



合成生物学应用于微生物群体感应的研究进展

徐梅婷^{1,2}, 程珂珂¹, 曾艳华¹, 周进^{1*}, 陈国福^{3*}

1. 清华大学深圳国际研究生院, 海洋工程研究院, 深圳 518055;

2. 哈尔滨工业大学, 环境学院, 哈尔滨 150090;

3. 哈尔滨工业大学(威海), 海洋科学与技术学院, 威海 264209

* 联系人, E-mail: zhou.jin@sz.tsinghua.edu.cn; chengguofu@hitwh.edu.cn

收稿日期: 2021-08-23; 接受日期: 2022-03-19; 网络版发表日期: 2022-06-09

国家自然科学基金(批准号: 41976126, 42106096)、广东省基础与应用基础研究项目(批准号: 2020B1515120012)、深圳市科技创新委计划(批准号: RCJC20200714114433069, JCYJ20200109142818589, WZC20200817153116001)和深圳市规划与自然资源局(批准号: 深规划资源[2021]735号-927)资助

摘要 细菌是一种单细胞生物, 在自然环境中具有群体特征与组织化特性. 群体感应信号(quorum sensing, QS)是细菌适应环境变化、调控基因表达和协调群体行为的通讯语言. QS系统广泛存在于各类微生物(细菌、真菌、古菌)并调控多种生理行为, 包括生物发光、生物被膜(biofilm)的形成、毒力因子的产生和共生关系的建立等. 然而, 鉴于自然界中微生物群落结构的多样性和功能的复杂性, QS介导下的调控网络和生态机制依然存在未知领域. 近年来, 合成生物学的蓬勃发展为认识QS效应提供了新的契机. 合成生物学在设计遗传元件库、组装生物装置、设计遗传电路和创建预见性群落行为等方面取得了卓越的研究成果; 该方法也为研究QS在调节微生物群落的组成和功能上提供了重要工具. 鉴于此, 本文尝试对最新的进展作一综述. 首先介绍了QS系统及其主要功能作用和信号传导途径; 其次, 讨论了如何利用合成生物学来设计QS过程信号通路和遗传电路, 并减少感应通路的串扰; 最后, 评估了合成感应系统的方法以及该方法在微生物种内和种间通讯中的表现. 本文旨在梳理合成生物学的先进理念, 加深对基于微生物QS系统构建计算工具、调控种群密度和代谢流等方面的理解, 拓展合成生物学手段操纵QS领域的应用范围.

关键词 群体感应, 合成生物学, 信号通路, 遗传电路, 合成菌群

自然界中细菌与其他微生物, 如真菌、古菌和病毒等, 形成了一个复杂且动态的微型生态系统^[1]. 该系统的每个物种都占据一定的生态位, 共同参与资源竞争和代谢活动, 发挥各自的生理功能并最终构成相对稳定的生态网络^[2]. 群体感应(quorum sensing, QS)是微生物分泌的一类代表性化学感应信号, 负责协调基

因表达、控制细胞密度和调节表观行为等生理过程. 在应对多变的外界环境时(生物和非生物因素), QS起着调节群体行为、响应环境刺激和维持生态平衡的作用.

目前已报道的QS信号分子主要有三类: AI-1型高丝氨酸内酯(acyl homoserine lactone, Acyl-HSL)、AI-2

引用格式: 徐梅婷, 程珂珂, 曾艳华, 等. 合成生物学应用于微生物群体感应的研究进展. 中国科学: 生命科学, 2023, 53: 64–81

Xu M T, Cheng K K, Zeng Y H, et al. Research advance in the application of synthetic biology methods in microbial quorum sensing (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2023, 53: 64–81, doi: [10.1360/SSV-2021-0167](https://doi.org/10.1360/SSV-2021-0167)

型自诱导物-2(autoinducer-2)和寡肽类分子(autoinducing peptides, AIP). 信号交流的过程通常是细胞外和细胞内多种信号的整合^[3], 当信号物质浓度达到临界阈值时被细胞所感知, 激活或抑制下游目标基因^[4-6]引发相应的生理反应, 如分泌毒力因子、形成生物被膜(biofilm)、启动群集运动及刺激生物发光等^[7,8]. 该机制广泛存在于各种微生物, 目前已经明确鉴定的有超过100种细菌可以通过QS调节基因的表达; 以模式菌株铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)为例, 其整个基因组超过6%的基因受QS信号调控^[9]. 早期的QS研究主要针对实验室条件下纯培养的单个菌株^[10,11], 通过对QS的促进或抑制来实现一些目的, 其中对前者的应用主要是增加微生物代谢产物的产量(如酶类、蛋白、工农业化合物等), 对后者的应用集中于抑制有害菌的数量或繁殖(如病原菌、生物污损、牙斑垢等). 然而, 单一菌种培养物存在产物不纯、功能障碍以及调控不精准等问题. 例如, 利用纯培养技术生产二元醇时, 会出现培养物成分复杂, 而难以分离纯化出目标产物^[12]; 由单菌发酵获得的生物活性酶, 当经历异源蛋白过表达导致的代谢紊乱后, 其活性功能会严重受阻^[13]. 此外, 面对动态而复杂的自然环境, 传统的QS应用手段面临着效应剂量、生态安全、操控效率等巨大挑战. 为了弥补上述不足, 一些新型手段相继出现, 其中自诱导系统的合成是最早应用的方法之一, 它借助于自诱导培养基及其底物, 诱导目标菌相关酶的过量表达, 无需加入额外的诱导剂, 就能实现高通量筛选多种培养物的目的, 获得目标产物的高产能力^[14], 这也被视为合成生物学的雏形.

合成生物学是一门致力于从零开始重塑生物基因组的学科. 与基因工程的序列修饰、植入、基因缺失、重组以及碱基移植的做法不同, 合成生物学的目的在于建立人为可控的底盘系统, 让它们像电路一样运行. 其核心是从最基本的要素开始, 通过零部件的构建和组合来改造自然生命^[15]. 简单地说, 合成生物学研究内容大体涵盖三个层次: 一是利用已知功能的天然生物模块(module)构建新型调控网络并展现出新功能^[16]; 二是采用从头合成的方法构建基因组DNA并重构生命体; 三是在前两个领域的基础上, 创建完整的全新生物系统乃至人工生命体^[17]. 合成生物学和系统生物学有相似的逻辑关系, 可以看作是后者在技术层面上的拓展, 因此也称其为“工程生物学”^[18], 有人

预言合成生物学将是21世纪新一轮的工业革命^[19,20].

在QS领域, 合成生物学能利用DNA从头合成的特性和不依赖于现有自然模板的优势, 对QS系统的行为和过程进行特定功能的元件构造、遗传电路合成和菌群搭建. 组装基于QS的合成电路系统, 进而实现调控菌群的群体功能, 这一策略不仅为揭示QS机制提供了有效手段, 而且有望通过操控QS系统达到特定目标. 前期针对改造QS系统来调控菌群行为进行过一些尝试. 例如, 在两株大肠杆菌(*Escherichia coli*)间建立QS双向通讯, 通过调控细胞自杀基因的表达水平来模拟微生物之间的捕食或寄生关系^[21]; 利用QS分子-球菌肽(nisin)的模块化模拟乳酸球菌(*Lactococcus lactis*)的相互作用模式^[22]. 近年来, 随着合成生物学的高速发展, 该技术在QS领域的应用也飞速进步.

近年来, 许多学者对不同种模式细菌的QS元件作了详细的总结和论述, 包括QS信号分子、基因表达通路和QS通讯网络^[6,23]; 也有学者重点关注微生物群落的QS在环境中的作用, 讨论人为和环境因素对QS调节过程的影响^[24], 及QS调节和响应机制^[10]. 此外, 还有文献重点强调了如何拓展和延伸QS的研究和应用领域^[9]. 但合成生物学手段应用于群感系统的总结还不多见. 事实上, QS系统具有很强的可塑潜力, 这使得它成为生物工程或分子编辑技术的理想靶标. 为此, 本文以近十年的文献为重点, 尝试总结合成生物学用于QS研究的一些重要策略, 包括正向调控、负向调控、种内通讯和种间通讯等, 并对合成生物学构建和调控菌群的应用研究进行归纳, 旨在更深入地明晰合成生物学的鲁棒性并拓展其应用领域的范围.

1 微生物的QS通讯系统

QS信号始于对海洋乌贼共生微生物费氏弧菌(*Vibrio fischeri*)的研究^[25], 该菌的生物发光依赖LuxI/LuxR感应元件对信号分子的响应^[26]. Neelson等人^[27]鉴定出这类信号分子为酰基高丝氨酸内酯(acylated homoserine lactone, AHL), 一种由LuxI家族合成酶催化合成的自诱导剂(autoinducer, AI). 当AHL分子浓度达到阈值时会结合细菌表面或细胞质的受体, 进入细菌体内与LuxR的调控因子结合, 形成LuxI/LuxR复合系统, 作为分泌AHL信号分子的供体和受体^[28](图1C).

LuxI/LuxR编码的AHL分子是最经典和最广泛存

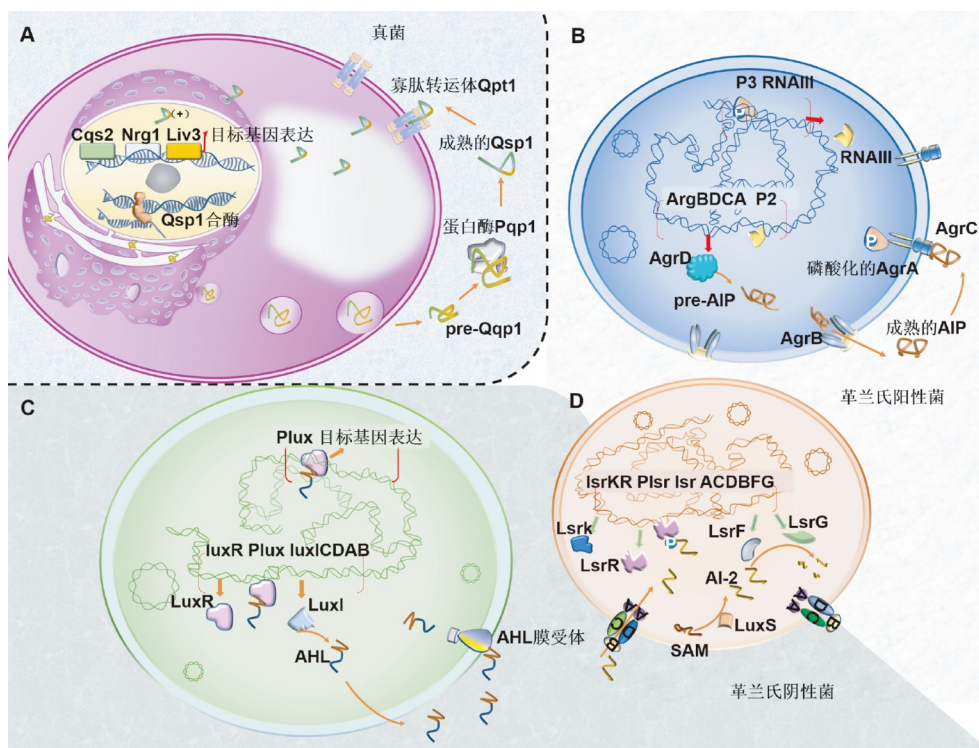


图1 微生物主要的群体感应系统。A: 真菌的寡肽Qsp1 QS系统; B: 革兰氏阳性菌的AIP信号分子介导的AI-1型QS系统; C: 革兰氏阴性菌的AHL信号分子介导的AI-1型QS系统; D: 革兰氏阳性和阴性细菌共有的AI-2型QS系统

Figure 1 Major quorum sensing systems in microorganisms. A: Qsp1-based QS system in fungi; B: AIP-based AI-1 QS system in Gram-positive bacteria; C: AHL-based AI-1 QS system in Gram-negative bacteria; D: AI-2-based QS system both in Gram-positive and Gram-negative bacteria

在的QS物质,也是介导革兰氏阴性菌QS系统主要的自诱导物^[29],如铜绿假单胞菌、耶尔森氏菌(*Yersinia* spp.),大肠杆菌*E. coli*和洋葱伯克霍尔德菌(*Burkholderia cepacia*)等。细菌的QS系统并非单一的信号通路,而是有组织的复杂集合。截至目前,在铜绿假单胞菌中报道了三种不同属性的QS分子系统,即LuxI/LuxR, Las和Rhl通路,分别编码酰基高丝氨酸内酯、3-氧十二烷酰高丝氨酸内酯(3-oxo-C12-HSL)和正丁醇基高丝氨酸内酯(C4-HSL)^[30]。此外,一些革兰氏阴性菌也被发现能利用扩散信号因子(diffusible signaling factors, DSF)进行交流^[31~33]。

与革兰氏阴性菌不同,革兰氏阳性菌既不合成AHL,也不受LuxI-LuxR系统的控制,而是由膜表面传感器和细胞内反应调节其组成的双组分信号转导系统(two-component system, TCS)所调控。如图1B所示,革兰氏阳性菌通过分泌自诱导肽,并与膜上组氨酸激酶AgrC受体结合,在AgrA调节蛋白的作用下激活P2/P3启动子产生RNAIII,促使AgrD酶合成自诱导肽AIP,

从而控制基因表达^[34]。

AHL和AIP是AI-1型系统的典型代表,分属于革兰氏阴性和阳性细菌,目前AI-1型多集中于种内的信息通讯。对于种间通讯,AI-2较为常见^[35,36],该系统同时存在于两类细菌。大肠杆菌、弧菌(*Vibrio*)以及伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhimurium*)的基因组都含有编码AI-2型的LuxS酶序列,这些细菌的LuxS酶能催化S-核糖同型半胱氨酸(S-ribosyl-homocysteine, SRH)和S-腺苷甲硫氨酸(S-adenosyl-methionine, SAM)(一种AHL的合成前体)发生裂解,产物经重排和修饰后形成AI-2,并与细菌表面受体LuxP/LsrB结合引发信号转导的级联反应^[37,38]。以大肠杆菌为例,胞内的AI-2经LsrK激酶磷酸化后,与LsrR结合并激活双向Lsr启动子,使LsrACDB和LsrK过表达,加速细胞对胞外AI-2信号分子的结合与感应(图1D)。除了上述常见的AI-1和AI-2型信号分子,Hossain和Boon^[39]还发现了一种新的信号通路,即一氧化氮(NO)结合蛋白(NO/NosP),这一通路主要见于铜绿假单胞菌,其通过对低水平的NO产生

应答来调节菌群行为。

与原核生物(细菌)常见的信号分子相比,真核生物(真菌)的QS信号在21世纪初才被发现^[40]——最先在白色念珠菌(*Candida albicans*)中发现一种调节种内通讯的信号分子,即金合欢醇(farnesol),它能控制白色念珠菌丝状体的形成,使其在酵母和菌丝两种形态间相互转换。Leonhardt等人^[41]探究了白色念珠菌的侵袭机制,发现金合欢醇介导了白色念珠菌与宿主细胞的交流,并作为毒力因子活化人体先天免疫细胞来增加炎症反应。此外,已鉴定的真菌QS信号分子还有金合欢酸(farnesoic)、对羟苯基乙醇(tyrosol)、苯乙醇(phenylethanol)和 β -吲哚乙醇(tryptophol)^[40]。对于合成机制的解析,目前研究相对清楚的是新生隐球菌(*Cryptococcus neoformans*)。该菌拥有寡肽Qsp1通路,被认为是真正意义上的真菌QS系统^[42](图1A)。Qsp1信号分子介导的QS过程,包括前肽Qsp1的合成、蛋白酶Pqp1的裂解以及Qsp1分子的成熟,组装完整的信号分子经寡肽转运体Opt1再次进入细胞,启动级联反应并触发信号转导。目前的研究发现,酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)、荚膜组织胞浆菌(*Histoplasma capsulatum*)和粗糙链孢菌(*Neurospora crassa*)的微摩尔级的信号分子就能发生级联反应,且介导的代谢途径具有种属差异。

鉴于QS信号在微生物中的重要性,人们已通过它揭示了多样的生物学机制,包括毒力因子的产生、微生物被膜的形成、好氧活性污泥的形成机理、共生关系和协同进化的建立等^[43]。同时也获得了多方面的应

用,包括驯化QS菌群处理工业废水,使用QS抑制剂防治海洋污染,开发细菌生物被膜抑制物用于限制病原体感染扩散等^[44]。这些都表明QS具有广泛的应用前景,且对其深入的挖掘和拓展仍在不断更新中。在此背景下一些新的技术相继涌现,如合成生物学。该技术作为一种新兴方式,近年来在QS领域展现出强劲活力,并取得了一些革命性成果。概括来讲,合成生物学用于QS的策略(图2)旨在围绕其核心“设计-构建-测试-学习”的方法,主要有正向/逆向调控、种内调节(逻辑门)/种间调节(振荡调节、生物传感器和数学建模)^[45,46]及微生物之间的互作网络与功能预测的输入/输出等。

2 合成生物学研究QS系统的理论策略

2.1 合成QS信号通路和基因电路(正向调控)

感应元件的构建是确保感应过程的前提,理论上讲,不同的QS调控元件能构成逻辑线路,调控菌群的感应过程。这使得合成生物学可针对性地设计和修饰QS元件,实现基于密度调控的遗传电路和细胞间通讯。

在进行基于合成生物学的QS研究前,可以根据细胞代谢途径构建数学模型,确定聚焦的细胞表型与反应机制;随后利用细菌中的双组分调节系统(two-component regulatory systems, TCRS)组装遗传电路^[47,48]。借助逆启动子和TCRSs的耦合传感,实现合成生物学对基因表达的调控,从而对某些通路和遗传电路进行优化。最初,恶臭假单胞菌(*Pseudomonas putida*)合成



图2 合成生物学用于QS的策略

Figure 2 Strategies of synthetic biology application for quorum sensing

遗传电路的建立, 开启了合成生物学设计QS细胞特定基因表达元件的先河, 创造了新的调控方式, 目前该编辑方法已广泛应用于污染物的降解^[49]。随后, Hauk等人^[50]开发了基于大肠杆菌AI-2型QS的同源合成遗传电路, 用于调节人源巨噬细胞刺激因子的表达, 实现了对外源和内源基因的同步控制。Hwang等人^[21]针对铜绿假单胞菌产生的AHL信号分子, 设计了一种新的合成遗传电路, 使工程型大肠杆菌获得了可以靶向捕捉和杀死铜绿假单胞菌的能力。自诱导物AI的合成是正向调控的典型代表, 因为它属于遗传电路中的输入信号, 且具有在液体介质或细胞表面自由扩散的能力。

除了合成自诱导元件, 建构理想的合成共培养物也是正向调控的方式之一。Malone等人^[51]合成了达到流式细胞生物膜实验要求的共培养物——AIP信号分子, 其可控制金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)的Agr信号通路活性, 揭示了Agr系统对生物膜的扩散能力^[52]。Marchand和Collins^[53]根据Agr类信号系统的原理, 借助共培养技术分离得到了感应AIP信号的细胞, 建立了革兰氏阳性菌巨型芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*)种内感应信号通路^[54]。这些例证表明, 合成生物学在设计、模拟和编辑QS信号过程中有从上往下的调控潜力。

2.2 减少感应通路的串扰和扩展正交通路(负向调控)

与源头开始的正向调控不同, 负向调控主要是解决下游途径过程中的障碍, 如减少QS的过程串扰。合成生物学在开发多个通路和设计多细胞系统时, 往往会受到不可预见的QS系统串扰的影响, 而系统内部信号、启动子及两者之间存在的不同程度的串扰也会造成通路和系统功能的丧失^[55], 这就限制了QS成分在合成电路和合成菌群中的广泛使用。常用于合成遗传电路的AHL信号通路, 包括Lux, Las和Rhl系统, 它们之间均表现出一定的串扰现象。此外, OdDHL和HSL这两种信号都能结合LuxR, 且均能驱动对应启动子的转录和表达, 信号和启动子串扰的同时发生增加了合成生物学的设计难度和操控难度。

基于自然界中串扰的客观存在, Wu等人^[56]首先利用实验证实了这一点。他们将合成生物学和数学建模相结合, 研究了LuxI和LasR在单应变系统中的相互作用, 证实了细菌QS系统本身就存在LuxI和LasR之间低

水平的串扰, 观察到了QS串扰产生的复杂行为。为此, 如何有效地减少感应通路的串扰问题就显得非常重要。Brenner等人^[57]首次建立了大肠杆菌双向细胞间的通讯网络, 有效减缓了串扰的发生; 随后Pai等人^[58]利用铜绿假单胞菌的LasRI和RhlRI系统在两个种群间进行双向通讯, 进一步降低了系统之间的串扰等级, 最大限度地保持了种群的一致感应。

除了规避串扰, 提升应对复杂环境变化的能力也是需要考虑的问题, 这一目标的实现通常需要多个信号通路的组合。其中, 正交QS通路是最关键的一环, 通路的正交性体现在对合成电路表达的宿主细胞具有特异性且独立调控的基础上^[59], 它是实现对活细胞信号做出反应的工具, 也使混种培养中细胞自主代谢调控成为可能。正交QS通路最常用的方式是肽信号, 它在具备高信息含量的同时也有效地规避了串扰的产生。大肠杆菌和巨型芽孢杆菌正交合成通信系统的开发, 是基于金黄色葡萄球菌Agr QS系统的AIP肽类信号进行的^[53], 这种正交设计提升了应对复杂环境的能力, 同时也避免了串扰的发生。此外, Scott和Hasty^[60]通过修饰Rra和Tra的启动子和受体蛋白, 消除了两个通路之间的信号和启动子的干扰, 将其与已经得到广泛应用的lux和las进行组合, 实现了系统中各条通路的正交搭配, 可用于更复杂菌群功能的调控, 还可在此基础上诱导出新的正交系统。

不同物种间QS正交通路的开发, 有助于增加合成群落中物种的数量。Kylilis等人^[61]分析了6种酰基高丝氨酸内酯的正交性, 结果表明, 该方法能有效地对多种细菌的基因表达进行调控。此外, 沼泽红假单胞菌(*Rhodopseudomonas palustris*)产生的QS分子与大多数细菌的QS系统, 包括Lux, Las, Tra, Rhl和Cin通讯途径都具有正交性, 这为扩大正交分子建立新的合成通路提供了理论依据^[62]。Martins等人^[63]利用正交的QS分子建立了3个种群之间的通信, 建模实验验证了合成正交通路的可行性。合成生物学设计QS系统主要是依赖于信号分子, 而信号分子在时间和空间上具有自组织特性, 往往不受人工控制。为了解决这一问题, 将外源诱导剂与QS通路结合, 可帮助在单细胞水平和种群水平实现精准协调^[62]。总之, 诱导QS系统可将更多物种和正交通路进行优化, 编码特定基因, 使人工设计的多细胞系统得到更远程的控制和更广泛的应用。

2.3 分子通讯评估合成感应电路的性能

QS是细菌通讯的一种形式,合成生物学利用这一组合的元件构建了许多典型的基因电路,包括基于QS的周期振荡器、触发开关和逻辑门.随着新的基因电路的不断增加,扩展了更多复杂的合成QS菌群和通讯网络,但这些合成感应电路的可靠性需要仔细评估.在众多的评价参数中,信道容量是评价所有通信系统性能的一项重要指标,它是指在特定情况下系统所能输入和输出的最大信息量.一种基于细菌的分子通讯方法——双端模型,通过分析由3个菌群构成的合成逻辑电路的质量和信道容量,对合成感应电路的性能进行了有效评估^[63].该模型是一个集成的合成电路,由上级通路完成产生的信号激发下级通路的运行,该模型借助纳米级的膜,在水环境中只允许两个输出端的信号分子通过,这样就能使不同信号结合的多种细菌并行结合特定的信号^[63].合成通信系统的质量决定了QS过程的发展方向和感应电路的性能.在细菌的合成逻辑门中,系统接收环境信号作为分子输入,通过一系列合成遗传电路和自由扩散的通道作为分子输出^[62,64].在这一过程,环境分子信号的延迟、分子振幅的差异都会改变电路的精度、召回率及假阳性率,进而影响合成感应电路的性能和质量^[63].除了信道容量,其他参数,如拨动开关、逻辑门等也经常用于表征通信系统性能的指标^[63,65].

3 合成生物学针对QS的种内通讯调控线路

细菌的QS系统主要分为种内通讯和种间通讯两大类,目前对于种内通讯的研究主要集中在生物被膜形成、QS猝灭以及环境监测等方面,在构建计算工具、调控种群密度和调节代谢流等方面也有部分涉及.近年来,合成生物学针对上述过程取得的重要进展,主要包括拨动开关、生物传感器和逻辑门等(图2).

3.1 拨动开关

生物工程的主要目的是利用多基因重组技术来提高目标产物的产量,传统方式主要是基因敲除和过表达,但这两种方式可能会损害菌体的生长状况^[66,67].拨动开关是解决这一问题的有力工具,它可以实现特

定基因的适时激活和关闭,可用于合成基因线路中提高目标产物的产量^[68].最典型的例子是Gu等人^[69]构建的*aroK*拨动开关,它可以精准控制大肠杆菌莽草酸酯合成途径中蛋白活性和关键酶的表达,减少不必要的能量消耗,最终使野生型大肠杆菌分泌莽草酸产量高达13.15 g/L,成功构建了基于拨动开关的营养缺陷型合成莽草酸盐的大肠杆菌工程菌株.在此基础上,近年来通过拨动开关与QS系统相结合,构建了诸多新的基因线路来实现细菌群体的种内通讯以实现特定的目的.Swofford等人^[70]构建了*lux* QS系统和绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)报告基因耦合开关,并将其整合到非致病性沙门氏菌中,通过对小鼠体内的定位发现新构建的开关能作为一种生物标记(bio-marker)对肿瘤进行靶向治疗.Soma和Hanai^[71]在大肠杆菌中构建了一个捆绑*lux*系统和代谢拨动开关(metabolic toggle switch)调节器,利用该调节器可实现代谢流从三羧酸循环到异丙醇生产的重新定向,大幅提高了异丙醇的产量.此外,Gupta等人^[72]设计了依托QS机制的*pfk-1*基因(参与糖酵解),可根据发酵时间和细胞密度来确定基因开启的最佳点.当AHL不存在时以合成葡萄糖为主,当AHL积累到一定阈值后会关闭*pfk-1*基因的表达,启动肌醇(myoinositol, MI)的产生.

近年来,随着研究的深入,拨动开关的应用已从单一代谢路径进入到了多重动态途径.其中,Doong等人^[73]的研究最具代表性.他们构建了涉及两个动态调控的机制,这种机制可实现分层调控,独立调节两种不同酶的表达,从而提高D-葡萄糖醛酸的产量.在这种开关的调解下,可实现细胞“生长模式”与“生产模式”的切换;相应的,其下游产物(MI和D-葡萄糖醛酸)也可以得到相应控制.此外,多重调控开关也在Cui等人^[74]的研究中得到了进一步展示.他们构建了基于两个天然启动子即*PabrB*和*PspoiA*的双功能模块化系统.通过改变启动子结合位点、数目和序列,构建了一个具有上调和下调能力的启动子库.然后,将双功能模块化系统运用到枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)中进行甲萘醌-7(menaquinone-7)的生产,通过该动态途径调控后甲萘醌-7的产量提高了近40倍.此外,有研究表明,相比传统的*luxI-luxR*系统而言,加工的*esaI-esaR*系统能针对不同启动子同时起到激活或抑制作用,更好地实现代谢的重分流效果^[75,76].以上研究均将QS系统与代谢拨动开关相结合,在达到细胞密度阈值后激活

合成线路, 从而实现种内细胞自诱导代谢状态的转变。

3.2 生物传感器

与拨动开关类似, 生物传感器是另一种作为调节的元件应用于合成生物学研究QS系统的方式^[77]。最早的生物传感器是核糖开关, 一种适体结构域和表达结构域的组合, 可以通过感应底物浓度来实现对基因表达的动态调节^[78]。Pang等人^[79]开发了一种N-乙酰神经氨酸(NeuAc)核糖开关, 利用该调节器可对一些途径和关键酶进行优化, 如提高NeuAc的产量。随后, Raut等人^[80]优化了基于哈维氏弧菌(*V. harveyi*)BB170菌株的AI-2型全细胞传感系统。当AI-2进入细胞后会与LuxP结合, 进而启动LuxCDABE的转录, 促进荧光素酶及其底物的表达, 最终导致生物发光。目前该系统可为炎症性肠病早期的诊断提供便捷方法。Wen等人^[81]构建了一种在无细胞蛋白表达系统中的模块化DNA编码传感器, 它可以在纳摩尔水平上定量检测痰样品中的QS信号分子3-oxo-C12-HSL, 提高囊性纤维化疾病的诊断速度。此外, 光生物传感器与基于蛋白酶的动态双调控开关应用于大肠杆菌工业化生产, 其中光生物传感器将核酸介导的信号放大, 得到基因表达量所对应的大肠杆菌密度范围, 加上位点特异性DNA重组酶和细胞裂解酶建立起的两个独立系统, 对信号结果做出反馈。这一策略解决了大肠杆菌在细胞工厂中存在的合成效率低的问题, 通过调节大肠杆菌细胞的C/D周期, 改变细胞的比表面积和细胞体积, 进而调控不同产物的生产强度和耐受性, 实现代谢流的精准分配^[81]。

除了医学诊断和细胞代谢工程, 生物传感器在生态环保方面也提供了有力的帮助, 如汞污染。Cai等人^[82]利用QS的正反馈系统与汞特异性操纵子MerR, 构建了一种依赖Hg²⁺离子的可调MerR蛋白, 并在此基础上组装构建了对汞特异性的生物传感器。通过含MerR蛋白的汞特异性操纵子来控制LuxI的表达, 形成的LuxI-AHL复合物具备依次激活Prlux并表达RFP的能力。将该方法拟合到经典的Hill方程, 研发出超灵敏的汞污染检测探针。此外, Thapa等人^[83]利用光信号转换为电信号的原理, 研发了基于QS机制的Lux操纵子来调控发光过程, 从而实现对环境中重金属的定性和定量检测, 如钡元素。此外, 面对当前日本福岛核废水的排放风险, 构建基于合成生物学的QS传感器

(用于核辐射元素的超敏检测)抑或是一种备选方法(戴磊, 中国科学院深圳先进技术研究院, 2021, 个人交流)。

3.3 逻辑门

逻辑门又称数字逻辑电路基本单元, 执行“或”“与”“非”“或非”“与非”等逻辑运算。早在2002年就有研究者构建了一种通过外源添加信号分子启动线路响应的“与门(AND)”系统^[84]。在该逻辑门中, 以外源添加异丙基硫代半乳糖苷(β -D-thiogalactopyranoside, IPTG)和2-氨基-2-噻唑啉-4-羧酸(2-amino-2-thiazoline-4-carboxylic acid, ATC)作为诱导剂输入, 同时响应后以激活GFP的表达作为输出。之后有更多的研究者致力于在微生物中将lux, las和rhl等QS系统与基因线路相结合, 构建基于QS系统的各种“与门”, 以期在群体水平上更好地协调细胞行为, 进而促进在生物医学和环境治理方面的应用。He等人^[85]最先利用“与门”, 他们将QS与压力感受系统结合形成逻辑门, 确保细胞的种群密度和压力感受系统处在最佳的生长状态, 并在细胞生长到达平台期时自动转入生产状态。随后, Hu等人^[86]在奥奈达希瓦菌(*Shewanella oneidensis*)mtrA基因敲除突变株中构建了一个基于lux QS模块的与门系统, 实现了逻辑门在微生物燃料电池中的应用。

近年来, He等人^[85]设计了一个自诱导的逻辑门调控系统, 该系统可同时感应细胞浓度和生理状态。在此过程中, 首先进行luxR的随机突变和luxRI启动子的优化, 获得可感应不同细胞浓度的可变QS系统; 随后检测细胞的荧光强度, 选择对应的稳定期感应元件; 最后构建新的聚- β -羟丁酸(poly- β -hydroxybutyrate, PHB)增产系统(可提高产量两倍以上)。在过去的10年中, 基于合成生物学背景设计的逻辑门通过与一些生物控制线路相结合, 在食品医药和环境治理方面取得了较多的成果, 为防控病原、克服耐药性提供了有益的借鉴, 同时也促进了微生物学与遗传学、生态学等其他学科交叉发展。

4 合成生物学针对QS的种间通讯调控线路

细菌在自然界中并非独立存在, 它们之间相互影响, 不论是在大气、海洋、土壤中, 还是在生物体内, 既存在依附关系, 也存在竞争关系。微生物多以混居共

生的方式生存在一起,彼此之间形成复杂的种群交互。因此,细菌除了种内交流,也通过种间交流的方式来启动特定基因的表达,从而控制整个群落的状态,提高整个群体的生存能力^[87]。合成生物学在种间调控中的行为主要包括:密度控制、振荡子和微生物的共培养等(图2)。

4.1 密度控制

微生物生长环境中的营养物通常有限,而且相对拥挤的环境也不利于微生物的生长^[88,89]。因此,调控种群生物量对于提高产物得率具有重要意义。Wang等人^[90]通过将糖酵解途径、戊糖磷酸途径和“双歧分流”相结合,在大肠杆菌中构建了一个EPbifido途径。将该途径应用于PHB、甲羟戊酸和脂肪酸的生产,可以很好地降低二氧化碳排放量并提高产物的摩尔转化率。Patidar等人^[91]以扁藻(*Tetraselmis striata*)和橄榄菌(*Pelagibaca bermudensis*)为研究对象,采用阶段共培养模式评估了不同胁迫条件下生物燃料的生产情况。结果表明,橄榄菌及其代谢物可以与扁藻相互促进,从而提高脂质产量,其主要原理是HHQ和PQS增加了橄榄菌的细胞丰度,在生物表面形成生物膜,放大了互惠互利的共生效应。此外,Chen等人^[92]使用两种不同的QS系统构建了“激活”和“阻遏”菌株,其中“激活”菌株(*rhl*系统)在*rhl*-AHL信号分子存在下可激活两种菌株中目标基因的转录,而“阻遏”菌株(*cin*系统)在*cin*-AHL信号分子存在下通过表达阻遏物*LacI*降低两种菌株中靶基因的转录。这种双QS系统构建的共培养体系具有很强的适应性,可成功地实现种群密度的动态调控。

另外,在种群之间调控机制的解析上,一些生态学家尝试通过构建一些小型的合成生态系统来进行探索。Scott等人^[93]利用*lux*和*rpa*系统设计了以鼠伤寒沙门氏杆菌两个菌株同步裂解为动态调控核心的共培养系统。在该系统中,两个菌株分别携带*lux*和*rpa*系统,并表达对应的信号分子*lux*-AHL和*rpa*-AHL;随着共培养菌株密度的增长,当两个菌株中各自的AHL分子浓度达到一定的阈值时,将分别激活对应的启动子并促使细胞裂解蛋白X174的表达,造成菌株裂解,以达到调控种群密度的目的。Stephens等人^[94]基于AI-2的诱导特性,在大肠杆菌中构建了一种新型的双菌,即铜绿假单胞菌共培养系统,并成功实现种群密度比例的动态调控以及预测。该系统首先构建了一个能感应AI-

2并能将其转化为正交QS信号AI-1的菌株;产生的AI-1信号可自由扩散进入第二菌株,并激活PtsH蛋白表达,借助葡萄糖转运促进细胞生长,通过动态控制第二菌株的生长速率来达到调节菌群比例的目的。

4.2 振荡子

在基因调控网络中存在少量具有全局性行为的调控因子,它们能够调控多种代谢活动,如种群生物量^[95]、激素分泌和昼夜节律等^[96,97],这与基因的振荡性有关,所以构建合成基因振荡器成为合成调控研究的方向之一。Prindle等人^[98]将信号强却仅适用短程传输的QS系统与信号弱却适用远程传输的氧化还原信号系统相结合,利用过氧化氢气体的快速传播能力,实现了更大范围群体的同步周期性行为,并提高了生活史的周期性精度。基于新的系统,该团队还开发了一种砷元素感受器,能精准地反应环境中砷的浓度,并由上百个小菌落组成的阵列通过不同的振荡频率表现出来^[98]。Chen等人^[92]通过整合两套QS体系,构建了由激活型菌与抑制型菌组成的混合菌群,使两个不同基因组成的细菌群体在基因表达上产生相互依赖的同步振荡。此外,Prindle等人^[98]通过整合振荡器、群体间的气相氧化还原信号和*lux*系统,在不同的菌落间形成耦合的遗传“生物混合体”。当不含亚砷酸盐时,ArsR会抑制*luxR*的表达,从而无荧光和振荡的产生。但当亚砷酸盐含量足够时,这种抑制作用会被解除,LuxR-AHL复合物将会促进荧光基因的表达和产生振荡,最终实现数千个振荡群体在厘米尺度上的同步。这些研究表明,QS系统和振荡子模型相结合在调控微生物联合体同步性方面具有很大潜力,有利于代谢工程的实际应用,特别是开发和优化高价值代谢产物的生产途径。

4.3 微生物的共培养

合成生物学和代谢工程元件的不断更新为构建更加复杂和高效的微生物合成系统提供了有利基础,但可能会受到单个细胞中可用资源和环境的限制。为了解决这一问题,研究人员提出了共培养发酵策略(图3),即通过对亚群之间的物质进行协调分配来克服这种限制^[99]。在变形杆菌(*Proteus* spp.)中可以利用QS来调控公共物质(public goods)(图3A),如抗菌剂和蛋白酶的生产,这些公共产品可以在一个微生物群落中实现共享。Evans等人^[100]构建了一个实验室模型以研究群体

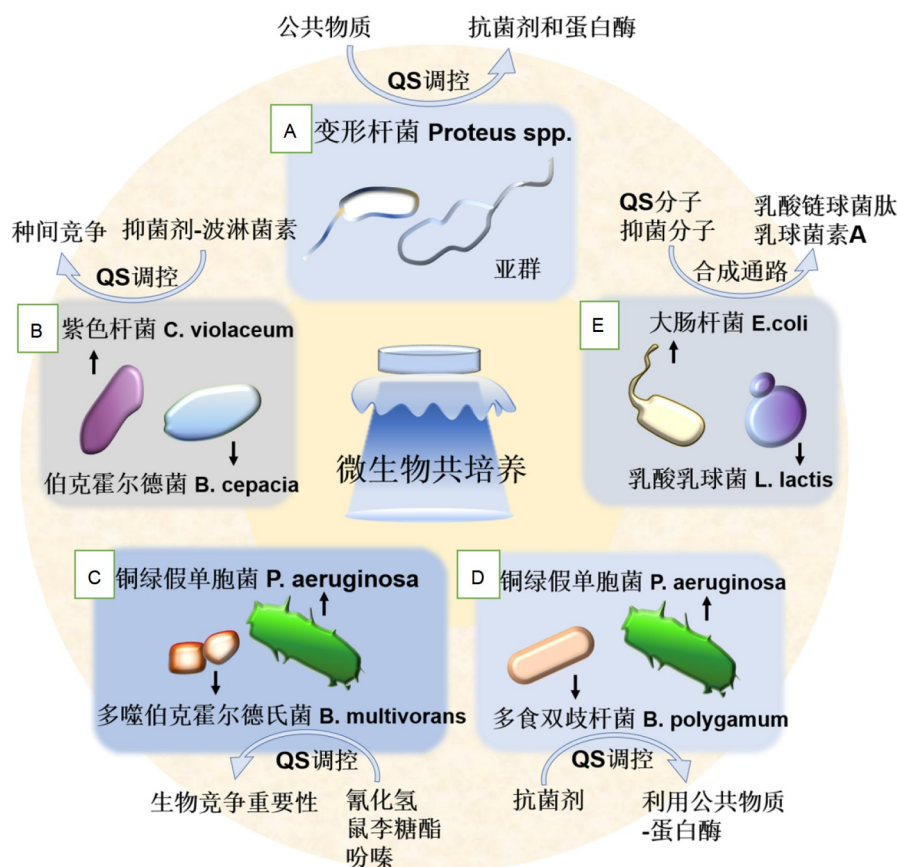


图3 基于QS系统的共培养发酵策略

Figure 3 Strategies of coculture fermentation based on the quorum sensing system

调控抗菌剂在种间竞争中的重要性。在该模型中,伯克霍尔德菌和紫色杆菌(*Chromobacterium violaceum*)均使用QS来抑制其他物质的合成(图3B)。该研究还证明,在共培养模型中,由伯克霍尔德菌产生的波林菌素(bactobolin)抗生素抑制了紫色杆菌QS缺陷突变体的出现,而抗菌剂生产合作者的增加使得紫色杆菌种群变得更具竞争力,即物种间的竞争可以通过限制有QS缺陷的突变体来加强合作行为。此外,铜绿假单胞菌QS系统参与调控多种公共产品的生产,可以作为研究微生物合作的理想模型。Smalley等人^[101]对铜绿假单胞菌和多噬伯克霍尔德氏菌(*Burkholderia multivorans*)进行共培养,研究了3种铜绿假单胞菌QS系统调控的抗菌剂氰化氢、鼠李糖酯和吩嗪在生物竞争中的重要性(图3C)。研究发现,铜绿假单胞菌和多食双歧杆菌(*Bifidobacterium polygamum*)共培养时,铜绿假单胞菌占优势,这3种抗菌剂会共同促进铜绿假单胞菌的竞

争力(图3D)。在这一共培养系统中,两种细菌都需要铜绿假单胞菌所生产的公共物质-蛋白酶促进生长,因此QS调控的抗菌剂对于铜绿假单胞菌很重要,可以防止多食双歧杆菌对公共产品蛋白酶的利用。此外,Kong等人^[102]利用乳酸乳球菌的QS分子和抑菌分子,即乳酸链球菌肽和乳球菌素A的合成通路,对已有信号通路进行重新设计,在两种菌(乳酸乳球菌和大肠杆菌)之间成功构建出共培养关系,并开发出可长期存在的异种微生物群体(图3E)。

5 合成生物学基因电路的鲁棒性

合成菌群是基于基因电路的设计策略而构建的,菌群的规模取决于微生物之间的互作,动力学和稳定性的特征,以及不同时间和空间的微生物群落的稳态协调等^[103],这需要很强的鲁棒性。基因线路在合成之

后, 其鲁棒性是后期实验中重点考察的指标, 它决定了未来在合成基因线路和网络功能表达的精准性和长期性, 这对设计和构建基因电路的原则和计算具有严格要求。

细胞之间的竞争、拮抗和共生的关系, 受外界各种波动因素的影响, 这使得种群一直处于动态变化之中。随着时间、空间的推移和变换, 不同生态位的细菌种群发生基因组进化和水平基因转移的概率升高^[104]。合成基因电路中的工程基因易产生变异, 因而在短时间内电路失去其特定的功能, 表现出一种“功能正常”的假象, 通过继续利用体系中的底物而产生非理想化的表型^[105,106]。因此, 基因电路的鲁棒性和稳定性是合成菌群必须考虑的参数, 并在整个合成菌群的生命周期对其进行测试。有学者在延长基因电路的鲁棒性和稳定性方面, 提出了降低宿主细胞的突变率和避免易突变设计的策略, 并强调了宿主细胞电路元件的鲁棒性策略^[106]。

目前, 对于已知的QS串扰和干扰, 电路的鲁棒性源自两方面。一方面, 由于合成群落的细胞平均分担来自输入端的化学信号, 当接收到变化的信号时可有效地离散化, 错误电路因此终止, 减少细胞突变的影响; 另外一方面, 电路发生到被检测到, 存在时间上的延迟, 借助遗传编程的逻辑门和化学线路的细胞鲁棒性对其进行计算, 不仅可以提高种群对电路各级反应的响应, 也增强系统对出错和抗干扰影响的能力^[67]。化学信号结合这种细胞间的离散化, 是合成生物学电路设计的一种方法和原则, 旨在克服各级层电路触发的随机性, 而时间和空间上的协调, 则需对遗传程序的设计, 对实现遗传表达时间的异步计算, 这种计算操作有助于设计和构建具有鲁棒性和稳定性的基因电路^[107]。然而, 由于自然界中微生物存在混杂的QS串扰及其影响, 这在计算和测试中不易被预知, 串扰对基因的调控和细胞表型会产生什么影响, 也会带给设计电路一些无法规避的知识盲区。因此, 未来的研究中需要各学科的交叉和融合, 以开发更多新的策略用于深入研究。

6 合成生物学调控QS的应用

基于目前对细菌QS系统机制的认识, 合成生物学设计可靠的遗传电路, 调控QS过程和细菌的基因表达, 赋予工程菌群新的生物功能^[108,109]。这一策略已用于疾

病治疗、环境治理和海洋生态保护等。

6.1 疾病治疗

改变细胞-细胞间的通讯系统, 开发新型抗生素是合成生物学用于疾病领域的早期尝试^[110]。一些植物提取物可以诱发群体淬灭, 降低AI-2和AHL活性并最终阻止毒力基因的表达^[111]。海洋藻类中开发的呋喃酮和QS裂解酶是最典型的群体淬灭剂。其他来源的淬灭剂也相继被发现, 如环硫化物(cyclic sulfur compounds)、青霉素酸(penicillin acid)等, 这些化合物都能抑制QS自诱导剂AHL的产生, 以阻断QS通路, 进而影响毒力基因的转录和表达^[112,113]。此外, 近期针对SAM抑制剂的研究也在积极地探索中, 因为它是自诱导剂AHLs和AI-2合成的辅助因子^[114]。破坏了辅助因子的生成, 也就降低了下游信号分子合成的概率。

在实际医学应用中, 针对LuxI/LuxR应用合成生物学控制大肠杆菌的数量是早期例子之一。You等人^[115]在大肠杆菌中设计了利用费氏弧菌来源的LuxI/LuxR调控细胞凋亡来控制群体数量的基因线路, 他们将细胞凋亡基因*ccdB*置于LuxR结合的P_{LuxI}启动子控制下。当环境中信号分子AHL达到阈值时, LuxR与AHL结合, 启动*ccdB*基因的转录, 从而引起程序性死亡, 通过该方法可对病原菌生物量进行很好地控制。Hong等人^[116]基于对生物被膜信号通路的研究, 通过控制枯草芽孢杆菌信号分子的表达, 设计出一种工程生物被膜, 这种新型被膜可以分泌多种抗菌肽来抑制硫酸盐细菌(sulfate-reducing bacterium, SRB)的生长, 从而降低该菌的侵蚀作用。类似的方法也应用于其他细菌中, 将结核杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*)的INV基因(编码侵袭素)和费氏弧菌的LuxI-R功能模块共同导入大肠杆菌中, 使其能够在选择性条件下具有癌细胞侵入能力, 从而找到杀灭癌细胞的新方法^[117]。Hwang等人^[118]研发了一种编码抗生物被膜的基因合成遗传系统, 使大肠杆菌合成绿脓杆菌素裂解铜绿假单胞菌, 抑制其生物被膜的形成, 用于预防肠道感染。近期的研究中进一步拓展了研究的深度。Sedlmayer等人^[119]基于合成生物学原理, 提出了通过闭环式调控QS过程从而减轻铜绿假单胞菌对人体毒性的设想。在随后的研究中^[120], 他们成功构建了一个既能降低白色念珠菌毒性, 又不会造成合成遗传通路障碍的系统。上述研究中的核心实验是利用哺乳动物细胞上的甲酰胺传感器

感应多种细菌分泌的甲酰多肽, 进而强化AI-2信号传递的QS效应, 抑制白色念珠菌生物被膜的形成^[120]。该研究验证了细胞通过合成生物学可将其设计为病原菌自动识别和“防御卫士”的这一猜想。

基因编辑工具的出现也助推了生物医学领域的应用。有研究者提出通过合成生物学方法对CRISPR-Cas免疫系统进行调控的设想^[121]。生态模型的初步研究结果显示, 如果将合成生物学与基因组编辑相结合, 设计疾病相关的遗传电路以强化免疫系统, 便可促进人体免疫细胞对病原菌的抵抗力; 同时, 也可反向思维对QS系统进行破坏, 抑制其生物被膜的发育, 从而降低铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、类鼻疽伯克氏菌(*Burkholderia pseudomallei*)和霍乱弧菌(*Vibrio cholerae*)的感染率^[121]。以此为背景, 通过合成生物学编辑益生菌, 改造免疫帮手的御敌能力抑或是未来诊断和治疗疾病的新趋势。

6.2 环境修复

海洋、湖泊和土壤中常见的污染物, 如石油、塑料、染料、重金属、农药和生物异源物质等不易被降解, 易造成持久性危害。目前, 合成生物学在清除环境污染物方面取得了诸多成果, 设计可持续的生物修复合成生物模型成为环境治理领域的研究热点^[48]。在这方面, 最主要的手段是设计工程菌群来加速环境中生物异源物质和有害物的降解, 或对某些难降解的无机化合物进行生物吸附^[122]。利用这一特性, Meyer-Ci-fuentes等人^[123]提出了一种以塑料薄膜作为唯一碳源且能使海洋菌群富集的培养基, 并优化了协同降解塑料的海洋微生物合成群落。在此基础上, 随后的研究者们基于共培养技术开发了生物修复模型, 延伸了生物修复策略的范围。基于微生物之间所熟知的相互关系: 共栖、偏害、中立、共生、竞争和捕食。利用合成生物学手段可将上述关系进行两两组合^[102]。在这方面, 最具代表性的例子是共培养两种捕食关系的合成QS菌群: 蓝藻和恶臭假单胞菌^[124]。该方法实现了对环境中剧毒污染物2,4-二硝基甲苯的降解。在此共生体系中蓝藻通过光合作用固定CO₂, 为恶臭假单胞菌的生长和代谢提供糖类碳源; 而经基因编辑后的恶臭假单胞菌能够有效降解2,4-二硝基甲苯。国内学者余珂等人^[125]利用三种菌株(铜绿假单胞菌(*Pseudomonas* sp.)、鞘氨醇杆菌(*Sphingomonas* sp.)和嗜油脂极小单

胞菌(*Pusillimonas* sp.)的协同能力实现了对双酚A的高效降解, 并通过组学信息证明了菌株的合作模式和合成生物学技术介入其中的可能。他们指出, 合成生物学调控菌群交流和代谢互作用于降解污染物, 不仅可以提高微生物修复过程的效率, 还将为去除其他难降解污染物的生物修复合成菌群提供新的思路。最近本团队的工作也表明, 鞘氨醇杆菌对双酚A的降解能力依赖于群体感应分子AHL的存在, 针对性采用合成生物学方法来操纵QS效应是提高降解效率的途径之一^[126]。

6.3 海洋抗污损

细菌QS调控对海洋污损生物的形成和附着发挥重要的作用^[127]。相应地, 开发群体淬灭剂用于抵抗海洋生物污损是最具针对性的思路之一。Müller等人^[128]从海绵中提取化合物, 证实该提取物能干扰污损细菌的QS效应, 从而抑制海洋微生物被膜的形成, 是一种环境友好型的生物防污方法。Golberg等人^[129]在珊瑚黏液中发现, 共生细菌能合成抑制QS的小分子物质, 阻断细菌间“信息交流”, 造成群体淬灭, 防止污损生物的危害。本团队^[130]也从珊瑚共生菌种开发了弧菌的代谢产物——罗丹明类似物, 该化合物具有近似AHL分子的结构, 通过与AHL竞争结合位点, 抑制微生物被膜的产生。本团队^[131]前期开发的这种化合物最大的特点在于不仅具有抑制单菌膜的能力, 也具有抑制复合菌膜的特征。通过借助合成生物学手段构建AHL信号分子的循环路径, 利用QS通路的切断阻碍硅藻(*Cylindrotheca* sp.)的定殖, 可以扩大菌群分工, 减少中间负担和代谢限制, 是新型可持续抗污损策略之一。

7 总结与展望

现代分子生物学、代谢工程和基因组学在QS领域的广泛应用, 推进了对微生物群体未知领域的探索。目前已知的QS信号通路和网络, 在预防疾病、生态修复和海洋抗生物污损方面得到了较为深入的应用。考虑到生态、环境以及医学等领域边界广、尺度大等现状, 仍存在许多问题亟待解决。这些问题的克服需要开发更加先进的技术, 以及发展生物、化学、数学和计算方法, 从个体和系统层次来集成和系统操作(图4)。未来需要考虑和可以尝试的方向如下。

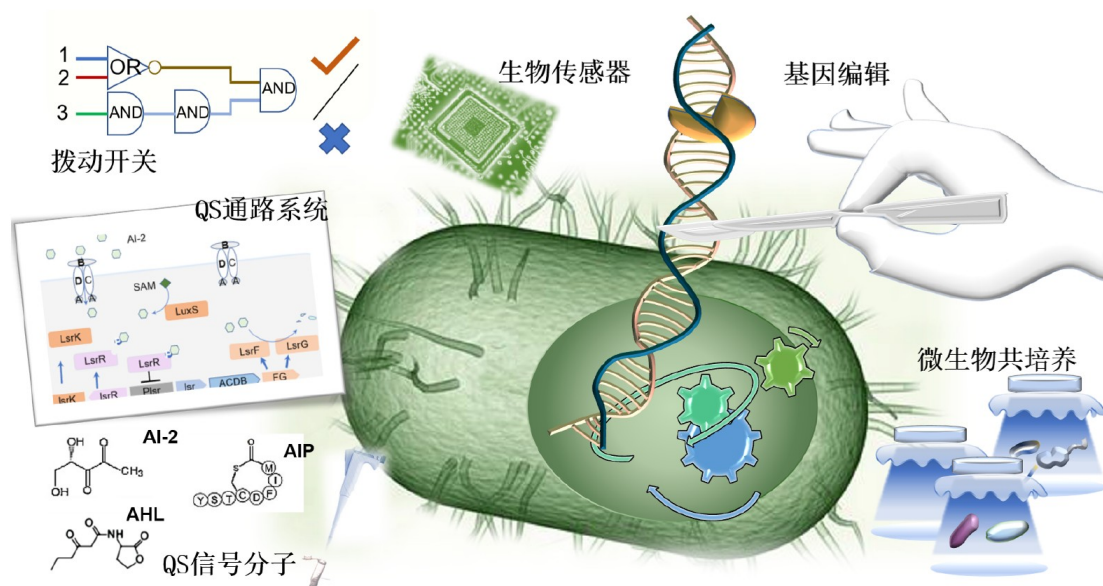


图 4 微生物群体感应基于合成生物学策略的应用。QS的信号分子和通路系统等作为合成生物学拨动开关、生物传感器等策略的元件和线路,并结合基因工程和代谢工程等手段,在基因水平和细胞水平进行设计和改造,完成对目标细菌基因表达、细胞-细胞之间通讯和菌群行为的调控

Figure 4 Application of synthetic biology strategy based on quorum sensing in microorganisms. The quorum sensing signaling molecules and pathway systems are used as the component and circuit of toggle switches and biosensors or other synthetic biological strategy, which provide consortia system design principles for the modification and construction of target bacteria at gene and cell levels and enable manipulate the genes expression, cell-cell communication and desired behaviors combine with genetic engineering and metabolic engineering

(1) 合成方法的抗干扰性. 细菌个体极易受生物和非生物因素的影响, 如何确定合成菌群表型和突发行为发生的概率, 构建更为成熟的可预测菌群动态变化的群落模型是今后亟待加强的方向之一。

(2) 合成应用的环境真实性. 由于实验室条件无法真实反映微生物生态系统的复杂性. 因此, 基因设计的底盘细菌开发尤为重要, 这不仅可以满足未来合成生物学设计遗传电路和复杂群落的需求, 也有望将其从实验室转移到自然生态系统中应用. 机器学习、生物信息和基因编辑技术的有效辅助, 可使合成生物学对遗传电路实现更为精准、模块化的设计, 从而构建人工智能化调控的个性化功能生物网络。

(3) 合成生物学聚焦目标的拓展. QS信号的应用研究目前大多数主要是针对AI-1信号通路的设计, 而对AI-2和AIP的研究较少. 而一些非常见环境或极端环境(深海、深地、深空), 新型真菌、细菌和古菌均

有待深挖. 这些微生物具有AI-2和AIP的能力, 针对这两种QS系统进行合成生物学的改造, 并用于工程系统的设计和构建, 从而使QS的应用得到延伸。

(4) 应用生境的衍生. 针对较少记录的特殊生境, 如极地、热液、冷泉、临近空间等极端环境, 有望挖掘到一些新的机制, 例如环境适应机制(耐压、耐热、嗜冷、抗紫外线等), 新型物质代谢机制(化能途径)以及协同进化过程等。

(5) “分子编程”的应用. 为了提高目标产物的得率, 需要对影响QS系统的各种因素进行深入分析, 辅以数学模型为微生物生长过程进行“编程”. 将其长时间维持在所需要的浓度, 通过延长稳定期、指数期以便更有效地控制发酵过程, 使微生物始终处于最佳工作状态. 对微生物的各种代谢途径进行精准“编程”, 构建更高效的“恒化器”或“恒浊器”, 使它们能像工业化设备一样生产人们所需的各种产品。

参考文献

- 1 Faust K, Raes J. Microbial interactions: from networks to models. *Nat Rev Microbiol*, 2012, 10: 538–550

- 2 Klitgord N, Segrè D. Ecosystems biology of microbial metabolism. *Curr Opin Biotechnol*, 2011, 22: 541–546
- 3 Kaplan S, Bren A, Zaslaver A, et al. Diverse two-dimensional input functions control bacterial sugar genes. *Mol Cell*, 2008, 29: 786–792
- 4 Surette M G, Bassler B L. Quorum sensing in *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 7046–7050
- 5 Espinar L, Dies M, Cagatay T, et al. Circuit-level input integration in bacterial gene regulation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 7091–7096
- 6 Mehta P, Goyal S, Long T, et al. Information processing and signal integration in bacterial quorum sensing. *Mol Syst Biol*, 2009, 5: 325
- 7 Bassler B L, Losick R. Bacterially speaking. *Cell*, 2006, 125: 237–246
- 8 Vasavi H S, Arun A B, Rekha P D. Anti-quorum sensing activity of *Psidium guajava* L. flavonoids against *Chromobacterium violaceum* and *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Microbiol Immunol*, 2014, 58: 286–293
- 9 Davis R M, Muller R Y, Haynes K A. Can the natural diversity of quorum-sensing advance synthetic biology? *Front Bioeng Biotechnol*, 2015, 3: 30
- 10 Mukherjee S, Bassler B L. Bacterial quorum sensing in complex and dynamically changing environments. *Nat Rev Microbiol*, 2019, 17: 371–382
- 11 Whiteley M, Diggle S P, Greenberg E P. Progress in and promise of bacterial quorum sensing research. *Nature*, 2017, 551: 313–320
- 12 Zeng A P, Sabra W. Microbial production of diols as platform chemicals: recent progresses. *Curr Opin Biotechnol*, 2011, 22: 749–757
- 13 Xue Y T, Wu S B, Xu C Y, et al. Research progress on the quorum sensing in the dynamic metabolic regulation (in Chinese). *China Biotechnol*, 2020, 40: 74–83 [薛艳婷, 吴胜波, 徐程杨, 等. 群体感应动态代谢调控中的研究进展. *中国生物工程杂志*, 2020, 40: 74–83]
- 14 Studier F W. Protein production by auto-induction in high-density shaking cultures. *Protein Expr Purif*, 2005, 41: 207–234
- 15 Smolke C D, Silver P A. Informing biological design by integration of systems and synthetic biology. *Cell*, 2011, 144: 855–859
- 16 Khalil A S, Collins J J. Synthetic biology: applications come of age. *Nat Rev Genet*, 2010, 11: 367–379
- 17 McDaniel R, Weiss R. Advances in synthetic biology: on the path from prototypes to applications. *Curr Opin Biotechnol*, 2005, 16: 476–483
- 18 Stähler P, Beier M, Gao X, et al. Another side of genomics: synthetic biology as a means for the exploitation of whole-genome sequence information. *J Biotechnol*, 2006, 124: 206–212
- 19 Schmidt M. Diffusion of synthetic biology: a challenge to biosafety. *Syst Synth Biol*, 2008, 2: 1–6
- 20 Xiong Y, Chen D M, Yang C, et al. Progress and perspective of synthetic biology (in Chinese). *Chin Bull Life Sci*, 2011, 23: 826–837 [熊燕, 陈大明, 杨琛, 等. 合成生物学发展现状与前景. *生命科学*, 2011, 23: 826–837]
- 21 Hwang I Y, Tan M H, Koh E, et al. Reprogramming microbes to be pathogen-seeking killers. *ACS Synth Biol*, 2014, 3: 228–237
- 22 Raina S, De Vizio D, Odell M, et al. Microbial quorum sensing: a tool or a target for antimicrobial therapy? *Biotechnol Appl Biochem*, 2009, 54: 65–84
- 23 Zhou A L, Liu Y, Ba F, et al. The construction and engineering application of quorum sensing elements of microorganism (in Chinese). *Syn Bio J*, 2020, 2: 234–246 [周爱林, 刘奕, 巴方, 等. 细菌群体感应元件构建和工程应用. *合成生物学*, 2020, 2: 234–246]
- 24 Hmelo L R. Quorum sensing in marine microbial environments. *Annu Rev Mar Sci*, 2017, 9: 257–281
- 25 Ruby E G, Nealson K H. Symbiotic association of *Photobacterium fischeri* with the marine luminous fish *Monocentris japonica*: a model of symbiosis based on bacterial studies. *Biol Bull*, 1976, 151: 574–586
- 26 Bassler B L, Wright M, Showalter R E, et al. Intercellular signalling in *Vibrio harveyi*: sequence and function of genes regulating expression of luminescence. *Mol Microbiol*, 1993, 9: 773–786
- 27 Nealson K H, Platt T, Hastings J W. Cellular control of the synthesis and activity of the bacterial luminescent system. *J Bacteriol*, 1970, 104: 313–322
- 28 Schuster M, Greenberg E P. Early activation of quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* reveals the architecture of a complex regulon. *BMC Genomics*, 2007, 8: 287
- 29 Papenfort K, Bassler B L. Quorum sensing signal-response systems in gram-negative bacteria. *Nat Rev Microbiol*, 2016, 14: 576–588
- 30 Guła G, Dorotkiewicz-Jach A, Korzekwa K, et al. Complex signaling networks controlling dynamic molecular changes in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm. *Curr Med Chem*, 2019, 26: 1979–1993
- 31 Wu S, Liu J, Liu C, et al. Quorum sensing for population-level control of bacteria and potential therapeutic applications. *Cell Mol Life Sci*, 2020, 77: 1319–1343
- 32 Dean S N, Chung M C, van Hoek M L. Burkholderia diffusible signal factor signals to *Francisella novicida* to disperse biofilm and increase siderophore production. *Appl Environ Microbiol*, 2015, 81: 7057–7066

- 33 Ryan R P, An S, Allan J H, et al. The DSF family of cell-cell signals: an expanding class of bacterial virulence regulators. *PLoS Pathog*, 2015, 11: e1004986
- 34 Novick R P. Autoinduction and signal transduction in the regulation of staphylococcal virulence. *Mol Microbiol*, 2003, 48: 1429–1449
- 35 Henke J M, Bassler B L. Three parallel quorum-sensing systems regulate gene expression in *Vibrio harveyi*. *J Bacteriol*, 2004, 186: 6902–6914
- 36 Miller M B, Skorupski K, Lenz D H, et al. Parallel quorum sensing systems converge to regulate virulence in *Vibrio cholerae*. *Cell*, 2002, 110: 303–314
- 37 Vendeuvre A, Winzer K, Heurlier K, et al. Making ‘sense’ of metabolism: autoinducer-2, LUXS and pathogenic bacteria. *Nat Rev Microbiol*, 2005, 3: 383–396
- 38 Sun J, Daniel R, Wagner-Döbler I, et al. Is autoinducer-2 a universal signal for interspecies communication: a comparative genomic and phylogenetic analysis of the synthesis and signal transduction pathways. *BMC Evol Biol*, 2004, 4: 36
- 39 Hossain S, Boon E M. Discovery of a novel nitric oxide binding protein and nitric-oxide-responsive signaling pathway in *Pseudomonas aeruginosa*. *ACS Infect Dis*, 2017, 3: 454–461
- 40 Hornby J M, Jensen E C, Lisec A D, et al. Quorum sensing in the dimorphic fungus *Candida albicans* is mediated by farnesol. *Appl Environ Microbiol*, 2001, 67: 2982–2992
- 41 Leonhardt I, Spielberg S, Weber M, et al. The fungal quorum-sensing molecule farnesol activates innate immune cells but suppresses cellular adaptive immunity. *mBio*, 2015, 6: e00143
- 42 May R C. Custom-made quorum sensing for a eukaryote. *Dev Cell*, 2016, 37: 391–392
- 43 Tang T, Wang S, Jiang Z J, et al. Progress in study of the function of quorum sensing and cell signaling in the formation of aerobic granular sludge (in Chinese). *Chin J Appl Environ Biol*, 2016, 22: 718–724 [唐堂, 王硕, 蒋志坚, 等. 群感效应与信号分子在污泥颗粒化过程中的作用研究进展. 应用与环境生物学报, 2016, 22: 718–724]
- 44 Song Y, Cai Z H, Zhou J. Advances in microbial quorum sensing inhibitors and their application in marine ecological field (in Chinese). *Acta Microbiol Sin*, 2017, 57: 1–9 [宋雨, 蔡中华, 周进. 微生物QS抑制剂及其在海洋生态中的应用. 微生物学报, 2017, 57: 1–9]
- 45 Del Valle I, Fulk E M, Kalvapalle P, et al. Translating new synthetic biology advances for biosensing into the earth and environmental sciences. *Front Microbiol*, 2021, 11: 618373
- 46 Deng T, Guan X T, Wu B, et al. Applying mathematical models in the construction of synthetic microbial communities (in Chinese). *Chin J Appl Environ Biol*, 2020, 26: 809–819 [邓婷, 关晓彤, 吴波, 等. 数学模型在合成微生物群落构建中的应用. 应用与环境生物学报, 2020, 26: 809–819]
- 47 Ravikumar S, Baylon M G, Park S J, et al. Engineered microbial biosensors based on bacterial two-component systems as synthetic biotechnology platforms in bioremediation and biorefinery. *Microb Cell Fact*, 2017, 16: 62
- 48 Jaiswal S, Shukla P. Alternative strategies for microbial remediation of pollutants via synthetic biology. *Front Microbiol*, 2020, 11: 808
- 49 Adams B L. The next generation of synthetic biology chassis: moving synthetic biology from the laboratory to the field. *ACS Synth Biol*, 2016, 5: 1328–1330
- 50 Hauk P, Stephens K, Virgile C, et al. Homologous quorum sensing regulatory circuit: a dual-input genetic controller for modulating quorum sensing-mediated protein expression in *E. coli*. *ACS Synth Biol*, 2020, 9: 2692–2702
- 51 Malone C L, Boles B R, Horswill A R. Biosynthesis of *Staphylococcus aureus* autoinducing peptides by using the *Synechocystis* DnaB mini-intein. *Appl Environ Microbiol*, 2007, 73: 6036–6044
- 52 Boles B R, Horswill A R. Agr-mediated dispersal of *Staphylococcus aureus* biofilms. *PLoS Pathog*, 2008, 4: e1000052
- 53 Marchand N, Collins C H. Peptide-based communication system enables *Escherichia coli* to *Bacillus megaterium* interspecies signaling. *Biotechnol Bioeng*, 2013, 110: 3003–3012
- 54 Marchand N, Collins C H. Synthetic quorum sensing and cell-cell communication in gram-positive *Bacillus megaterium*. *ACS Synth Biol*, 2016, 5: 597–606
- 55 Brophy J A N, Voigt C A. Principles of genetic circuit design. *Nat Methods*, 2014, 11: 508–520
- 56 Wu F, Menn D J, Wang X. Quorum-sensing crosstalk-driven synthetic circuits: from unimodality to trimodality. *Chem Biol*, 2014, 21: 1629–1638
- 57 Brenner K, Karig D K, Weiss R, et al. Engineered bidirectional communication mediates a consensus in a microbial biofilm consortium. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 17300–17304

- 58 Pai A, Tanouchi Y, Collins C H, et al. Engineering multicellular systems by cell-cell communication. *Curr Opin Biotechnol*, 2009, 20: 461–470
- 59 Litcofsky K D, Afeyan R B, Krom R J, et al. Iterative plug-and-play methodology for constructing and modifying synthetic gene networks. *Nat Methods*, 2012, 9: 1077–1080
- 60 Scott S R, Hasty J. Quorum sensing communication modules for microbial consortia. *ACS Synth Biol*, 2016, 5: 969–977
- 61 Kylilis N, Tuza Z A, Stan G B, et al. Tools for engineering coordinated system behaviour in synthetic microbial consortia. *Nat Commun*, 2018, 9: 2677
- 62 Miano A, Liao M J, Hasty J. Inducible cell-to-cell signaling for tunable dynamics in microbial communities. *Nat Commun*, 2020, 11: 1193
- 63 Martins D P, Barros M T, Balasubramaniam S. Quality and capacity analysis of molecular communications in bacterial synthetic logic circuits. *IEEE Trans Nanobiosci*, 2019, 18: 628–639
- 64 Fiore D, Salzano D, Cristobal-Coppulo E, et al. Multicellular feedback control of a genetic toggle-switch in microbial consortia. *IEEE Control Syst Lett*, 2021, 5: 151–156
- 65 Tamsir A, Tabor J J, Voigt C A. Robust multicellular computing using genetically encoded NOR gates and chemical ‘wires’. *Nature*, 2011, 469: 212–215
- 66 Kim J Y H, Cha H J. Down-regulation of acetate pathway through antisense strategy in *Escherichia coli*: improved foreign protein production. *Biotechnol Bioeng*, 2003, 83: 841–853
- 67 Herring C D, Glasner J D, Blattner F R. Gene replacement without selection: regulated suppression of amber mutations in *Escherichia coli*. *Gene*, 2003, 311: 153–163
- 68 Pang Q X, Liang Q F, Qi Q S. Application of switch for synthetic biology in metabolic engineering (in Chinese). *Biotechnol Bull*, 2017, 33: 58–63 [庞庆霄, 梁泉峰, 祁庆生. 合成生物学开关在代谢工程中的应用. *生物技术通报*, 2017, 33: 58–63]
- 69 Gu P, Su T, Wang Q, et al. Tunable switch mediated shikimate biosynthesis in an engineered non-auxotrophic *Escherichia coli*. *Sci Rep*, 2016, 6: 29745
- 70 Swofford C A, Van Dessel N, Forbes N S. Quorum-sensing *Salmonella* selectively trigger protein expression within tumors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112: 3457–3462
- 71 Soma Y, Hanai T. Self-induced metabolic state switching by a tunable cell density sensor for microbial isopropanol production. *Metab Eng*, 2015, 30: 7–15
- 72 Gupta A, Reizman I M B, Reisch C R, et al. Dynamic regulation of metabolic flux in engineered bacteria using a pathway-independent quorum-sensing circuit. *Nat Biotechnol*, 2017, 35: 273–279
- 73 Doong S J, Gupta A, Prather K L J. Layered dynamic regulation for improving metabolic pathway productivity in *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115: 2964–2969
- 74 Cui S, Lv X, Wu Y, et al. Engineering a bifunctional Phr60-Rap60-Spo0A quorum-sensing molecular switch for dynamic fine-tuning of menaquinone-7 synthesis in *Bacillus subtilis*. *ACS Synth Biol*, 2019, 8: 1826–1837
- 75 Case R J, Labbate M, Kjelleberg S. AHL-driven quorum-sensing circuits: their frequency and function among the Proteobacteria. *ISME J*, 2008, 2: 345–349
- 76 Srivastava D, Waters C M. A tangled web: regulatory connections between quorum sensing and cyclic Di-GMP. *J Bacteriol*, 2012, 194: 4485–4493
- 77 Rai N, Rai R, Venkatesh K V. Quorum Sensing vs Quorum Quenching: A Battle with No End in Sight. New Delhi: Springer, 2015. 173–183
- 78 Winkler W, Nahvi A, Breaker R R. Thiamine derivatives bind messenger RNAs directly to regulate bacterial gene expression. *Nature*, 2002, 419: 952–956
- 79 Pang Q, Han H, Liu X, et al. *In vivo* evolutionary engineering of riboswitch with high-threshold for N-acetylneuraminic acid production. *Metab Eng*, 2020, 59: 36–43
- 80 Raut N, Pasini P, Daunert S. Deciphering bacterial universal language by detecting the quorum sensing signal, autoinducer-2, with a whole-cell sensing system. *Anal Chem*, 2013, 85: 9604–9609
- 81 Wen K Y, Cameron L, Chappell J, et al. A cell-free biosensor for detecting quorum sensing molecules in *P. aeruginosa*-infected respiratory samples. *ACS Synth Biol*, 2017, 6: 2293–2301
- 82 Cai S, Shen Y, Zou Y, et al. Engineering highly sensitive whole-cell mercury biosensors based on positive feedback loops from quorum-sensing systems. *Analyst*, 2018, 143: 630–634

- 83 Thapa A, Biswal S, Sood N, et al. Development of a biosensor using *Photobacterium* spp. For the detection of environmental pollutants. In: 2017 2nd International Conference on Bio-engineering for Smart Technologies (BioSMART). Pairs. 2017. New York: IEEE, 2017. 1–3
- 84 Hasty J, McMillen D, Collins J J. Engineered gene circuits. *Nature*, 2002, 420: 224–230
- 85 He X, Chen Y, Liang Q, et al. Autoinduced AND gate controls metabolic pathway dynamically in response to microbial communities and cell physiological state. *ACS Synth Biol*, 2017, 6: 463–470
- 86 Hu Y, Yang Y, Katz E, et al. Programming the quorum sensing-based AND gate in *Shewanella oneidensis* for logic gated-microbial fuel cells. *Chem Commun*, 2015, 51: 4184–4187
- 87 Garg N, Manchanda G, Kumar A. Bacterial quorum sensing: circuits and applications. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2014, 105: 289–305
- 88 An J H, Goo E, Kim H, et al. Bacterial quorum sensing and metabolic slowing in a cooperative population. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111: 14912–14917
- 89 Goo E, Majerczyk C D, An J H, et al. Bacterial quorum sensing, cooperativity, and anticipation of stationary-phase stress. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 19775–19780
- 90 Wang Q, Xu J, Sun Z, et al. Engineering an *in vivo* EP-bifido pathway in *Escherichia coli* for high-yield acetyl-CoA generation with low CO₂ emission. *Metab Eng*, 2019, 51: 79–87
- 91 Patidar S K, Kim S H, Kim J H, et al. *Pelagibaca bermudensis* promotes biofuel competence of *Tetraselmis striata* in a broad range of abiotic stressors: dynamics of quorum-sensing precursors and strategic improvement in lipid productivity. *Biotechnol Biofuels*, 2018, 11: 102
- 92 Chen Y, Kim J K, Hirling A J, et al. Emergent genetic oscillations in a synthetic microbial consortium. *Science*, 2015, 349: 986–989
- 93 Scott S R, Din M O, Bittihn P, et al. A stabilized microbial ecosystem of self-limiting bacteria using synthetic quorum-regulated lysis. *Nat Microbiol*, 2017, 2: 1–9
- 94 Stephens K, Pozo M, Tsao C Y, et al. Bacterial co-culture with cell signaling translator and growth controller modules for autonomously regulated culture composition. *Nat Commun*, 2019, 10: 1
- 95 Mondragón-Palomino O, Danino T, Selimkhanov J, et al. Entrainment of a population of synthetic genetic oscillators. *Science*, 2011, 333: 1315–1319
- 96 Potvin-Trottier L, Lord N D, Vinnicombe G, et al. Synchronous long-term oscillations in a synthetic gene circuit. *Nature*, 2016, 538: 514–517
- 97 Tu B P, McKnight S L. Metabolic cycles as an underlying basis of biological oscillations. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2006, 7: 696–701
- 98 Prindle A, Samayoa P, Razinkov I, et al. A sensing array of radically coupled genetic ‘biopixels’. *Nature*, 2012, 481: 39–44
- 99 Jagavati S, Adivikatla V R, Paritala N, et al. Cellulase production by co-culture of *Trichoderma* sp. and *Aspergillus* sp. under submerged fermentation. *Dyn Biochem Process Biotechnol Mol Biol*, 2012, 6: 79–83
- 100 Evans K C, Benomar S, Camuy-Vélez L A, et al. Quorum-sensing control of antibiotic resistance stabilizes cooperation in *Chromobacterium violaceum*. *ISME J*, 2018, 12: 1263–1272
- 101 Smalley N E, An D, Parsek M R, et al. Quorum sensing protects *Pseudomonas aeruginosa* against cheating by other species in a laboratory coculture model. *J Bacteriol*, 2015, 197: 3154–3159
- 102 Kong W, Meldgin D R, Collins J J, et al. Designing microbial consortia with defined social interactions. *Nat Chem Biol*, 2018, 14: 821–829
- 103 Johns N I, Blazejewski T, Gomes A L, et al. Principles for designing synthetic microbial communities. *Curr Opin Microbiol*, 2016, 31: 146–153
- 104 Niehus R, Mitri S, Fletcher A G, et al. Migration and horizontal gene transfer divide microbial genomes into multiple niches. *Nat Commun*, 2015, 6: 8924
- 105 Sleight S C, Bartley B A, Lieviant J A, et al. Designing and engineering evolutionary robust genetic circuits. *J Biol Eng*, 2010, 4: 12
- 106 Renda B A, Hammerling M J, Barrick J E. Engineering reduced evolutionary potential for synthetic biology. *Mol Biosyst*, 2014, 10: 1668–1678
- 107 Clancy K, Voigt C A. Programming cells: towards an automated ‘genetic compiler’. *Curr Opin Biotechnol*, 2010, 21: 572–581
- 108 Del Vecchio D, Qian Y, Murray R M, et al. Future systems and control research in synthetic biology. *Annu Rev Control*, 2018, 45: 5–17
- 109 Li X M, Jiang W, Liang Q F, et al. Application of bacterial quorum sensing system in intercellular communication and its progress in synthetic biology (in Chinese). *Syn Bio J*, 2020, 1: 540–555 [李晓萌, 姜威, 梁泉峰, 等. 细菌群体感应系统在细胞间通讯中的应用及其合成生物学研究进展. *合成生物学*, 2020, 1: 540–555]
- 110 van Passel M W J, Lam C M C, Martins dos Santos V A P, et al. Synthetic biology in health and disease. In: de Miguel Beriain I, Romeo Casabona C, eds. *Synbio and Human Health*. Dordrecht: Springer, 2014. 1–10
- 111 Mohammad T, Hassan M I. Modern approaches in synthetic biology: genome editing, quorum sensing, and microbiome engineering. In: Singh

- S, ed. *Synthetic Biology*. Singapore: Springer, 2018. 189–205
- 112 Ma L, Feng S, Fuente-Núñez C, et al. Development of molecularly imprinted polymers to block quorum sensing and inhibit bacterial biofilm formation. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2018, 10: 18450–18457
- 113 Daly S M, Joyner J A, Triplett K D, et al. Vlp-based vaccine induces immune control of *Staphylococcus aureus* virulence regulation. *Sci Rep*, 2017, 7: 637
- 114 Sufrin J R, Finckbeiner S, Oliver C M. Marine-derived metabolites of *S*-adenosylmethionine as templates for new anti-infectives. *Mar Drugs*, 2009, 7: 401–434
- 115 You L, Cox Iii R S, Weiss R, et al. Programmed population control by cell-cell communication and regulated killing. *Nature*, 2004, 428: 868–871
- 116 Hong S H, Hegde M, Kim J, et al. Synthetic quorum-sensing circuit to control consortial biofilm formation and dispersal in a microfluidic device. *Nat Commun*, 2012, 3: 613
- 117 Fang H, Yu D, Hong Y, et al. The LuxR family regulator Rv0195 modulates *Mycobacterium tuberculosis* dormancy and virulence. *Tuberculosis*, 2013, 93: 425–431
- 118 Hwang I Y, Koh E, Wong A, et al. Engineered probiotic *Escherichia coli* can eliminate and prevent *Pseudomonas aeruginosa* gut infection in animal models. *Nat Commun*, 2017, 8: 15028
- 119 Sedlmayer F, Jaeger T, Jenal U, et al. Quorum-quenching human designer cells for closed-loop control of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Nano Lett*, 2017, 17: 5043–5050
- 120 Sedlmayer F, Hell D, Müller M, et al. Designer cells programming quorum-sensing interference with microbes. *Nat Commun*, 2018, 9: 1822
- 121 Semenova E, Severinov K. Come together: CRISPR-Cas immunity senses the quorum. *Mol Cell*, 2016, 64: 1013–1015
- 122 Liu X, Germaine K J, Ryan D, et al. Development of a GFP-based biosensor for detecting the bioavailability and biodegradation of polychlorinated biphenyls (PCBS). *J Environ Eng Landsc Manage*, 2007, 15: 261–268
- 123 Meyer-Cifuentes I E, Werner J, Jehmlich N, et al. Synergistic biodegradation of aromatic-aliphatic copolyester plastic by a marine microbial consortium. *Nat Commun*, 2020, 11: 5790
- 124 Fedeson D T, Saake P, Calero P, et al. Biotransformation of 2,4-dinitrotoluene in a phototrophic co-culture of engineered *Synechococcus elongatus* and *Pseudomonas putida*. *Microb Biotechnol*, 2020, 13: 997–1011
- 125 Yu K, Yi S, Li B, et al. An integrated meta-omics approach reveals substrates involved in synergistic interactions in a bisphenol A (BPA)-degrading microbial community. *Microbiome*, 2019, 7: 16
- 126 Nahm C H, Kim K, Min S, et al. Quorum sensing: an emerging link between temperature and membrane biofouling in membrane bioreactors. *Biofouling*, 2019, 35: 443–453
- 127 Gao C, Zeng Y H, Li C Y, et al. Bisphenol A biodegradation by *Sphingonomas* sp. YK5 is regulated by acyl-homoserine lactone signaling molecules. *Sci Total Environ*, 2022, 802: 149898
- 128 Müller W E G, Wang X, Proksch P, et al. Principles of biofouling protection in marine sponges: a model for the design of novel biomimetic and bio-inspired coatings in the marine environment? *Mar Biotechnol*, 2013, 15: 375–398
- 129 Golberg K, Pavlov V, Marks R S, et al. Coral-associated bacteria, quorum sensing disrupters, and the regulation of biofouling. *Biofouling*, 2013, 29: 669–682
- 130 Song Y, Cai Z H, Lao Y M, et al. Antibiofilm activity substances derived from coral symbiotic bacterial extract inhibit biofouling by the model strain *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Microb Biotechnol*, 2018, 11: 1090–1105
- 131 Song Y, Zhang S, Zeng Y, et al. The rhodamine isothiocyanate analogue as a quorum sensing inhibitor has the potential to control microbially-induced biofouling. *Mar Drugs*, 2020, 18: 484

Research advance in the application of synthetic biology methods in microbial quorum sensing

XU MeiTing^{1,2}, CHENG KeKe¹, ZENG YanHua¹, ZHOU Jin¹ & CHEN GuoFu³

1 Institute for Ocean Engineering, Shenzhen International Graduate School, Tsinghua University, Shenzhen 518055, China;

2 School of Environment, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China;

3 Harbin Institute of Technology (Weihai), Weihai 264209, China

Bacteria exist as a unicellular organism with their community and systematization characteristics in the environment. Quorum sensing (QS), a language for cell-cell communication, helps bacteria regulate gene expression and community behavior, leading to adaptation to environmental changes. QS system is widespread in many kingdoms of microbiomes (bacteria, fungi, and archaea), which could manipulate various physiological behaviors, including bioluminescence, biofilm formation, producing virulence factors, and establishing symbiosis. However, due to the diversity of the microbial community structure and functional complexity in nature, there are still unknown areas for QS-mediated regulatory networks and ecological mechanisms. The recent vigorous development of synthetic biology may provide new opportunities to probe and explore QS effects. This method has made great achievements in designing genetic element libraries, assembling biological devices, designing genetic circuits, and creating predefined and predictable microbiome consortia. In parallel, synthetic biology can be used as a tool in quorum sensing to regulate the composition and function of communities. Hence, an attempt was made in this review to summarize the latest research. First, we presented several typical QS systems, their functions and signaling pathways. Second, we discussed how to design QS signaling pathways and genetic circuits and how to reduce crosstalk using synthetic biology strategies. Finally, we evaluated the assay on the synthetic QS system and its performance in microbial inter- and intraspecies communication. Thus, this review aims to sort out advanced concepts of synthetic biology, deepen the understanding of constructing a bio-calculation toolkit based on the QS system, control population density and metabolic flow, and expand the application scope of synthetic biology strategy in manipulating QS.

quorum sensing, synthetic biology, signaling pathway, genetic circuit, synthetic microbial consortia

doi: [10.1360/SSV-2021-0167](https://doi.org/10.1360/SSV-2021-0167)