



评述



合成生物学的工业应用

王兆宇, 彭江海, 胡译丹, 方柏山*

厦门大学化学化工学院化学工程与生物工程系, 厦门 361005

* 通讯作者, E-mail: fbs@xmu.edu.cn

收稿日期: 2011-01-03; 接受日期: 2011-02-15

doi: 10.1360/032011-3

摘要 利用合成生物学构建人工生命体及采用组装生物合成途径生产抗疟疾药物青蒿素的成功, 引起了人们对合成生物学的极大关注. 本文主要介绍合成生物学在医药、生物能源、生物基化学品及其他工业领域的应用进展概况. 医药领域包括青蒿素、抗生素、合成抗体、新的治疗方法及新药开发、分析诊断试剂研究等; 能源领域包括生物制氢、生物产乙醇、生物产脂肪烃、高级醇等; 生物基化学品领域包括 1,3-丙二醇、脂肪酸、可降解性塑料的生产等. 其他领域的应用包括环境保护、环境监测、生命科学探索等. 同时介绍了本课题组在构建细胞浓度控制体系、并用 NADH 和 NADPH 生物转化甘油制备 1,3-丙二醇的合成生物系统、核酸适体筛选、酶的耦联体系等方面所开展的有关合成生物学研究工作. 最后, 分析合成生物学应用前景与风险、发展瓶颈问题, 并对发展方向进行了展望, 指出今后应聚焦若干重要的工业生物体系, 发展合成生物学的基础理论, 开发合成生物学所需要的核心工程技术, 构建人工生物合成体系及相关技术体系, 利用合成途径生产高附加值产品.

关键词合成生物学
工业应用
医药
生物能源
生物基化学品
发展瓶颈
发展方向

1 引言

合成生物学是 21 世纪初新出现的一门交叉学科, 具有迅猛的发展势头和广阔的发展前景. 它是在阐明并模拟生物合成的基本规律基础上, 通过将工程学科的理念应用到生物学领域, 达到人工设计并构建新的、具有特定生理功能的生物系统, 从而开辟廉价生产药物、化学品、功能材料或能源替代品等的生物制造途径^[1,2]. 它涵盖分子生物学、工程学、数学、物理学等许多研究领域. 合成生物学包括两重含义: (1) 设计与构建新的生物元件、设备和系统; (2) 改造现有的、天然存在的生物系统.

与传统的生物学通过解剖生命体以研究其内在构造的思路不同, 合成生物学的研究方法完全是相反的, 它是从最基本的要素开始逐步构建生物体的零部件直至人工生命系统^[3]. 合成生物学与基因工程在内涵上是有区别的. 基因工程是把一个物种的基

因延续、改变并转移至另一物种体内; 而合成生物学的目的在于组装各种生命元件来建立人工生物体系, 让它们能象电路一样在生物体内运行, 使生物体能按预想的方式完成各种生物学功能^[4,5]. 合成生物学的最高境界是灵活设计和改造生命, 重塑生命体. 合成生物学是后基因组时代生命科学研究的新兴领域. 早在 21 世纪初, 它就已经成为现代生命科学的研究热点, 然而真正进入大众视野, 还是源于“世界首个人造生命”的新闻事件.

2 DNA 人工编码的生命

2010 年 5 月 20 日, 美国生物学家 J. Craig Venter 及其同事^[6]在 *Science* 发表了一项用人工合成基因组制造支原体细胞的研究成果: 他们将化学合成的蕈状支原体(*Mycoplasma mycoides*) 基因组 1000 多个 1080 bp 序列在酵母中组装成合成基因组, 接着将该

基因组移植到去除了遗传物质的山羊支原体 (*Mycoplasma capricolum*) 中, 该人工合成基因组会控制并“启动”接受方的细胞, 实现自我复制, 创造出历史上首个“人造单细胞生物”, 取名为“辛西娅”(Synthia). 上述合成的基因组是野生蕈状支原体基因组的拷贝, 尽管它有 14 个基因被删除或破坏, 并加入了 4 段“水印”(watermark sequence, 即特殊的标记碱基, 目的是区别人工染色体和自然染色体), 但它们看上去仍然象是正常的蕈状支原体细菌, 并只能产生蕈状支原体的蛋白质. 这项研究成果最为直接的意义是人造的支原体可以利用化学合成的染色体生存繁殖, 并导致山羊的乳腺炎. “辛西娅”的诞生, 标志着合成生物学已经可以简单地改造生命^[7], 人类从读取基因序列跃升至编码基因的阶段, 是合成生物学领域中人工制造生命的历史性突破; 显示了合成生物学的可行性和应用性, 为人工设计、制造细胞开辟了光明的远景; 意味着通过对现有的、天然存在的生物进行系统的分析和研究, 可以重新设计和制造新的生物系统, 进而使得含有这些系统的生物体能够完成特别的任务以帮助解决能源、材料、健康和环保等问题; 将使生物技术从逐个基因操控, 发展为一个以“批量生产”方式改变生命的合成生物学产业. 当前, 合成生物学的产业化应用已经初现端倪. 据估计, 合成生物学将带来数十亿美元的商业机遇, 在医药、生物能源、化学品和农业领域展示了良好的发展前景. 有人预言合成生物学将带来人类历史上的第三次工业革命^[8].

3 合成生物学在医药工业领域的应用

医药的生产, 可以通过重新构建细菌和酵母来制造低成本的、用化学与生物合成方法都难以获得的具有复杂结构的药物, 如抗疟疾药物青蒿素、抗生素、降胆固醇药等.

3.1 抗疟疾药物青蒿素的微生物合成

青蒿素(Artemisinin)与其他药物的联合使用, 是目前唯一一种较有效的治疗疟疾的方法. 天然的青蒿素是在草药青蒿(*Artemisia annua*)中提取的有过氧基团的倍半萜内酯药物. 但是其产量十分稀少, 提取工艺复杂, 提取成本极其昂贵, 也很难用化学方法合成, 所以, 供应量无法满足患者医治的需要.

加州大学伯克利分校劳伦斯国家实验室 Jay D. Keasling^[9]在从事抗疟疾药的生物合成研究中, 根据大肠杆菌密码子使用偏好性, 合成 amorphadiene 合成酶(Amorphadiene synthase, ADS)的编码基因、共表达 SOE4 操纵子, 并绕过大肠杆菌的一般代谢途径, 引入异源的酵母菌甲羟戊酸等途径, 从而将最终的萜类产物提高了 10~300 倍. 2006 年 Keasling^[10]在 *Nature* 上公布了新的研究成果: 将 ADS 基因插入由 GAL1 启动子控制转录的 pRS425 质粒中, 然后在酵母细胞中表达; 在酵母中对焦磷酸法呢酯(FPP)合成途径进行了总共 5 次的基因工程改造, 并将所有这些对基因的修饰综合在菌株 EPY224 上, amorphadiene 的合成量达到 153 mg/L, 是之前所报道最大合成水平的近 500 倍. 同时为了保证宿主菌株的遗传稳定性, 所有这些对宿主细胞进行的修饰都是通过染色体融合进行的. 随后将大肠杆菌和青蒿的若干基因导入酵母 DNA 中, 导入的基因与酵母自身基因组相互作用产青蒿酸, P450 基因表达酶将青蒿酸转化为青蒿素. 并通过对代谢途径(网络)不断改造和优化, 解决了天然或非天然代谢物大量积累对寄主的毒性问题, 使青蒿素产量实现了若干数量级的提高, 最终将青蒿素合成的成本降为原来的十分之一, 具有工业生产的潜力. 该重要进展是合成生物学在工业应用中的一个标志性突破.

3.2 抗生素的代谢途径设计与合成

世界范围内对多种药物产生抗性的病原菌的出现, 迫切需要新的抗生素, 从而引起人们对应用合成生物学设计新抗生素的生产方法产生强烈的兴趣^[11]. 抗生素生产受复杂网络调节, 涉及到多步生物合成和初级代谢流的较大重组. 合成生物学在抗生素领域的应用, 包括用于新抗生素的筛选和抗生素抗性的治疗, 而在丝状真菌和放线菌的抗生素生产中的应用, 包括在现有和新的生产宿主中合成和修饰复杂的途径模块. 2010 年 11 月欧盟设立专门的科学基金项目来开展这方面的研究(<http://www.esf.org/activities/eurocores/running-programmes/eurosynbio/collaborative-research-projects/synmod.html>). 他们的研究思路是: 首先, 从羊毛硫抗生素族(lantibiotics group)中获得精确制定的肽单元, 然后将它们重新组合以产生新的抗生素功能; 接着, 通过利用随机杂交修饰酶进行修饰, 并使修饰途径的组分能够精确调节; 通过提供完

全的特征化表达元件, 在标准组件模式中组装一个对周围环境不敏感的后翻译体系. 将上述组装途径植入到一种新的生产用底盘生物肉葡萄球菌 (*Staphylococcus carnosus*, 该菌基因组已经过减化, 基因组 2.56Mb, 有特异性) 中. 重组菌株可被用来生产多种新的羊毛硫抗生素, 如: 尼生素(Nisin).

Cheng 等构建了体外多酶全合成途径, 在一个反应器内两个小时合成出天然抗生素-肠道菌素^[12,13].

总部在荷兰的 DSM 是首先使用合成生物学来改良现有的商业化生产头孢霉素 IV 的工艺的公司之一^[14]. 以青霉素生产菌为初始菌株, DSM 公司向其中导入并优化了两种分别编码酰基转移酶和扩环酶的异源基因, 以一步直接发酵 adipoyl-7-ADCA, 然后 adipoyl-7-ADCA 经过两步酶学反应转化为头孢霉素 IV, 取代了原来需要 13 步化学反应才能完成的过程, 因此, 显著节省了成本和能源费用. DSM 还将途径改造应用到维生素、酶、有机酸、功能材料等的生产中.

3.3 合成抗体的设计与合成

用合成的抗体来代替天然的免疫抗体, 通过抗体库的设计和筛选条件的控制, 使抗体工程的精确度空前提高. 大多数的天然的抗体库是通过 PCR 扩增来源于免疫组织的功能性抗体基因, 明确编码基因的多样性, 将天然抗体基因转移到体外展示表达来完成. 而合成的抗体库不是来源于天然的抗体基因, 而是通过引入精确设计的合成 DNA 多样性来建造的. 开发有效的合成抗体库比开发有效的天然抗体库更困难得多, 但因人工合成抗体具有更高的精确度而激励着人们不断去克服困难. 人工合成的抗体库可以用于研究抗体结构与功能的机理, 来解决特别有挑战性的治疗问题及将抗体的效用拓展到新的研究领域中去^[15]. 近年来, 还发展了用对抗原有高度亲和力和专一性的小分子核酸适体(Aptamer)来代替用免疫学方法产生的抗体, 进行药物治疗. 核酸适体可以通过指数富集配体系统进化筛选技术(Systematic evolution of ligands by exponential enrichment, SELEX)在体外筛选获得^[16].

3.4 新的治疗方法或新药的开发

合成生物学的目标是创造具有新特性的生物体, 这些生物体可能具有理想的新颖的合成能力, 作为生物传感器识别或定量我们感兴趣的分子, 或帮助

我们理解活的生物体的复杂性, 或通过组合具有理想活性的酶来设计新的生物合成途径^[17]. 合成生物学可用于设计噬菌体作为辅助用抗生素, 合成安全性疫苗、去除病原菌种群, 发现小分子化学治疗药物、设计新的生物药品, 阐明疾病机理和进行靶标鉴定^[18]. 抗生素乙硫异烟胺通过酶 EthA 来对结核分枝杆菌产生毒性. 在抗药性菌中, EthA 受到 EthR 的抑制. 合成的哺乳动物基因电路可用于发现抗结核菌化合物^[19]. 在这个基因电路中, EthR 和哺乳动物转录激活子 VP16 的结合体将一个最小化的启动子绑定到一种合成的 EthR 操纵子位点, 从而激活报告基因 SEAP(人胎盘分泌的碱性磷酸酶)的表达. 这个平台可用于哺乳动物细胞中 EthR 抑制剂的快速筛选. 可以通过将代谢工程和合成生物学相结合, 来创造新的精细调控的代谢和调节电路, 从而使代谢流量最大化地流向我们所想得到的产品, 将菌株发展成微生物工厂^[20]. 非天然的途径的构建, 给基因治疗处理代谢失调等提供了一种唯一和通用的方法. Liao 和他的同事最近将乙醛酸支路途径引入到哺乳动物肝细胞和老鼠中, 探讨它对脂肪酸代谢和对整个机体代谢的影响. 结果发现, 乙醛酸支路途径明显地通过创造一条替代循环途径, 很显著地增加哺乳动物细胞脂肪酸氧化. 当用高脂饲料喂养, 表达这种乙醛酸支路途径的老鼠显示出对食物诱导的肥胖具有抵抗力, 同时体内总脂肪量、血浆甘油三酯和胆固醇含量相应下降. 这项工作可以提供一种新的合成生物学模式来研究代谢失调, 及解决不断增加的肥胖问题^[21, 22].

3.5 分析诊断试剂开发

通过合成生物学, 将一些能对身体健康状况的改变做出应答的基因和蛋白质整合成“分子医生”, 使其在多种疾病的发病早期就发送警示讯息^[23]. 或重新改造细菌和 T-细胞在体内的循环通路, 来鉴定和处理患病的细胞和组织.

4 合成生物学在生物能源领域的应用

近年来, 受世界石油资源、价格、环保和全球气候变化的影响, 将合成生物学应用到能源领域中的想法也顺势而生^[24]. 自 2005 年以来, 美国政府在合成生物学研究上投入了 4.3 亿美元, 而欧盟和德国、荷

兰、英国则投入了 1.6 亿美元, 其中很大一部分资金是投入到生物能源方面的研究(<http://allafrica.com/stories/201010080642.html?viewall=1>). 同时, 许多风险资金投入到了 LS9、Gevo 和 Amyris 等合成生物学公司上(<http://gigaom.com/cleantech/will-synthetic-biology-patents-endanger-the-biofuel-industry/>). 另外, 英国石油公司和美国能源部在旧金山湾区投资了 6.5 亿美元, 利用工程化细胞将农产品转化为液体燃料。

4.1 生物制氢

氢气燃烧完只产生水, 实现真正的“零排放”, 是生物能中一种最清洁的能源。目前所有的氢能制备工艺中, 生物制氢技术能最大限度保护环境、节约不可再生能源。美国弗吉尼亚理工大学生物系统工程系教授 Zhang 等人^[25]利用合成生物学原理, 将 13 个已知的酶组成一个非天然的新的催化体系, 从而使淀粉和水在温和条件下产生氢, 再通过燃料电池产生电能。这在汽车领域应用潜力巨大, 有可能成为驱动汽车的绿色能源。

4.2 生物产乙醇

生物燃料一般是指通过生物资源生产的燃料乙醇和生物柴油, 可以替代由石油制取的汽油和柴油, 是可再生能源开发利用的重要方向。这方面的研究例子有 Sonderegger 等^[26]在啤酒酵母的木糖代谢过程中编程磷酸酮(醇)醇酶途径来增加 NAD⁺ 的有效利用, 从而增加乙醇的产量。Trinh 等^[27]通过定向敲除策略去除大肠杆菌中与乙醇代谢无关的途径, 优化从戊糖和己糖生产乙醇的途径, 进而提高乙醇的产量。Dexter 等^[28]利用集胞藻 *Synechocystis* sp. PCC 6803 自动光合作用将 CO₂ 转化为乙醇。转化采用了双倍同源重组体系将丙酮酸脱羧酶(pdc) 和乙醇脱氢酶(adh) 基因从天然的乙醇产生菌运动发酵单孢菌(*Zymomonas mobilis*) 整合到集胞藻 *Synechocystis* sp. PCC 6803 基因组中, 并在强的光驱动的 psbAII 启动子作用进行表达。

4.3 生物产脂肪烃、高级醇

美国 LS9 可再生石油公司的研究人员利用来自多种生物的基因及生产脂肪酸的生化途径, 用合成生物学方法创造出一些代谢模块, 插入微生物后, 通过不同的组合, 这些模块可以诱导微生物生产并分

泌出长度及分子结构符合公司要求的烃分子: 原油、柴油、汽油等能源物质。生产的石油烃将浮到发酵罐上层, 而发酵罐下层主要是营养混合物水溶液, 因而产品易于分离提取^[12]。与目前的燃料乙醇生产技术相比, 由于不需要能耗非常高的乙醇精馏技术, 故可使能耗降低 65%(<http://www.technologyreview.com/TR35/Profile.aspx?Cand=T&TRID=603>)。

Keasling 及其同事^[29]通过合成生物学方法对大肠杆菌进行改造, 让它将单糖生成可直接应用的生物燃料—脂肪酯、脂肪醇和蜡。他们又让大肠杆菌来分泌半纤维素酶, 进而将纤维素转化为生物燃料。

通常情况下, 生产理想产品的微生物要么本身特性要么是因为异源途径的插入, 生产能力都很低。为了建立一条经济的切实可行的途径, 需要改良微生物的性能, 使它有高的原材料转化率, 生产目标产品^[30]。Liao 等^[31]在大肠杆菌中重构了异丁醇产生途径, 利用葡萄糖, 以非发酵途径合成支链高级醇类生物燃料。Liao 等^[32]还利用二氧化碳和太阳光定向光合作用生产异丁醛。

5 合成生物学在生物基化学品领域的应用

生物基化学品领域, 可利用重组体细胞来生产用于塑料和纺织品的化工前体物, 如: 1,3-丙二醇和蛛丝。美国杜邦 (Dupont) 公司利用大肠杆菌合成了重要的工业原料 1,3-丙二醇等^[33]。佛得角的一家公司利用计算和合成生物学工具及合成基因文库的基因多样性, 在酵母内设计优化了一个代谢途径, 利用糖类、植物油来生产脂肪酸(http://bio.org/ind/syntheticbiology/Synthetic_Biology_Everyday_Products.pdf)。也有人利用生物膜生产化工产品^[34]。常规的塑料材料如聚氯乙烯(PVC), 聚对苯二甲酸乙二酯 (PET) 和聚丙烯(PP) 是采用石油或化石燃料制成的, 在环境中难降解, 易污染环境。南朝鲜的科研人员成功采用代谢途径工程, 进行基因测序及基因合成, 在一个非天然生产环保型可降解性塑料聚羟基脂肪酸(PHA) 的菌株中组装了 PHA 代谢途径, 构建了稳定生产的工业化菌株, 从而发酵糖来生产 PHA^[35, 36]。

6 其他领域的应用

除了在上述领域的应用外, 运用合成生物学可以制成各种各样的细菌, 用来清除垃圾及含有有害

细菌的生物膜, 消除水污染, 处理核废料; 可以制造生物机器, 用来探测化学和生物武器, 发出爆炸物警告, 甚至可以协助人类寻找宇宙中的其他生命迹象等^[37, 38].

7 合成生物学与细菌群体感应系统

费氏弧菌(*Vibrio fischeri*)是一类具有群体感应功能的海洋发光弧菌. 它们可以产生并向细胞外分泌一些信号分子—高丝氨酸内酯(AHL), 细菌彼此间利用这些释放到环境中的 AHL 来进行交流, 并感应到群体密度变化. 本课题组采用单因素试验及均匀设计方法对 *Vibrio fischeri* ATCC 7744 的培养基组分进行优化, 确定其适合的生长条件^[39].

luxR 是 *Vibrio fischeri* 控制群体感应相关功能调节蛋白表达的基因. 本课题组以 *Vibrio fischeri* ATCC 7744 基因组为模板, 采用 PCR 技术进行基因扩增, 成功扩增出了该段基因. 将扩增出的 *luxR* 基因与载体 pET-32a 连接, 构建了调节蛋白表达质粒 pET-32*luxR*. 分别以 *Vibrio fischeri* ATCC 7744 基因组、质粒 pBOB-*gfp*, pACYC184 为模板, 成功扩增了具有生物砖元件标准前后缀的 *plux*, *gfp*, *Tc^R* 基因. 将扩增出的生物砖元件基因 *Tc^R* 与生物砖质粒骨架 pSB1A3 连接, 构建了质粒 pSB1A3-*Tc^R*^[40].

利用从 MIT 获得的生物砖, 本课题组构建了多种基因电路. 生物砖 pSB1A2-*PlacOI-RBS_{1.0}-luxI-TT*、pSB1A2-*PlacOI-RBS_{1.0}-luxR-TT-lux pR* 分别含有 *Vibrio fischeri* ATCC 7744 中群体感应机制有关的基因 *luxI*、*luxR* 和启动子 *lux pR*, 将这两个电路连接作为信号发生组件. 生物砖 pSB1A2-*RBS0.07-lacZα-ccdb-TT* 含有致死基因 *ccdb*, 作为信号接收组件. 将信号接收组件连接在信号发生组件的下游, 即生物砖 pSB1A2-*PlacOI-RBS_{1.0}-luxI-TT-PlacOI-RBS_{1.0}-luxR-TT-lux pR-RBS0.07-lacZα-ccdb-TT*. 现已研究表明, 随着细菌的增殖, 信号小分子 AHLs 的浓度也随之增高, 当达到一定阈值时可透过细胞膜与细菌中的调节蛋白 LuxR 结合, 结合体能够形成二聚体与 Lux Box 结合, 从而激活后续致死基因的表达, 导致细菌浓度停滞在一定水平.

针对该网络无法人为精确控制其最终浓度的缺点, 本课题组利用定向进化对 *luxR*、*luxI* 基因上游启动子 *lux pR* 进行组合改造, 观察哪些碱基的改变对浓

度阈值的高低有决定性影响. 我们引入神经网络等非线性分析方法, 对定向进化的结果进行协同分析, 建立模型, 最终达到人为控制细胞浓度阈值的目标^[41].

目前, 单细胞微生物间的群体感应提供了一套典型的细胞交流机制. 通过设计与组装群体感应中的关键元件, 如受体蛋白 TraR、信号分子 AHL 等, 可以构建一组细胞浓度控制模型. 而进一步对设计的模型改造, 则可以获得细胞浓度调控模型, 让细胞浓度稳定在预先设定的平衡点. 本课题组通过对 AHL 与 TraR 整个结合过程的动力学分析, 得到了每一阶段的特点, 并筛选到蛋白 TraR 上的 10 个敏感位点, 很可能是 AHL 与 TraR 相互作用中的关键部位, 因此对这些位点的修饰或改造可望有的放矢^[42].

另外, 本课题组还在构建并用 NADH 和 NADPH 生物转化甘油制备 1,3-丙二醇的合成生物系统、核酸适体筛选、酶的耦联体系等方面开展了相关的研究工作^[43, 44].

8 展望

8.1 应用前景与风险的争议

虽然合成生物学还处在“婴儿期”, 但运用“细胞工厂”的理念, 将其应用到工业领域, 一定会产生重要的研究成果, 具有良好的应用前景. 然而合成生物学的研究也引发了新一轮科学伦理的争论^[45], 一些科学家担心这一技术将来会被滥用, 如被恐怖分子利用来产生生化武器、对环境和生物多样性产生不利的影响等, 要求相关机构制定合适的法规. 因此, 在人工合成基因组制造支原体细胞的研究成果报道的当天, 美国总统奥巴马便要求评估这类研究对医学、环境、安全等领域的影响. 2010 年 12 月美国生物伦理事务研究总统委员会完成了奥巴马交给的任务, 并提出了共包括 18 条建议的正式研究报告. 报告指出合成生物学提供非凡的前景: 创造清洁能源、污染控制和医药的新产品, 使化工生产和制造业产生巨大变革, 创造新的经济机会. 合成生物学将取得巨大成果, 但只有其中有限的成果会引起有限的风险, 当前没有必要签署额外的联邦条例制止或延期合成生物学领域的研究. 主张联邦政府通过总统办事机构对科学进展及其益处和风险要组织实时的评估, 保持对潜在益处和风险的前瞻性. 政府的职责是确保子孙后代在科学进展中将来可能面临的风险现在得

以最小化. 建议所有的研究人员都要通过伦理学教育, 向大众更好地传播关于合成生物学的知识, 鼓励私人 and 公共部门之间的对话, 以获得开放交流和合作. 其中一个想法是建立生物学版本的 FactCheck.org 网站, 让公众可以从中识别关于科学的主张哪些是真实的, 哪些是不真实的. (<http://www.bioethics.gov/documents/synthetic-biology/PCSBISynthetic-Biology-Report-12.16.10.pdf>)

8.2 发展瓶颈及发展方向

合成生物学在工业应用领域研究主要集中在菌株改良和代谢途径改造方面, 包括生物学元件的标准化、生物途径和线路的计算机辅助设计、代谢途径的自动组装. 生物元件的构建方面, 更多的集中在模块的设计上, 而不是基因元件的构建上. 通过改进构建生物砖的手段、设计工具, 从而提高效率. 但是, 由于细胞内部功能基因的表达远不像电路板上晶体管开关那样简单, 细胞代谢网络的复杂程度也非电

路板可比, 因此合成生物学的发展面临以下几个瓶颈问题: 开发易于设计的、特征良好体现的底盘生物, 标准组合元件的构建, 用于调节线路的更好的模型, 用于设计的新的信息学工具, DNA 合成和组装的新方法. 将 DNA 小片段组装成大片段对构建新的生物途径是最重要的, 同时也是发展的主要瓶颈. 所以今后合成生物学的研究与技术开发应聚焦若干重要的工业生物体系, 以系统生物学思想为指导, 在分子和细胞等层次上, 综合高通量、高灵敏度的筛选以及比较基因组学、转录组学、蛋白质组学、代谢组学、结构生物学和生物信息学等理论和技术, 发展合成生物学的基础理论, 开发合成生物学所需要的核心工程技术: 建立大片段 DNA 设计和合成技术及新生物功能元件或多元件组成的功能单位及其更高级复杂反应系统、装置等的设计、组装、制造及调控技术, 从而建立从单基因到代谢途径的基因全合成、检测、分析及应用的综合生化技术、蛋白质体外人工生物合成体系及相关技术体系^[46, 47].

致谢 本工作得到国家自然科学基金(30770059, 21076172)和中央高校基本科研业务费专项资金(2010121050)资助, 特此一并致谢.

参考文献

- 1 Blake WJ, Isaacs FJ. Synthetic biology evolves. *Trends Biotechnol*, 2004, 22: 321–324
- 2 Pedraza JM, Oudenaarden AV. Noise propagation in gene networks. *Science*, 2005, 307: 1965–1969
- 3 Mark AB, Emily CP, Uwe T, Brigitte HT. Social and ethical checkpoints for bottom-up synthetic biology, or protocells. *Syst Synth Biol*, 2009, 3: 65–75
- 4 罗巖辉, 余劲聪, 方柏山. 合成生物学的研究方向与应用. 华侨大学学报(自然科学版), 2009, 30: 1–5
- 5 张春霆. 合成生物学研究的进展. 中国科学基金, 2009, 2: 65–69
- 6 Gibson DG, Glass JI, Lartigue C, Noskov V, Chuang RY, Algire MA, Benders GA, Montague MG, Ma L, Moodie MM, Merryman C, Vashee S, Krishnakumar R, Assad-Garcia N, Andrews-Pfannkoch C, Denisova EA, Young L, Qi ZQ, Segall-Shapiro TH, Calvey CH, Parmar PP, Hutchison CA, Venter JC. Creation of a bacterial cell controlled by a chemically synthesized genome. *Science*, 2010, 329: 52–56
- 7 Pennisi E. Synthetic genome brings new life to bacterium. *Science*, 2010, 328: 958–959
- 8 Royal Society of Chemistry, Science and Technology Department. A third industrial revolution. *Integr Biol*, 2009, 1: 148–149
- 9 Martin VJJ, Pitera DJ, Withers ST, Newman JD, Keasling JD. Engineering a mevalonate pathway in *Escherichia coli* for production of terpenoids. *Nat Biotechnol*, 2003, 21: 796–802
- 10 Ro DK, Paradise EM, Ouellet M, Fisher KJ, Newman KL, Ndungu JM, Ho KA, Eachus RA, Ham TS, Kirby J, Chang MCY, Withers ST, Shiba Y, Sarpong R, Keasling JD. Production of the antimalarial drug precursor artemisinic acid in engineered yeast. *Nature*, 2006, 440: 940–943
- 11 Kohanski MA, Dwyer DJ, Collins JJ. How antibiotics kill bacteria: from targets to networks. *Nat Rev Microbiol*, 2010, 8: 423–35
- 12 赵学明, 王庆昭. 合成生物学: 学科基础、研究进展与前景展望. 前沿科学, 2007, 3: 56–66
- 13 Cheng Q, Xiang LK, Izumikawa M, Meluzzi D, Moore SB. Enzymatic total synthesis of enterocin polyketides. *Nature Chem Biol*, 2007, 3:

557–558

- 14 Singh R. Facts, Growth, and opportunities in industrial biotechnology. *Org Process Res Dev*, 2011, 15: 175–179
- 15 Sidhu SS, Fellouse FA. Synthetic therapeutic antibodies. *Nat Chem Biol*, 2006, 2: 682–688
- 16 Stoltenburg R, Reinemann C, Strehlitz B. SELEX—A (r)evolutionary method to generate high-affinity nucleic acid ligands. *Biomol Eng*, 2007, 24: 381–403
- 17 Neumann H, Neumann-Staubitz P. Synthetic biology approaches in drug discovery and pharmaceutical biotechnology. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2010, 87: 75–86
- 18 Weber W, Fussenegger M. The impact of synthetic biology on drug discovery. *Drug Discov Today*, 2009, 14: 956–963
- 19 Weber W, Schoenmakers R, Keller B, Gitzinger M, Grau T, Baba MDE, Sander P, Fussenegger M. A synthetic mammalian gene circuit reveals antituberculosis compounds. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 9994–9998
- 20 Na D, Kim TY, Lee SY. Construction and optimization of synthetic pathways in metabolic. *Curr Opin Microbiol*, 2010, 13: 363–70
- 21 Dean JT, Tran L, Beaven S, Tontonoz P, Reue K, Dipple KM, Liao JC. Resistance to diet-induced obesity in mice with synthetic glyoxylate shunt. *Cell Metab*, 2009, 9: 525–536
- 22 Khalil AS, Collins JJ. Synthetic biology: applications come of age. *Nat Rev Genet*, 2010, 11: 367–379
- 23 Stahler P, Beier M, Gao X, Hoheisel DJ. Another side of genomics: Synthetic biology as a means for the exploitation of whole-genome sequence information. *J Biotechnol*, 2006, 124: 206–212
- 24 Connor RM, Atsumi S. Synthetic biology guides biofuel production. *J Biomed Biotechnol*, 2010, 2010: 1–9
- 25 Zhang YHP, Evans BR, Mielenz JR, Hopkins RC, Adams MWW. High-yield hydrogen production from starch and water by a synthetic enzymatic pathway. *Plos One*, 2007, 5: 1–6
- 26 Sonderegger M, Schumperli M, Sauer U. Metabolic engineering of a phosphoketolase pathway for pentose catabolism in *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl Environ Microbiol*, 2004, 70: 2892–2897
- 27 Trinh CT, Unrean P, Srienc F. Minimal *Escherichia coli* cell for the most efficient production of ethanol from hexoses and pentoses. *Appl Environ Microbiol*, 2008, 74: 3634–3643
- 28 Dexter J, Fu PC. Metabolic engineering of cyanobacteria for ethanol production. *Energy Environ Sci*, 2009, 2: 857–864
- 29 Steen YJ, Kang YS, Bokinsky G, Hu ZH, Schirmer A, McClure A, Cardayre SB, Keasling JD. Microbial production of fatty-acid-derived fuels and chemicals from plant biomass. *Nature*, 2010, 463: 559–562
- 30 王俊姝, 祁庆生. 合成生物学与代谢工程. 生物工程学报, 2009, 25: 1296–1302
- 31 Atsumi S, Hanai T, Liao JC. Non-fermentative pathways for synthesis of branched-chain higher alcohols as biofuels. *Nature*, 2008, 451: 86–90
- 32 Atsumi S, Higashide W, Liao JC. Direct photosynthetic recycling of carbon dioxide to isobutyraldehyde. *Nat Biotechnol*, 2009, 27: 1177–1180
- 33 Celińska E. Debottlenecking the 1,3-propanediol pathway by metabolic engineering. *Biotechnol Adv*, 2010, 28: 519–530
- 34 Blake WJ, Isaacs FJ. Synthetic biology evolves. *Trends Biotechnol*, 2004, 22: 321–324
- 35 Jung YK, Kim TY, Park SJ, Lee SP. Metabolic engineering of *E. coli* for the production of polylactic acid and its copolymers. *Biotechnol Bioeng*, 2010, 105: 161–171
- 36 Yang TH, Kim TW, Kang HO, Lee SH, Lee EJ, Lim SC, Oh SO, Song AJ, Park SJ, Lee SY. Biosynthesis of polylactic acid and its copolymers using evolved propionate CoA transferase and PHA synthase. *Biotechnol Bioeng*, 2010, 105: 150–160
- 37 Lu TK. and Collins JJ. Dispersing biofilms with engineered enzymatic bacteriophage. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 11197–11202
- 38 Benner SA. Synthetic biology: Act natural. *Nature*, 2003, 421: 118
- 39 罗巖辉, 王文妍, 岳俊阳, 方柏山. 海洋费氏弧菌培养条件的研究. 环境科学与技术, 2010, 33: 20–23
- 40 韩建峰. *Vibrio fischeri* ATCC7744 生长特性考察及人工群体感应通路的构建. 硕士学位论文. 厦门: 华侨大学, 2010
- 41 Yu JC, Lin S, Fang BS. BestCodon: Novel software for codon bias analysis. *J Biotechnol*, 2008, 136: 349–350
- 42 岳俊阳. 蛋白 TraR 与复合体的分子动力学模拟及其在细胞浓度控制模型中的合成生物学应用. 硕士学位论文. 厦门: 华侨大学, 2010
- 43 彭益强, 庄园, 林志强, 黄文爱, 方柏山. 工程菌发酵产酶及其在 1,3-丙二醇耦合酶催化制备中的应用. 化工进展, 2010, 29: 2143–2148
- 44 陈宏文, 聂金峰, 陈国, 方柏山. 克雷伯杆菌甘油脱氢酶和 1,3-丙二醇氧化还原酶的动力学机制研究. 生物工程学报, 2010, 26: 177–182
- 45 Douglas T, Savulescu J. Synthetic biology and the ethics of knowledge. *J Med Ethics*, 2010, 36: 687–693

- 46 杨琛, 姜卫红, 杨晟, 赵国屏. 合成生物学与工业生物技术. 中国基础科学(工业生物技术专刊), 2009, 11: 38–39, 37
47 Otero JM, Nielsen J. Industrial systems biology. *Biotechnol Bioeng*, 2010, 105: 439–460

Advance of synthetic biology in industrial application

WANG ZhaoShou, PENG JiangHai, HU YiDan & FANG BaiShan

Department of Chemical and Biochemical Engineering, College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, China

Abstract: Synthetic biology has been attracted to human because of the success of creating man-made organism and assembling biosynthesis pathway for producing the anti-malarial drug Artemisinin. This research focused on the application of synthetic biology in the fields of pharmaceuticals, bioenergy, chemicals based on biomass and other industrial fields. Examples in pharmaceutical field included Artemisinin, antibiotics, synthetic antibodies, new therapeutic method and novel drug development, assay and diagnosis reagents. Meanwhile, examples in bioenergy included bio-hydrogen, bio-ethanol, bio-aliphatic hydrocarbons, bio-higher ethanol and so on. Besides, examples in chemicals based on biomass included 1,3-propanediol, fatty acids, biodegradable plastics, etc. The application in other fields involved environmental protection, environmental monitoring, life sciences discovering and so on. The concerned researches about synthetic biology in our group were also demonstrated, which included the construction of cell concentration-controlled system and synthetic biological systems for biotransformation of glycerol into 1,3-propanediol using both NADH and NADPH, aptamer screening and coupled system of enzymes. Finally, the application of perspective, risks, development bottleneck and trend of synthetic biology were analysed. It was indicated that further research of synthetic biology should focus on several fundamental industrial biosystems to expand the basic theory, develop the key engineering technologies, construct man-made biosynthesis and technology systems, and make use of synthetic pathways to produce high added value products.

Keywords: synthetic biology, industrial application, pharmaceuticals, bioenergy, chemicals based on biomass, developing bottleneck, development trend