合成微生物群落的构建与应用

陈沫先¹, 韦中², 田亮³, 谭扬¹, 黄建东^{1,4*}, 戴磊^{1*}

1. 中国科学院深圳先进技术研究院, 深圳合成生物学创新研究院, 中国科学院定量工程生物学重点实验室, 深圳 518055;
2. 江苏省固体有机废弃物资源化高技术研究重点实验室, 国家有机类肥料工程技术研究中心, 江苏省有机固体废弃物资源化协同创新中心, 南京农业大学资源与环境科学学院, 南京 210095;
3. 香港浸会大学物理系, 香港 999077;
4. 香港大学李嘉诚医学院生物医学学院, 香港 999077

* 联系人, E-mail: jdhuang@hku.hk; lei.dai@siat.ac.cn

2020-09-09 收稿, 2020-10-12 修回, 2020-10-13 接受, 2020-10-14 网络版发表

国家自然科学基金(31971513)、深圳市科技创新委员会项目(KQTD2015033117210153, GJHZ20190821160401654)和深圳合成生物学创新研究院科研基金(ZTXM20190003)资助

摘要 自然界中微生物群落的生态网络结构非常复杂, 并且难以进行可重复、可控的扰动实验. 在实验室里通过“自下而上”的方式构建起来的合成群落具有适中的复杂度和较高的可控性, 可以作为数学模型和复杂生态系统研究之间的桥梁. 合成微生物群落的研究方法遵循“设计-构建-测试-学习”为核心的合成生物学理念, 以人工设计和构建的群落为实验对象, 结合定量模型和基因组测序等组学技术, 探索微生物生态学的基本规律. 在应用方面, 基于合成群落的研究对于如何控制和改造复杂的微生物生态系统具有重要的指导意义, 目标是通过构建具有可控功能和稳定性的微生物群落来解决人体健康、农业和工业生产、环境治理等重要问题.

关键词 合成微生物群落, 数学模型, 高通量测序, 相互作用

微生物在我们的世界中无处不在^[1], 它们在各生物体以及周围环境之间形成不同群落^[2]. 据估计, 1 g 土壤中有 10^8 个以上的细菌, 而人体的肠道中有高达 10^{13} 个以上的细菌^[1]. 然而, 微生物群落并不是许多各自独立的微生物凑在一起, 它是一个在资源竞争、营养共生、群体感应和基因水平转移等相互作用机制下形成的复杂生态系统^[3,4]. 其中, 土壤和水圈环境中的微生物群落在碳、氮等元素的全球化学循环中起着关键驱动作用, 在工业生产中, 微生物群落可以处理废弃物, 净化环境^[5]. 在人类疾病领域, 有的微生物可以致病, 有的却可以预防疾病的发生^[6,7]. 有研究显示, 人体肠道中的微生物群落与宿主的发育、代谢以及免疫密切相关^[6,7]. 因此, 研究微生物群落组成的稳定性对于解决生态环境、农业生产、人体健康等问题都有着非常重要

的意义.

随着高通量测序技术的发展, 微生物群落不同环境下的多样性和稳定性被深入研究^[7,8]. 虽然近年来科学界对微生物群落的关注度一再攀升, 但有效利用这些群落以应对社会需求和环境挑战仍有诸多困难^[9]. 因此, 运用合成生物学这类新型科学理念解读现有科学难题十分关键. 其中, 合成生物学的核心循环, 设计(design)-构建(build)-测试(test)-学习(learn)有望促进微生物生态群落基础理论的完善与发现^[9], 并推动以此为生物技术研发, 为改善人类健康、农业生产与环境污染等领域的应用奠定理论基础.

本文主要从造物致知、造物致用两方面, 回顾了现有合成微生物群落的构建方法与理论基础, 以及合成群落潜在的应用方向, 并对运用合成生物学手段在

引用格式: 陈沫先, 韦中, 田亮, 等. 合成微生物群落的构建与应用. 科学通报, 2021, 66: 273–283

Chen M X, Wei Z, Tian L, et al. Design and application of synthetic microbial communities (in Chinese). Chin Sci Bull, 2021, 66: 273–283, doi: [10.1360/TB-2020-0487](https://doi.org/10.1360/TB-2020-0487)

这一领域的应用前景进行了展望。

1 合成微生物群落的构建

1.1 合成群落的设计

合成群落是指运用人工合成的方法精确添加微生物群落中各成员的比例与数量。由于现有的微生物群落互作的分子机制尚不清晰,人工合成微生物群落的设计通常采用“自上而下(top-down)”的方法^[9]。此方法通常使用一定数量的环境变量(如内外源扰动因素),尝试预测生态系统中微生物群落的变化、演替或恢复过程中的生态系统过程,以达到操纵最终所需的功能。一般来说,一个由 N 个物种构成的微生物群落的物种丰度分布 $x(t)=[x_1(t), x_2(t), \dots, x_N(t)]$ 可以通过种群动力学模型来表示:

$$\dot{x} = f(x; \Theta), \quad (1)$$

式中, $f(x; \Theta)$ 一般是非线性的函数。参数 Θ 刻画了该微生物群落的所有生态参数,包括增长率、物种间相互作用,以及物种的自作用。这些参数依赖于微生物群落内在因素,例如生化过程、微生物物种代谢通路等;还依赖于外部环境的影响,例如营养物质供给等。根据微生物群落生态系统的特点,我们会选取不同的 $f(x; \Theta)$ 数学形式来刻画群落的动力学。一个典型的模型是Generalized Lotka-Volterra(GLV)模型:

$$\dot{x}_i = r_i x_i(t) + x_i(t) \sum_{j=1}^n a_{ij} x_j(t), \quad (2)$$

其中, r_i 表示第 i 个物种的生长率, a_{ij} 表示第 j 个物种对第 i 个物种的生态作用, a_{ii} 表示第 i 个物种自作用。此设计方法将实验数据采集与数学模型紧密结合,运用各类型参数、数学公式和方程,计算模拟微生物群落的特定生物化学过程^[10,11]。

然而,随着高通量测序技术、多组学分析技术、微流体和自动化技术的发展,研究者可以通过这些测序数据预测微生物群落特定的代谢网络及其调控机制,以实现设计最终功能的微生物群落。这类方法被称为“自下而上(bottom-up)”的设计理念(图1(a))^[12-14]。此方法以微生物群落的代谢网络及其产物为核心^[15],突出其中的互作特点(例如:协同作用、竞争作用等)^[16],在分子层面设计并优化特定微生物群落的代谢特征。此方法从单个微生物基因组信息中所解读的代谢特征出发^[17],运用自动化代谢网络设计软件和代谢反应模型,

重建特定微生物群落的代谢网络^[18],并模拟它的稳定性^[19]。其中,代谢流平衡分析(flux balance analysis, FBA)是微生物群落代谢网络重构以及代谢模拟仿真最常用的数学方法之一^[12]。FBA将代谢网络中代谢物浓度的变化率表示成化学计量系数的矩阵(化学计量矩阵 S)和代谢流 v 的向量点积。当代谢物浓度不随时间变化时,也就是点积的右侧是零矢量,代表系统处于稳态。通常我们使用线性规划来计算对应于稳态的代谢流。FBA与传统的建模方法相比具有较低的计算复杂性,通常在现代的个人计算机上在几秒钟内就可以计算超过2000个反应的代谢流稳态解。这类“自下而上”的方法运用物种代谢信息,可以很好地阐述一些比较宏观的生态学概念,例如:群落抗性与恢复力、生态系统的时空稳定性等。然而,正如前文所述,由于诸多基因组信息的缺乏与注释功能的不完整,此类设计方案的准确度在非模式微生物群落中的应用中受到较大的限制^[9]。随着高通量测序技术的发展与基因组数据库的日趋完善,这类方法将在未来合成微生物群落的研究中起到至关重要的作用。

综上所述,不论是“自上而下”还是“自下而上”的设计方法,目前都面临不同的技术瓶颈。但共同之处在于,我们对于复杂的微生物群落互作关系缺乏应有的认知。所以,在未来的研究体系中,采用多种方法互相补充,并积极探索微生物群落的互作机制将为合成微生物群落的设计理念与方法研发带来新的契机。此外,结合机器学习算法,减低模型对数据细节的依赖性,也将成为突破瓶颈的有效手段^[20]。此外,在合成生物群落中引入定向进化体系,使初始合成群落在多个定向选择条件下获得适应并进化出特定功能,将成为构建微生物群落和了解其机制的有力工具。

1.2 合成群落的稳定性

由于自然界中微生物群落的生态网络结构复杂度较高,因此难以在实验室中重复可控性较强的扰动实验。这一问题加大了直接开展理论生态学的研究难度。然而,有的研究团队通过“自下而上”的方式在实验室中构建起较为简单的微生物群落,使得这类可控性较高的生态群落有效填补了数学模型和复杂生态系统研究之间的空白(图1(a))^[21]。此外,微生物群落具有生长周期短的优势,是用于研究生态稳定性很好的模式系统^[22-24]。

生态稳定性是理论生态学最基本的问题之一^[25]。

图 1 (网络版彩色)合成微生物群落的稳定性. (a) 合成微生物群落的复杂度低于自然生态系统, 但具有较高的可控性^[12]. (b) 微生物群落受到环境扰动后的恢复能力^[13]. (c), (d) 微生物群落的相互作用网络决定了达到稳定的群落组成和群落本身的抗扰动能力^[14]

Figure 1 (Color online) Stability of synthetic microbiome. (a) Synthetic community is less complex than natural microbiome communities, but is easier to be manipulated in laboratory conditions^[12]. (b) The recovery process of a certain microbial community after intervention^[13]. (c), (d) The interaction networks among different microorganisms determine the composition and intervention resistance of a stable microbial community^[14]

当环境变化时, 开放系统或实验室条件下的微生物群落能够接受的扰动幅度大小和扰动后所需的恢复时间, 反映了群落的生态恢复能力. 以健康成年人的肠道菌

群为例, 群落的组成在短期服用抗生素后被破坏, 但是一段时间后会逐渐恢复到接近原来的稳态^[26]. 群落对于外来生物入侵的抵抗力被认为是衡量生态稳定性的

另一个重要指标^[27]。微生物群落的入侵研究可以追溯到农业中使用的微生物菌剂和临床上使用的益生菌^[28,29]。一个世纪以前, Metchnikoff研究了酸奶中的乳酸菌对自己肠道菌群的入侵, 发现乳酸菌不能在肠道中定植。通过在自然界和人工合成的微生物群落中进行实验, 人们发现细菌入侵是否成功由多个因素决定, 包括土著菌群的多样性、土著菌群与入侵菌在适应度和生态位上的差异^[28,29]。

了解群落的生态稳定性是改造和调控微生物群落必不可少的科学基础。大多数时候, 我们希望微生物群落保持稳定, 不被外来的病原菌侵害。但在某些情况下, 比如土壤或者肠道的菌群生态失调, 则希望能够通过向群落中引入新的成员(比如益生菌), 来调控微生物群落的组成甚至进行重新设计。近年来, 人工合成的微生物群落在许多生态学的研究中发挥了关键作用^[30]。其中, 衡量生态稳定性的一个重要指标是恢复能力。微生物群落受到环境扰动后, 其恢复能力可以用弹性和生态幅度来测量(图1(b))。弹性是指系统恢复的速度, 生态幅度是指群落偏离原来的状态多远仍可以恢复原状。Ives等人^[31]最早提出可以通过时间序列的数据来预测群落的弹性和物种之间的相互作用。

近年来, 更多的研究开始关注群落成员的相互作用网络与入侵抵抗力之间的关系^[32,33]。与恢复能力的研究相比, 目前对入侵抵抗力方面的研究主要是通过实验的手段, 亟需更多的理论探索。近年来, 针对生态稳定性的预测研究有了一系列进展。Scheffer团队^[32]发现, 可以利用物种丰度的时间序列或者空间分布的数据, 计算自相关系数、方差等统计信号, 来预测弹性和生态幅度, 对可能发生稳态转换的生态系统进行预警。另一种研究群落稳定性的方法是通过参数化的数学模型, 比如基于种间相互作用网络的生态动力学模型(图1(c))^[33]。与统计信号的方法相比, 生态动力学模型有直接的生物学意义。在实验研究中, 人们发现可以通过相互作用网络来预测群落组装的结果^[18]。比如, 在群落达到稳态后, 两个物种究竟是会稳定共存还是竞争排斥。关于稳定性和相互作用网络之间的关系, 已经有许多模型方面的研究。理论研究发现, 相互作用网络的拓扑结构, 包括网络节点的数量、竞争与合作关系的比例、高阶相互作用, 都会影响群落的恢复能力^[34,35]。由于缺乏高精度的时序数据, 生态动力学模型对于微生物群落稳定性的预测能力依然缺乏评估。通过结合生物的共培养实验和数学模型, 对群落的生态动力学

进行模拟和预测, 将是该领域未来研究发展的重要方向^[36,37]。此外, 相对于实验室可控的试验条件, 开放系统(如: 肠道、废水池、农田等)中的微生物群落具有高度时空特异性, 故其更加难以预测的稳定性将给我们带来新挑战。

在之前的研究中, 运用动力学模型的计算模拟和微生物种群的实验, 证明了可以通过根据种群的扰动响应来预测其稳定性^[22]。研究证明, 生物系统在多个稳态之间的临界转变时, 比如种群灭绝前, 遵循类似物理中相变的临界规律。这一现象具体表现为种群受到外界的扰动后恢复速率降低, 涨落的自相关性增加, 可作为预测生态系统中的稳态转换提供重要的理论工具^[23]。此外, 研究发现, 通过对微生物种群在空间中施加扰动的方法, 可以观测其空间恢复长度, 为测量微生物系统的稳定性提供了新的方法^[23]。

2 造物致知: 理解微生物组

建立连接微生物结构与生态功能的预测性模型至为重要。然而, 其中关键的挑战是如何将微生物组实验实证数据的知识转化为对其的深入理解并进而做出可靠的预测。这有助于我们进一步改造微生物群落。解决这一挑战需要发展基于机制理解并与受控实验相结合的生态学模型。我们认为生态理论和实验数据的结合是当前微生物群落系统研究中的重要环节, 是发现微生物群落组成和生态功能设计性原理的关键。

2.1 实验数据与数学模型的结合: 现有方法的优缺点分析

现有研究方法可分为三类。第一类是从数据推断物种之间的相互作用, 即直接测量微生物群落内物种之间的相互作用是收集建立模型所需的基本信息的一种极好的方法, 但是这类方法一般是针对特定类型的相互作用。要获得整个微生物群落内物种之间的相互作用信息, 可以通过高通量测序数据中微生物分类单元丰度之间的相关性来进行统计推断^[38-40]。这样得到的共现相互作用网络可用于对微生物群落的生态功能的预测, 例如代谢依赖性的存在、微生物群落对环境变化的脆弱性, 以及找出对于微生物群落稳定性起关键作用的物种等^[40-42]。虽然这样的关联方法可以找出之前没有被发现的物种相互作用, 但是这些发现需要进一步更直接的验证^[43], 因为在测序数据中(如16S rRNA基因扩增子测序)存在很多其他因素会影响关联

分析结果^[36,44,45]。

第二类是从化学计量模型预测物种之间的相互作用,即微生物群落中很多物种之间的重要相互作用都是通过代谢物的交换实现的。因此,模拟物种之间代谢流的计算方法可用于预测它们之间的相互作用。这些方法基于物种的基因组来建立其整套代谢反应的“化学计量模型”^[46]。经典的流平衡分析方法可以用来分析物种的代谢流^[47]。将这套方法扩大来构建微生物群落内的化学计量模型,进而对群落内的物种进行详细的代谢研究^[48],可以洞悉微生物群落内物种之间的代谢相互作用^[49-52]。

第三类是利用微生物群体的动力学模型,简称动力学模型(例如广泛使用的Monod方程),旨在预测微生物的生长速度,其中包含必需营养素和/或抑制性化学物质的浓度,以及与物种有关的参数(例如最大生长速度)。将这种方法扩展到微生物群落层次很有吸引力,因为它在概念上很简单,在计算上易于处理,并且可以提供动态的预测^[53-55]。

2.2 实验数据与数学模型的结合:面临的挑战

数据与模型结合的研究方法目前也面临诸多挑战。在传统的生态模型中进化过程一般是被忽略的,因为我们认为它只发生在很长的时间尺度上。虽然这一假设可能适用于动物和植物群体,但在微生物群落中,生态和进化的时间尺度可能是吻合的。这是因为在微生物群落中,微生物的世代时间较短,群体数量规模较大,并且具有较高的基因转移率^[56]。在微生物群落中,由于物种之间的生态相互作用的进化跟物种本身的进化具有相同的时间尺度,因此发展同时考虑物种特征和物种相互作用的进化过程的模型框架将在微生物群落生态学的研究中发挥重要作用^[57,58]。

微生物群落的组装(群落的形成机制)是宏观生态学中的一个广泛研究课题。但对于微生物群落而言,这方面的研究才刚刚起步^[59],因此仍有许多问题亟须解决。对于微生物群落,历史偶然性或定植过程(不同物种进入群落的顺序)可能会对微生物群落的组成产生重大影响,例如,口腔菌群^[60]和肠道菌群^[61]。重要的是,物种定植的不同模式可以导致微生物群落内不同的相互作用网络^[62]。这些由微生物定植过程带来的影响对于更好地改造和控制微生物群落非常重要。未来的工作应该通过实验系统地研究这些影响,同时将它们整合到微生物群落生态模型中。

3 造物致用:改造微生物组

鉴于微生物群落充斥在地球的每个角落和它们丰富的代谢能力,人类可以将其运用到各个领域^[63]。在科学研究领域,合成微生物群落中由于存在可测量的单菌株相互作用信息,被广泛用于解决如种群扩增、动态变化、空间结构与扩张模式等种群生态学问题^[52,64]。群落中的特殊结构(如生物膜)为研究细菌之间的集体行为和远距离通信机制提供了可靠的模型^[65]。在医学健康领域,合成微生物群落被用于疾病预防与治疗。在农业领域,人们通过改善田间土壤中的微生物群落,以增强作物农艺性状^[66]。在环境领域,合成群落被用于生态环境修复、工业废水处理等方面^[67]。此外,合成微生物群落在工业生产等方面也有着广阔的应用前景。例如,合成群落可以增加酒类或其他酿造类产品的产量与风味^[68],可以进行生物能源到清洁能源的转化^[69]。虽然这些应用证实了微生物群落的宝贵机制,但是测序技术的发展揭示了更多未能培养的微生物的重要功能。因此,合成微生物群落的研究具有令人期待的前景。

3.1 人体微生物组的改造与应用

健康人的肠道内寄居着种类众多的微生物群落,统称为肠道菌群。在正常情况下,肠道菌群通过不同微生物之间及其与宿主之间的相互作用,形成动态平衡的微生物生态系统,以应对饮食、药物及其他环境因素的扰动。肠道菌群可以通过微生物本身直接或代谢产物间接与肠道细胞相互作用。越来越多的研究表明,肠道微生物组紊乱与消化道炎症、免疫系统疾病、代谢失调疾病、消化道以及其他各器官肿瘤等多种疾病的发生密切相关,由此在理论上可通过调控肠道微生物组以实现以上疾病的干预与治疗(图2(a))^[70]。

早期研究主要通过粪菌移植的途径实现治疗目标。在这方面,研究者通过将健康志愿者的肠道菌群转移到病人肠道中来修复患者肠道内紊乱的菌群结构,菌群移植帮助病人重建稳定的肠道微生物生态系统,恢复其免疫系统的平衡以及对病原菌的定植抗力。目前,粪菌移植已被尝试用于炎症性肠病、艰难梭菌感染、代谢综合征等疾病的治疗,并取得了积极的临床效果^[71-74]。

随后,在生态层次上利用肠道微生物治疗疾病的研究逐渐由传统益生菌的组合和粪菌移植走向基于理性设计的合成菌群。2005年,Bibiloni等人^[75]发现,8个益生

图2 (网络版彩色)合成微生物群落在人体和植物微生物组研究中的应用。(a) 人体共生微生物组的解析、合成与改造。通过生物信息学分析和培养组学方法构建微生物互作网络,并以此设计合成群落,在动物模型中进行功能验证。(b) 植物共生微生物组的研究。病原体通过与土著菌群竞争资源,成功入侵植物共生微生物群落,并对植物产生危害^[82]。连接度表示菌群内部资源利用的整体能力;嵌套度表示菌群内部资源利用的不均衡性;重叠度表示菌群与病原菌资源利用的竞争能力

Figure 2 (Color online) The application of synthetic microbial communities in human and plant microbiome research. (a) Analysis, synthesis and modification of the human symbiosis microbiome. Through bioinformatics analysis and culturomics, we can construct a microbial interaction network, and design synthetic communities based on this, thus performing functional verification in animal models. (b) The study of plant symbiotic microbiome. Pathogens successfully invaded the symbiotic microbial community of plants by competing with indigenous flora for resources, and caused harm to plants^[82]. The degree of connectivity represents the overall ability of resource utilization within the flora; the degree of nesting represents the imbalance of resource utilization within the flora; the degree of overlap represents the competitiveness of the flora and pathogen resource utilization

菌的组合能缓解炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)病人症状。在粪菌移植方面,1988年首例溃疡性结肠炎患者接受粪菌移植(fecal microbiota transplantation, FMT)治疗后出现持续性的临床和组织病理学治愈^[76]。Borody等人^[71]使用FMT治疗了6例难治性炎症性结肠炎,临床缓解率为100%。2012年,Anderson等人^[72]开展了一项17篇病例报道共41例IBD患者的系统评价,认为FMT可使63%的IBD患者出现临床缓解。2013年,张发明团队^[77]在临床上利用粪菌移植的方法成功治疗

克罗恩病。然而,天然肠道菌群的治疗机理不明确,盲目性大。基于菌株的生态网络以及与宿主之间的相互作用,理性设计构建的合成肠道菌群,在疾病治疗上具有更好的可控性与鲁棒性。近年来,国际上已开始关注合成肠道菌群在IBD治疗方面的应用。随着肠道微生物组学领域的快速发展,我们对有益于IBD治疗的肠道菌株和相关功能基因的了解不断深入。2018年,Honda团队开发的菌群药剂VE202进入临床研究,显示出合成菌群在IBD治疗方面的前景。他们利用肠道梭菌合成菌群,

用于调节宿主的免疫系统紊乱^[78],并开发出计算工具指导设计最优合成菌群用于免疫系统调节^[79]。2018年,该团队利用17株梭菌合成的菌群在成年小鼠中具有缓解结肠炎与过敏性腹泻的效果^[80],基于该合成菌群的治疗IBD菌群药剂VE202已进入临床研究,显示出合成菌群在IBD治疗方面的前景。2019年,该团队又从健康人粪便中分离出11株细菌,当联合定植于肠道时,该菌群能够强化抗PD-1免疫抑制剂疗法的效果而不引起结肠炎等副作用。目前,该11株菌已经进入联合肿瘤抗PD-1免疫抑制剂疗法的临床试验阶段^[81]。

3.2 植物微生物组的改造与应用

植物微生物组在帮助植物抗逆和抗病虫害过程中发挥着重要作用^[83,84]。微生物群落成员之间存在着积极或消极的相互作用,进而形成复杂的生态网络^[85,86]。阐明群落互作特征与功能之间的关系对定向调控植物微生物组、促进作物健康生长具有重要意义,而合成菌群是回答这一问题的重要手段。近年来,南京农业大学微生物与根际健康实验室基于生物多样性-生态系统功能理论模型和微生物群落成员的互作关系,构建了稳定增强植物微生物群落有益功能的人工合成菌群^[82,87,88]。Li等人^[88]利用合成菌群中菌株成对相互作用较好地预测了复杂群落的互作关系以及对病原菌入侵的抵抗能力,发现合成菌群竞争性互作的增加更有利于抵御病原菌对植物的入侵。研究人员利用相对简单的资源竞争模型和拮抗竞争分析较准确地预测了合成菌群抵御病原菌入侵作物的能力,并提出合成菌群构建的3个指导方针(图2(b)): (1) 增加合成菌群资源利用的连接度以及与病原菌资源利用的重叠度,但避免菌群资源利用分配的不均衡^[82]; (2) 结合菌株资源竞争、拮抗竞争能力或其他有益特性,以确保有益菌群施用后能更好地适应环境和发挥植物有益功能^[87,89]; (3) 合成菌群成员的筛选应考虑多个营养级别微生物间的协同效应^[90]。这些基于生态原理的合成有益菌群组合的策略能够更广泛地应用于肠道菌群、植物微生物组、生物入侵和生物技术等领域。

4 展望

近年来,合成微生物群落领域的研究逐渐兴起,发

图3 (网络版彩色)合成微生物群落的研究展望。(a)造物致知:深入理解微生物组的动力学性质和空间结构。(b)造物致用:通过调控宿主与共生微生物的互作,改善宿主健康

Figure 3 (Color online) Future perspective of synthetic microbiome. (a) Creation: An in-depth understanding of the dynamic properties and spatial structure of the microbiome. (b) Creational use: Improving host health by regulating the interoperability of host and symbiotic microorganisms

展了一系列的研究方法和应用^[65]。展望未来,合成群落将成为我们理解和改造复杂微生物生态系统的重要手段。在造物致知方面,基于合成群落的体系,深入理解微生物之间的相互作用、微生物群落的动力学性质(应对外界扰动的响应),以及在动物肠道、植物根际、土壤、水圈等不同生态环境下的群落空间结构,将为复杂微生物组的改造提供重要的科学依据(图3(a))^[91]。对于多样性高、互作机制复杂的群落,通过研究合成群落的模式系统,揭示其背后的定量规律,从而指导我们对复杂系统的理解和改造^[92]。在造物致用方面,利用合成微生物群落,调控微生物与宿主和环境之间的相互作用,从而改善宿主健康(图3(b));此外,合成微生物群落在工业生产、环境治理等方面也有重要的应用^[93]。通过跨学科领域的交叉合作,有效结合高通量实验数据与数学模型,运用合成生物学的设计-构建-测试-学习的方法,将使我们向精确表征和调控微生物群落的目标更进一步^[9]。

参考文献

- 1 Thompson L R, Sanders J G, McDonald D, et al. A communal catalogue reveals Earth's multiscale microbial diversity. *Nature*, 2017, 551: 457–463

- 2 Konopka A. What is microbial community ecology? *ISME J*, 2009, 3: 1223–1230
- 3 Cai Y F, Liao Z W. Advances in research methods of soil microbial ecology (in Chinese). *Ecol Environ Sci*, 2002, 11: 167–171 [蔡燕飞, 廖宗文. 土壤微生物生态学研究方法进展. *生态环境学报*, 2002, 11: 167–171]
- 4 Cao P, He J Z. A preliminary theoretical framework of microbial ecology (in Chinese). *Acta Ecol Sin*, 2015, 35: 6–16 [曹鹏, 贺纪正. 微生物生态学理论框架. *生态学报*, 2015, 35: 6–16]
- 5 Pandey P, Shinde V N, Deopurkar R L, et al. Recent advances in the use of different substrates in microbial fuel cells toward wastewater treatment and simultaneous energy recovery. *Appl Energy*, 2016, 168: 706–723
- 6 Stacy A, McNally L, Darch S E, et al. The biogeography of polymicrobial infection. *Nat Rev Microbiol*, 2016, 14: 93–105
- 7 Khosravi A, Mazmanian S K. Disruption of the gut microbiome as a risk factor for microbial infections. *Curr Opin Microbiol*, 2013, 16: 221–227
- 8 Wang X Z, Wang F H, Sun R B, et al. Application of high-throughput DNA sequencing in microbial ecology (in Chinese). *Chin J Eco-Agric*, 2018, 26: 174–181 [王新珍, 王凤花, 孙瑞波, 等. 高通量测序技术在微生物分子生态学研究中的应用. *中国生态农业学报*, 2018, 26: 174–181]
- 9 Lawson C E, Harcombe W R, Hatzenpichler R, et al. Common principles and best practices for engineering microbiomes. *Nat Rev Microbiol*, 2019, 17: 1–17
- 10 Batstone D J, Puyol D, Floresalsina X, et al. Mathematical modelling of anaerobic digestion processes: Applications and future needs. *Rev Environ Sci Biotechnol*, 2015, 14: 595–613
- 11 Picioreanu C, Kreft J U, Van Loosdrecht M C M. Particle-based multidimensional multispecies biofilm model. *Appl Environ Microbiol*, 2004, 70: 3024–3040
- 12 Goldford J E, Lu N, Bajić D, et al. Emergent simplicity in microbial community assembly. *Science*, 2018, 361: 469–474
- 13 Bairey E, Kelsic E D, Kishony R. High-order species interactions shape ecosystem diversity. *Nat Commun*, 2016, 7: 12285
- 14 Shade A, Peter H, Allison S D, et al. Fundamentals of microbial community resistance and resilience. *Front Microbiol*, 2012, 3: 417
- 15 Nobu M K, Narihiro T, Rinke C, et al. Microbial dark matter ecogenomics reveals complex synergistic networks in a methanogenic bioreactor. *ISME J*, 2015, 9: 1710–1722
- 16 Rotaru A E, Shrestha P M, Liu F, et al. A new model for electron flow during anaerobic digestion: Direct interspecies electron transfer to *Methanosaeta* for the reduction of carbon dioxide to methane. *Energy Environ Sci*, 2014, 7: 408–415
- 17 Röttgers L, Faust K. Can we predict keystones? *Nat Rev Microbiol*, 2019, 17: 193
- 18 Thiele I, Palsson B Ø. A protocol for generating a high-quality genome-scale metabolic reconstruction. *Nat Protoc*, 2010, 5: 93–121
- 19 Zhuang K, Izallalen M, Mouser P, et al. Genome-scale dynamic modeling of the competition between *Rhodospirillum rubrum* and *Geobacter* in anoxic subsurface environments. *ISME J*, 2011, 5: 305–316
- 20 Oyetunde T, Bao F S, Chen J W, et al. Leveraging knowledge engineering and machine learning for microbial bio-manufacturing. *Biotechnol Adv*, 2018, 36: 1308–1315
- 21 Drake J M, Kramer A M. Mechanistic analogy: How microcosms explain nature. *Theor Ecol*, 2012, 5: 433–444
- 22 Dai L, Vorselen D, Korolev K S, et al. Generic indicators for loss of resilience before a tipping point leading to population collapse. *Science*, 2012, 336: 1175–1177
- 23 Dai L, Korolev K S, Gore J. Slower recovery in space before collapse of connected populations. *Nature*, 2013, 496: 355–358
- 24 Rindi L, Bello M D, Dai L, et al. Direct observation of increasing recovery length before collapse of a marine benthic ecosystem. *Nat Ecol Evol*, 2017, 1: 1–7
- 25 Allesina S, Tang S. Stability criteria for complex ecosystems. *Nature*, 2012, 483: 205–208
- 26 Palreja A, Mikkelsen K H, Forslund S K, et al. Recovery of gut microbiota of healthy adults following antibiotic exposure. *Nat Microbiol*, 2018, 3: 1255–1265
- 27 Kinnunen M, Dechesne A, Proctor C, et al. A conceptual framework for invasion in microbial communities. *ISME J*, 2016, 10: 2773–2779
- 28 Li S P, Tan J, Yang X, et al. Niche and fitness differences determine invasion success and impact in laboratory bacterial communities. *ISME J*, 2019, 13: 402–412
- 29 van Elsland J D, Chiurazzi M, Mallon C A, et al. Microbial diversity determines the invasion of soil by a bacterial pathogen. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 1159–1164
- 30 Stenuit B, Agathos S N. Deciphering microbial community robustness through synthetic ecology and molecular systems synecology. *Curr Opin Biotechnol*, 2015, 33: 305–317
- 31 Ives A R, Dennis B, Cottingham K L, et al. Estimating community stability and ecological interactions from time-series data. *Ecol Monogr*, 2003, 73: 301–330
- 32 Scheffer M, Bascompte J, Brock W A, et al. Early-warning signals for critical transitions. *Nature*, 2009, 461: 53–59
- 33 Xiao Y, Angulo M T, Friedman J, et al. Mapping the ecological networks of microbial communities. *Nat Commun*, 2017, 8: 2042
- 34 Coyte K Z, Schluter J, Foster K R. The ecology of the microbiome: Networks, competition, and stability. *Science*, 2015, 350: 663–666

- 35 Grilli J, Barabás G, Michalska-Smith M J, et al. Higher-order interactions stabilize dynamics in competitive network models. *Nature*, 2017, 548: 210–213
- 36 Stein R R, Bucci V, Toussaint N C, et al. Ecological modeling from time-series inference: Insight into dynamics and stability of intestinal microbiota. *PLoS Comput Biol*, 2013, 9: e1003388
- 37 Venturelli O S, Carr A C, Fisher G, et al. Deciphering microbial interactions in synthetic human gut microbiome communities. *Mol Syst Biol*, 2018, 14: e8157
- 38 Fuhrman J A. Microbial community structure and its functional implications. *Nature*, 2009, 459: 193–199
- 39 Freilich S, Kreimer A, Meilijson I, et al. The large-scale organization of the bacterial network of ecological co-occurrence interactions. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38: 3857–3868
- 40 Faust K, Sathirapongsasuti J F, Izard J, et al. Microbial co-occurrence relationships in the human microbiome. *PLoS Comput Biol*, 2012, 8: e1002606
- 41 Berry D, Widder S. Deciphering microbial interactions and detecting keystone species with co-occurrence networks. *Front Microbiol*, 2014, 5: 219
- 42 Widder S, Besemer K, Singer G A, et al. Fluvial network organization imprints on microbial co-occurrence networks. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111: 12799–12804
- 43 Friedman J, Alm E J. Inferring correlation networks from genomic survey data. *PLoS Comput Biol*, 2012, 8: e1002687
- 44 Bucci V, Tzen B, Li N, et al. MDSINE: Microbial Dynamical Systems Inference Engine for microbiome time-series analyses. *Genome Biol*, 2016, 17: 121
- 45 Zhou J, Wu L, Deng Y, et al. Reproducibility and quantitation of amplicon sequencing-based detection. *ISME J*, 2011, 5: 1303–1313
- 46 Schilling C H, Schuster S, Palsson B O, et al. Metabolic pathway analysis: Basic concepts and scientific applications in the post-genomic era. *Biotechnol Prog*, 1999, 15: 296–303
- 47 Orth J D, Thiele I, Palsson B Ø. What is flux balance analysis? *Nat Biotechnol*, 2010, 28: 245–248
- 48 Freilich S, Zarecki R, Eilam O, et al. Competitive and cooperative metabolic interactions in bacterial communities. *Nat Commun*, 2011, 2: 589
- 49 Stolyar S, Van Dien S, Hillesland K L, et al. Metabolic modeling of a mutualistic microbial community. *Mol Syst Biol*, 2007, 3: 92
- 50 Eilam O, Zarecki R, Oberhardt M, et al. Glycan degradation (GlyDeR) analysis predicts mammalian gut microbiota abundance and host diet-specific adaptations. *mBio*, 2014, 5: e01526
- 51 Kettle H, Louis P, Holtrop G, et al. Modelling the emergent dynamics and major metabolites of the human colonic microbiota. *Environ Microbiol*, 2015, 17: 1615–1630
- 52 Harcombe W R, Riehl W J, Dukovski I, et al. Metabolic resource allocation in individual microbes determines ecosystem interactions and spatial dynamics. *Cell Rep*, 2014, 7: 1104–1115
- 53 Bonachela J A, Raghib M, Levin S A. Dynamic model of flexible phytoplankton nutrient uptake. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 20633–20638
- 54 Desmond-Le Quémener E, Bouchez T. A thermodynamic theory of microbial growth. *ISME J*, 2014, 8: 1747–1751
- 55 González-Cabaleiro R, Lema J M, Rodríguez J, et al. Linking thermodynamics and kinetics to assess pathway reversibility in anaerobic bioprocesses. *Energy Environ Sci*, 2013, 6: 3780–3789
- 56 Post D M, Palkovacs E P. Eco-evolutionary feedbacks in community and ecosystem ecology: Interactions between the ecological theatre and the evolutionary play. *Phil Trans R Soc B*, 2009, 364: 1629–1640
- 57 Cordero O X, Ventouras L A, DeLong E F, et al. Public good dynamics drive evolution of iron acquisition strategies in natural bacterioplankton populations. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 20059–20064
- 58 Hillesland K L, Lim S, Flowers J J, et al. Erosion of functional independence early in the evolution of a microbial mutualism. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111: 14822–14827
- 59 Woodcock S, van der Gast C J, Bell T, et al. Neutral assembly of bacterial communities. *FEMS Microbiol Ecol*, 2007, 62: 171–180
- 60 Teles F R, Teles R P, Uzel N G, et al. Early microbial succession in redeveloping dental biofilms in periodontal health and disease. *J Periodont Res*, 2012, 47: 95–104
- 61 David L A, Maurice C F, Carmody R N, et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature*, 2014, 505: 559–563
- 62 Vannette R L, Fukami T. Historical contingency in species interactions: Towards niche-based predictions. *Ecol Lett*, 2014, 17: 115–124
- 63 Falkowski P G, Fenchel T, Delong E F. The microbial engines that drive Earth's biogeochemical cycles. *Science*, 2008, 320: 1034–1039
- 64 De Roy K, Marzorati M, Van den Abbeele P, et al. Synthetic microbial ecosystems: An exciting tool to understand and apply microbial communities. *Environ Microbiol*, 2014, 16: 1472–1481
- 65 Liu J, Martinez-Corral R, Prindle A, et al. Coupling between distant biofilms and emergence of nutrient time-sharing. *Science*, 2017, 356: 638–642
- 66 O'Connell K P, Goodman R M, Handelsman J. Engineering the rhizosphere: Expressing a bias. *Trends Biotechnol*, 1996, 14: 83–88
- 67 Löffler F E, Edwards E A. Harnessing microbial activities for environmental cleanup. *Curr Opin Biotechnol*, 2006, 17: 274–284

- 68 Wang L J. Isolation of Acetoin-producing microbial community in vinegar pei and its application in vinegar brewing process (in Chinese). Master Thesis. Wuxi: Jiangnan University, 2018 [王丽娟. 产乙偶姻功能微生物群落的分离及其在食醋酿造中的应用. 硕士学位论文. 无锡: 江南大学, 2018]
- 69 Patle S, Lal B. Ethanol production from hydrolysed agricultural wastes using mixed culture of *Zymomonas mobilis* and *Candida tropicalis*. *Biotechnol Lett*, 2007, 29: 1839–1843
- 70 Lynch S V, Pedersen O. The human intestinal microbiome in health and disease. *N Engl J Med*, 2016, 375: 2369–2379
- 71 Borody T J, Warren E F, Leis S, et al. Treatment of ulcerative colitis using fecal bacteriotherapy. *J Clin Gastroenterol*, 2003, 37: 42–47
- 72 Anderson J L, Edney R J, Whelan K. Systematic review: Faecal microbiota transplantation in the management of inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther*, 2012, 36: 503–516
- 73 Gianotti R J, Moss A C. Fecal microbiota transplantation: From *Clostridium difficile* to inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Hepatol*, 2017, 13: 209–213
- 74 de Groot P F, Frissen M N, de Clercq N C, et al. Fecal microbiota transplantation in metabolic syndrome: History, present and future. *Gut Microbes*, 2017, 8: 253–267
- 75 Bibiloni R, Fedorak R N, Tannock G W, et al. VSL#3 probiotic-mixture induces remission in patients with active ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol*, 2005, 100: 1539–1546
- 76 Bennet J D, Brinkman M. Treatment of ulcerative colitis by implantation of normal colonic flora. *Lancet*, 1989, 333: 164
- 77 Zhang F M, Wang H G, Wang M, et al. Fecal microbiota transplantation for severe enterocolonic fistulizing Crohn's disease. *World J Gastroenterol*, 2013, 19: 7213–7216
- 78 Atarashi K, Tanoue T, Shima T, et al. Induction of colonic regulatory T cells by indigenous *Clostridium* species. *Science*, 2011, 331: 337–341
- 79 Stein R R, Tanoue T, Szabady R L, et al. Computer-guided design of optimal microbial consortia for immune system modulation. *eLife*, 2018, 7: e30916
- 80 Atarashi K, Tanoue T, Oshima K, et al. Treg induction by a rationally selected mixture of *Clostridia* strains from the human microbiota. *Nature*, 2013, 500: 232–236
- 81 Tanoue T, Morita S, Plichta D R, et al. A defined commensal consortium elicits CD8 T cells and anti-cancer immunity. *Nature*, 2019, 565: 600–605
- 82 Wei Z, Yang T, Friman V P, et al. Trophic network architecture of root-associated bacterial communities determines pathogen invasion and plant health. *Nat Commun*, 2015, 6: 8413
- 83 Berendsen R L, Pieterse C M J, Bakker P A H M. The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends Plant Sci*, 2012, 17: 478–486
- 84 Wei Z, Gu Y, Friman V P, et al. Initial soil microbiome composition and functioning predetermine future plant health. *Sci Adv*, 2019, 5: eaaw0759
- 85 Foster K R, Bell T. Competition, not cooperation, dominates interactions among culturable microbial species. *Curr Biol*, 2012, 22: 1845–1850
- 86 Kéfi S, Berlow E L, Wieters E A, et al. More than a meal... integrating non-feeding interactions into food webs. *Ecol Lett*, 2012, 15: 291–300
- 87 Hu J, Wei Z, Friman V, et al. Probiotic diversity enhances rhizosphere microbiome function and plant disease suppression. *mBio*, 2016, 7: e01790
- 88 Li M, Wei Z, Wang J, et al. Facilitation promotes invasions in plant-associated microbial communities. *Ecol Lett*, 2019, 22: 149–158
- 89 Hu J, Wei Z, Weidner S, et al. Probiotic *Pseudomonas* communities enhance plant growth and nutrient assimilation via diversity-mediated ecosystem functioning. *Soil Biol Biochem*, 2017, 113: 122–129
- 90 Wang X, Wei Z, Li M, et al. Parasites and competitors suppress bacterial pathogen synergistically due to evolutionary trade-offs. *Evolution*, 2017, 71: 733–746
- 91 Parfrey L W, Walters W A, Knight R. Microbial eukaryotes in the human microbiome: Ecology, evolution, and future directions. *Front Microbiol*, 2011, 2: 153
- 92 Friedman J, Higgins L M, Gore J. Community structure follows simple assembly rules in microbial microcosms. *Nat Ecol Evol*, 2017, 1: 109
- 93 Qu Z P, Chen M X, Cao Z H, et al. Research advances in synthetic microbial communities (in Chinese). *Synth Biol*, 2020, 1: 296–308 [曲泽鹏, 陈沫先, 曹朝辉, 等. 合成微生物群落研究进展. 合成生物学, 2020, 1: 296–308]

Summary for “合成微生物群落的构建与应用”

Design and application of synthetic microbial communities

Moxian Chen¹, Zhong Wei², Liang Tian³, Yang Tan¹, Jiandong Huang^{1,4*} & Lei Dai^{1*}

¹ CAS Key Laboratory of Quantitative Engineering Biology, Shenzhen Institute of Synthetic Biology, Shenzhen Institutes of Advanced Technology, Chinese Academy of Sciences (CAS), Shenzhen 518055, China;

² Jiangsu Collaborative Innovation Center for Solid Organic Waste Resource Utilization, National Engineering Research Center for Organic-based Fertilizers, Jiangsu Provincial Key Lab for Organic Solid Waste Utilization, College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China;

³ Department of Physics, Hong Kong Baptist University, Hong Kong 999077, China;

⁴ School of Biomedical Sciences, Li Ka Shing Faculty of Medicine, the University of Hong Kong, Hong Kong 999077, China

* Corresponding authors, E-mail: jduang@hku.hk; lei.dai@siat.ac.cn

Microorganisms are ubiquitous in our world, and they form different communities between organisms and the surrounding environment. It is estimated that there are more than 10^8 bacteria in a small gram of soil, and there are more than 10^{13} bacteria in the human intestine. It is a complex ecosystem formed under the interaction mechanisms of resource competition, nutrient symbiosis, quorum sensing, and horizontal gene transfer. Among them, the microbial communities in the soil and hydrosphere environment play a key driving role in the global chemical cycle of carbon, nitrogen and other elements. In industrial production, the microbial communities can treat our waste and purify the environment. In the field of human diseases, the microbial community in the human intestine is closely related to the development, metabolism and immunity of the host. Therefore, studying the stability of the composition of the microbial community is of great significance for solving the problems of ecological environment, agricultural production, and human health. With the development of high-throughput sequencing technology, the diversity and stability of microbial communities in different environments have been deeply studied. Although the scientific community has paid more attention to microbial communities in recent years, there are still many difficulties before us effectively use these communities to meet social requirements and environmental challenges. Therefore, it is critical to use new scientific concepts such as synthetic biology to interpret existing scientific problems. Among them, the core cycle of synthetic biology, Design-Build-Test-Learn is expected to promote the perfection and discovery of the basic theory of microbial ecological communities, and promote the research and development of biotechnology lays a theoretical foundation for improving the application of human health, agricultural production and environmental pollution.

The ecology of microbial communities in nature is highly complex, making it challenging to carry out reproducible, controllable perturbation experiments in natural ecosystems. In contrast, synthetic communities constructed in the laboratory using a “bottom-up” approach offer moderate complexity and high controllability, and can serve as a bridge between complex ecosystems and mathematical modeling. By combining synthetic microbial communities, quantitative models and sequencing techniques, we can systematically study interactions between microbial populations and predict the dynamics of microbial communities. In terms of application, research on synthetic microbial communities will provide critical insights for how to control and engineer complex microbial ecosystems, and help solve important problems in human health and agricultural production via the design of stable microbial communities with controllable functions.

In this review article, we mainly focus on the construction methods and theoretical foundations of existing synthetic microbial communities and the potential applications of these communities from two aspects, namely the knowledge of creation and the application of creation. And we also discuss the potential application of synthetic biology methods in this field.

synthetic microbial community, mathematical modeling, high-throughput sequencing, species interaction

doi: [10.1360/TB-2020-0487](https://doi.org/10.1360/TB-2020-0487)