



微生物活体材料的制备与成型方法研究进展

石昌伟, 崔益豪, 刘磊, 侯帅*

江苏大学材料科学与工程学院, 新材料研究院, 镇江 212013

* 联系人, E-mail: [hou@ujs.edu.cn](mailto:houl@ujs.edu.cn)

2024-04-01 收稿, 2024-05-27 修回, 2024-05-30 接受, 2024-05-31 网络版发表

国家自然科学基金(22302081)和江苏省自然科学基金(BK20230519)资助

摘要 微生物活体材料是微生物活细胞与细胞外基质的结合, 它融合了材料科学与微生物技术的理念, 呈现出不同于传统材料的特性和优势. 本文探讨了活体材料的制备和成型方法的最新研究成果. 其制备技术包括“自下而上”的生物学方法和“自上而下”的材料学方法. 这些方法依赖于合成生物学或材料科学技术以控制和提升活体材料的性能. 在成型技术方面, 模塑成型、微胶囊化、纺丝和3D生物打印等方法可用于加工和塑造活体材料, 实现对其形状和结构的精确定制. 这些制备和成型技术优化了材料的力学性质、营养物质的传输以及微生物的功能分区, 为拓宽活体材料的应用范围提供了强有力的支持. 未来的研究将专注于进一步提升活体材料的加工精度、安全性、稳定性和功能性, 预期活体材料将在生物医疗、环境治理和可持续发展等多个领域发挥关键作用.

关键词 活体材料, 水凝胶, 3D打印, 合成生物学

“活体材料”(living materials)一词在2011年后开始被广泛使用^[1-3], 早期主要泛指活细胞与非生命材料的结合, 将微观细胞制备成宏观材料使用. 随后, “工程化的活体材料”(engineered living materials, ELM)概念被提出^[4,5], 它仍指代活细胞(特别是微生物)及其细胞外基质共同形成的宏观材料, 但强调了材料可复制、自我修复以及对外部环境的响应等类似于生命体的性质^[6]. 同时, ELM使用的细胞多为工程细菌或真菌, 基因改造为材料提供了更多的非天然功能. 近年来, 活体材料相关研究发展迅速, 其含义也随之发生演变^[7], 目前被称为ELM的材料更为广泛, 不但包含了细胞的集合体, 还包含了通过材料学手段修饰过的离散细胞^[8]. 本文讨论的活体材料限定为微生物活细胞与细胞外基质(自然形成或人工合成)组成的微生物群体^[9].

活体材料融合了微生物技术与材料科学的理念^[10-12], 展现出与传统材料不同的特征, 具备多样的生

物功能和性质. 其多样性源于微生物自身丰富的种类(细菌、真菌、微藻等)和功能, 以及通过合成生物学对其代谢路径和功能的精确调控. 此外, 通过精细调节细胞外聚合物基质的组成, 不但可以调节材料的力学和流变学性质, 还可以控制微生物细胞和细胞外基质的相互作用, 从而精确调控材料的物理化学和生物性质. 这些独特性质使它们在生物医疗、环境治理和可持续发展等领域具有巨大的应用潜力^[13].

本文以2021年之后发表的文献为主, 分两部分对活体材料的制备与成型相关进展进行论述. 首先, 本文分别介绍“自下而上”的生物学方法和“自上而下”的材料学方法这两类制备活体材料的策略. “自下而上”的方法以单个微生物细胞为起点, 利用生物特性或者理性设计改造底盘细胞, 获得自组装的生物活体材料. 而“自上而下”的方法以水凝胶、无机物和电子元件等非生命材料为细胞外基质, 将微生物细胞直接封装在其

引用格式: 石昌伟, 崔益豪, 刘磊, 等. 微生物活体材料的制备与成型方法研究进展. 科学通报, 2024, 69: 3144–3153

Shi C W, Cui Y H, Liu L, et al. Advances in the preparation and processing of microbial living materials (in Chinese). Chin Sci Bull, 2024, 69: 3144–3153, doi: [10.1360/TB-2024-0350](https://doi.org/10.1360/TB-2024-0350)

中,得到微生物与非生命材料相结合的杂化材料.然后,本文介绍如何运用模塑成型、微胶囊化、纺丝、3D生物打印等制造技术来加工和塑造活体材料,以实现对其尺寸和结构的高度定制,为活体材料的广泛应用提供有力支持.这部分将特别强调材料的微观和宏观结构对其功能的影响.最后,本文展望活体材料的未来发展方向.通过本文的论述,读者将能够全面深入地了解微生物活体材料的制备与成型方法及其在各个领域的应用前景.

1 活体材料的制备方法

1.1 “自下而上”的生物学方法

微生物在适宜的生长环境下,通过分泌蛋白质和多糖等生物大分子相互黏附,在固体表面或气液界面上形成宏观的群体结构,即生物膜(biofilm).研究人员借助生物膜的形成机制,采用合成生物学技术对这些分泌物进行功能化修饰,赋予生物膜非天然功能(图1(a))^[13].以大肠杆菌分泌的CsgA蛋白为例,这种蛋白是构成卷曲纤维(curli)的主要成分,在大肠杆菌生物膜的形成过程中发挥关键作用.基于CsgA可引入定制多肽序列,在不影响生物膜形成的同时使之展现出极高的功能化潜力.例如,将CsgA与藤壶蛋白cp19k重组,形成的生物膜可作为生物黏合剂^[14];与贻贝足蛋白Mfp重组可促进羟基磷灰石在生物膜中的生物矿化^[15].

除了蛋白质,细菌分泌的多糖也为活体材料的制备提供了另外的途径.木醋杆菌能高效生产纤维素,直

径在纳米尺度的纤维素互相缠绕形成水凝胶,将细菌包裹在其中形成活体材料.这类材料由于内部活细菌在适宜环境中可不断产生纤维素,从而具有自修复和再生能力.例如,较小的纤维素活体材料拼接后可发生融合,为材料的图案化和模块化设计提供了基础^[16].然而,相较于蛋白质易于定制序列的优势,纤维素的成分单一,且控制其合成的基因簇较为复杂,很难对其进行功能化修饰.为了在纤维素活体材料中引入更多的功能,研究人员将木醋杆菌与其他易于进行基因改造的模式生物(酵母或大肠杆菌)共同培养,形成共生体系^[17,18].其中,木醋杆菌负责纤维素的生产用于形成宏观材料,而另外一种微生物也被包封在其中,为之提供生物传感等功能^[17,18].

上述方法借助了微生物分泌的天然大分子,而在微生物表面表达“从头设计”的蛋白质将为活体材料的制备提供更多的控制度.Ajo-Franklin课题组^[19]在新月柄杆菌表面高密度表达了蛋白质BUD,使细菌生长过程中互相黏附,最终形成厘米尺度的活体材料.BUD蛋白从内向外分为4个区域:(1)表面锚定区域,它与细菌表面的多糖绑定,促进了BUD的高密度展示;(2)弹性蛋白区域,用于改变材料的力学性质;(3)SpyTag功能化标签,它能够与含有SpyCatcher的功能化分子结合,引入催化等其他功能;(4)自我黏附区域,用于促进细菌的自组装.由于其强大的可设计性,BUD蛋白为活体材料的力学性质和功能化提供了灵活有效的方法.

受到胶体粒子自组装的启发,研究人员开发了一类通过微生物细胞聚集来构建活体材料的方法^[20~22].

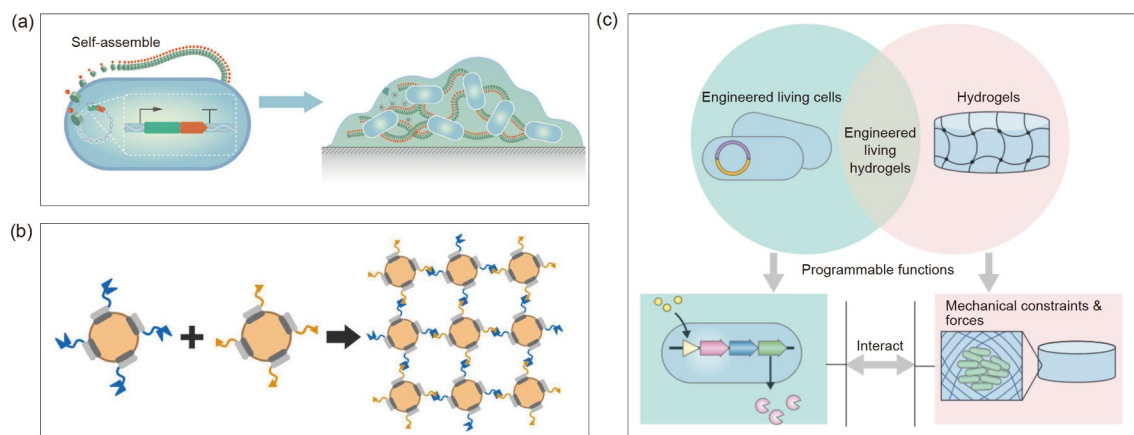


图1 (网络版彩色)制备活体材料的方法.“自下而上”的生物学方法:(a)生物膜的形成^[13];(b)微生物的可控组装^[21].“自上而下”的材料学方法:(c)水凝胶包封^[23]
Figure 1 (Color online) Methods for the preparation of living materials.“Bottom-up” methods:(a) Formation of biofilms^[13];(b) induced aggregation of microorganisms^[21].“Top-down” methods:(c) Hydrogel encapsulation^[23]

戴卓君课题组利用蛋白质展示技术,在大肠杆菌表面展示纳米抗体或与之相识别的抗原,这两种具有亲和性互补表面的细菌混合后发生自组装^[20],形成的细菌活体材料具有适合的流变学性质,可通过纺丝和3D打印加工成复杂结构.抗原与抗体的识别还赋予材料可快速修复的性质.切分开的材料合并后在5分钟内可完成融合,所需时间远远短于依赖微生物的生长完成自修复的方法.更重要的是,这一方法允许不同功能的细菌按照一定的空间次序排列,可更好地发挥细菌之间的协作.类似地,在酵母表面也可分别展示具有亲和性的两种多肽,例如SpyCatcher/SpyTag或CL7/Im7.混合两种不同表面的功能化酵母后可以发生自组装,形成的活体材料可以完成海水铀富集或生物黏附等功能(图1(b))^[21].

1.2 “自上而下”的材料学方法

使用水凝胶将微生物包封在其中,是“自上而下”制备活体材料的主要策略(图1(c))^[23].水凝胶是由聚合物交联形成的具有良好生物相容性的材料,它不但为微生物提供了高含水量的生存环境,其多孔结构和渗透性也确保了充分的物质交换.同时,的三维网络限制了细菌的运动,这有助于维持和调控其生物活性.

用于包封微生物的水凝胶材料种类繁多,最常用的包括多糖(如海藻酸盐)、蛋白质(如明胶)、合成高分子(如Pluronic F-127)等.海藻酸盐水凝胶是一种离子交联水凝胶,因其温和的凝胶化条件、低成本和简便易行而备受青睐.在钙离子等二价阳离子的存在下,它们能迅速形成凝胶,是封装微生物的理想材料.明胶和Pluronic F-127水凝胶则是一种热凝胶,其凝胶-溶胶转变温度适宜,不会使细菌失活,因此也广泛应用于细菌的包封.然而,这些温敏水凝胶的力学强度不足,可通过化学交联或光交联的方法提高力学强度.例如,对Pluronic F-127引入甲基丙烯酸甲酯官能团后可进行光交联,提高力学强度的同时也限制了细菌向外部环境中的逃逸^[24].这种交联程度对细菌逃逸的控制可用于控制益生菌的释放^[25].形成穿插网络结构的水凝胶也有利于增强活体材料的力学性质^[26,27].例如,利用辣根过氧化物酶/葡萄糖氧化酶双酶引发系统,离子交联的海藻酸钠水凝胶中可原位生成聚N-异丙基丙烯酰胺(PNIPAm)温敏聚合物^[26].这种方法不但增强了力学性质,还得到一种内部孔径随温度变化的活体材料,可作为生物反应器水解有毒的有机磷化合物.

水凝胶的力学性质对封装在其中的微生物行为的影响也是值得重视的问题,对于设计和预测活体材料的功能至关重要.研究者通过引入不同程度的共价交联来调节水凝胶的力学和流变学性质,并研究细菌在其中的生长和代谢^[28].水凝胶中的细菌生长成为分立的菌落,其大小由交联程度控制.随着基质弹性模量的增加,菌落体积减小,球形度增加.蛋白质产量随交联程度的变化趋势则有所不同,中等交联程度网络中的产量最高^[28].这些结果表明,基质设计可用于控制和调节活体材料的组成和功能.

除水凝胶外,还可以利用金属纳米材料、磁性纳米颗粒和半导体等诸多非生命材料,以制备功能化的活体材料. Choi等人^[29]合成了由Ag-Au核壳结构纳米线形成的多孔泡沫材料,其大孔结构允许电活性细菌大量负载入其中,同时由于其出色的导电性,这种杂化材料表现出高密度的电流输出.将细菌和NdFeB磁性纳米颗粒形成杂化活体材料,可以得到磁性活体传感器,用于检测肠道出血产生的血红素^[30].在腹部皮肤上贴附磁铁可用于维持材料的位置,通过抵抗肠道的蠕动来延长它们在胃肠道中的停留时间.微生物可通过表面沉积^[31]或细胞摄入^[32]等方法与半导体纳米颗粒相结合,从而形成半导体-生物杂化材料.半导体具有光捕获能力,在光照下产生的电子被微生物收集和利用,通过微生物的代谢生产生物燃料、氢气和其他化学品^[31-33].

将细菌整合到电子元器件中也是一个前沿的研究方向.利用阳离子共轭聚合物可使表面带负电的希瓦氏菌在电极上发生聚集,可用作柔性生物电子器件^[34].希瓦氏菌能利用乳酸作为营养物质并将产生的电子输送到细胞外产生电信号,据此可检测生理液体(如汗水、尿液和血浆)中的乳酸.由于所用共轭聚合物具有导电性,它优化了活体材料中的电子传输,提高了收集生物信号和检测生物标志物的能力.在另一种生物电子通信系统的设计中^[35],输入的电压信号在电极上将氧气还原为 H_2O_2 ,该化学信号诱导了吸附在电极上的细菌的基因表达,所产生的群体感应分子释放到溶液后引起溶液中浮游细菌的进一步基因表达.这一系统可按需发生生物电子通信并同时执行预定的任务.

1.3 不同制备方法的对比

上述两类制备方法在功能化潜力、自修复能力、微生物生长速度、生物安全性和力学性质方面各有特

点(表1)。“自下而上”的生物学方法通过利用微生物形成生物膜的天然能力或在其表面表达黏附性分子实现可控自组装,得到的材料具备高功能化潜力和自修复能力^[16,20]。这些方法依赖于合成生物学技术,在赋予材料复杂功能性的同时,工程化的细胞也表现出代谢压力^[13]。生物膜或微生物组装体中细胞密度很高,材料中物质扩散较慢,细胞生长速度较慢,通常需要较长时间才能形成功能性材料。此外,活体材料中的微生物存在泄漏风险,其生物安全性值得重视。由于微生物行为的复杂性和自组织特性,其力学性质难以精确控制,但可通过改变细胞外基质的性质得到调节^[19]。相比之下,“自上而下”的材料学方法通过将微生物包封在性质可控的基质中,实现了对材料力学性质、生物安全性和微生物生长速度的控制^[23]。这种方法在功能化潜力上同样表现出色,可以通过在基质中加入功能性纳米颗粒或化学修饰实现多样化功能^[29-34]。然而,材料学方法得到的材料自修复能力较低,但有望通过使用具有自修复功能的水凝胶基质得以提高。

2 活体材料的成型

2.1 模塑成型

模塑技术通常用于塑料、玻璃、水凝胶等材料在模具中的成型。模塑不仅简化了材料的生产流程,降低了成本,更是大规模复制复杂结构的首选方案。将微生物与具有生物相容性的非生物材料在模具中混合并交联,能够实现活体材料的高效批量生产(如图2(a))^[36-39]。例如,基于菌丝体的材料制造尤其受益于模塑技术^[37-39]。通过将菌丝体与颗粒状稻草(木质纤维素)混合,菌丝体能够穿透稻草生长出密集的菌丝网络,从而将稻草颗粒紧密结合,形成可生物降解的复合材料。将菌丝体接种到定制模具中并孵化数天,即可制造出各种具有特定形状和结构的产品,如砖块、家具和衣物等。总之,模塑成型是一种简单、廉价、高效的大规模制造技术;然而,当制造需要高度精细结构,尤其是具备高空间和时间分辨率的3D几何结构时,3D打印技术

则更为适宜。

2.2 微胶囊化

与块体活体材料相比,直径在微米级别的球形材料具有更高的比表面积,因而更有利于细菌与环境间的物质交换。根据所需的应用和目标生物材料的特性,可以选择多样化的微胶囊制备技术,包括喷雾干燥、乳化、挤出、微流控技术等。其中,喷雾干燥和乳化技术因成本较低、产量较高而备受青睐,而挤出技术则能提供更为精确和一致的微胶囊尺寸。微流控技术(如图2(b))^[40]以其对微通道内流体流动的精细调控而著称,已成为活体材料研究和制备领域的关键工具。这项技术使研究人员能够在微观层面上精确操控细菌、分子等生物组分,从而创造出具有特定结构和功能的复杂活体材料^[41]。通过设计具有精确微通道结构的微流控芯片,可以实现对细胞生长环境的精细调节,进而将微生物封装在微液滴或凝胶中,模拟并促进其天然生长条件^[42]。微流控技术的应用促进了微生物在微观尺度上的精确定位与排列,为构建具有预定结构和功能的活体材料奠定了基础。

为了防止微珠中的细菌逃逸到环境中造成环境危害,研究人员开发了一种封装体系,它包含一个具有生物相容性的多层硬壳和一个基于海藻酸盐的核心^[43]。这种物理隔离策略杜绝了细菌的逃逸,同时保护了细菌免受抗生素和低pH等不利生存环境的伤害,并方便材料的回收。这一材料还展示出细胞-细胞通信和探测水样中的重金属离子等应用。然而,微胶囊结构简单,体积较小,不如宏观材料操作简便,因此其应用相对受限。不过,微胶囊作为原材料可进行二次加工,例如微球可以作为3D打印的生物墨水。

2.3 纺丝

纤维同样具有比宏观块体材料更大的比表面积,有利于包封在其中的微生物进行代谢与增殖。此外,纤维可制备成同轴的核壳纤维结构用于定制其组成、结构和功能^[44,45]。与微凝胶相比,纤维易于进一步加工成

表1 不同制备方法的对比

Table 1 Comparison of different preparation methods

制备方法	功能化潜力	自修复能力	微生物生长速度	生物安全性	力学性质
“自下而上”的生物学方法	高	高	慢	有风险	难控制
“自上而下”的材料学方法	高	低~中	可控	可控	可控

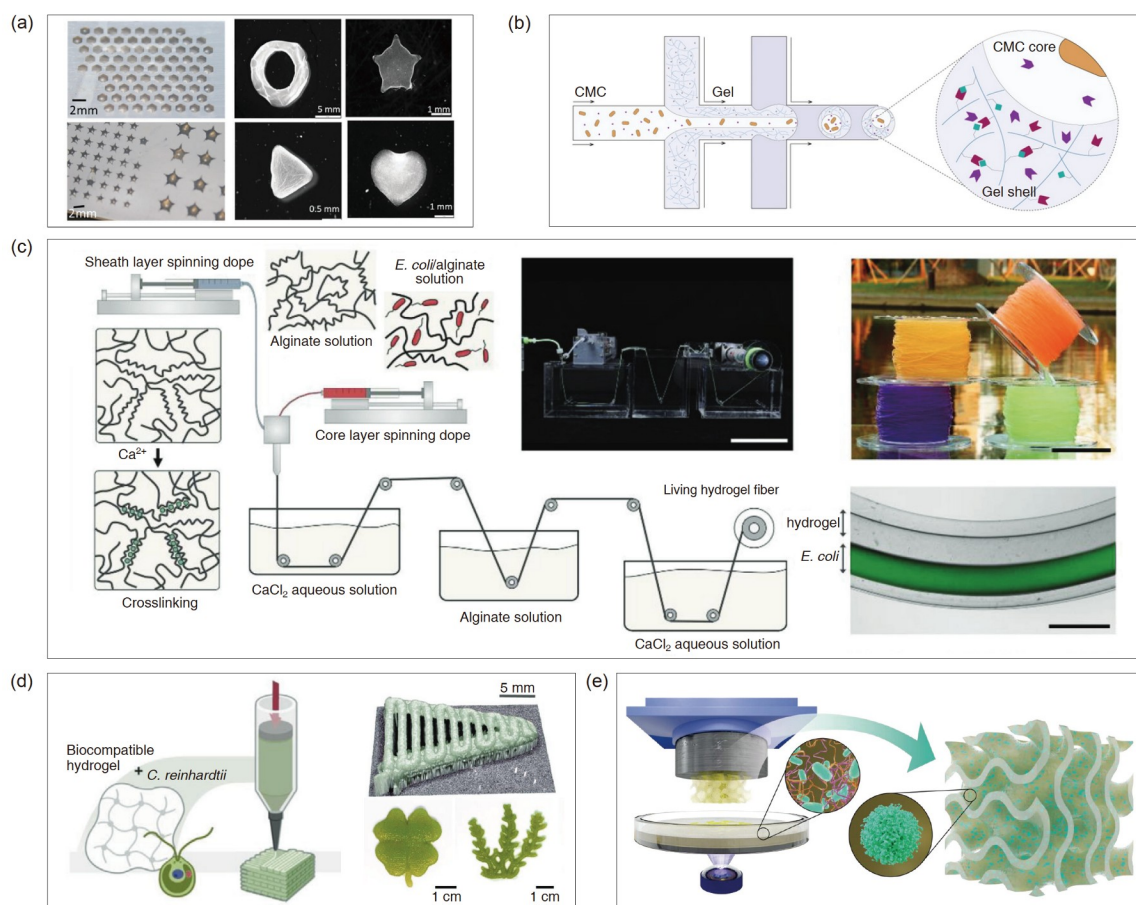


图 2 (网络版彩色)活体材料的主要成型方法. (a) 模塑成型^[36]; (b) 微胶囊化^[40]; (c) 纺丝^[44]; (d) 挤出式3D打印^[51]; (e) 光固化3D打印^[55]
Figure 2 (Color online) Methods for processing of living materials. (a) Molding^[36]; (b) micro-encapsulation^[40]; (c) spinning^[44]; (d) extrusion-based 3D printing^[51]; (e) light-based 3D printing^[55]

织物和可穿戴设备^[44]。纺丝方法主要包括静电纺丝和湿法纺丝。静电纺丝通过施加高电压将聚合物溶液喷射成细纤维，进而在收集器上形成含细胞的非织造织物，已被证明适用于包裹细菌、酵母和微藻等生物体，制备单一材料纤维、核壳结构纤维和含微胶囊的纤维，满足不同的应用需求^[46-48]。在湿法纺丝中，含有微生物的聚合物溶液被挤出并在凝固浴中沉淀形成固态纤维(图2(c))^[44]。例如，海藻酸盐体系的湿法纺丝中使用 Ca^{2+} 溶液作为凝固浴^[20,44]，而明胶体系的湿法纺丝中则使用冰水浴^[49]。这些过程需要对纺丝参数进行精确控制，如溶液浓度、电压、流速和环境湿度，以保证纤维的质量和细胞的活性。

在具有同轴核壳结构的纤维中，外壳可被制备成致密结构，有助于防止基因改造的微生物及其耐药性基因泄漏到环境中，从而避免生物危害^[44]。这类纤维活体材料已展现出从柔性设备到水污染物检测等各种应

用^[44]。核与壳中还可封装不同的微生物，它们的相互交流与协同作用在完成特定功能时至关重要。通过同轴挤出技术，可以将枯草芽孢杆菌和恶臭球藻封装在纤维的不同区域^[45]。结果表明，藻菌共生体中甲基橙脱色的效率取决于它们的空间分布，这突出了合理分配藻菌二者代谢任务以及控制物质传输的重要性。

2.4 3D生物打印

3D生物打印技术将传统的3D打印技术与最新的生物工程技术相结合，在细菌活体材料的加工与成型中具有巨大潜力^[50]。这种技术主要采用活细胞作为生物墨水，利用先进的打印技术将它们精确分布到特定的生物兼容支撑材料中，从而制造出既有复杂几何形状又具有高度功能复杂性的生物器件(图2(d))^[51]。选择合适的生物墨水是成功构建活体材料的关键，这些材料不仅需要具备良好的生物相容性以保证微生物的生

存和功能表达, 同时还要具有合适的流变学性质. 在挤出式3D打印过程中, 这些墨水需要保持低黏度以确保挤出, 而挤出后要迅速转变为高黏度状态以维持打印形状. 在海藻酸盐和钙离子这一经典体系中, 添加纤维素纳米晶体并控制最佳浓度, 可实现挤出式打印所需的流变性质^[52]. 而另一种策略是在挤出前后使用不同的钙离子浓度来交联海藻酸, 低钙生物墨水打印后添加高钙溶液浸泡以加强和稳定凝胶结构^[53].

水凝胶微粒由于其拥挤效应, 也表现出剪切变稀和快速恢复的流变学特征, 满足挤出式3D打印墨水的需求^[40,54]. 这一现象与水凝胶微粒本身的组成无关, 这使任何加工成微粒的材料都可进行3D打印. 这些颗粒水凝胶可进一步交联, 形成力学稳定且多孔的结构. 材料内部连通的空隙对于包封在其中的微生物与环境之间营养和废物传输至关重要, 是保证细胞在其中代谢和生长的关键.

除挤出式3D打印技术外, 光固化3D打印技术也被用于制造具有复杂结构的活体材料(图2(e))^[55]. 将微生物悬浮在甲基丙烯酸基透明质酸和甲基丙烯酸基Pluronic F-127的混合物中, 蓝光照射时引发了甲基丙烯酸基团的交联和材料的固化, 从而实现了打印时的流动性和光聚合后的稳定性. 研究人员成功利用该技术打印出具有复杂形态的生物材料, 并将其用于生物传感器^[55].

3D打印技术能够精确控制材料的结构与微生物的空间分布^[56]. 利用基于液滴的3D打印技术, 能够在亚毫米级别的阵列中精准排列两种具有竞争关系的菌株^[57]. 当这两种菌株均匀混合时, 产毒菌株会消灭易感菌株. 然而, 当它们被并排打印时, 易感菌株得以大量存活, 这是因为最靠近产毒菌株的细胞吸收了毒素, 从而保护了周围的同类细胞. 此外, 水凝胶的微观结构直接决定了物质的传输效率, 进而影响了细胞的生长和功能的发挥. 采用微球作为生物墨水进行3D打印, 得到的含酵母活体材料在生产乙醇方面的效率显著高于

传统的块体水凝胶活体材料^[58], 这说明了微球间隙对于提升物质传输效率的重要性. 在关于利用活体材料生产透明质酸的研究中, 采用3D打印技术制造的网格结构生物反应器的产量超过了实心结构材料的产量^[59]. 具有90°支撑角和中等结构间隔的生物反应器展现出最高的产量^[59]. 另外, 材料的宏观形态和尺寸参数同样影响其性能. 在具有光合作用的活体材料中, CO₂的可用性和光穿透深度都是细胞生长和有机物产率的限制因素. 通过将材料设计成薄片状结构, 可以增大比表面积, 进而提高光合作用效率^[51].

2.5 不同加工方法的对比

在微生物活体材料的成型方法中, 各种技术在结构复杂度、结构精度、传质效率、成本和效率方面各有特点(表2). 模塑成型得到的材料结构复杂度适中, 成本低且效率高, 因此适合大规模生产. 但其结构精度较低, 且得到的一般为体积较大的块体材料, 氧气和营养物质在其中的传质效率较低. 因此, 模塑成型在需要高精度结构和微生物旺盛代谢的应用中受限. 微胶囊化技术则具有较低的结构复杂度和中等的结构精度, 成本较低, 效率较高. 微凝胶中传质效率高, 特别适合需要高表面积的应用, 如生物传感和生物催化. 纺丝技术与微胶囊化类似, 具有较低的结构复杂度和中等的结构精度, 同时也能提供高传质效率, 但需要精确控制纺丝参数以确保纤维质量和细胞活性. 3D生物打印技术则以其高结构复杂度和精度著称, 能够打印出复杂的几何形状和具有高度功能复杂性的生物器件, 而且可以通过优化结构来控制材料中的传质效率, 但其高成本和低效率限制了其在大规模生产中的应用. 通过这些比较, 可以更好地选择适当的成型方法以满足特定应用的需求, 从而优化微生物活体材料的性能.

3 总结与展望

综上所述, “自下而上”的生物学方法和“自上而下”

表 2 不同成型方法的对比

Table 2 Comparison of different processing methods

成型方法	结构复杂度	结构精度	结构中传质效率	成本	效率
模塑成型	中	低	低	低	高
微胶囊化	低	中	高	低~中	中~高
纺丝	低	中	高	中	中~高
3D打印	高	高	低~高	高	低

的材料学方法是制备活体材料的两种基本策略；而模塑成型、微胶囊化、纺丝、3D生物打印等成型技术作为构建具有预定义形状和功能活体材料的关键技术，使我们以前所未有的能力操纵活体材料的微观结构和宏观形态，进而精细调控其物理、化学和生物性质。然而，制备高质量的活体材料仍面临着众多挑战，包括如何提高材料中细胞的长期存活率、增强其力学强度以及实现对材料功能的精确控制等。此外，活体材料的实

际应用前景亦需对其安全性、稳定性和性能进行深入研究验证。未来的研究方向将专注于克服这些挑战，进一步增强活体材料的长期稳定性、提升成型技术的分辨率，并努力降低生产成本。随着技术的进步和研究的深入，我们期待活体材料在未来能够在生物医学、环境治理和可持续发展等众多领域发挥关键作用，通过技术创新和跨学科合作以实现活体材料的广泛应用和商业化。

参考文献

- 1 Tekin H, Tsinman T, Sanchez J G, et al. Responsive micromolds for sequential patterning of hydrogel microstructures. *J Am Chem Soc*, 2011, 133: 12944–12947
- 2 Harper J C, Lopez D A M, Larkin E C, et al. Encapsulation of *S. cerevisiae* in poly(glycerol) silicate derived matrices: Effect of matrix additives and cell metabolic phase on long-term viability and rate of gene expression. *Chem Mater*, 2011, 23: 2555–2564
- 3 Zussman E. Encapsulation of cells within electrospun fibers. *Polym Adv Techs*, 2011, 22: 366–371
- 4 Chen A Y, Zhong C, Lu T K. Engineering living functional materials. *ACS Synth Biol*, 2015, 4: 8–11
- 5 Nguyen P Q, Courchesne N D, Duraj-Thatte A, et al. Engineered living materials: Prospects and challenges for using biological systems to direct the assembly of smart materials. *Adv Mater*, 2018, 30: 1704847
- 6 Lantada A D, Korvink J G, Islam M. Taxonomy for engineered living materials. *Cell Rep Phys Sci*, 2022, 3: 100807
- 7 Srubar III W V. Engineered living materials: Taxonomies and emerging trends. *Trends Biotechnol*, 2021, 39: 574–583
- 8 Dong X, Wu W, Pan P, et al. Engineered living materials for advanced diseases therapy. *Adv Mater*, 2023, 2304963
- 9 Rodrigo-Navarro A, Sankaran S, Dalby M J, et al. Engineered living biomaterials. *Nat Rev Mater*, 2021, 6: 1175–1190
- 10 Hernández-Arriaga A M, Campano C, Rivero-Buceta V, et al. When microbial biotechnology meets material engineering. *Microb Biotechnol*, 2022, 15: 149–163
- 11 Liu A P, Appel E A, Ashby P D, et al. The living interface between synthetic biology and biomaterial design. *Nat Mater*, 2022, 21: 390–397
- 12 Tang T C, An B, Huang Y, et al. Materials design by synthetic biology. *Nat Rev Mater*, 2021, 6: 332–350
- 13 An B, Wang Y, Huang Y, et al. Engineered living materials for sustainability. *Chem Rev*, 2023, 123: 2349–2419
- 14 Li F, Ye L, Zhang L, et al. Design of a genetically programmed barnacle-curli inspired living-cell bioadhesive. *Mater Today Bio*, 2022, 14: 100256
- 15 Wang Y, An B, Xue B, et al. Living materials fabricated via gradient mineralization of light-inducible biofilms. *Nat Chem Biol*, 2021, 17: 351–359
- 16 Caro-Astorga J, Walker K T, Herrera N, et al. Bacterial cellulose spheroids as building blocks for 3D and patterned living materials and for regeneration. *Nat Commun*, 2021, 12: 5027
- 17 Gilbert C, Tang T C, Ott W, et al. Living materials with programmable functionalities grown from engineered microbial co-cultures. *Nat Mater*, 2021, 20: 691–700
- 18 Birnbaum D P, Manjula-Basavanna A, Kan A, et al. Hybrid living capsules autonomously produced by engineered bacteria. *Adv Sci*, 2021, 8: 2004699
- 19 Molinari S, Tesoriero Jr. R F, Li D, et al. A *de novo* matrix for macroscopic living materials from bacteria. *Nat Commun*, 2022, 13: 5544
- 20 Chen B, Kang W, Sun J, et al. Programmable living assembly of materials by bacterial adhesion. *Nat Chem Biol*, 2022, 18: 289–294
- 21 Yi Q, Dai X, Park B M, et al. Directed assembly of genetically engineered eukaryotic cells into living functional materials via ultrahigh-affinity protein interactions. *Sci Adv*, 2022, 8: eade0073
- 22 Zhang M H, Zhang Y Y, Zhao P C, et al. Construction of “lock-key” biological living material based on double engineered bacteria and its application on intestinal retention *in vivo* (in Chinese). *Chin J Biotechnol*, 2023, 39: 1163–1174 [张明慧, 张英英, 赵鹏程, 等. 基于双工程菌的“锁扣”生物活材料构建及其体内肠道滞留应用. *生物工程学报*, 2023, 39: 1163–1174]
- 23 Liu X, Inda M E, Lai Y, et al. Engineered living hydrogels. *Adv Mater*, 2022, 34: 2201326
- 24 Altin-Yavuzarslan G, Brooks S M, Yuan S, et al. Additive manufacturing of engineered living materials with bio-augmented mechanical properties and resistance to degradation. *Adv Funct Mater*, 2023, 33: 2300332
- 25 Rivera-Tarazona L K, Sivaperuman Kalairaj M, Corazao T, et al. Controlling shape morphing and cell release in engineered living materials. *Biomater Adv*, 2022, 143: 213182

- 26 Klemperer R G, Shannon M R, Ross Anderson J L, et al. Bionzymatic generation of interpenetrating polymer networked engineered living materials with shape changing properties. *Adv Mater Technol*, 2023, 8: 2300626
- 27 He F, Ou Y, Liu J, et al. 3D printed biocatalytic living materials with dual-network reinforced bioinks. *Small*, 2022, 18: 2104820
- 28 Bhusari S, Sankaran S, del Campo A. Regulating bacterial behavior within hydrogels of tunable viscoelasticity. *Adv Sci*, 2022, 9: 2106026
- 29 Choi J, Min J K, Kim D, et al. Hierarchical 3D percolation network of Ag–Au core–shell nanowire-hydrogel composite for efficient biohybrid electrodes. *ACS Nano*, 2023, 17: 17966–17978
- 30 Liu X, Yang Y, Inda M E, et al. Magnetic living hydrogels for intestinal localization, retention, and diagnosis. *Adv Funct Mater*, 2021, 31: 2010918
- 31 Jin S, Jeon Y, Jeon M S, et al. Acetogenic bacteria utilize light-driven electrons as an energy source for autotrophic growth. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2021, 118: e2020552118
- 32 Luo B, Wang Y, Li D, et al. A periplasmic photosensitized biohybrid system for solar hydrogen production. *Adv Energy Mater*, 2021, 11: 2100256
- 33 Wang X, Zhang J, Li K, et al. Photocatalyst-mineralized biofilms as living bio-abiotic interfaces for single enzyme to whole-cell photocatalytic applications. *Sci Adv*, 2022, 8: eabm7665
- 34 Wang Z, Bai H, Yu W, et al. Flexible bioelectronic device fabricated by conductive polymer-based living material. *Sci Adv*, 2022, 8: eabo1458
- 35 Terrell J L, Tschirhart T, Jahnke J P, et al. Bioelectronic control of a microbial community using surface-assembled electrogenetic cells to route signals. *Nat Nanotechnol*, 2021, 16: 688–697
- 36 Laromaine A, Tronser T, Pini I, et al. Free-standing three-dimensional hollow bacterial cellulose structures with controlled geometry via patterned superhydrophobic–hydrophilic surfaces. *Soft Matter*, 2018, 14: 3955–3962
- 37 McBee R M, Lucht M, Mukhitov N, et al. Engineering living and regenerative fungal–bacterial biocomposite structures. *Nat Mater*, 2022, 21: 471–478
- 38 Silverman J, Cao H, Cobb K. Development of mushroom mycelium composites for footwear products. *Cloth Text Res J*, 2020, 38: 119–133
- 39 Attias N, Danai O, Abitbol T, et al. Mycelium bio-composites in industrial design and architecture: Comparative review and experimental analysis. *J Clean Prod*, 2020, 246: 119037
- 40 Ou Y, Cao S, Zhang Y, et al. Bioprinting microporous functional living materials from protein-based core-shell microgels. *Nat Commun*, 2023, 14: 322
- 41 Filippi M, Buchner T, Yasa O, et al. Microfluidic tissue engineering and bio-actuation. *Adv Mater*, 2022, 34: 2108427
- 42 Zhang P, Shao N, Qin L. Recent advances in microfluidic platforms for programming cell-based living materials. *Adv Mater*, 2021, 33: 2005944
- 43 Tang T C, Tham E, Liu X, et al. Hydrogel-based biocontainment of bacteria for continuous sensing and computation. *Nat Chem Biol*, 2021, 17: 724–731
- 44 Peng R, Ba F, Li J, et al. Embedding living cells with a mechanically reinforced and functionally programmable hydrogel fiber platform. *Adv Mater*, 2023, 35: 2305583
- 45 Sun Z, Wen H, Di Z, et al. Photosynthetic living fiber fabrication from algal-bacterial consortia with controlled spatial distribution. *ACS Biomater Sci Eng*, 2023, 9: 6481–6489
- 46 Diep E, Schiffman J D. Electrospinning living bacteria: A review of applications from agriculture to health care. *ACS Appl Bio Mater*, 2023, 6: 951–964
- 47 Xu C, Ma J, Liu Z, et al. Preparation of shell-core fiber-encapsulated *Lactobacillus rhamnosus* 1.0320 using coaxial electrospinning. *Food Chem*, 2023, 402: 134253
- 48 Haraguchi R, Demura M, Kawakita H, et al. Photosynthetic nano fibers: Living microalgae packaging into polyvinyl alcohol nanofibers using an electrospinning method. *J Appl Polym Sci*, 2024, 141: e55348
- 49 Wang Y, Kankala R K, Zhu K, et al. Coaxial extrusion of tubular tissue constructs using a gelatin/GelMA blend bioink. *ACS Biomater Sci Eng*, 2019, 5: 5514–5524
- 50 Ze Y, Wang R, Deng H, et al. Three-dimensional bioprinting: A cutting-edge tool for designing and fabricating engineered living materials. *Biomater Adv*, 2022, 140: 213053
- 51 Oh J, Ammu S, Vriend V D, et al. Growth, distribution, and photosynthesis of *Chlamydomonas reinhardtii* in 3D hydrogels. *Adv Mater*, 2024, 36: 2305505
- 52 Boons R, Siqueira G, Grieder F, et al. 3D bioprinting of diatom-laden living materials for water quality assessment. *Small*, 2023, 19: 2300771
- 53 Datta D, Weiss E L, Wangpraseurt D, et al. Phenotypically complex living materials containing engineered cyanobacteria. *Nat Commun*, 2023, 14: 4742
- 54 Hirsch M, Lucherini L, Zhao R, et al. 3D printing of living structural biocomposites. *Mater Today*, 2023, 62: 21–32
- 55 Binelli M R, Kan A, Rozas L E A, et al. Complex living materials made by light-based printing of genetically programmed bacteria. *Adv Mater*, 2022, 35: 2207483
- 56 Kumar R K, Foster K R. 3D printing of microbial communities: A new platform for understanding and engineering microbiomes. *Microb*

- [Biotechnol](#), 2022, 16: 489–493
- 57 Kumar R K, Meiller-Legrand T A, Alcinesio A, et al. Droplet printing reveals the importance of micron-scale structure for bacterial ecology. [Nat Commun](#), 2021, 12: 857
- 58 Li Y, Di Z, Yan X, et al. Biocatalytic living materials built by compartmentalized microorganisms in annealable granular hydrogels. [Chem Eng J](#), 2022, 445: 136822
- 59 Cui Z, Feng Y, Liu F, et al. 3D bioprinting of living materials for structure-dependent production of hyaluronic acid. [ACS Macro Lett](#), 2022, 11: 452–459

Summary for “微生物活体材料的制备与成型方法研究进展”

Advances in the preparation and processing of microbial living materials

Changwei Shi, Yihao Cui, Lei Liu & Shuai Hou*

Institute for Advanced Materials, School of Materials Science and Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China

* Corresponding author, E-mail: hou@ujs.edu.cn

Living materials are a new category of materials that integrate living cells with an extracellular matrix, which can be either naturally derived or synthetically created. These innovative materials are distinguished by their abilities for self-replication, self-healing, and adaptation to environmental changes, properties that reflect the dynamic nature of living organisms. The field of living materials leverages the diversity of microorganisms combined with the targeted manipulation made possible through synthetic biology. This enables the customization of both biochemical and physical properties of the materials, opening up a wide array of potential applications in areas such as biomedicine, environmental remediation, and sustainable development.

There are generally two methods to prepare living materials: The synthetic biology approach and the materials science approach. The first method takes advantage of the natural process of biofilm formation, where microorganisms secrete biological macromolecules to adhere to surfaces and assemble into complex structures. It can also involve the strategic aggregation of microorganisms, utilizing techniques like protein display to modify cell surfaces with complementary adhesive proteins. Advances in synthetic biology have expanded the toolkit for modifying these biological secretions, enhancing the materials with capabilities not found in nature. The second method involves encapsulating microorganisms within hydrogels or other inorganic materials, which provides a supportive environment that fosters microbial growth while enabling precise control over the biological functions of the material. The integration of inorganic nanoparticles, semiconductors, and electronic devices imparts a range of advanced functions to hybrid living materials.

Processing techniques are essential to enable diverse applications of living materials. Molding is a straightforward, cost-effective, and efficient technology for mass manufacturing. It simplifies the production process of materials, reduces costs, and is the preferred solution for replicating complex structures on a large scale. Processing techniques such as microencapsulation and spinning have been developed to enhance the interface between microorganisms and their environment, creating materials with increased surface area for better functional performance. Microencapsulation techniques, including spray drying and microfluidics, produce micrometer-scale spherical materials, while spinning methods enable the fabrication of fibers that can be further processed into textiles and wearable devices. The emergence of 3D bioprinting represents a significant advancement, merging traditional 3D printing techniques with biological engineering to construct complex and functional biological devices. This approach utilizes living cells as bio-inks and necessitates the use of materials that support cell viability and function, challenging researchers to maintain optimal conditions throughout the printing process.

The importance of structural design is emphasized in the optimization of functionality of living materials. The precise control over both micro- and macrostructural properties is crucial for optimizing nutrient transfer, compartmentalization, and communication among cells. Through examples and discussion of technological advancements, the vast potential for living materials in contributing to solutions in environmental sustainability, healthcare, and technology innovation is highlighted. Looking ahead, living materials hold the promise of transforming various sectors through the development of sustainable and innovative solutions to contemporary challenges.

living materials, hydrogel, 3D printing, synthetic biology

doi: [10.1360/TB-2024-0350](https://doi.org/10.1360/TB-2024-0350)