

## 特约评述

DOI: 10.12211/2096-8280.2025-024

## 活体生物药在代谢类疾病中的研究

匡家奇<sup>1</sup>, 章素秀<sup>1</sup>, 江晗<sup>2</sup>, 魏韬<sup>1</sup>( <sup>1</sup> 华南农业大学食品学院, 广东 广州 510642; <sup>2</sup> 华南农业大学动物科学学院, 广东 广州 510640)

**摘要:** 合成生物技术的持续发展促进了益生菌的改造, 进而推动了活体生物药 (live biotherapeutic products, LBP) 在疾病治疗领域的研究。近年来, LBP 在多种疾病治疗剂的开发上有所应用。目前, 选择合适的底盘细胞并进行工程化改造, 以及为特定疾病设计专门的功能基因模块, 已成为活体生物药开发的一般流程。尽管临床实验中针对代谢性疾病的 LBP 治疗结果尚未完全达到预期, 但相关疗法正逐步向临床治疗迈进。本文全面综述了活体生物药在代谢性疾病治疗领域的最新进展, 详细阐述了苯丙酮尿症、高尿酸血症和肠源性高草酸尿症等疾病的治疗剂开发, 并讨论了基于合成生物技术的 LBP 开发策略。最后, 总结了活体生物药当前面临的问题, 包括安全性、疗效和个体化差异等, 对拓展活体生物药概念、开发个性化活体生物药等提出了展望, 以期推动活体生物药从理论探索到临床实践的转化。

**关键词:** 活体生物药; 代谢类疾病; 合成生物学; 微生物; 益生菌

中图分类号: Q819 文献标志码: A

## Research on live biotherapeutic products in metabolic diseases

KUANG Jiaqi<sup>1</sup>, ZHANG Suxiu<sup>1</sup>, JIANG Han<sup>2</sup>, WEI Tao<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, Guangdong, China; <sup>2</sup>College of Animal Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510640, Guangdong, China)

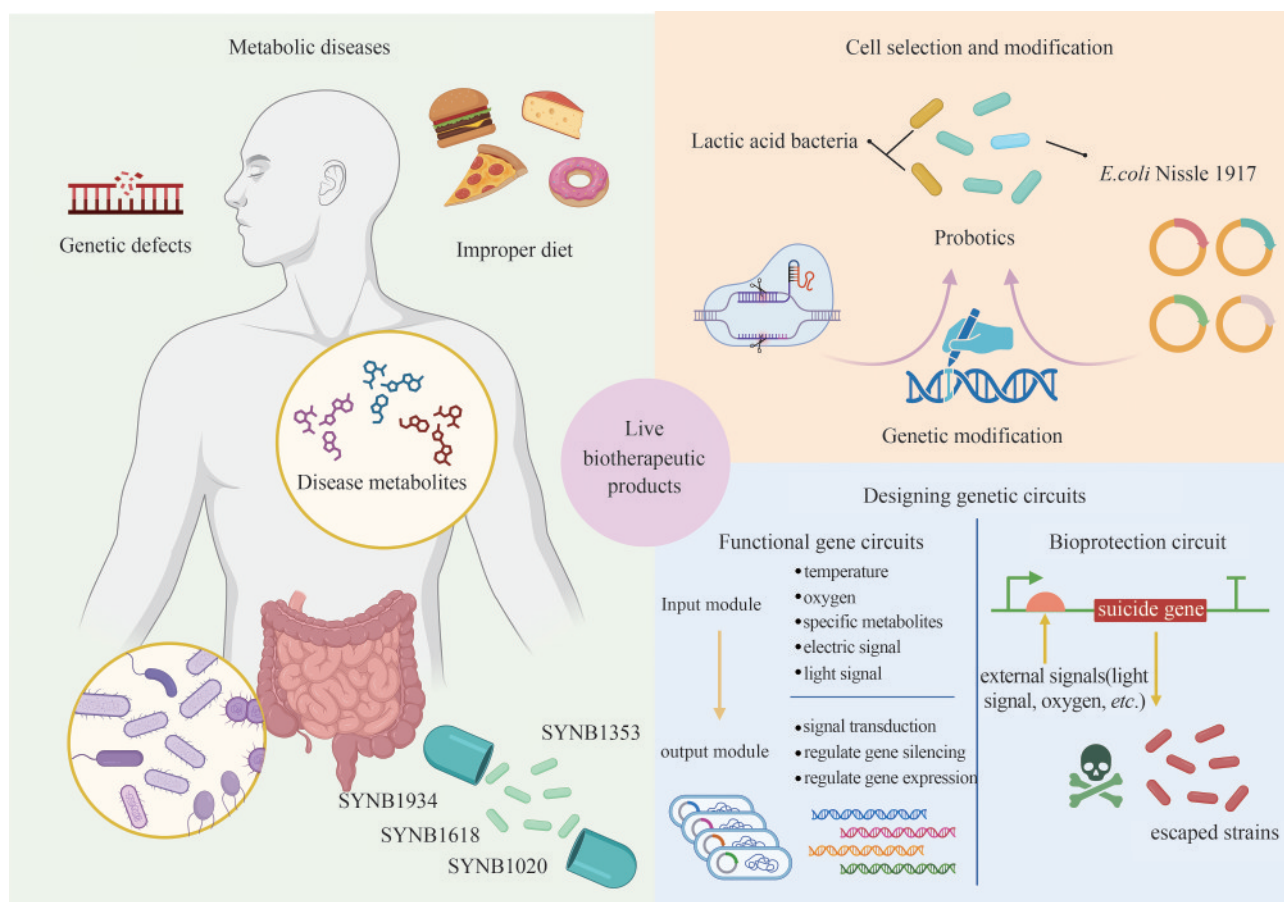
**Abstract:** The continuous advancement of synthetic biology technology has significantly facilitated the transformation of probiotics, thereby enhancing the potential research of live biotherapeutic products (LBP) in therapeutic agents. In recent years, the use of LBP has been extensively applied as a promising approach for treating a wide array of diseases, including metabolic diseases. The standardization of procedures in the development of live biotherapeutic products—such as the careful selection of suitable chassis cells, the execution of precise engineering transformations, and the design of specialized genetic circuits tailored for specific diseases—has become a general process of this emerging field. Although clinical trials involving LBP for the treatment of metabolic diseases have not always yielded the anticipated results, they are gradually progressing toward clinical application. This article provides a comprehensive review of the latest advancements in live biotherapeutic products within the context of metabolic disease treatment, detailing the significant research progress made in addressing conditions such as phenylketonuria,

收稿日期: 2025-03-24 修回日期: 2025-06-16

引用本文: 匡家奇, 章素秀, 江晗, 魏韬. 活体生物药在代谢类疾病中的研究[J]. 合成生物学, 2025, 6(6): 1294-1310

Citation: KUANG Jiaqi, ZHANG Suxiu, JIANG Han, WEI Tao. Research on live biotherapeutic products in metabolic diseases[J]. Synthetic Biology Journal, 2025, 6(6): 1294-1310

hyperuricemia, and enteric hyperoxaluria, where LBPs are being explored as innovative therapeutic options. Furthermore, the article discusses the strategic development of LBP based on synthetic biology technology, highlighting the potential of these technologies to create sophisticated and targeted therapies capable of addressing complex metabolic pathways. However, it also acknowledges the challenges that lie ahead for live biotherapeutic products, including concerns related to safety, efficacy, and individual variability. These factors are crucial for the successful translation of live biotherapeutic products from the laboratory to the clinic. Confronting these hurdles, the article delineates ongoing endeavors to guarantee the safety and efficacy of live biotherapeutic products, alongside the advancement of personalized treatments tailored to each patient's distinct genetic and metabolic profile. Finally, the article presents a forward-looking perspective on the future development of live biotherapeutic products, anticipating the breakthroughs and advancements that will shape the next generation of metabolic disease treatments and the potential impact these biotherapeutics could have on improving patient outcomes and quality of life.



**Keywords:** live biotherapeutic products; metabolic diseases; synthetic biology; microorganism; probiotics

代谢性疾病是由代谢异常引起的一类疾病，包括糖尿病、肥胖症、脂肪肝及遗传性代谢缺陷等。此类疾病常伴有代谢紊乱，导致细胞、组织乃至器官功能异常。其病理机制复杂，涉及糖代

谢、脂质代谢、氨基酸代谢及维生素代谢等多个生物学过程<sup>[1-2]</sup>。其中，由先天性遗传缺陷或后天多种环境因素造成的慢性代谢病（如高尿酸血症、糖尿病、苯丙酮尿症等），需要患者长期服药或接

受临床治疗以及限制膳食摄入, 给患者的生活带来极大不便。

人类肠道是一个极为复杂的生态系统, 承载着数以亿计的微生物群落。这些微生物与宿主之间存在着密切的相互作用, 共同构成了肠道微生物组。针对代谢类疾病, 肠道微生物组及其复杂的代谢物正常状态下可促进人体代谢健康, 异常时促进多种代谢病的发病机制。同时, 代谢病患者肠道中往往存在疾病目标代谢物的缺失或异常积累<sup>[3]</sup>。尽管肠道微生物组的结构和功能异常复杂, 并受到宿主遗传、环境和饮食等多重因素的影响, 但研究人员已逐步开发出多种策略, 旨在通过引入单一微生物或微生物组来干预疾病发病过程, 以治疗代谢病。其中, 粪便微生物群移植 (fecal microbiota transplant, FMT) 和活体生物药 (live biotherapeutic products, LBP) 作为前沿治疗方法, 已显示出恢复代谢平衡的潜力, 并在临床上取得了一定的应用<sup>[4]</sup>。

活体生物药被视作二代益生菌, 是指含有活体天然或工程化微生物 (如细菌) 的非疫苗药物, 可以用于预防和治疗人类疾病及相关适应证<sup>[5]</sup>。随着合成生物学的发展, 工程化的LBP可针对特定代谢病的病理机制, 补充或消除影响疾病发展的目标代谢物。同时, LBP能作为药物长期在体内发挥疗效, 可解决慢性代谢病患者长期服药的问题。对于作为药物使用的LBP, 相关产品的要求要比传统作为保健品和补剂的益生菌更为严格。这要求全面了解其对疾病改善的效果、安全性、生理特性、基因组和代谢组学特征、药物易感性模式和耐药基因的转移, 以及潜在的毒力因素等<sup>[6]</sup>。因此, 目前LBP尚处在研究开发阶段, 仅在美国有2个品种获批上市。本文将对工程化LBP在治疗代谢类疾病中的研究与开发进展进行综述。

## 1 LBP治疗代谢类疾病

合成生物学的策略与工具使研究人员能够在底盘细胞中构建异源代谢途径, 从而使设计工程LBP纠正人类新陈代谢错误成为可能<sup>[7]</sup>。目前, 针对代谢类疾病的活体生物药研究主要集中于设计、改造底盘细胞, 降解或补充特定代谢物, 以

缓解代谢障碍, 或通过表达特定的功能酶或调节因子来补充和修复代谢缺陷。这一疗法不仅为常见代谢性疾病 (如糖尿病、高尿酸血症和肥胖症) 提供全新的治疗思路, 也在遗传代谢病 (如苯丙酮尿症、高尿酸血症和肠源性高草酸尿症等) 的治疗中展现出巨大的潜力, 有望成为未来临床上的新选择。本文旨在通过介绍若干代表性研究案例, 展示合成生物学策略在构建LBP以治疗代谢性疾病方面的应用潜力。

### 1.1 苯丙酮尿症

苯丙酮尿症 (phenylketonuria, PKU) 是一种相对常见的遗传代谢病, 主要由苯丙氨酸羟化酶 (phenylalanine hydroxylase, PAH) 缺陷或功能异常引起, 导致苯丙氨酸 (phenylalanine, Phe) 在体内积聚 (图1)。在正常条件下, 苯丙氨酸在PAH的催化作用下转化为酪氨酸。然而, PKU患者因PAH缺陷或完全缺失, 致使苯丙氨酸代谢受阻, 在体内过量蓄积<sup>[8]</sup>。高浓度的苯丙氨酸会对中枢神经系统有毒性作用, 进而导致智力障碍、癫痫、行为异常及其他神经发育障碍<sup>[9]</sup>。

苯丙氨酸作为一种必需氨基酸, 摄入量在PKU患者中需严格控制。低苯丙氨酸饮食是目前治疗PKU最重要的临床方案, 可有效缓解患者病情<sup>[8]</sup>。然而, 这种治疗方法在临床应用中存在局限性。例如, 市售不含苯丙氨酸的配方食物口味欠佳, 而患者需大量进食。这降低了患者的生活质量及饮食治疗的依从性。严格限制蛋白质摄入的饮食疗法还可能导致患者营养失衡<sup>[10]</sup>。此外, 中断低苯丙氨酸饮食可能增加患者患抑郁症和其他精神心理疾病的风险<sup>[11]</sup>。因此, 开发新的治疗策略成为了PKU研究的重点。

针对PKU的病理特点, 利用基因工程技术构建LBP已成为一种重要的治疗策略。其核心在于应用基因工程改造的微生物表达特定酶, 在肠道内代谢过量的苯丙氨酸, 从而降低其异常积累 (图1)。例如, Synlogic公司的团队通过基因工程改造*E. coli* Nissle 1917 (*EcN*) 得到菌株SYNB1618<sup>[12]</sup>。该工程菌株整合了两条降解苯丙氨酸的途径。第一条途径表达苯丙氨酸氨解氨酶 (phenylalanine ammonia

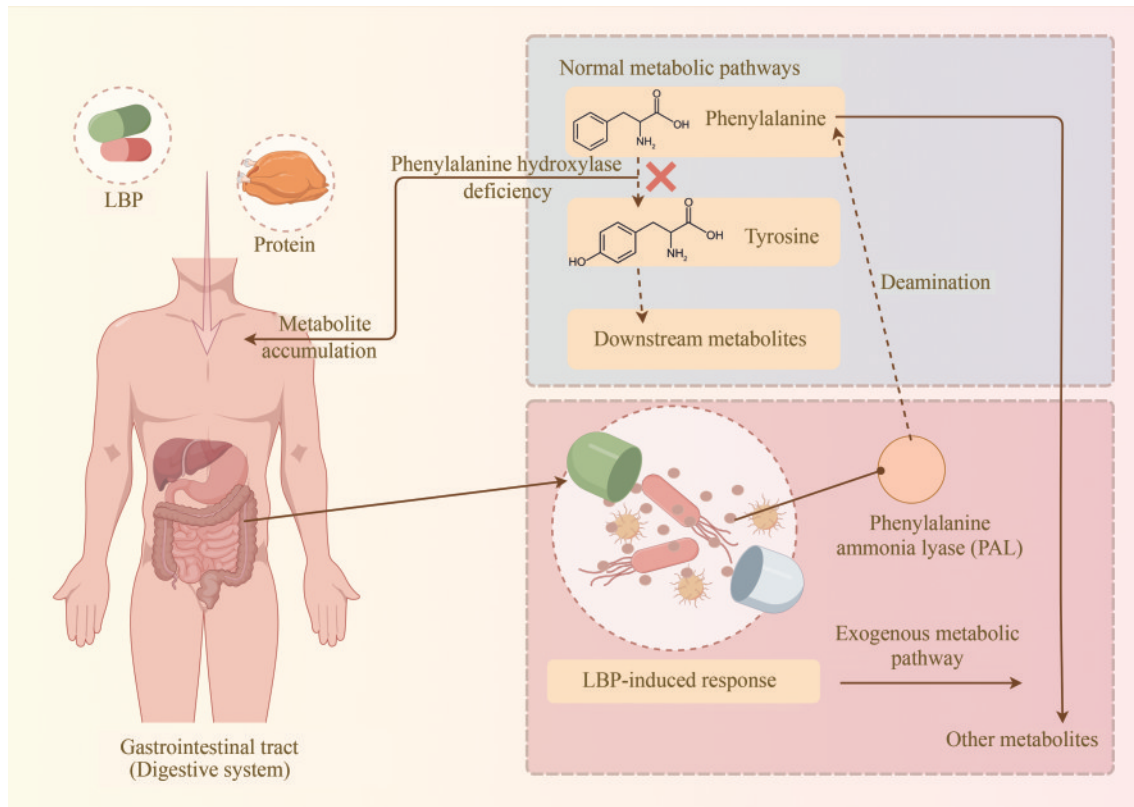


图1 苯丙酮尿症发病原理及对应LBP治疗方案

Fig. 1 Pathogenesis of phenylketonuria and corresponding LBP treatment program

lyase, PAL), 催化苯丙氨酸脱氨为毒性较低的反式肉桂酸 (*trans*-cinnamic acid, TCA)<sup>[13]</sup>。第二条途径表达 L-氨基酸脱氨酶 (L-amino acid deaminase, LAAD), 催化苯丙氨酸转化为苯丙酮酸。为实现肠道内苯丙氨酸降解, 研究人员在 *EcN* 的染色体中整合了基因 *pheP* (编码苯丙氨酸转运蛋白 PheP)、基因 *stlA* (编码 PAL) 和基因 *pma* (编码 LAAD), 其中 2 个 *pheP* 基因和 3 个 *stlA* 基因受厌氧诱导型启动子  $P_{fms}$  控制, 1 个 *pma* 基因由阿拉伯糖诱导型启动子  $P_{BAD}$  控制。为保证菌株的生物安全性, 研究人员敲除了 *EcN* 中的 *dapA* 基因, 构建了营养缺陷型菌株, 使其依赖外源补充的二氨基庚二酸进行细胞壁合成和生长。研究发现, 单一提高 *stlA* 基因的表达量并不能显著提升全细胞催化活性, 因此研究团队致力于提高 PAL 自身的活性来进一步优化菌株性能。为实现这一目的, 研究人员开发了一种 TCA 的变构转录因子 (aTF) 生物传感器<sup>[13]</sup>。利用该生物传感器, 研究人员从一个包含超过 100 万个变体的 PAL 突变体库中进行筛选, 获得了最高活性突变体 mPAL, 其酶活性较

野生型 PAL 提高了 2 倍。基于此, 研究人员又构建了菌株 SYNB1934。

目前, PKU 的活体生物药已通过初步的临床试验和动物试验验证其有效性。前述工程菌株 SYNB1934 和 SYNB1618 已完成 II 期临床试验, 结果显示 SYNB1618 和 SYNB1934 分别可降低血浆苯丙氨酸约 20% 和 34%。试验过程中未观察到与药物相关的不良反应<sup>[14-15]</sup>。2023 年, SYNB1934 进入了第三阶段临床研究 (Synpheny-3 试验)。然而, 2024 年 Synlogic 基于内部审查评估结果宣布中止这一实验。评估表明试验不太可能达到其主要终点, 并非出于对安全性或耐受性的担忧<sup>[16]</sup>。虽然该药物无法正式上市进入临床治疗, 但这一研发工作获得了广泛认可, 并为开发治疗其他代谢性疾病的 LBP 提供了范式。此外, 由和度生物医药 (上海) 有限公司研发的活菌药物 CBT102 (与 SYNB1934 机制类似), 已在广州市妇女儿童医疗中心完成了一项随机、双盲、安慰剂对照临床试验。相比之下, CBT102 在十名儿童患者的测试中显著降低血液中苯丙氨酸含量, 应答率为 80%, 平均降幅达到

65%，这两项的数值均优于SYNB1934<sup>[17]</sup>。

除此之外，苏州优信合生技术有限公司同样以*EcN*为底盘构建了治疗PKU的工程菌株<sup>[18]</sup>。研究团队利用基于数据库的宏筛选技术，对公共数据库中不同来源的PAL进行虚拟筛选及功能预测。随后，对评分较高的候选PAL进行体外表达与活性验证。筛选出酶活性较高的PAL后，研究人员将其引入*EcN*中进行活性检测，并探究了三种蛋白标签（SUMO标签、GST标签和GroE标签）对其酶活的影响。最终构建的工程菌株在模拟胃液和模拟肠液条件下的酶活性未见明显下降，表明其在消化道环境中具有良好的稳定性。在PKU小鼠模型中，口服该工程菌株可显著降低苯丙氨酸负荷后的血浆苯丙氨酸水平，初步证实了其治疗潜力。目前，该团队目前正在以乳酸菌为底盘继续开发治疗PKU的LBP<sup>[19]</sup>。

## 1.2 高尿酸血症

高尿酸血症（hyperuricemia，HUA）是一种

常见的代谢性疾病，由体内尿酸过度积累导致。尿酸在人体内由黄嘌呤和次黄嘌呤通过黄嘌呤氧化酶的氧化作用产生（图2）。然而，人体内源尿酸氧化酶（UOX）因发生无义突变而失活，无法降解尿酸。人体内的尿酸主要由肾脏排出体外，但约有1/3的尿酸通过肠道排出<sup>[20-21]</sup>。目前，高尿酸血症的治疗主要是通过黄嘌呤氧化酶抑制剂来减少尿酸的产生，但该类物质存在一定毒副作用<sup>[22]</sup>。因此，有待一种高效且毒副作用小的治疗方法治疗或缓解高尿酸血症。

促进尿酸的代谢是治疗HUA的关键，且肠道中存在一定的尿酸积累。因此构建活体生物药源表达尿酸氧化酶是一种可行的降尿酸策略。2022年，夏永振团队在天然益生菌*EcN*中设计了尿酸降解途径<sup>[23]</sup>（图2）。研究人员异源表达了来自枯草芽孢杆菌（*Bacillus subtilis*）的尿酸氧化酶PucL和PucM。经过PucL和PucM的酶促反应，尿酸最终转化为对人体无害的尿囊素。为促进尿酸在工程菌内的富集和转化，研究团队引入了尿酸转运蛋白YgfU、大肠杆菌过氧化氢酶KatG（可降

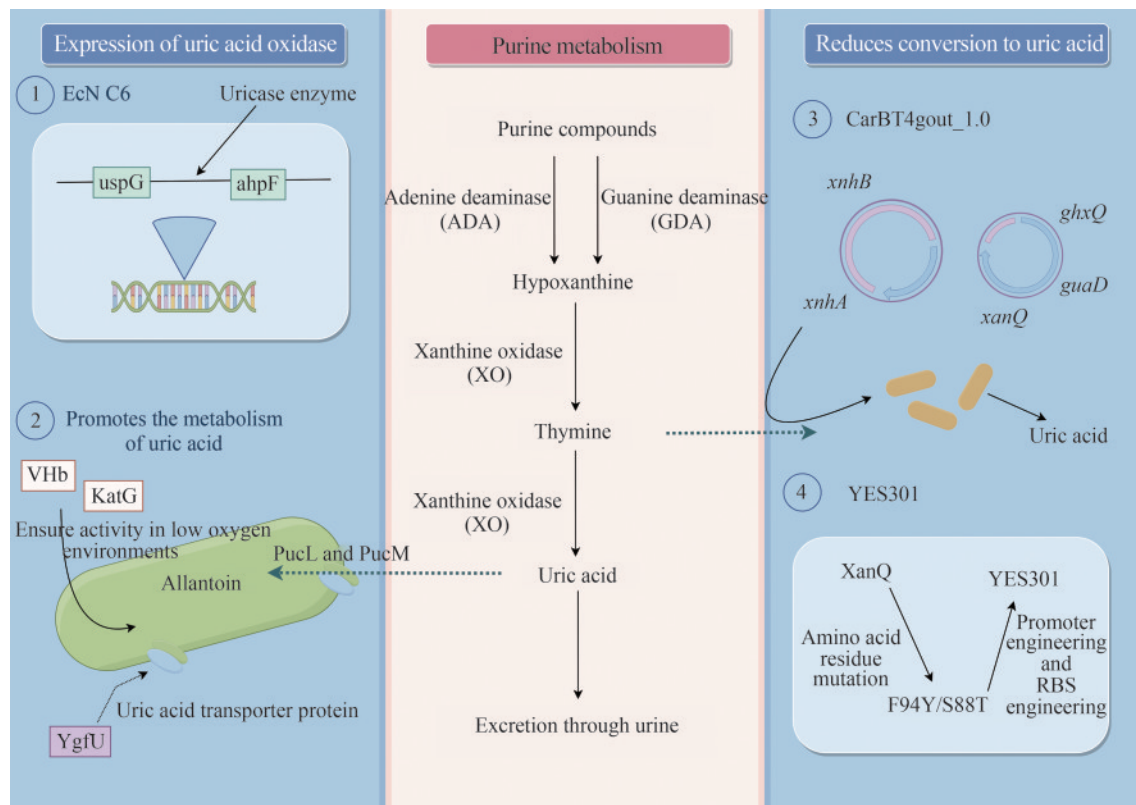


图2 人体内尿酸生成途径及对应LBP治疗方案

Fig. 2 The pathway of uric acid production in the human body and corresponding LBP treatment program

解反应中产生的过氧化氢)和细菌血红蛋白VHb(提供氧气作为电子受体)。体外研究表明,重组*EcN*菌株可在常氧和缺氧条件下有效降解UA。动物实验表明,该菌株能高效降解HUA小鼠模型肠道和血液中的尿酸。此外,胡杨波团队于2022年的研究揭示了细菌中尿酸酶的亚细胞定位对其活性具有显著影响<sup>[24]</sup>。该团队以产朊假丝酵母(*Cyberlindnera jadinii*) NRRL Y-1542来源的尿酸氧化酶基因为研究对象,通过融合不同的分泌信号肽,探究了尿酸氧化酶在不同空间位置的活性表现。结果表明,将FtsP信号肽与尿酸氧化酶融合,使其在*EcN*的周质空间表达,能够显著提高尿酸降解效率。通过分析*EcN*的转录组数据,研究人员还发现了一个自身转录极低但周围高度转录的非编码区。据此,研究人员将编码尿酸酶的基因片段插入到相应位点,构建了*EcN* C6(图2)。该菌株具有周质尿酸酶的隔离表达,可在体外降解尿酸。通过高尿酸血症大鼠和小鼠的体内实验,研究人员验证了*EcN* C6菌株能降低血清尿酸水平、缓解肾脏炎症和损伤、改善肠道菌群失调。

HUA的病理基础是尿酸的过度积累。因此,减少嘌呤向尿酸的转化也是治疗HUA的有效策略之一。张雁团队已鉴定并表征了梭菌属和部分细菌中编码厌氧嘌呤分解途径的基因簇<sup>[25]</sup>。其中,嘌呤分解酶XnhA和XnhB可直接厌氧降解黄嘌呤,从而规避尿酸的生成。基于此,研究团队将二者引入*EcN*,并通过CRISPR辅助同源重组引入了黄嘌呤转运酶基因*xanQ*、鸟嘌呤脱氨酶基因*guaD*以及嘌呤/次黄嘌呤通透酶基因*ghxQ*,最终得到菌株CarBT4gout\_1.0(图2)。研究表明,口服补充CarBT4gout\_1.0可使高尿酸血症黑腹果蝇模型尿酸水平下降59%,有效降低了尿酸盐结核的形成。该研究不仅挖掘了降解嘌呤的全新基因簇,而且证实了活体生物药减少嘌呤向尿酸转化是降解尿酸的有效方案。2024年,叶邦策团队在*EcN*中过表达了黄嘌呤转运蛋白(XanQ),以提高其对黄嘌呤的吸收能力<sup>[26]</sup>。研究人员通过计算生物学分析XanQ后,对其进行饱和突变以筛选高活性变体。随后,通过启动子工程和RBS工程优化突变XanQ蛋白的表达水平,最终得到工程益生菌YES301(图2)。与野生型菌株相比,其黄嘌呤和次黄嘌呤

转运能力分别增加了8.6倍和4.0倍。高尿酸血症小鼠模型口服YES301后,其血清尿酸水平显著降低至生理范围内,同时小鼠的肾脏损伤得到缓解。重要的是,YES301表现出与临床药物别嘌醇相当的疗效,且副作用更少、生物相容性更高。该研究同样证实了通过LBP减少嘌呤向尿酸转化是可行的策略。

上述研究已经表明,合成生物学策略构建的活体生物药能有效降解尿酸,有望治疗HUA。虽然大多数开发治疗HUA的活体生物药在动物实验中展现出良好的结果,但截至目前仍未有相关的临床实验开展,以评估其在人体中的治疗效果和安全性。因此,治疗HUA的活体生物药进入临床仍有大量工作需要完成。

### 1.3 肠源性高草酸尿症

肠源性高草酸尿症(enteric hyperoxaluria, EH)是由饮食中草酸盐的过度吸收而导致慢性肾结石和肾衰竭的一种代谢性疾病。草酸盐和钙结合形成草酸钙(calcium oxalate, CaOx)盐,这些盐类极难溶解,并组织成反复发作的尿路结石和肾钙化,导致肾脏逐渐受损,最终导致终末期肾病<sup>[27]</sup>。

微生物中,产甲酸草酸杆菌(*Oxalobacter formigenes*, OF)在人类草酸盐代谢中的作用已被广泛研究。草酸/甲酸盐逆向转运蛋白(OxIT)通过协同甲酸盐的逆向转运将草酸盐转运到细胞质中。甲酰辅酶A转移酶(Frc)将辅酶A从甲酰辅酶A转移至草酸盐,生成草酰辅酶A和甲酸。草酰辅酶A经草酰辅酶A脱羧酶(OxdC)脱羧产生甲酰辅酶A和CO<sub>2</sub>,以进行下一轮循环<sup>[28]</sup>。有报道将上述通路涉及的关键基因整合到*EcN*的基因组中,并用前述提到的P<sub>mrS</sub>调控基因表达。随后,研究人员敲除胸苷合成酶基因*thyA*,得到在没有外源胸苷补充的情况下无法生长的营养缺陷型菌株SYNB8802<sup>[29]</sup>。SYNB8802是一种非定植的*EcN*工程菌株,旨在消耗消化道中的草酸盐,以阻止其吸收并降低尿液草酸盐水平。SYNB8802的工程化方法和非定植性有利于在临床中重复给药,从而优化治疗活性。除了药理作用外,防止定植

还能避免干扰肠道的天然微生物群。不过，SYNB8802清除草酸盐对肠道微生物群的影响仍有待确定。在动物实验中，该活体生物药已被证实可以消化肠道内的草酸盐。同时，研究人员结合体外和体内临床前数据构建了一个数学模型，预测了服用SYNB8802对人体尿草酸盐排泄的影响<sup>[29]</sup>。结果显示，对于在预期膳食摄入量范围内摄入草酸盐的EH患者，该模型预测每日服用SYNB8802后，其尿液草酸盐水平会出现有临床意义和剂量依赖性的降低。

与此同时，草酸杆菌在促进消化和草酸盐降解以及改善肠道健康方面具有多种应用潜力，被视为治疗肠源性高草酸尿症LBP的新希望。这种细菌能够作为口服益生菌定植在肠道，减少肠道对草酸盐的吸收，从而降低尿液中草酸盐的排泄<sup>[30]</sup>。然而，草酸杆菌作为一种厌氧非模式生物，目前很多生物特性尚不明晰，相应生物活体药产品开发较为困难。

#### 1.4 慢性肾病

慢性肾病（chronic kidney disease, CKD）是一种不可逆转的进行性疾病，主要由高血压、糖尿病和慢性肾衰竭等因素引起，在普通成年人中的发病率和死亡率较高<sup>[31]</sup>。尿毒症毒素是一类由肠道微生物群驱动的氨基酸代谢衍生物，常规透析治疗难以清除。其中，对甲酚硫酸盐（*p*-cresol sulfate, PCS）是尿毒症毒素的主要成分之一，由饮食中的L-酪氨酸在肝脏中代谢生成。PCS的积累可加速CKD患者肾脏损伤的进程。此外，肠道菌群失调，特别是产尿毒症毒素细菌的增加，会加剧尿毒症毒素和L-酪氨酸的产生与吸收，从而加重病情<sup>[31]</sup>。因此，促进尿毒症毒素的代谢以减少PCS的积累，被视为治疗CKD的一种合理策略。

研究表明，酪氨酸解氨酶（TAL）能将L-酪氨酸转化为无毒化合物对香豆酸（*p*-coumaric acid, PCA），可在肠道中提供一种减少或消除尿毒症毒素的潜在途径<sup>[32]</sup>。在大肠杆菌中，TAL的工程化改造已被用于工业生产PCA<sup>[33]</sup>。工业生产通常需要在高pH等非生理条件下进行以增强酶活性，这

些条件并不适合活体生物药的应用。但是这一代谢途径为开发治疗CKD的活体生物药提供了启示。2024年，Synlogic公司的Vincent M. Isabella团队以*EcN*为底盘构建LBP，旨在将L-酪氨酸转化为PCA，绕过尿毒症毒素合成以治疗CKD<sup>[34]</sup>。研究人员筛选了多种的TAL，并通过多种策略（增加底物摄取、增加产物输出和定向进化）提升菌株性能。在定向进化中，作者开发了一种基于PCA的生物传感器，以高效筛选突变体。通过将突变文库中的菌株暴露于不同浓度的PCA中，并利用生物传感器进行筛选。研究人员最终筛选出Q10T/N45D突变体，其活性较野生型提高了25%。最终菌株在L-酪氨酸到PCA的转化率上提高了183%<sup>[34]</sup>。尽管该菌株无法完全阻止尿毒症毒素的合成，但显著减少了尿毒症毒素和PCS的积累，有望减缓CKD患者的病情发展。该菌株作为治疗CKD的潜在药物，其疗效有待进一步的动物试验和临床试验验证。

#### 1.5 经典型同型胱氨酸尿症

经典型同型胱氨酸尿症（homocystinuria, HCU）是一种罕见的遗传代谢病，由胱硫醚β-合酶（cystathionine beta-synthase, CBS）突变后引发蛋氨酸代谢紊乱而导致<sup>[35]</sup>。当细胞内蛋氨酸水平过高时，转硫途径在同型半胱氨酸代谢中起重要作用，在CBS的帮助下将同型半胱氨酸转化为胱硫醚。在细胞蛋氨酸水平较低时，同型半胱氨酸会通过再甲基化途径重新甲基化为蛋氨酸<sup>[36]</sup>。目前，临床治疗主要通过限制蛋氨酸摄入来控制病情，缺乏更有效的治疗手段。

2024年，Synlogic公司的David L. Hava团队以*EcN*为底盘，开发了一种在肠道中代谢蛋氨酸，并防止血浆蛋氨酸和同型半胱氨酸升高的活体生物药<sup>[37]</sup>。研究团队敲除了编码蛋氨酸/支链氨基酸输出蛋白的*yjeH*基因，并过表达内源蛋氨酸输入蛋白（MetNIQ），以增加细胞内蛋氨酸浓度。随后，引入蛋氨酸脱羧酶（MetDC）将蛋氨酸转化为3-甲硫基丙胺（3-MTP）。为提高菌株利用蛋氨酸的能力，研究团队通过机器学习模型识别蛋白同源物，构建了宏基因组文库和人工设计蛋白质

文库，并高通量筛选高性能的 MetDC 和 MetNIQ 以及蛋氨酸同向转运蛋白 (MetP)。研究团队将筛选后的基因整合至 *EcN* 的染色体中并优化拷贝数，得到菌株 SYNBI353。在动物实验和 I 期临床实验中，SYNBI353 在食蟹猴模型和人体内均表现出良好的活性，能够有效降解蛋氨酸，并降低血浆蛋氨酸水平。但是在 AAV-CBS 敲除小鼠模型中，经 SYNBI353 治疗后小鼠血浆同型半胱氨酸水平未有效降低。在该研究中，研究人员通过机器学习构建变体文库以筛选高活性的功能酶，这也是当下人工智能辅助合成生物学的范式之一。尽管动物实验的结果存在一定不足，但该研究证实了活体生物药治疗 HCU 是潜在的可行方案。

综合现有研究，活体生物药在代谢类疾病的治疗剂开发方面展现出一定的应用前景，目前国内外已有相关公司推动活体生物药向临床转化，详见表 1。但治疗代谢性疾病活体生物药的开发尚未达到一定的精细程度，缺乏精确且高效的调控机制，这限制了其疗效的发挥<sup>[47]</sup>。这些问题迫切需要科研人员的关注与解决。合成生物学的发展为活体生物药的研发提供了多样化的工具和方法，使研究人员能够利用特定的生物元件，精确设计和构建遗传电路，从而实现了对特定基因的精确调控<sup>[48]</sup>。未来的研究方向应当集中在如何进一步优化活体生物药的设计与构建过程，特别是针对代谢类疾病的普遍病理特征（例如特定目标代谢物的异常积累）以及特定疾病的生理生化特性，进行精细化的设计和改造。这有望推动活体生物药

在代谢疾病治疗剂开发领域的研究。

## 2 开发策略

目前，活体生物药开发所用到的底盘种类有限，且部分底盘缺少高效的工具或系统。但随着活体生物药展现出巨大潜力，越来越多的研究团队开始拓展可应用于活体生物药的益生菌，同时开发相关的遗传工具与系统<sup>[47]</sup>。本文将从底盘选择与改造、遗传电路设计两个方面进行概述。

### 2.1 底盘细胞选择与改造

人体的肠道环境是一个复杂的厌氧环境，既有多重饮食消化产物和人体代谢产物，也存在庞大的肠道菌群，间接或直接影响人体生理健康情况<sup>[49]</sup>。因此，选择适合人体肠道复杂环境的底盘细胞，对活体生物药开发有至关重要的作用。活体生物药的底盘细胞不仅需要确保对人体无害，还需适应肠道的厌氧环境，并具备在肠道定植的能力。此外，底盘细胞的传代及代谢背景应当清晰，并易于进行基因工程操作，以适合表达多种功能蛋白。因此，相较于传统工程菌株开发，工程活体生物药的底盘选择受到一定限制。目前，常见的底盘主要有 *EcN* 和乳酸菌 (lactic acid bacteria, LAB)。

#### 2.1.1 大肠杆菌 Nissle 1917

自大肠杆菌 Nissle 1917 被分离以来，未工程

表 1 治疗代谢病活体生物药产业化现状

Table 1 Current status of industrialization of live biotherapeutic products

公司名称	所应用的适应证	产品名称	现状	参考文献
Synlogic	苯丙酮尿症	SYNB1618 和 SYNBI934	已在美国完成单臂 II 期研究和 I 期临床试验，目前已停产	[16,38]
	同型胱氨酸尿症	SYNB1353	完成研发，已在美国完成 I 期临床试验	[37,39]
	高氨酸血症	SYNB1020	完成研发，已在美国完成 I 期临床试验，目前已停产	[40-41]
	肠源性高草酸尿症	SYNB8802	完成研发，已在美国完成 I b 临床研究	[42]
	痛风	SYNB2081	研发中	[43]
	胱氨酸尿症	尚未公布	尚未公布	[44]
ActoBio Therapeutics	糖尿病	AG019	完成研发，已在美国完成 I b/II a 期临床实验，最新进展未公布	[45]
和度生物医药(上海)有限公司	胆固醇过高	尚未公布	完成研发，未公布最新进展	[46]
	苯丙酮尿症	CBT-102	完成研发，正开展临床研究	[17]

化的 *EcN* 已被用于治疗各种胃肠道疾病, 包括炎症性肠病和肠易激综合征等<sup>[50]</sup>。*EcN* 能在人体肠道定植, 修复肠黏膜屏障, 并参与宿主的免疫调控。*EcN* 还可以通过产生细菌素或产生铁载体来阻碍机会性病原体(如沙门氏菌属和其他大肠菌群肠道病原体)的生长<sup>[51]</sup>。此外, *EcN* 还可与肠上皮细胞相互作用, 刺激抗炎活动以及恢复和维持肠道屏障功能<sup>[52]</sup>。

利用大肠杆菌 Nissle 1917 作为工程生物治疗的底盘生物具有显著优势, 主要体现在研究者对大肠杆菌的基因表达调控, 尤其是转录和翻译控制机制已有较为深入的了解。此外, *EcN* 的完整基因组序列已得到注释, 这为 *EcN* 的改造提供了必要的信息<sup>[53]</sup>。*EcN* 含有两个隐匿质粒 pMUT1 和 pMUT2, 无需抗生素选择即可稳定复制, 可改造用于异源蛋白表达<sup>[54]</sup>。但也有研究显示, pMUT1 和 pMUT2 的存在会造成 *EcN* 的代谢负担, 敲除隐匿质粒有利于 *EcN* 生长, 有可能更利于 *EcN* 的改造<sup>[55]</sup>。目前, 有学者删除了 *EcN* 中内源隐秘质粒 pMUT1/2 的非必需元件, 构建了具有更长稳定期的简化质粒, 实现了蛋白的稳定表达<sup>[56]</sup>。也有学者在 pMUT1/2 中引入了抗生素抗性基因、荧光标记、温度敏感启动子和用于胞外蛋白分泌的卷曲纤维 Curli 等遗传元件, 用于高效表达异源蛋白<sup>[54]</sup>。

目前, *EcN* 是工程活体生物药开发中最常用的底盘细胞, 不仅应用于开发治疗代谢性疾病, 还被成功开发用作治疗肿瘤和炎症等疾病<sup>[57]</sup>。但相较于其他常用的大肠杆菌菌株, 研究者对其遗传背景和代谢通路的了解仍有待完善。在未来, 研究人员需要通过基因组学和代谢组学等手段进一步加强对 *EcN* 的认识, 以指导合成生物学策略改造 *EcN* 开发工程活体生物药。

### 2.1.2 乳酸菌

通常被归类为益生菌的乳酸菌包括乳酸杆菌属 (*Lactobacillus* spp.)、乳球菌属 (*Lactococcus* spp.) 和双歧杆菌属 (*Bifidobacterium* spp.)。研究表明, 乳酸菌及其发酵产品不仅能有效治疗炎症性肠病 (inflammatory bowel disease, IBD)<sup>[58]</sup>, 还展现出对抗炎症相关癌症的治疗潜力<sup>[59]</sup>。鉴于乳酸菌的这些特性, 研究人员可以探索通过工程化

设计进一步提升其在临床治疗中的功能和应用。但 LAB 是一种革兰氏阳性细菌, 细胞膜具有较厚的肽聚糖层, 构成外源 DNA 向胞内转移的物理屏障<sup>[60]</sup>。因此, 对 LAB 进行遗传改造通常需借助穿梭载体。例如, 穿梭载体 pTRKH2 通过将大肠杆菌的 p15A 复制起点克隆至 pAMP1 衍生载体中构建而成, 该载体可先在大肠杆菌中进行分子操作, 随后转化至多种乳球菌和乳杆菌属菌株<sup>[61]</sup>。同样, 从发酵乳杆菌中分离的质粒中添加大肠杆菌复制起点 pBR322, 构建为穿梭载体 pLEM415, 也能够在大肠杆菌和 LAB 中复制<sup>[62]</sup>。

此外, LAB 还有一些基因组插入工具, 便于进行合成生物学改造。例如, 质粒 pTRK327 含有一个插入序列 (IS) 元件, 可在不依赖 Rec 重组的帮助下, 以有限的同源性随机整合到格氏乳杆菌的染色体中<sup>[63]</sup>。cre-lox 系统是基因重组的另一种有用工具, 它具有灵活性和高重组效率, 可在细菌染色体的任何区域进行特定基因的删除或插入。cre 重组酶能识别 loxP 位点, loxP 位点的方向决定基因是反转还是删除<sup>[64]</sup>。上述系统已被成功用于删除乳酸杆菌中的胸苷酸合成酶基因<sup>[65]</sup>。CRISPR-Cas 系统在 LAB 的应用也有相关研究报道。pNZDual 是一个单质粒 CRISPR-Cas 系统, 其基因的表达由乳酸链球菌素诱导, 协助单质粒系统对乳酸乳球菌 NZ9000 中的 CRISPR-Cas9/CRISPRi 基因进行调控<sup>[66]</sup>。该系统已被用于删除 LAB 中的蛋白水解基因, 并优化菌株以表达大量异源蛋白<sup>[67]</sup>。

目前, 乳酸菌主要被研究用于肠道功能紊乱引起多种炎症的治疗剂。多种研究已表明, 乳酸菌有巨大的改造潜力, 未来可作为治疗代谢类疾病的底盘细胞<sup>[68-70]</sup>。

### 2.1.3 新一代底盘细胞开发

相较于活体生物药开发的传统底盘 (*EcN* 和 LAB), 有研究者认为包括拟杆菌属 (*Bacteroides* spp.)、丁酸梭菌 (*Clostridium butyricum*) 和布拉氏酵母 (*Saccharomyces boulardii*) 在内的益生菌是新一代底盘细胞。已有多个研究报道, 上述益生菌能调节人体免疫系统发挥抗炎作用<sup>[71-74]</sup>, 还可以产生抗炎代谢物, 例如丁酸盐和  $\beta$ -羟基丁酸盐<sup>[75]</sup>。此外, 它们在肠道定植方面也具有显著优

势, 例如拟杆菌属能够定植于结肠隐窝<sup>[76]</sup>。丁酸梭菌能够产生孢子以抵抗肠道环境<sup>[47]</sup>。布拉氏酵母则易于进行基因工程改造。

目前, 这些菌株作为新一代活体生物药的底盘, 仍处在研发初期, 相关活体生物药开发的研究较少。2020年, 有研究团队首次报道了利用布拉氏酵母异源表达抗炎蛋白治疗葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导的炎症性肠病<sup>[77]</sup>。2021年, 有研究报道了过表达猪表皮生长因子以减轻肠上皮损伤的丁酸梭菌<sup>[78]</sup>。同年, 另有一项研究报道改造布拉氏酵母以实现在肠道中合成维生素A的前体 $\beta$ -胡萝卜素<sup>[79]</sup>。2023年, 有研究团队利用工程化丁酸梭菌促进线粒体自噬, 探究其对帕金森病小鼠模型的神经保护作用<sup>[80]</sup>。2025年, 有研究报道设计丁酸梭菌持续表达和递送胰高血糖素样肽-1(GLP-1), 用于治疗II型糖尿病小鼠<sup>[81]</sup>。同年, 华大研究院在酿酒酵母中对尿酸降解和转运元件进行筛选与开发, 并通过调节元件表达来优化通路, 最终将优化后的基因回路整合至布拉氏酵母基因组高表达位点, 以治疗高尿酸血症<sup>[82]</sup>。

随着上述菌株的应用潜力不断显现, 研究人员开始着手于相关工具的开发, 并取得了一些进展, 详见表2。其中, 布拉氏酵母因其易于基因操作和改造的特性而备受关注。例如, 有研究团队在布拉氏酵母中构建了一种可扩展且可调的反式激活系统, 该系统有望使工程改造的布拉氏酵母更精确地执行治疗功能<sup>[94]</sup>。还有团队修复了布拉氏酵母的乳糖代谢途径, 评估了5种不同的诱导型启动子[由半乳糖、木糖、乳糖、异丙基- $\beta$ -D-硫代半乳糖苷(IPTG)和无水四环素诱导]在布拉氏酵母中的性能。研究人员还构建了一个基于半乳

糖和无水四环素诱导的转录调控系统, 证明了其小鼠肠道中进行基因表达编程控制的能力<sup>[93]</sup>。相比之下, 针对丁酸梭菌和拟杆菌属的工具开发相对较少。例如, 有团队开发了两套CRISPR-Cas系统用于丁酸梭菌基因编辑, 扩展了可用于研究丁酸梭菌的现有遗传工具箱<sup>[91]</sup>。另有研究报道了在拟杆菌属中构建了多个CRISPR/Cas系统, 并系统地评估了拟杆菌属中的基因组编辑效率, 成功删除了长达50 kb的大基因组片段, 以研究代谢基因簇的功能<sup>[95]</sup>。目前, 这些益生菌仍面临缺少基因编辑工具、遗传操作技术不成熟和相关元件匮乏等问题, 亟需研究人员通过合成生物学策略进一步开发和改造。

## 2.2 遗传电路设计

在合成生物学中, 构建可控的遗传电路是其核心内容之一<sup>[96]</sup>。通过合理设计遗传电路, 可有效规避传统组成型表达系统给LBP构建带来的问题, 例如过度表达、对目标代谢物不敏感以及影响肠道菌群正常功能等。近年来, 生物传感器的研究逐渐成为热点。生物传感器可以将生物信号转化为可测量的信号(如电信号和光信号), 能够表征基因表达水平<sup>[97]</sup>。合成生物学家也将其引入遗传电路中, 从而使遗传电路实现多种功能。根据特定疾病和所选用的底盘细胞, 有针对性地设计遗传电路是开发活体生物药的重要策略。

### 2.2.1 功能基因电路

功能基因电路一般包括感知模块和响应模块。感知模块负责感知目标物浓度、含氧量、温度和光照等环境因素的变化, 这些变化作为输入信号

表2 不同底盘细胞开发LBP现状

Table 2 Current status of LBP development in different chassis cells

底盘细胞	拉丁文学名	所开发LBP的适应证	开发程度
大肠杆菌	<i>Escherichia coli</i>	苯丙酮尿症、高尿酸血症、肠源性高草酸尿症、	完成基因组注释 <sup>[53,83]</sup> ; 开发内源性隐匿质粒作为表达载体 <sup>[54,56,84]</sup> ; 开发阻止耐药基因转移的CRISPR系统 <sup>[85]</sup> ; 开发靶向特异性递送系统 <sup>[86]</sup>
Nissle 1917	Nissle 1917	慢性肾病、高氨酸血症、同型胱氨酸尿症、肥胖、果糖诱发的代谢综合征及糖尿病等	
乳酸杆菌	<i>Lactobacillus</i>	苯丙酮尿症 <sup>[87]</sup> 、糖尿病 <sup>[88]</sup>	开发多种基因编辑工具, 如CRISPR系统和cre-lox系统 <sup>[65,89-90]</sup>
丁酸梭菌	<i>Clostridium butyricum</i>	糖尿病 <sup>[81]</sup>	开发CRISPR-Cas系统 <sup>[91]</sup> ; 完成不同株系的遗传学特性和生理特性分析 <sup>[92]</sup>
布拉氏酵母	<i>Saccharomyces boulardii</i>	高尿酸血症 <sup>[82]</sup>	修复乳糖代谢途径, 构建多种诱导表达系统 <sup>[93]</sup> ; 构建反式激活系统 <sup>[94]</sup>

被接收。响应模块则负责完成信号转导或输出。研究人员利用功能基因电路可以实现目的基因的筛选、表达调控和强度监测<sup>[98-99]</sup>。

活体生物药一般通过特定功能的酶发挥功能,筛选高性能的酶或功能蛋白是必要的。当基因文库扩大到一定规模后,高通量筛选技术的应用成为解决研究人员庞大工作量的关键<sup>[100]</sup>。在合成生物学领域,设计生物传感器并构建功能性基因回路以筛选理想的突变体,已成为一种广泛采用的研究策略。例如前文中SYNB1934的开发和治疗慢性肾病的LBP开发均利用生物传感器结合高通量筛选技术,筛选更高性能的目标蛋白。此外,传统的组成型表达系统虽然能够实现目标蛋白的高效表达,但其缺乏精细化的调控能力。因此,利用功能基因电路实现基因表达的可控性智能化调控已成为活体生物药发展的重要趋势。例如,袁吉锋团队针对*EcN*设计了两种基因编码的传感器,分别能够响应体温(37 °C)和原儿茶酸(PCA),旨在肠道中精准调控基因表达,并防止*EcN*逃逸。体温响应系统中基于*cI857*蛋白和*P<sub>R</sub>*启动子,通过温度依赖的*cI857*二聚化调控基因表达(37 °C激活,30 °C抑制)。PCA响应系统采用*PcaV*蛋白(一种转录因子)和*P<sub>LV</sub>*启动子,通过配体诱导的构象变化控制基因开关。为提高两套系统的精确性,研究人员将响应元件与*P<sub>lac</sub>-lacO*系统偶联,并通过*dCpf1*介导的*LacI*基因失活来实现更精确的控制。在动物实验验证中,研究人员通过口服/灌胃的方式将工程化*EcN*导入小鼠体内,并使用活体成像系统检测荧光信号。结果显示,与对照组相比,工程化*EcN*在小鼠肠道中产生了可检测的荧光信号,证明了该系统在体内的有效性。该研究通过引入不同的传感元件,构建了响应不同环境刺激的系统,从而实现对*EcN*活性的精确控制,并使其可在特定环境中发挥作用。

合成生物学的发展使得通过设计可控遗传电路实现精准的基因表达和细胞功能调控成为可能,可有效提升LBP的效能和安全性<sup>[12]</sup>。目前,合成生物学正朝着更精准、更智能的方向发展,通过人工智能和机器学习技术,设计更精确、更灵敏的基因开关,并拓展遗传电路的功能,使其能够与更多生物过程相连接,可实现更复杂、更精准

的细胞功能和基因表达调控。

### 2.2.2 生物防护电路

由于益生菌是活的有机体,在诊断或治疗过程中有可能发生突变和进化出不良特征,例如竞争性排斥肠道有益微生物和对宿主的致病潜力。同时,工程活体生物药在人体排泄过程中可能逃逸到自然环境中,并与野生菌群竞争资源或交换基因,进而引发生物安全问题<sup>[101-102]</sup>。为应对上述风险,在活体生物药开发中引入生物防护电路是一项重要的安全策略,它能够确保益生菌在完成预期功能或出现不利突变后能够自我消除,从而避免潜在的生态风险<sup>[103]</sup>。

构建营养缺陷型菌株是传统的生物防护策略之一,该策略一般通过敲除特定的基因,使菌株失去合成某种营养物质的能力,从而产生对外源补充的严格依赖以维持基本生命活动<sup>[104]</sup>。虽然构建营养缺陷型这一传统策略应用广泛,但需要确保接受活体生物药治疗的患者的饮食中含有特定的营养物质,还需要考虑肠道中该特定物质的浓度能否维持工程菌株正常定植、生长和疗效发挥。因此,构建营养缺陷型的生物防护策略在LBP中应用受限。基于合成生物学的发展,构建自杀基因回路成为更具应用潜力的生物防护策略。自杀基因回路可以检测环境信号变化,当工程菌株离开人体肠道环境时使其自杀。2022年,一些研究者开发了一种基于CRISPR-Cas9技术的自杀基因电路(CRISPRks),用于控制*EcN*的生长和去除,以确保其在医疗应用中的安全性<sup>[105]</sup>。体外实验结果显示,CRISPRks电路在无水四环素(anhydrotetracycline, aTc)诱导下1.5 h内可将*EcN*细胞存活率降低至 $10^{-8.6}$ ,并且在28天内保持了高度的稳定性。体内实验数据显示,双输入CRISPRks电路在aTc和温度下降的双重诱导下,在24 h内可将小鼠肠道中的*EcN*细胞数量降低4个对数单位,并最终实现*EcN*细胞的完全清除。诸如此类的研究为开发更安全、可控制的活体生物药提供了新的思路,证明了自杀基因回路是有效避免益生菌逃逸的合理策略。

此外,基于正交系统的生物防护也是潜在的可行策略。例如,已有研究团队通过使用CRISPR辅助转座,设计了一种安全的大肠杆菌底盘,将正交翻译系统(orthogonal translation system, OTS)

直接集成到染色体中，以构建安全、稳定的底盘细胞<sup>[106]</sup>。正交遗传中心法则策略可以克服营养缺陷。利用人工元素如非天然氨基酸，以实现中央遗传法则的正交化，工程菌株的存活或特异性基因表达取决于非天然合成物质来实现生物遏制。但目前在活体生物药中引入高效、稳定的正交系统仍有一定难度，需要进一步探索。

### 3 总结与展望

代谢类疾病有着复杂的发病机制，伴随不确定的代谢紊乱，常规治疗方案存在一定局限。随着合成生物学发展，活体生物药的出现有望成为下一代临床治疗策略。目前，大多数活体生物药的研发集中于炎症和肿瘤等非代谢类疾病，但已有研发人员在研究活体生物药在代谢类疾病治疗（如苯丙酮尿症、高草酸尿症和高尿酸血症等）中的应用。同时，底盘的选择与改造以及遗传电路的开发，为治疗代谢类疾病的活体生物药研发提供了有力支撑。尽管如此，遗传元件的缺乏、底盘细胞的可改造性和定植能力以及遗传电路的稳定性及高效性，仍是亟需解决的问题。

目前，众多研究揭示了活体生物药在代谢类疾病治疗领域的巨大潜力，但在向临床治疗转化中存在诸多不足，仍需大量的科研工作。审视活体生物药的研发过程，我们总结以下几个主要问题及未来可能的解决方案。

第一，安全问题是活体生物药研发的首要问题。针对代谢性疾病的活体生物药，要求工程菌株在人体肠道内长期定植并执行预定功能。这一过程中存在多种安全隐患，包括但不限于菌株逃逸至肠道外环境、功能过度激活导致的代谢失调、对肠道微生物群落结构的潜在破坏，以及菌株自身的遗传稳定性。为了解决此问题，笔者认为有必要开发一套精密的监测体系，以监测工程菌株的功能状态，确保其在肠道内的行为符合预期，从而有效预防和控制潜在的安全风险。

第二，除安全性问题外，疗效问题也至关重要。活体生物药在肠道中的定植可实现代谢途径的代偿，从而对抗体内的代谢失衡。然而，代谢

性疾病的病理改变通常发生在肝脏、肾脏等器官，这限制了活体生物药直接作用于疾病的核心部位。因此，如何扩展活体生物药的作用范围至靶器官，是阻碍活体生物药发展的问题之一。未来的研究应当着重于开发新型活体生物药，通过血液等循环系统，靶向特定的病理组织。考虑到这一点，笔者认为可以将活体生物药的概念从微生物拓展至哺乳动物细胞，即采用哺乳动物细胞作为底盘细胞。这一策略有望使药物经血液循环精准递送至病灶，从而实现更直接和有效的治疗。例如，叶海峰团队在2017年和2019年分别报道了两项在哺乳动物细胞中利用光、电遗传学和智能化基因控制技术治疗糖尿病的研究成果<sup>[107-108]</sup>。这两项研究为新一代活体生物药开发提供了新的思路。

由于代谢性疾病患者之间存在遗传背景、生活方式和疾病进程的差异，活体生物药的治疗效果可能因人而异。因此，如何实现活体生物药的个体化治疗，以适应不同患者的特定需求，是一个重要的研究方向。在此背景下，开发个体化活体生物药制剂有望成为提升治疗精准性与有效性的关键途径。首先，通过对患者遗传多态性的分析，研发人员可以定制更适合特定遗传背景的工程菌株，并进行适应性改造和预临床测试，以确保菌株的安全性和有效性。其次，根据患者的个体差异（如体重、年龄和疾病状态），进行菌株二次改造、调整药物剂量和确定治疗时机，同时考虑联合治疗策略以优化疗效。必不可少的是，个体化活体生物药应考虑法规和伦理问题，以确保个性化治疗的可实施性、合规性和患者的权益。此外，一种活体生物药能否预防或治疗多种代谢病（特别是肥胖和糖尿病等常见代谢病），也可作为未来活体生物药的研究方向之一。先前，已有学者开发了一种构建复杂肠道微生物群的方法，并将其应用于研究肠道菌群与宿主生理和健康之间的关系<sup>[109]</sup>。目前看来，改造肠道现有的菌群或人工合成菌群，有可能实现活体生物药“一药治多病”。

总而言之，从实验室研究到临床应用的转化过程中，活体生物药在治疗代谢性疾病的道路上尚面临诸多挑战。尽管如此，伴随着合成生物技术的持续进步，活体生物药的研发进程正逐步加

速。当下，活体生物药在代谢性疾病的治疗领域已经展现出一定的潜力和应用前景。未来，科研工作者、临床医生及其他领域的学者可持续深化跨学科合作，推动活体生物药从理论探索到临床实践的转化，以实现更加精准和有效的治疗。

### 参 考 文 献

- [1] PANT A, DAS B. Microbiome-based therapeutics: opportunity and challenges[J]. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 2022, 191(1): 229-262.
- [2] SUEZ J, ELINAV E. The path towards microbiome-based metabolite treatment[J]. *Nature Microbiology*, 2017, 2: 17075.
- [3] FAN Y, PEDERSEN O. Gut microbiota in human metabolic health and disease[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2021, 19(1): 55-71.
- [4] KIM D Y, LEE S Y, LEE J Y, et al. Gut microbiome therapy: fecal microbiota transplantation vs live biotherapeutic products [J]. *Gut Microbes*, 2024, 16(1): 2412376.
- [5] Early clinical trials with live biotherapeutic products: chemistry, manufacturing, and control information[EB/OL]. FDA, 2016[2025-06-01]. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/early-clinical-trials-live-biotherapeutic-products-chemistry-manufacturing-and-control-information>.
- [6] ROUANET A, BOLCA S, BRU A, et al. Live biotherapeutic products, a road map for safety assessment[J]. *Frontiers in Medicine*, 2020, 7: 237.
- [7] BOBER J R, BEISEL C L, NAIR N U. Synthetic biology approaches to engineer probiotics and members of the human microbiota for biomedical applications[J]. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 2018, 20: 277-300.
- [8] VAN SPRONSEN F J, BLAU N, HARDING C, et al. Phenylketonuria[J]. *Nature Reviews Disease Primers*, 2021, 7: 36.
- [9] DE GROOT M J, HOEKSMAN M, BLAU N, et al. Pathogenesis of cognitive dysfunction in phenylketonuria: review of hypotheses[J]. *Molecular Genetics and Metabolism*, 2010, 99: S86-S89.
- [10] 杨君, 吴昭英, 张丽丽, 等. 成人苯丙酮尿症[J]. *罕见疾病杂志*, 2023, 30(8): 1-2, 10.  
YANG J, WU Z Y, ZHANG L L, et al. Adult phenylketonuria [J]. *Journal of Rare and Uncommon Diseases*, 2023, 30(8): 1-2, 10.
- [11] BILDER D A, NOEL J K, BAKER E R, et al. Systematic review and meta-analysis of neuropsychiatric symptoms and executive functioning in adults with phenylketonuria[J]. *Developmental Neuropsychology*, 2016, 41(4): 245-260.
- [12] ISABELLA V M, HA B N, CASTILLO M J, et al. Development of a synthetic live bacterial therapeutic for the human metabolic disease phenylketonuria[J]. *Nature Biotechnology*, 2018, 36(9): 857-864.
- [13] ADOLFSSEN K J, CALLIHAN I, MONAHAN C E, et al. Improvement of a synthetic live bacterial therapeutic for phenylketonuria with biosensor-enabled enzyme engineering [J]. *Nature Communications*, 2021, 12: 6215.
- [14] PUURUNEN M K, VOCKLEY J, SEARLE S L, et al. Safety and pharmacodynamics of an engineered *E. coli* Nissle for the treatment of phenylketonuria: a first-in-human phase 1/2a study [J]. *Nature Metabolism*, 2021, 3(8): 1125-1132.
- [15] VOCKLEY J, SONDEHEIMER N, PUURUNEN M, et al. Efficacy and safety of a synthetic biotic for treatment of phenylketonuria: a phase 2 clinical trial[J]. *Nature Metabolism*, 2023, 5(10): 1685-1690.
- [16] Synlogic announces decision to discontinue synpheny-3 study and provides corporate update[EB/OL].(2024-02-08) [2025-01-07]. <https://investor.synlogictx.com/news-releases/news-release-details/synlogic-announces-decision-discontinue-synpheny-3-study-and>.
- [17] CBT102-A by CommBio therapeutics for phenylketonuria (PKU): likelihood of approval[EB/OL]. (2024-01-23)[2024-12-20]. <https://www.pharmaceutical-technology.com/data-insights/cbt102-a-commbio-therapeutics-phenylketonuria-pku-likelihood-of-approval/>.
- [18] 王立, 孔繁智, 王斗, 等. 一种重组肠杆菌及其在降解酪氨酸和苯丙氨酸中的应用: CN116790468B[P]. 2023-11-17.  
WANG L, KONG F Z, WANG D, et al. A recombinant *Escherichia coli* and its application in degrading tyrosine and phenylalanine: CN116790468B[P]. 2023-11-17.
- [19] 邹丹阳, 董雨萌, 陈晶瑜. 活体生物药: 生物技术推动的创新药研发前沿[J]. *生物工程学报*, 2023, 39(4): 1275-1289.  
ZOU D Y, DONG Y M, CHEN J Y. Live bio therapeutic products: the forefront of innovative drug development driven by biotechnology[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2023, 39(4): 1275-1289.
- [20] DU L, ZONG Y, LI H R, et al. Hyperuricemia and its related diseases: mechanisms and advances in therapy[J]. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2024, 9: 212.
- [21] SORENSEN L B. Role of the intestinal tract in the elimination of uric acid[J]. *Arthritis & Rheumatism*, 1965, 8(4): 694-706.
- [22] GLIOZZI M, MALARA N, MUSCOLI S, et al. The treatment of hyperuricemia[J]. *International Journal of Cardiology*, 2016, 213: 23-27.

- [23] ZHAO R, LI Z M, SUN Y Q, et al. Engineered *Escherichia coli* Nissle 1917 with urate oxidase and an oxygen-recycling system for hyperuricemia treatment[J]. Gut Microbes, 2022, 14(1): 2070391.
- [24] HE L N, TANG W, HUANG L, et al. Rational design of a genome-based insulated system in *Escherichia coli* facilitates heterologous uricase expression for hyperuricemia treatment [J]. Bioengineering & Translational Medicine, 2023, 8(2): e10449.
- [25] TONG Y, WEI Y F, JU Y J, et al. Anaerobic purinolytic enzymes enable dietary purine clearance by engineered gut bacteria[J]. Cell Chemical Biology, 2023, 30(9): 1104-1114.e7.
- [26] ZOU Z P, LI J L, ZHANG Y F, et al. Empowering probiotics with high xanthine transport for effective hyperuricemia management[J]. Gut Microbes, 2024, 16(1): 2399213.
- [27] WITTING C, LANGMAN C B, ASSIMOS D, et al. Pathophysiology and treatment of enteric hyperoxaluria[J]. Clinical Journal of the American Society of Nephrology, 2021, 16(3): 487-495.
- [28] HIREMATH S, VISWANATHAN P. *Oxalobacter formigenes*: a new hope as a live biotherapeutic agent in the management of calcium oxalate renal stones[J]. Anaerobe, 2022, 75: 102572.
- [29] LUBKOWICZ D, HORVATH N G, JAMES M J, et al. An engineered bacterial therapeutic lowers urinary oxalate in preclinical models and *in silico* simulations of enteric hyperoxaluria[J]. Molecular Systems Biology, 2022, 18(3): e10539.
- [30] HOPPE B, NIAUDET P, SALOMON R, et al. A randomised Phase I / II trial to evaluate the efficacy and safety of orally administered *Oxalobacter formigenes* to treat primary hyperoxaluria[J]. Pediatric Nephrology, 2017, 32(5): 781-790.
- [31] KALANTAR-ZADEH K, JAFAR T H, NITSCH D, et al. Chronic kidney disease[J]. The Lancet, 2021, 398(10302): 786-802.
- [32] BRACK Y, SUN C H, YI D, et al. Discovery of novel tyrosine ammonia lyases for the enzymatic synthesis of *p*-coumaric acid [J]. ChemBioChem, 2022, 23(10): e202200062.
- [33] LIU Y Q, XU W Z, XU W. Production of *trans*-cinnamic and *p*-coumaric acids in engineered *E. coli*[J]. Catalysts, 2022, 12(10): 1144.
- [34] LUBKOWICZ D, HAVA D L, LEWIS K, et al. Rational engineering of *Escherichia coli* Nissle 1917 as live biotherapeutic to degrade uremic toxin precursors[J]. ACS Synthetic Biology, 2024, 13(4): 1077-1084.
- [35] KRAUS J P, JANOŠÍK M, KOŽICH V, et al. Cystathionine  $\beta$ -synthase mutations in homocystinuria[J]. Human Mutation, 1999, 13(5): 362-375.
- [36] KUMAR T, SHARMA G S, SINGH L R. Homocystinuria: therapeutic approach[J]. Clinica Chimica Acta, 2016, 458: 55-62.
- [37] PERREAULT M, MEANS J, GERSON E, et al. The live biotherapeutic SYN1353 decreases plasma methionine *via* directed degradation in animal models and healthy volunteers [J]. Cell Host & Microbe,
- [38] Synlogic announces publication of synpheny-1 phase 2 study of synthetic biotic for phenylketonuria in nature metabolism [EB/OL]. (2023-09-28) [2025-01-07]. <https://investor.synlogictx.com/news-releases/news-release-details/synlogic-announces-publication-synpheny-1-phase-2-study>.
- [39] Synlogic announces publication of preclinical and clinical data for SYN1353 as a potential treatment for classical homocystinuria[EB/OL]. (2024-02-02) [2025-01-07]. <https://investor.synlogictx.com/news-releases/news-release-details/synlogic-announces-publication-preclinical-and-clinical-data>.
- [40] KURTZ C B, MILLET Y A, PUURUNEN M K, et al. An engineered *E. coli* Nissle improves hyperammonemia and survival in mice and shows dose-dependent exposure in healthy humans[J]. Science Translational Medicine, 2019, 11(475): eaau7975.
- [41] Synlogic discontinues development of SYN1020 to treat hyperammonemia[EB/OL]. (2019-08-20) [2025-01-07]. <https://investor.synlogictx.com/news-releases/news-release-details/synlogic-discontinues-development-synb1020-treat-hyperammonemia>.
- [42] Synlogic announces achievement of proof of concept for SYN8802 in enteric hyperoxaluria based on urinary oxalate lowering in Phase 1b study[EB/OL]. (2022-12-15) [2025-01-07]. <https://investor.synlogictx.com/news-releases/news-release-details/synlogic-announces-achievement-proof-concept-synb8802-enteric>.
- [43] Synlogic announces synthetic biotic for gout developed in partnership with Ginkgo Bioworks[EB/OL]. (2022-08-11)[2025-01-07]. <https://www.prnewswire.com/news-releases/synlogic-announces-synthetic-biotic-for-gout-developed-in-partnership-with-ginkgo-bioworks-301603915.html>.
- [44] Pipeline[EB/OL]. [2025-01-07]. <https://www.synlogictx.com/pipeline/>.
- [45] Precigen Actobio announces additional positive interim data from Phase 1b/2a study of AG019 ActoBiotics™, a novel therapy designed to address the underlying cause of Type 1 diabetes[EB/OL]. (2021-10-01) [2025-01-07]. <https://investors.precigen.com/news-releases/news-release-details/precigen-actobio-announces-additional-positive-interim-data/>.
- [46] 刘彦强, 左方圆, 向斌. 一种用于催化胆固醇硫酸酯合成的

- 工程微生物及其应用: CN118853719A[P]. 2024-10-29.
- LIU Y Q, ZUO F Y, XIANG B. An engineering microorganism for catalyzing the synthesis of cholesterol sulfate ester and its application: CN118853719A[P]. 2024-10-29.
- [47] CHARBONNEAU M R, ISABELLA V M, LI N, et al. Developing a new class of engineered live bacterial therapeutics to treat human diseases[J]. *Nature Communications*, 2020, 11: 1738.
- [48] BUECHERL L, MYERS C J. Engineering genetic circuits: advancements in genetic design automation tools and standards for synthetic biology[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2022, 68: 102155.
- [49] THURSBY E, JUGE N. Introduction to the human gut microbiota[J]. *The Biochemical Journal*, 2017, 474(11): 1823-1836.
- [50] SONNENBORN U. *Escherichia coli* strain Nissle 1917-from bench to bedside and back: history of a special *Escherichia coli* strain with probiotic properties[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2016, 363(19): fnw212.
- [51] DERIU E, LIU J Z, PEZESHKI M, et al. Probiotic bacteria reduce *Salmonella typhimurium* intestinal colonization by competing for iron[J]. *Cell Host & Microbe*, 2013, 14(1): 26-37.
- [52] FÁBREGA M J, RODRÍGUEZ-NOGALES A, GARRIDO-MESA J, et al. Intestinal anti-inflammatory effects of outer membrane vesicles from *Escherichia coli* Nissle 1917 in DSS-experimental colitis in mice[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 1274.
- [53] REISTER M, HOFFMEIER K, KREZDORN N, et al. Complete genome sequence of the Gram-negative probiotic *Escherichia coli* strain Nissle 1917[J]. *Journal of Biotechnology*, 2014, 187: 106-107.
- [54] KAN A, GELFAT I, EMANI S, et al. Plasmid vectors for *in vivo* selection-free use with the probiotic *E. coli* Nissle 1917 [J]. *ACS Synthetic Biology*, 2021, 10(1): 94-106.
- [55] ZAINUDDIN H S, BAI Y F, MANSELL T J. CRISPR-based curing and analysis of metabolic burden of cryptic plasmids in *Escherichia coli* Nissle 1917[J]. *Engineering in Life Sciences*, 2019, 19(6): 478-485.
- [56] ZHOU S Y, ZHAO L L, ZUO W J, et al. Minimizing endogenous cryptic plasmids to construct antibiotic-free expression systems for *Escherichia coli* Nissle 1917[J]. *Synthetic and Systems Biotechnology*, 2024, 9(1): 165-175.
- [57] YU X L, LIN C S, YU J, et al. Bioengineered *Escherichia coli* Nissle 1917 for tumour-targeting therapy[J]. *Microbial Biotechnology*, 2020, 13(3): 629-636.
- [58] SAEZ-LARA M J, GOMEZ-LLORENTE C, PLAZA-DIAZ J, et al. The role of probiotic lactic acid bacteria and bifidobacteria in the prevention and treatment of inflammatory bowel disease and other related diseases: a systematic review of randomized human clinical trials[J]. *BioMed Research International*, 2015, 2015: 505878.
- [59] LU K, DONG S W, WU X Y, et al. Probiotics in cancer[J]. *Frontiers in Oncology*, 2021, 11: 638148.
- [60] WANG C, CUI Y H, QU X J. Optimization of electrotransformation (ETF) conditions in lactic acid bacteria (LAB) [J]. *Journal of Microbiological Methods*, 2020, 174: 105944.
- [61] O'SULLIVAN D J, KLAENHAMMER T R. High- and low-copy-number *Lactococcus* shuttle cloning vectors with features for clone screening[J]. *Gene*, 1993, 137(2): 227-231.
- [62] BAO S J, ZHU L B, ZHUANG Q, et al. Distribution dynamics of recombinant *Lactobacillus* in the gastrointestinal tract of neonatal rats[J]. *PLoS One*, 2013, 8(3): e60007.
- [63] WALKER D C, KLAENHAMMER T R. Isolation of a novel IS3 group insertion element and construction of an integration vector for *Lactobacillus* spp[J]. *Journal of Bacteriology*, 1994, 176(17): 5330-5340.
- [64] ENYEART P J, CHIRIELEISON S M, DAO M N, et al. Generalized bacterial genome editing using mobile group II introns and Cre-lox[J]. *Molecular Systems Biology*, 2013, 9: 685.
- [65] ZHU D L, ZHAO K, XU H J, et al. Construction of thyA deficient *Lactococcus lactis* using the Cre-loxP recombination system[J]. *Annals of Microbiology*, 2015, 65(3): 1659-1665.
- [66] BERLEC A, ŠKRLEC K, KOCJAN J, et al. Single plasmid systems for inducible dual protein expression and for CRISPR-Cas9/CRISPRi gene regulation in lactic acid bacterium *Lactococcus lactis*[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8: 1009.
- [67] KIELISZEK M, POBIEGA K, PIWOWAREK K, et al. Characteristics of the proteolytic enzymes produced by lactic acid bacteria[J]. *Molecules*, 2021, 26(7): 1858.
- [68] KONGO E. Lactic acid bacteria[M]. Rijeka, Croatia: InTech, 2013.
- [69] ZIELIŃSKA D, KOŁOŻYN-KRAJEWSKA D. Food-origin lactic acid bacteria may exhibit probiotic properties: review[J]. *BioMed Research International*, 2018, 2018(1): 5063185.
- [70] PINTO A, BARBOSA J, ALBANO H, et al. Screening of bacteriocinogenic lactic acid bacteria and their characterization as potential probiotics[J]. *Microorganisms*, 2020, 8(3): 393.
- [71] SOFI M H, WU Y X, TICER T, et al. A single strain of *Bacteroides fragilis* protects gut integrity and reduces GVHD [J]. *JCI Insight*, 2021, 6(3): e136841.
- [72] LUO X S, KONG Q, WANG Y M, et al. Colonization of

- Clostridium butyricum* in rats and its effect on intestinal microbial composition[J]. *Microorganisms*, 2021, 9(8): 1573.
- [73] ZHAO X N, YANG J, JU Z J, et al. *Clostridium butyricum* ameliorates *Salmonella* enteritis induced inflammation by enhancing and improving immunity of the intestinal epithelial barrier at the intestinal mucosal level[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 299.
- [74] WANG C, LI W B, WANG H Y, et al. *Saccharomyces boulardii* alleviates ulcerative colitis carcinogenesis in mice by reducing TNF- $\alpha$  and IL-6 levels and functions and by rebalancing intestinal microbiota[J]. *BMC Microbiology*, 2019, 19(1): 246.
- [75] STOEVA M K, GARCIA-SO J, JUSTICE N, et al. Butyrate-producing human gut symbiont, *Clostridium butyricum*, and its role in health and disease[J]. *Gut Microbes*, 2021, 13(1): 1907272.
- [76] LEE S M, DONALDSON G P, MIKULSKI Z, et al. Bacterial colonization factors control specificity and stability of the gut microbiota[J]. *Nature*, 2013, 501(7467): 426-429.
- [77] LIU C H, CHANG J H, CHANG Y C, et al. Treatment of murine colitis by *Saccharomyces boulardii* secreting atrial natriuretic peptide[J]. *Journal of Molecular Medicine*, 2020, 98(12): 1675-1687.
- [78] MA M P, ZHAO Z T, LIANG Q Y, et al. Overexpression of pEGF improved the gut protective function of *Clostridium butyricum* partly through STAT3 signal pathway[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2021, 105(14): 5973-5991.
- [79] DURMUSOGLU D, AL'ABRI I S, COLLINS S P, et al. *In situ* biomanufacturing of small molecules in the mammalian gut by probiotic *Saccharomyces boulardii*[J]. *ACS Synthetic Biology*, 2021, 10(5): 1039-1052.
- [80] WANG Y, CHEN W J, HAN Y Y, et al. Neuroprotective effect of engineered *Clostridium butyricum*-pMTL007-GLP-1 on Parkinson's disease mice models *via* promoting mitophagy[J]. *Bioengineering & Translational Medicine*, 2023, 8(3): e10505.
- [81] ZHOU D X, LI S J, HU G, et al. Hypoglycemic effect of *C. butyricum*-pMTL007-GLP-1 engineered probiotics on type 2 diabetes mellitus[J]. *Gut Microbes*, 2025, 17(1): 2447814.
- [82] WANG W Z, PAN L, HE H S, et al. Systematic engineering for efficient uric acid-degrading activity in probiotic yeast *Saccharomyces boulardii*[J]. *ACS Synthetic Biology*, 2025, 14(6): 2030-2043.
- [83] GROZDANOV L, RAASCH C, SCHULZE J, et al. Analysis of the genome structure of the nonpathogenic probiotic *Escherichia coli* strain Nissle 1917[J]. *Journal of Bacteriology*, 2004, 186(16): 5432-5441.
- [84] BA F, ZHANG Y F, JI X Y, et al. Expanding the toolbox of probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 for synthetic biology[J]. *Biotechnology Journal*, 2024, 19(1): 2300327.
- [85] FANG M D, ZHANG R T, WANG C Y, et al. Engineering probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 to block transfer of multiple antibiotic resistance genes by exploiting a type I CRISPR-Cas system[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2024, 90(10): e00811-24.
- [86] PRAVESHOTINUNT P, DURAJ-THATTE A M, GELFAT I, et al. Engineered *E. coli* Nissle 1917 for the delivery of matrix-tethered therapeutic domains to the gut[J]. *Nature Communications*, 2019, 10(1): 5580.
- [87] DURRER K E, ALLEN M S, HUNT VON HERBING I. Genetically engineered probiotic for the treatment of phenylketonuria (PKU); assessment of a novel treatment *in vitro* and in the PAHenu2 mouse model of PKU[J]. *PLoS One*, 2017, 12(5): e0176286.
- [88] DUAN F F, LIU J H, MARCH J C. Engineered commensal bacteria reprogram intestinal cells into glucose-responsive insulin-secreting cells for the treatment of diabetes[J]. *Diabetes*, 2015, 64(5): 1794-1803.
- [89] GOH Y J, BARRANGOU R. Harnessing CRISPR-Cas systems for precision engineering of designer probiotic lactobacilli[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2019, 56: 163-171.
- [90] MU Y L, ZHANG C X, LI T H, et al. Development and applications of CRISPR/Cas9-based genome editing in *Lactobacillus*[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(21): 12852.
- [91] ZHOU X Q, WANG X L, LUO H Y, et al. Exploiting heterologous and endogenous CRISPR-Cas systems for genome editing in the probiotic *Clostridium butyricum*[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2021, 118(7): 2448-2459.
- [92] PEI Z M, LIU Y F, YI Z, et al. Diversity within the species *Clostridium butyricum*: pan-genome, phylogeny, prophage, carbohydrate utilization, and antibiotic resistance[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2023, 134(7): lxad127.
- [93] DURMUSOGLU D, HALLER D J, AL'ABRI I S, et al. Programming probiotics: diet-responsive gene expression and colonization control in engineered *S. boulardii*[J]. *ACS Synthetic Biology*, 2024, 13(6): 1851-1865.
- [94] KWAK S, MAHMUD B, DANTAS G. A tunable and expandable transactivation system in probiotic yeast *Saccharomyces boulardii*[J]. *ACS Synthetic Biology*, 2022, 11(1): 508-514.
- [95] ZHENG L G, TAN Y, HU Y C, et al. CRISPR/Cas-based genome editing for human gut commensal *Bacteroides* species [J]. *ACS Synthetic Biology*, 2022, 11(1): 464-472.

- [96] SLUSARCZYK A L, LIN A, WEISS R. Foundations for the design and implementation of synthetic genetic circuits[J]. *Nature Reviews Genetics*, 2012, 13(6): 406-420.
- [97] XIA P F, LING H, FOO J L, et al. Synthetic genetic circuits for programmable biological functionalities[J]. *Biotechnology Advances*, 2019, 37(6): 107393.
- [98] HASTY J, MCMILLEN D, COLLINS J J. Engineered gene circuits[J]. *Nature*, 2002, 420(6912): 224-230.
- [99] SPRINZAK D, ELOWITZ M B. Reconstruction of genetic circuits[J]. *Nature*, 2005, 438(7067): 443-448.
- [100] ZENG W Z, GUO L K, XU S, et al. High-throughput screening technology in industrial biotechnology[J]. *Trends in Biotechnology*, 2020, 38(8): 888-906.
- [101] ISHIBASHI N, YAMAZAKI S. Probiotics and safety[J]. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2001, 73(2): 465s-470s.
- [102] FULLER R. Probiotics in human medicine[J]. *Gut*, 1991, 32(4): 439-442.
- [103] MA Y F, MANNA A, MOON T S. Advances in engineering genetic circuits for microbial biocontainment[J]. *Current Opinion in Systems Biology*, 2023, 36: 100483.
- [104] WANG F Z, ZHANG W W. Synthetic biology: recent progress, biosafety and biosecurity concerns, and possible solutions[J]. *Journal of Biosafety and Biosecurity*, 2019, 1(1): 22-30.
- [105] ROTTINGHAUS A G, FERREIRO A, FISHBEIN S R S, et al. Genetically stable CRISPR-based kill switches for engineered microbes[J]. *Nature Communications*, 2022, 13: 672.
- [106] KARBALAEI-HEIDARI H R, BUDISA N. Advanced and safe synthetic microbial chassis with orthogonal translation system integration[J]. *ACS Synthetic Biology*, 2024, 13(9): 2992-3002.
- [107] SHAO J W, XUE S, YU G L, et al. Smartphone-controlled optogenetically engineered cells enable semiautomatic glucose homeostasis in diabetic mice[J]. *Science Translational Medicine*, 2017, 9(387): eaal2298.
- [108] KRAWCZYK K, XUE S, BUCHMANN P, et al. Electrogenetic cellular insulin release for real-time glycemic control in type 1 diabetic mice[J]. *Science*, 2020, 368(6494): 993-1001.
- [109] CHENG A G, HO P Y, ARANDA-DÍAZ A, et al. Design, construction, and *in vivo* augmentation of a complex gut microbiome[J]. *Cell*, 2022, 185(19): 3617-3636.e19.



**通讯作者：**魏韬(1989—)，男，讲师，硕士生导师。研究方向为利用计算生物学与合成生物学方法开发活体生物药等。

E-mail: weitao@scau.edu.cn



**第一作者：**匡家奇(2004—)，男，本科生。研究方向为利用合成生物学方法开发活体生物药。

E-mail: kjq200416@gmail.com



**共同第一作者：**章素秀(2004—)，女，本科生。研究方向为基因组规模代谢网络模型开发。

E-mail: Eoxlotl@outlook.com