

文章编号: 1000-5013(2013)02-0165-04

群体感应系统的合成生物学研究进展

胡泽丹, 王兆守, 吴忻, 方柏山

(厦门大学 化学化工学院, 福建 厦门 361021)

摘要: 群体感应系统通过释放到环境中的信号分子来进行交流,进而协调群体行为,因其结构简单、机理清晰而广泛应用于合成生物学的研究.简要介绍合成生物学的概念,着重阐述基于群体感应系统的合成生物学研究及其在细胞浓度控制、生物被膜信号通路和生物化工领域的应用.最后,探讨群体感应系统研究的不足,并做进一步展望.

关键词: 合成生物学; 群体感应系统; 细胞浓度控制; 生物被膜信号通路

中图分类号: Q 81; Q-1

文献标志码: A

合成生物学(synthetic biology)是一门致力于从零开始构建生物基因组的学科,重塑生命是这一学科的核心思想.与基因工程把一个物种的基因延续、改变并转移至另一物种的做法不同,合成生物学的目的在于建立人工生物系统,让它们像电路一样运行^[1-2];与传统生物学通过解剖生命体以研究其内在构造的方法不同,合生物学研究方向是从最基本的要素开始,一步步建立零部件,再构建各个零部件的组合,整个过程是一个“逆自然世界的过程”^[3].简单地说,合成生物学旨在以人工手段制造出生物系统,其涵盖的研究内容大体分为 3 个层次:一是利用已知功能的天然生物模体(motif)或模块(module)构建成的新型调控网络并表现出新功能^[4];二是采用从头合成的方法人工合成基因组 DNA 并重构生命体,如美国 Venter 实验室在《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^[5];三是在前两个领域得到充分发展的基础上,创建完整的全新生物系统乃至人工生命体^[6].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的发展,因此也称其为“工程生物学”^[7].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^[8-9].

存在于某些革兰氏阴性菌中的群体感应系统因为结构简单、机理清晰,常被用于表征复杂的细胞内应答机制和构建不同群体感应模块,对合成生物学的研究有着深远的影响^[10].近年来,随着不可再生化石资源的不断消耗,以可再生的生物资源为原料的生物化工行业越来越受到人们的重视.合成生物学作为一门工程学科,被广泛地应用到生物化工领域中.

1 群体感应系统

群体感应系统最早发现于费氏弧菌(*Vibrio fischeri*)中,这种细菌可以产生并向胞外分泌一些信号分子,细菌间利用这些信号分子进行交流,并感应群体密度的变化^[11-12].费氏弧菌中的群体感应系统由转录调节因子 Lux R 与信号分子合成酶 Lux I 调控.当菌体浓度较低时,在合成酶 Lux I 的作用下,细菌会合成信号分子 N-3-(氧己酰)同型丝氨酸内酯(OHHL),并通过细胞膜分泌到环境中.随着菌体浓度不断增加,OHHL 的浓度也随之增高,当达到一定的阈值时,OHHL 将与 Lux R 蛋白结合,从而激活荧光酶基因 *lux AB* 的表达,导致弧菌发光^[13].同时,OHHL 和 Lux R 蛋白结合后又将增大 OHHL 合

收稿日期: 2012-06-12

通信作者: 方柏山(1957-),男,教授,主要从事合成生物学的研究. E-mail: fbs@xmu.edu.cn.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30770059,21076172);中央高校基本科研业务费专项基金资助项目(2010121050)

成基因 *lux I* 的表达,形成正反馈,使上述信号系统不断放大. 这种调节机制导致荧光蛋白的合成在诱导前后发生巨大的变化,即诱导前后的合成水平相差超过一万倍^[14]. 费氏弧菌的群体感应系统,参见文献^[15].

2 群体感应系统用于细胞浓度控制

You 等^[16]将克隆自费氏弧菌的 *lux R*, *lux I* 及 *lux pR* 基因和细菌致死基因 *ccd B* 一起导入大肠杆菌中,成功实现了模拟大肠杆菌的程序性死亡. 其构建的细胞浓度控制程序,参见文献^[16]. Bala-gadde 等^[17]利用不同来源群体感应系统的相关基因,构建了更为复杂的细胞浓度控制系统 (predator-prey ecosystem). 这种由两种大肠杆菌构成的生态系统,二者的交流由群体感应系统的基因表达来调节,实现了用细菌来模拟生态界的捕食关系.

本课题组利用从美国麻省理工学院获得的生物砖,将群体感应系统的关键基因导入大肠杆菌,通过在启动子 *lux pR* 下游拼接不同核糖体结合位点 (RBS) 序列的致死融合基因 *lac Za-ccd B*,成功构建了一系列标准化的细胞浓度控制元件^[18]. 同时,研究表明:RBS 效率与细胞浓度密切相关,RBS 效率越高,细胞浓度被控制地越低. 在上述工作的基础上,对细胞浓度控制元件中的启动子 *lux pR* 进行了定点突变^[19],实现了将细胞浓度控制在不同的水平^[20].

3 群体感应系统用于生物被膜信号通路

铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 中有 2 个标志性的群体感应系统,分别是 LasI/LasR 和 RhII/RhlR,这两个系统用来调节细菌生物被膜的形成^[21]. 其中 LasI 产生的信号分子 3OC12HSL,可以被 LasR 感应;而 RhII 产生的信号分子 C4HSL,可以被 RhlR 感应^[22]. 在合成生物学领域,LasI/LasR 和 RhII/RhlR 系统被用来设计成生物被膜信号通路,该通路在生物信号传递方面非常有潜力,能够被开发成为综合性的基因信号网络^[23].

Hong 等^[24]基于对生物被膜信号通路的研究,通过控制枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 胞内外信号分子的表达,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的生长,从而降低该细菌的腐蚀作用. 此外,这种生物被膜信号通路也可用于大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 和荧光假单胞菌 (*Pseudomonas fluorescens*) 中.

4 合成生物学在生物化工领域的应用

Atsumi 等^[25]在研究长链醇代谢途径的过程中,利用合成生物学的原理在大肠杆菌中重构异丁醇产生途径,以葡萄糖为原料,通过非发酵途径高效转化丙酮酸合成丙醇、正丁醇、2-甲基丁醇等化学品. 同时,该实验室还构建了一株工程菌,能够通过光合作用将大气中的 CO₂ 转化为化学品异丁醛^[26].

合成生物学也被应用于乙醇的生产中,Sonderegger 等^[27]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^[28]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,进而提高乙醇的得率.

George 等^[29]发起成立了 LS9 可再生石油公司,他们用合成生物学的方法组装了一些代谢模块,从而在大肠杆菌中构建了烷烃/烯烃合成的代谢途径,通过这种新的代谢途径,微生物可以生产长度及分子结构符合公司要求的烷烃,比如柴油、汽油等能源化学品.

Zhang 等^[30]根据合成生物学的原理,将 13 个已知的酶组成一个新的催化体系,可以在温和条件下转化淀粉和水产生氢,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.

聚乳酸是一种可被生物降解的塑料,近年来对其研究很多,合成生物学已被应用于这种新型环保材料的制备. Taguchi 等^[31]在大肠杆菌中构建了基于乳酸脱氢酶 (LDH)、丙酰辅酶 A 转移酶 (PCT)、PHA 聚合酶 (PhaCPs) 的聚乳酸合成途径.

本课题组长期从事合成生物学方面的研究,将群体感应系统的关键基因导入大肠杆菌,成功构建了

一系列标准化的细胞浓度控制元件,实现了将细胞浓度控制在不同的水平^[18-20].这一研究成果应用于生物化工领域,可以提高发酵过程中微生物单位时间和单位体积的生产效率,优化产物的合成途径,最大程度地获得所需的目标化学品^[32].

5 展望

合成生物学作为 21 世纪的一门新兴学科,在近几年发展十分迅速,但是基于群体感应系统的合成生物学研究还是略显不足.因此,需要对影响群体感应系统的各种因素进行深入分析,进而建立数学模型,为微生物“编程”,将其长时间维持在所需要的浓度,通过延长稳定期来增加发酵产物的产量,通过延长指数期以便于对微生物生长动力学进行研究.这就意味着可以更有效地控制发酵过程,使微生物始终处于最佳工作状态,使生产效率成倍增加,使投入的成本得到最大化利用.

利用合成生物学的方法,可以对微生物的各种代谢途径进行“编程”,使它们能够像化工设备一样生产各种我们所需要的化学品.因此,将基于群体感应系统的合成生物学研究应用于生物化工领域具有广阔的发展空间和诱人的市场前景,值得科技工作者在该领域开展进一步的研究.

参考文献:

- [1] 王兆守,彭江海,胡译丹,等.合成生物学的工业应用[J].中国科学:化学,2011,41(4):709-716.
- [2] 罗巖辉,余劲聪,方柏山.合成生物学的研究方向与应用[J].华侨大学学报:自然科学版,2009,30(1):1-5.
- [3] SMOLKE C D,SILVER P A. Informing biological design by integration of systems and synthetic biology[J]. Cell, 2011,144(6):855-859.
- [4] AHMAD S K,JAMES J C. Synthetic biology: Applications come of age[J]. Nature Reviews Genetics,2010,11(2): 367-379.
- [5] GIBSON D G,GLASS J L,LARTIGUE C,et al. Creation of a bacterial cell controlled by a chemically synthesized genome[J]. Science,2010,329(5987):52-56.
- [6] MCDANIEL R,WEISS R. Advances in synthetic biology: On the path from prototypes[J]. Current Opinion in Biotechnology,2005,16(4):476-483.
- [7] STAHLER 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]. Journal of Biotechnology,2006,124(1):206-212.
- [8] Royal Society of Chemistry,Science and Technology Department. A third industrial revolution[J]. Integrative Biology,2009,1:148-149.
- [9] 熊燕,陈大明,赵国屏,等.合成生物学发展现状与前景[J].生命科学,2011,23(9):826-836.
- [10] 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[J]. The Biological Bulletin,1976,151(3): 574-586.
- [11] MILLER M B,BASSLER B L. Quorum sensing in bacteria[J]. Annual Review of Microbiology,2001,55(9):165-199.
- [12] FUQUA C,PARSEK M R,GREENBERG E. Regulation of gene expression by cell-to-cell communication: Acyl-homoserine lactone quorum sensing[J]. Annual Review of Genetics,2001,35(12):439-468.
- [13] KARIG D K ,SIUTI P,RETTNER S T,et al. Model for biological communication in a nanofabricated cell-mimic driven by stochastic resonance[J]. Nano Communication Networks,2011,2(1):39-49.
- [14] DECINE J H,SHADEL G S,BALDWIN T. Identification of the operator of the Lux regulon from the *Vibrio fischeri* strain ATCC7744[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,1989, 86(15):5688-5692.
- [15] SAYUT D J. Engineering of artificial cellular circuits based on the LuxI-LuxR quorum-sensing system[D]. Amherst:University of Massachusetts,2010.
- [16] YOU L C,COX R S,WEISS R,et al. Programmed population control by cell-cell communication and regulated killing[J]. Nature,2004,428(6985):868-871.
- [17] BALAGADDE F K,SONG H,OZAKI J,et al. A synthetic *Escherichia coli* predator-prey ecosystem[J]. Molecular

Systems Biology, 2008, 4(187): 1-8.

- [18] 彭江海. 人工群体感应通路的合成生物学研究[D]. 厦门: 厦门大学, 2011: 15-44.
- [19] 庄园, 余劲聪, 方柏山. 酶定向进化技术及其在化学品生物转化中的应用[J]. 化学工程与装备, 2009, 6(3): 89-91.
- [20] 胡译丹. 细胞浓度控制元件的合成生物学研究[D]. 厦门: 厦门大学, 2012: 20-35.
- [21] WILLIAMS P, CAMARA M. Quorum sensing and environmental adaptation in *Pseudomonas aeruginosa*: A tale of regulatory networks and multifunctional signal molecules[J]. Current Opinion in Microbiology, 2009, 12(2): 182-191.
- [22] PESCI E C, PEARSON J P, SEED P C, et al. Regulation of las and rhl quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Journal of Bacteriology, 1997, 179(10): 3127-3132.
- [23] BRENNER K, KARIG D K, WEISS R, et al. Engineered bidirectional communication mediates a consensus in a microbial biofilm consortium[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2007, 104(44): 17300-17304.
- [24] HONG S H, HEDGE M, KIM J, et al. Synthetic quorum-sensing circuit to control consortial biofilm formation and dispersal in a microfluidic device[J]. Nature Communications, 2012, 613(3): 1616-1620.
- [25] ATSUMI S, HANAI T, LIAO J C. Non-fermentative pathways for synthesis of branched-chain higher alcohols as biofuels[J]. Nature, 2008, 451(2007): 86-90.
- [26] ATSUMI S, HIGASHIDE W, LIAO J C. Direct photosynthetic recycling of carbon dioxide to isobutyraldehyde[J]. Nature Biotechnology, 2009, 27: 1177-1180.
- [27] SONDEREGGER M, SCHUMPERLI M, SAUER U. Metabolic engineering of a phosphoketolase pathway for pentose catabolism in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2004, 70(5): 2892-2897.
- [28] TRINH C T, UNREAN P, SRIENC F. Minimal *Escherichia coli* cell for the most efficient production of ethanol from hexoses and pentoses[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2008, 74(12): 3634-3643.
- [29] SCHIRMERR A, RUDE M A, GEORGE C, et al. Microbial biosynthesis of alkanes[J]. Science, 2010, 329(5991): 559-562.
- [30] ZHANG Y, EVANS B R, MIELENZ J R, et al. High-yield hydrogen production from starch and water by a synthetic enzymatic pathway[J]. Plos One, 2007(5): 1-6.
- [31] TAGUCHI S, YAMADA M, MATSUMOTO K, et al. A microbial factory for lactate-based polyesters using a lactatepolymerizing enzyme[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2008, 105(45): 17323-17327.
- [32] 陈国强. 我国“合成生物学”急需研究的问题[J]. 生物工程学报, 2012, 28(1): 116-118.

Research Progress of Synthetic Biology in Quorum-Sensing System

HU Yi-dan, WANG Zhao-shou, WU Xin, FANG Bai-shan

(College of Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: Quorum-sensing system coordinates bacterium behaviour via the secretion of specific signaling molecules in a population density-dependent manner. This system is widely used in synthetic biology because of its simple structure and clear mechanism. In this article, the concept of synthetic biology is introduced briefly. This article mainly focuses on synthetic biology basing on quorum-sensing system and its applications in fields of cell density control, biofilm signal pathways and biochemical industry. Finally, limitation of study on quorum-sensing system is discussed. And the prospect of future development is presented.

Keywords: synthetic biology; quorum-sensing system; cell density control; biofilm signal pathways

(责任编辑: 黄晓楠 英文审校: 刘源岗)