

文章编号: 100025013(2009)010001205

合成生物学的研究方向与应用

罗巖辉, 余劲聪, 方柏山

(华侨大学 工业生物技术福建省高等学校重点实验室, 福建 泉州 362021)

摘要: 分析构建合成生物学元件的基本思路、研究原理和研究方法, 阐述当前合成生物学的两个主要研究方向)) 最小生命体研究与合成元件的开发的国内外最新研究成果1 前者的重点在于找到能维持生命的最少量基因, 而后者重点在于如何建立与天然细胞中相类似的功能元件, 并使其能在宿主中顺利运行. 两个研究方向出发点不同, 但研究目标是一致的, 其研究成果最终可以互相借鉴与融合1 利用人工合成的最小生命体作为宿主, 配合各种不同的生命功能元件合成生命元件, 组装系统网络, 最终创造出人造生命1 同时, 概要地指出了合成生物学的发展前景.

关键词: 合成生物学; 基因电路; 元件; 人工生命; 细胞通讯

中图分类号: Q 81; Q21

文献标识码: A

合成生物学是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. 它借鉴工程化的思想来研究生命, 最终目标是创造人工生命体, 涵盖分子生物学、工程学、数学、物理学等许多研究领域^[2]. 美国麻省理工大学的 Drew Endy 博士预言: 合成生物学或许有一天会将可通用的生命组件进行组装, 创造出人工生命体, 这种合成的程控生命可以完成目前各种难以想象的工作^[3]1 目前合成生物学的研究内容可归纳为两大研究方向, 即最小生命体研究与合成元件的开发, 其研究成果将具有较强的实际应用价值. 文中介绍了两个研究方向及其部分成果, 并指出了合成生物学的发展前景.

1 研究原理与方法

合成生物学具有强烈的工程学思想, 集合了多个研究方向, 而这些方向都集中于一个明确的工程目的^[4], 即按设计好的蓝图重新组装分子元件, 并转入细胞, 使这种工程化的细胞具备新的功能(图1).

目前, 在合成生物学的研究方面已经有一些成功的例子^[5], 其中很多实验设计只利用了相对于所借鉴的天然系统中更少的元件与组分, 但是却得到与预期结果一样的满意程度. 因此, 假如增加人工构建系统的复杂性, 一定有希望模拟天然细胞的所有行为与功能. 为了达到这个目的, 对天然细胞系统的分析和人工操作就必须更加细致和有针对性, 并且要建立更准确的细胞模型.

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, 是自下而上的一个过程^[6]. 合成生物学与基

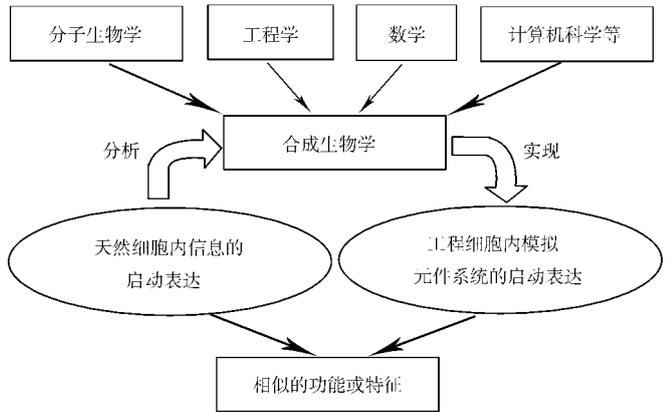


图1 合成生物学的工作原理

Fig. 1 Working principle of synthetic biology

收稿日期: 200820419

通信作者: 方柏山 (1952), 男, 教授, 主要从事合成生物学的研究. E2mail: bsfang@hqu.edu.cn.

基金项目: 国家重点基础研究发展(973)计划项目(2007CB707804); 国家高技术研究发展(863)计划项目(2006AA2020103); 国家自然科学基金资助项目(30770059); 国务院侨办科研基金资助项目(07QZR07)

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, 让它们能像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.

虽然, 目前合成的基因电路在宿主体内运行时只能类似于在潮湿条件下工作, 不能完全达到人类的期望^[1] 但科学家们预言, 任何新出现的技术都有其需要跨越的障碍, 而合成生物学的成功将意味着科学技术的极大进步^[728].

2 最小生命体的研究

合成生物学研究的一个主要研究方向是, 将研究的功能对象缩小化, 如病毒、支原体等最小的寄生体或生命体^[1] 希望从最小的生命入手, 研究其必需的生命组成, 进而模拟、复制、改造这些生命体来阐明生命的奥秘^[1]

这个研究方向的重点, 在于找到能维持生命的最少量基因. 2002年, 美国 Wimmer 实验室报道了可以化学合成脊髓灰质炎病毒 cDNA, 并用 RNA 聚合酶将它转成有感染活力的病毒 RNA^[9]. 这开辟了只利用已知基因组序列, 不需要天然模板, 就能从化合物单体合成感染性病毒的先河. 美国 Venter 实验室拓展了合成基因组的工作, 该实验室只用了两周时间就合成了 5X2174 噬菌体基因(5 386 bp)^[10].

大肠杆菌是生命科学中最常用的材料, 从事分子生物学操作的科学家们都希望知道, 细胞维持生命所需要的一组必需基因是多少. 威斯康星大学的研究人员对大肠杆菌基因组进行了类似外科手术精度的改造. 实验经过一系列的精确剪切, 每次剪切大肠杆菌基因组就会有接近 15% 的 DNA 被剔除掉, 即减少量达到 82 kbp. 尽管大片的 DNA 从基因组中被去除, 细胞仍保持了其正常的生物学功能, 从而得到了更适用于研究和工业生产的可塑性的大肠杆菌. 这种新方法使得对基因组进行大规模合理的改变成为可能^[11], 可能是设计新生命的起点.

由简单到复杂, 从维持最小生命体的基因组入手来研究生命体, 是一种在根本上解决问题的研究思路. 可以预见, 该领域的研究成果对生命的起源、组装等根本性问题将具有极大的参考价值. 在这个研究方向上, 还有人提出向细胞中掺入非天然碱基来发展人工遗传系统, 以及掺入非天然氨基酸密码子向蛋白中导入非天然氨基酸的方法, 这也都取得了一定的成果^[1203]. Schultz 实验室报道了一种向酵母加入非天然氨基酸密码子的方法, 成功地向目标蛋白中导入了 5 种非天然氨基酸^[12]. Brenner^[13] 设计出向细胞 DNA 中掺入天然不存在的碱基的方法, 用以发展人工遗传系统, 支持人工生命形式.

3 基因元件的研究

合成生物学的另一主要研究方向是, 建立各种可通用的生命元件, 利用元件组装使宿主有新的功能, 最终达到建立复杂元件系统, 甚至组装人工生命的目的.

这个研究方向的侧重点于, 如何建立与天然细胞中相类似的功能元件, 并使之能在宿主中顺利运行. 元件强调具备功能性而不一定非要用于维持生命本身, 因此, 现阶段如何建立更多的可通用生命元件依然是首要任务^[14].

早期, 研究者主要致力于细胞体系中单个元件的模拟与设计. 如普林斯顿大学的研究人员将 3 种相互影响的基因组合在一起, 使大肠杆菌能按预想方式发光^[15]; 波士顿大学的 Collins 制造了一种遗传肘节开关, 有效地赋予每一个经过修饰的细菌以初步的数据记忆功能, 为生物计算机的研制打下了基础^[1617]; 在麻省理工学院每年举办的 iGEM 大赛中, 都有大量的此类元件被合成, 并储藏在实验室的元件库里. 此外, 瑞士苏黎世理工学院的研究者甚至将该研究领域的对象从细菌过渡到哺乳动物^[18].

但是只研究单基因还不能满足科学家的愿望, 复杂生命的构建还需要多基因的相互作用. 因此, 合成生物学元件的研究, 已将目标集中在单细胞或多细胞的复杂网络重构上^[19]. 为了获得更复杂的调节性能, 可以将各个元件整合形成网络系统. 整合的策略有很多种, 最简单的形式是转录串连组件. 在转录串连组件里, 每一个基因产物可以调节它下游那一个基因的表达. 在自然细胞体系中, 通过进化, 可使各个模块中的调控元件相互协作, 共同完成一个复杂的特殊任务. 在合成生物学中, 一个典型特点就是

被组装在一起的各个元件之间并无关联, 没有经过这一自然的进化过程. 在人工合成循环网络中, 一个主要挑战在于改变个别元件的动力学参数, 直至它们能在新的网络环境中正确行使功能^[20,21].

复杂调控网络的整合策略还包括前向网络模块和反向网络模块. 前向网络模块包含一个主要的调控基因, 它可以通过多个非循环途径来调控下游目的基因. 当把一个前向网络模块加入串联模块中时, 该组件依然会对输入产生功能性输出, 但到达稳态的动力学参数将不再是单调输出^[22]. 当把反向调节结构加入到串联结构中时, 创建的网络将具有更加复杂的特征, 自动负调控可以减少基因表达噪音, 单个负反馈元件也可以缩短一个启动子, 经诱导后到达最大稳态水平的应答时间^[23].

理论上, 任何人工调控方案都可以通过将各种模块(串联、前向和反向) 进行适当组装而达到, 但是在宿主细胞体内要想达到这个目的, 其反应速度和表达程度还有诸多限制. 这些复杂基因系统的构建, 可以定量分析天然途径中各种有价值的信息. 此外, 作为一种系统设计与优化的技术手段, 可以预见其在各领域会迅速得到广泛的应用^[24].

当合成生物学工作者具备了建立一系列单细胞网络系统的时候, 就会把注意力转移到多细胞体系, 希望可以利用细胞与细胞间的交流达到协调细胞同步应答的目的. 建立这样的系统对研究相同类型细胞同步基因表达, 以及在发育过程中的细胞空间效应非常有用, 这可以更好地探索细胞间信息交流的内在机理与规律.

对于其多细胞体系中的每一个细胞来讲, 第一步就是使之具备转基因交流能力. 弧菌的一种感应应答发光机制被派上用场. 海洋荧光细菌 *Vibrio fischeri* 能产生并向细胞外分泌一些信号分子, 细菌彼此间利用这些释放到环境中的信号分子来进行交流^[25,26]. 释放信号分子后, 细菌能感知种群内信号分子的数量, 借此信号分子的积累使单个细胞感知细菌整体的数量(细胞密度). 它允许细菌种群共同控制基因的表达, 使种群行为可以同步. 研究表明, 该信号小分子为高丝氨酸内酯(AHLs). 当细菌增殖达到一定密度的时候, AHLs 的浓度也随之增高; 而当达到一定的阈值时, 即可与细菌中的 lux R 蛋白结合. lux R 是弧菌发光基因 lux 的转录调节因子, 可以结合在 lux 启动子的上游, 从而激活 lux 基因的表达, 导致弧菌发光. 另一方面, AHLs 和 lux R 结合后又可上调 AHLs 合成基因 lux I 的表达, 形成正反馈, 使上述信号系统不断放大(图 2).

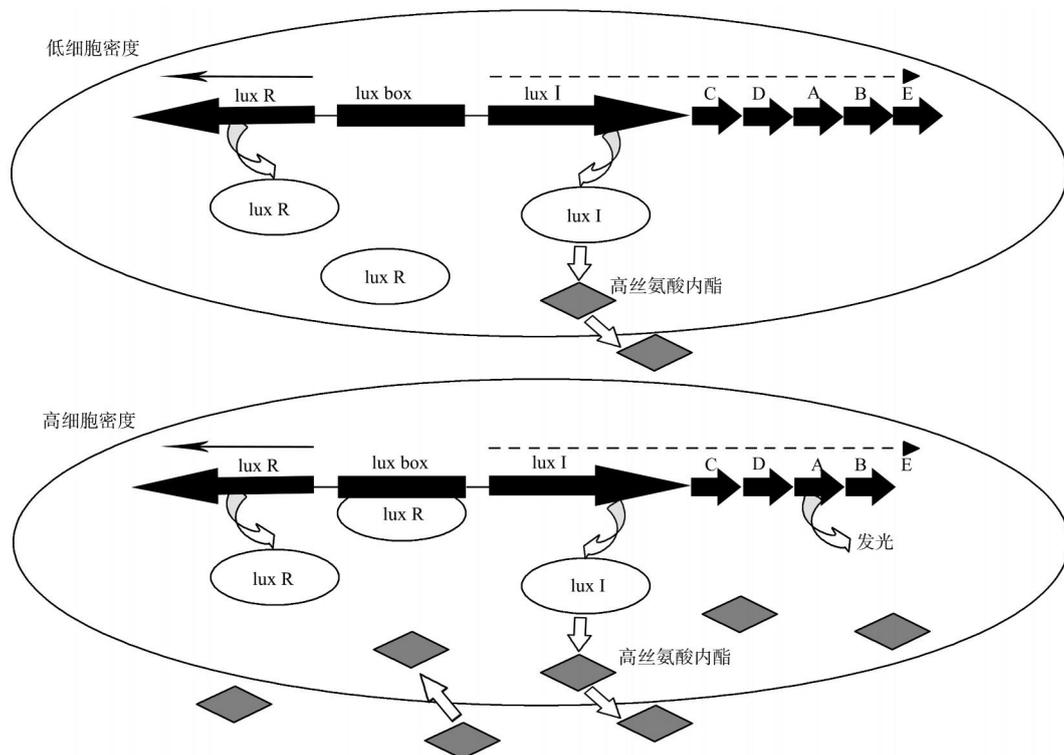


图 2 密度感知信号系统模型

Fig. 2 Model of signal system to apperceive density

为了使合成生物进一步在生物技术中得到应用,上述的多细胞合成调控网络必须将信号输入与生物应答输出相偶联.通过工程化的调节,可以利用输入元件去监视外界的环境状态和内部的细胞状态,利用输出元件去控制一系列的生物过程如代谢、细胞循环、生长分化及药物合成等. Arnold 等利用该系统建立起一个细胞死亡调节网络,使维持工程化的细胞群数量可以被控制在一个较低的水平^[27].

合成生命元件,组装系统网络,最终创造出人造生命,可以看出这是科学家为了达到合成生命这一最终目标采取的另一研究思路.与对最小生命体的研究方向相比,两个研究方向出发点不同,但是研究目标一致,都是为了合成生命、揭示生命的奥秘.两个研究方向的成果最终可以互相借鉴与融合,即利用人工合成的最小生命体作为宿主,配合各种不同的生命功能元件,将创造出丰富多彩的人工生命.

4 应用前景

除了在理论研究上的进展外,美国已经有了专门以合成生物学为业务的公司,利用改造过的细胞作为生物元素去执行特定的功能,如生产新的替代能源乙醇和氢气等.一些专家提出,运用合成生物学可以制成各种各样的细菌,用来消除水污染、清除垃圾、处理核废料,甚至可以制造生物机器,用来探测化学和生物武器,发出爆炸物警告,从太阳中获取能量来制造清洁燃料等.美国杜克大学的 Hellinga 发明了一种方法来重新设计安装于大肠杆菌体内的生物蛋白感受器,使之能感知 TNT 或其他任何感兴趣的化合物^[28]. Jay 在美国劳伦斯2伯克利国家实验室设立了一个合成生物学部,在大肠杆菌中成功地建立了合成青蒿素的网络,这将使昂贵的青蒿素价格降低到原来的十分之一^[29].

相对于国外对合成生物学的重视程度,国内在该领域还没有相关研究成果的报道.合成生物学有巨大的理论研究价值和实际应用价值,其试验成果将会产生巨大的经济效益,具有广阔的应用前景.相信在未来的几年里,合成生物学将会成为我国生命科学研究的新增长点.

参考文献:

- [1] WILLIAM J B, FARREN J L. Synthetic biology evolves[J]. Trends in Biotechnology, 2004, 22: 32-34.
- [2] PEDRAZA J M, VAN OUDENAARDEN A. Noise propagation in gene networks[J]. Science, 2005, 307: 1962-1969.
- [3] GIBBS W W. Synthetic life[J]. Scientific American, 2004, 5: 74-81.
- [4] STEVEN A B, SISMOUR A M. Synthetic biology[J]. Nature Reviews Genetics, 2005, 6: 53-54.
- [5] RYAN M D, RON W. Advances in synthetic biology: On the path from prototypes to applications[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2005, 16: 47-48.
- [6] NICHOLAS V H, DAVID G L. Model systems from life's origins to a synthetic biology[J]. Current Opinion in Chemical Biology, 2004, 8: 62-68.
- [7] LORENZO V, SERRANO L, VALENCIA A. Synthetic biology: Challenges ahead[J]. Bioinformatics, 2006, 22: 127-128.
- [8] TIAN J, GONG H, SHENG N, et al. Accurate multiplex gene synthesis from programmable DNA microchips[J]. Nature, 2004, 432: 105-105.
- [9] CELLO J, PAUL A V, WIMMER E. Chemical synthesis of poliovirus cDNA: Generation of infectious virus in the absence of natural template[J]. Science, 2002, 297: 101-101.
- [10] PENNISI E. Venter cooks up a synthetic genome in record time[J]. Science, 2003, 302: 1307.
- [11] SHAMIK S S, FREDERICK R B, SARAH W H. Recombinant protein production in an Escherichia coli reduced genome strain[J]. Metabolic Engineering, 2007, 9: 133-141.
- [12] CHIN J W, CROPP T A, ANDERSON J C, et al. An expanded eukaryotic genetic code[J]. Science, 2003, 301: 96-97.
- [13] BRENNER S A. Unite efforts and conquer mysteries of artificial genetics[J]. Science, 2000, 290: 1506.
- [14] DAVID S, MICHAEL B E. Reconstruction of genetic circuits[J]. Nature, 2005, 438: 443-448.
- [15] MICHAEL B E, STANISLAS L. A synthetic oscillatory network of transcriptional regulators[J]. Nature, 2000, 403: 335-338.
- [16] TIMOTHY S G, CHARLES R C, JAMES J C. Construction of a genetic toggle switch in Escherichia coli[J].

- Nature, 2000, 403: 332-342.
- [17] MARIETTE R A, MICHAEL A S, JESSE T M, et al. Development of genetic circuitry exhibiting toggle switch or oscillatory behavior in *Escherichia coli*[J]. *Cell*, 2003, 113: 592-607.
- [18] BEAT P K, MONIKA F, MARTIN F. Sem2synthetic mammalian gene regulatory networks[J]. *Metabolic Eng2neering*, 2005, 7: 241-250.
- [19] MICHAEL L S. Rewiring the cell: Synthetic biology moves towards higher functional complexity[J]. *Trends in Biotechnology*, 2004, 22: 552-557.
- [20] WEISS R, BASU S. The device physics of cellular logic gates[C] MNSC21: The First Workshop of Non2Silicon Computing. Massachusetts: [s. n.], 2002.
- [21] YOKOBAYASHI Y, WEISS R, ARNOL F H. Directed evolution of a genetic circuit[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2002, 99: 16582-16591.
- [22] BECSKEI A, SERRANO L. Engineering stability in gene networks by autoregulation[J]. *Nature*, 2000, 405: 590-593.
- [23] ROSENFELD N, ELOWITZ M B, ALON U. Negative autoregulation speeds the response times of transcription networks[J]. *Journal of Molecular Biology*, 2002, 323: 782-793.
- [24] RYAN M D, RON W. Advances in synthetic biology: On the path from prototypes to applications[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2005, 16: 472-483.
- [25] MILLER M B, BASSLER B L. Quorum sensing in bacteria[J]. *Annual Review of Microbiology*, 2001, 55: 162-199.
- [26] FUQUA C, PARSEK M R, GREENBERG E P. Regulation of gene expression by cell2cell communication: Ac2y2homoserine lactone quorum sensing[J]. *Annual Review of Genetics*, 2001, 35: 432-468.
- [27] YOU L, COX R S Ó, WEISS R, et al. Programmed population control by cell2cell communication and regulated killing[J]. *Nature*, 2004, 428: 862-871.
- [28] LOOGER L L, DWYER M A, SMITH J J, et al. Computational design of receptor and sensor proteins with novel functions[J]. *Nature*, 2003, 423: 182-190.
- [29] MARTIN V J, PITERA D J. Engineering a mevalonate pathway in *Escherichia coli* for production of terpenoids [J]. *Nature Biotechnology*, 2003, 21: 792-802.

Studying Direction and Application of Synthetic Biology

LUO Dian2hui, YU Jin2cong, FANG Bai2shan

(Key Laboratory of Industrial Biotechnology of Fujian Province University, Huaqiao University, Quanzhou 362021, China)

Abstract: This review analyzed the basic conception, principle and method of research on constructing synthetic biology parts, and summarized the recent developments in two directions of synthetic biology. One of the two directions is the studies of minimal life aiming to find out the least gene to maintain activities, and which maintains about genetic parts trying to simulate the natural genetic net of cell. The two directions have different research starts, but same objects. A new life will be generated by constructing novel artificial cell and genetic parts. Furthermore, the progress of synthetic biology was discussed.

Keywords: synthetic biology; genetic circuit; parts; artificial life; cell communication

(责任编辑: 黄仲一 英文审校: 陈国华)