, 并在装置内固定工程改造的材料合成细胞, 从而在微流控装置中实现蛛丝蛋白的原位合成、纺丝以及产出。

在开发功能“活”材料方面, 利用合成生物技术将生命体与无机材料进行无缝有机结合有望提高相关的材料性能。以人工光合系统为例, 如何工程改造生命体, 使其更高效地接收和转化由光激发无机半导体材料所产生的电子, 是代谢产物合成效率提升的关键^[35]。合成生物技术将在生命有机-无机组分之间的界面关联、生命基本机理的深入挖掘以及生物相容性非生命材料的开发设计等方面发挥作用, 从而实现人工光合系统的最大转化效率。

4.2 新材料或模块的发现以及材料性能定向进化的挑战

在仿生蛋白材料的理性设计方面, 当前用于仿生设计的蛋白质结构或功能模块数量有限, 而在一些特殊环境诸如高温、高盐和极寒等中使用的蛋白质分子模块非常匮乏, 同时很多已发现的功能蛋白的结构和材料在物化、生化和材料等性能方面也缺乏表征。针对上述问题, 除了继续利用生物信息工具挖掘特定环境中的天然功能组分或受天然组分启发进行的仿生设计外, 未来的工作可重点围绕蛋白质材料的性能定向进化方面。例如, 在明确基因序列-功能表型关系以及搭建好切实有效的筛选平台后, 依托体外基因突变建库或者连续定向进化技术可逐步进化材料模块的特定功能, 并提高其在特定环境下的应用效果^[36]。此外, 生物分子结构的高通量计算模拟、模型设计以及机器学习等新兴研究手段也可用于指导蛋白材料模块的创新设计。而高通量自动化的大设施平台则可以协助实现批量且标准化的材料模块性能表征, 为建立更全面的材料模块资源数据库奠定基础。

4.3 工程活材料性能优化的挑战

在应用环境中存活与生长是活材料一个特色亮点, 但当前所设计的“活”材料多基于大肠杆菌、酿酒酵母等基因操纵手段相对成熟的模式菌株, 材料产品的应用场景有限^[4-5]。随着测序能力的提升、

基因重组或 CRISPER 基因编辑等技术的发展成熟, 直接工程改造应用环境中的微生命体作为“活”材料合成的底盘细胞将逐步成为现实。例如, 编码有人工设计的代谢线路的厌氧微生物有望在太空转化宇航员尿液生产太空燃料; 工程皮肤表面寄生微生物分泌抗紫外胞外基质, 可减弱阳光辐射进而保护皮肤组织; 利用海洋电活性细菌开发微生物燃料电池能够为深海探测装置持久供电等。除了生存于应用场景外, 感知与处理外部信息并按需发挥功能也是“活”材料的显著特色。比如, 工程改造海洋嗜油菌, 赋予其生产生物被膜与生物矿化的能力, 发展出的“活”材料有望用于修理与维护海底输油管道。在这一方面, 在底盘细胞材料合成线路中整合高性能的基因传感模块与信号放大元件将有助于提升材料的环境信号灵敏度^[37], 而逻辑门基因线路的引入将能够使工程生命体在复杂环境中实现精准的材料性能调节^[38]。最后, 将功能性的非生命材料分子(如光敏蛋白、维生素 B12 衍生物、温敏性高分子等)与活体系统有机结合, 也有希望拓展“活”材料的自主调控能力与环境适应性。比如, 使用温度敏感的 pluronic 127 或肝素-泊洛沙姆(HP)等在人体肌肉组织表面(约 37 °C)快速原位固化成胶, 能够极大增强活细菌敷料的应用能力^[31-32]。

4.4 规模化生产的挑战

尽管基于现有模式微生物, 包括大肠杆菌、枯草杆菌和毕赤酵母的基因编辑工具以及发酵技术已经非常成熟, 在利用工业模式微生物作为宿主进行生物活性或生物仿生材料的表达和规模化生产方面, 仍然面临一系列的包括诸如目标产物产率不稳定、染菌、功能修饰途径和分泌渠道缺乏以及裂解纯化步骤繁琐和纯化成本高等问题。针对这些挑战, 在现有底盘细胞工程技术基础上的解决方案包括以下几方面: (1) 通过清晰解析产物合成途径和优化代谢方式, 提高细胞的材料合成、翻译后修饰和分泌能力; (2) 通过从头设计模式生物的基因组^[39], 减少生命体系的代谢冗余, 最大程度实现细胞资源向目标产物转化; (3) 通过适应性进化手段, 逐步改变底盘细胞的营养利用方式(如以最新开发的 CO₂ 自养型大肠杆菌作为材料合成的底盘细胞^[40]), 降低材料的生产成本; (4) 发展生命共生体系以执行“分工协作”的材料合成策略或提高工程菌株的抗逆性与基因稳定性也可在一定程度上提高细菌资源的有效利用率和“活”材料连续生产能力。此外, 从合成生物学角度, 通过利用天然高效“材料合成

机器”,如家蚕、蘑菇真菌以及农作物(如棉花、大豆等)等系统以及开发面向这些动物或农作物的基因操作工具将有助于未来生物活体材料规模化生产的实现。最后,随着无细胞表达技术的发展,未来无细胞合成体系有望摆脱活体系统的代谢限制,实现高效的组分合成^[41]。

4.5 生物合成材料在生物安全方面的挑战

生物安全问题是生物活性材料进入市场的主要障碍之一。对于异源发酵合成的天然材料或者蛋白质仿生设计的生物灵感材料,减少发酵与纯化过程的细胞内毒素含量以及降低材料对人体的免疫反应是提高材料应用安全性的必要措施。在活性材料设计与制备过程中,当前除了需对工业发酵菌株实行有效的减毒处理,也要尽可能挖掘人源功能分子模块,或借助计算机辅助设计、定向进化以及机器学习等方法优化材料组分,降低其免疫原性。对于基因编程的“活”材料,其对环境潜在的破坏风险也需要得到足够的重视,如为杜绝抗生素耐药基因的平行转移,未来设计的“活”材料应尽可能避免抗性筛选基因的使用,可利用营养缺陷策略或引入非天然碱基/氨基酸将工程生物限制在使用范围内,或在基因组上设计条件引发的裂解线路,在微生物扩散至周边环境时引导微生物自杀裂解^[42-43],或设

计内源遗传物质完全被降解的“死灵”微生物在应用环境中原位生成“活”材料^[44]。表1对这一领域出现的挑战以及可能的解决方案作一简要的汇总。

[参 考 文 献]

- [1] Burgos-Morales O, Gueye M, Lacombe L, et al. Synthetic biology as driver for the biologization of materials sciences. *Mater Today Bio*, 2021: 100115
- [2] Choi Y, Yang Y, Yang B, et al. *In vivo* modification of tyrosine residues in recombinant mussel adhesive protein by tyrosinase co-expression in *Escherichia coli*. *Microb Cell Fact*, 2012, 11: 139
- [3] Nguyen PQ, Courchesne NMD, Duraj-Thatte A, et al. Engineered living materials: prospects and challenges for using biological systems to direct the assembly of smart materials. *Adv Mater*, 2018, 30: e1704847
- [4] Rodrigo-Navarro A, Sankaran S, Dalby MJ, et al. Engineered living biomaterials. *Nat Rev Mater*, 2021, 6: 1175-90
- [5] Tang TC, An B, Huang Y, et al. Materials design by synthetic biology. *Nat Rev Mater*, 2021, 6: 332-50
- [6] Roberts AD, Finnigan W, Wolde-Michael E, et al. Synthetic biology for fibers, adhesives, and active camouflage materials in protection and aerospace. *MRS Commun*, 2019, 9: 486-504
- [7] Choi SY, Rhie MN, Kim HT, et al. Metabolic engineering for the synthesis of polyesters: a 100-year journey from polyhydroxyalkanoates to non-natural microbial polyesters. *Metab Eng*, 2020, 58: 47-81

表1 合成生物学在材料设计与发展存在的挑战与解决方案

生物活性材料	代表性材料产品	缺陷与不足	未来的发展建议
天然生物材料组分	蛛丝蛋白 ^[45] ; 贻贝足丝蛋白 ^[46] ; 动物/人体胶原 ^[47] ; 章鱼吸盘蛋白 ^[48] ; 弹性蛋白 ^[49]	发酵产率低; 翻译后修饰困难; 难以组装成层次化的复杂结构	改良工业发酵菌株; 开发自养微生物或高产动植物为发酵底盘; 开发无细胞反应体系; 开发微纳米材料加工工艺; 工程设计天然宿主的材料合成腺体
模块化设计的生物材料	CsgA-Mfp水下黏合胶水 ^[50] ; 光照诱导降解的蛋白凝胶材料 ^[18] ; CRISPR响应的智能高分子凝胶 ^[19] ; DNA折纸与信息存储材料 ^[14] ; 蛋白基软体机器人 ^[20]	材料模块数量有限; 缺乏标准化的表征; 分子级别的单体功能难以在宏观级别的材料中呈现等	人工智能辅助的模块挖掘与材料设计; 定向进化或机器学习优化材料模块性能; 自动化设备实现高通量标准化的材料模块性能表征
“活”材料	智能活体黏合胶水 ^[51] ; 机械性能梯度可控的仿生矿化涂层 ^[52] ; 抑制真菌感染的活性敷料 ^[32] ; 感知肠胃健康的可吞咽电子设备 ^[27] ; 全细胞人工光合体系 ^[28] ; 可自我复制的生物砖等 ^[53]	材料设计受限于模式微生物体系; 基因调控线路灵敏性与材料分子表达强度有待提升; 难以保持材料性能长期稳定; 材料的生物安全性重视不足	开发非模式生物作为底盘细胞; 加强模式生物对应用环境的适应能力或对恶劣环境的抗逆性; 整合信号放大线路, 增强线路灵敏性; 优化生命体代谢途径; 结合半导体材料提高合成效率; 杜绝使用抗性基因, 搭建高效的生物容器

- [8] Li T, Ye J, Shen R, et al. Semirational approach for ultrahigh poly (3-hydroxybutyrate) accumulation in *Escherichia coli* by combining one-step library construction and high-throughput screening. *ACS Synth Biol*, 2016, 5: 1308-17
- [9] Jeong YS, Yang B, Yang B, et al. Enhanced production of Dopa-incorporated mussel adhesive protein using engineered translational machineries. *Biotechnol Bioeng*, 2020, 117: 1961-9
- [10] Wallace AK, Chanut N, Voigt CA. Silica nanostructures produced using diatom peptides with designed post-translational modifications. *Adv Funct Mater*, 2020, 30: 2000849
- [11] Bowen CH, Sargent CJ, Wang A, et al. Microbial production of megadalton titin yields fibers with advantageous mechanical properties. *Nat Commun*, 2021, 12: 5182
- [12] Wagner HJ, Engesser R, Ermes K, et al. Synthetic biology-inspired design of signal-amplifying materials systems. *Mater Today*, 2019, 22: 25-34
- [13] Qian ZG, Pan F, Xia XX. Synthetic biology for protein-based materials. *Curr Opin Biotechnol*, 2020, 65: 197-204
- [14] Koch J, Gantenbein S, Masania K, et al. A DNA-of-things storage architecture to create materials with embedded memory. *Nat Biotechnol*, 2020, 38: 39-43
- [15] Yao G, Li J, Li Q, et al. Programming nanoparticle valence bonds with single-stranded DNA encoders. *Nat Mater*, 2020, 19: 781-8
- [16] Li M, Wu J, Dai J, et al. A self-contained and self-explanatory DNA storage system. *Sci Rep*, 2021, 11: 18063
- [17] Cui M, Wang X, An B, et al. Exploiting mammalian low-complexity domains for liquid-liquid phase separation-driven underwater adhesive coatings. *Sci Adv*, 2019, 5: eaax3155
- [18] Yang Z, Yang Y, Wang M, et al. Dynamically tunable, macroscopic molecular networks enabled by cellular synthesis of 4-arm star-like proteins. *Matter*, 2020, 2: 233-49
- [19] English MA, Soenksen LR, Gayet RV, et al. Programmable CRISPR-responsive smart materials. *Science*, 2019, 365: 780-5
- [20] Pena-Francesch A, Jung H, Demirel MC, et al. Biosynthetic self-healing materials for soft machines. *Nat Mater*, 2020, 19: 1230-5
- [21] 曾丹, 储建林, 陈燕茹, 等. 人造蛋白功能材料的生物合成及应用. *合成生物学*, 2021, 2: 528-42
- [22] Bracha D, Walls MT, Brangwynne CP. Probing and engineering liquid-phase organelles. *Nat Biotechnol*, 2019, 37: 1435-45
- [23] Garabedian MV, Wang W, Dabdoub JB, et al. Designer membraneless organelles sequester native factors for control of cell behavior. *Nat Chem Biol*, 2021, 17: 998-1007
- [24] Farhadi A, Ho GH, Sawyer DP, et al. Ultrasound imaging of gene expression in mammalian cells. *Science*, 2019, 365: 1469-75
- [25] Bar-Zion A, Nourmahad A, Mittelstein DR, et al. Acoustically triggered mechanotherapy using genetically encoded gas vesicles. *Nat Nanotechnol*, 2021, 16: 1403-12
- [26] Ostrov N, Jimenez M, Billerbeck S, et al. A modular yeast biosensor for low-cost point-of-care pathogen detection. *Sci Adv*, 2017, 3: e1603221
- [27] Mimee M, Nadeau P, Hayward A, et al. An ingestible bacterial-electronic system to monitor gastrointestinal health. *Science*, 2018, 360: 915-8
- [28] Cestellos-Blanco S, Zhang H, Kim JM, et al. Photosynthetic semiconductor biohybrids for solar-driven biocatalysis. *Nat Catal*, 2020, 3: 245-55
- [29] Bernardi D, DeJong JT, Montoya BM, et al. Bio-bricks: biologically cemented sandstone bricks. *Constr Build Mater*, 2014, 55: 462-9
- [30] González L, Mukhitov N, Voigt CA. Resilient living materials built by printing bacterial spores. *Nat Chem Biol*, 2020, 16: 1-8
- [31] Lu YF, Li HS, Wang J, et al. Engineering bacteria-activated multifunctionalized hydrogel for promoting diabetic wound healing. *Adv Funct Mater*, 2021: 2105749
- [32] Lufton M, Bustan O, Eylon BH, et al. Living bacteria in thermoresponsive gel for treating fungal infections. *Adv Funct Mater*, 2018, 28: 1801581
- [33] Li L, Zeng H. Marine mussel adhesion and bio-inspired wet adhesives. *Biotribology*, 2016, 5: 44-51
- [34] Priemel T, Palia G, Förste F, et al. Microfluidic-like fabrication of metal ion-cured bioadhesives by mussels. *Science*, 2021, 374: 206-11
- [35] Cao B, Zhao Z, Peng L, et al. Silver nanoparticles boost charge-extraction efficiency in *Shewanella* microbial fuel cells. *Science*, 2021, 373: 1336-40
- [36] Kan A, Joshi NS. Towards the directed evolution of protein materials. *MRS Commun*, 2019, 9: 441-55
- [37] Wan X, Volpetti F, Petrova E, et al. Cascaded amplifying circuits enable ultrasensitive cellular sensors for toxic metals. *Nat Chem Biol*, 2019, 15: 540-8
- [38] Kalyoncu E, Ahan RE, Ozcelik CE, et al. Genetic logic gates enable patterning of amyloid nanofibers. *Adv Mater*, 2019, 31: e1902888
- [39] Richardson SM, Mitchell LA, Stracquadanio G, et al. Design of a synthetic yeast genome. *Science*, 2017, 355: 1040-4
- [40] Gleizer S, Ben-Nissan R, Bar-On YM, et al. Conversion of *Escherichia coli* to generate all biomass carbon from CO₂. *Cell*, 2019, 179: 1255-63
- [41] Silverman AD, Karim AS, Jewett MC. Cell-free gene expression: an expanded repertoire of applications. *Nat Rev Genet*, 2020, 21: 151-70
- [42] Lee JW, Chan CTY, Slomovic S, et al. Next-generation biocontainment systems for engineered organisms. *Nat Chem Biol*, 2018, 14: 530-7
- [43] Mandell DJ, Lajoie MJ, Mee MT, et al. Biocontainment of genetically modified organisms by synthetic protein design. *Nature*, 2015, 518: 55-60
- [44] Fan C, Davison PA, Habgood R, et al. Chromosome-free bacterial cells are safe and programmable platforms for

- synthetic biology. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, 117: 6752-61
- [45] Xia XX, Qian ZG, Ki CS, et al. Native-sized recombinant spider silk protein produced in metabolically engineered *Escherichia coli* results in a strong fiber. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 14059-63
- [46] Dong SH, Gim Y, Cha HJ. Expression of functional recombinant mussel adhesive protein type 3A in *Escherichia coli*. *Biotechnol Prog*, 2005, 21: 965-70
- [47] Rutschmann C, Baumann S, Cabalzar J, et al. Recombinant expression of hydroxylated human collagen in *Escherichia coli*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2014, 98: 4445-55
- [48] Ding D, Guerette PA, Hoon S, et al. Biomimetic production of silk-like recombinant squid sucker ring teeth proteins. *Biomacromolecules*, 2014, 15: 3278-89
- [49] Elvin CM, Carr AG, Huson MG, et al. Synthesis and properties of crosslinked recombinant pro-resilin. *Nature*, 2005, 437: 999-1002
- [50] Zhong C, Gurry T, Cheng AA, et al. Strong underwater adhesives made by self-assembling multi-protein nanofibres. *Nat Nanotechnol*, 2014, 9: 858-66
- [51] An B, Wang Y, Jiang X, et al. Programming living glue systems to perform autonomous mechanical repairs. *Matter*, 2020, 3: 2080-92
- [52] Wang Y, An B, Xue B, et al. Living materials fabricated via gradient mineralization of light-inducible biofilms. *Nat Chem Biol*, 2020, 17: 351-9
- [53] Heveran CM, Williams SL, Qiu J, et al. Biomineralization and successive regeneration of engineered living building materials. *Matter*, 2020, 2: 481-94