

## 特约评述

DOI: 10.12211/2096-8280.2025-043

## 高黏性蛋白材料的合成生物学及应用

李全飞<sup>1,2</sup>, 陈乾<sup>1,2</sup>, 刘浩<sup>1,2</sup>, 贺坤东<sup>1,2</sup>, 潘亮<sup>1,2</sup>, 雷鹏<sup>1,2</sup>, 谷益安<sup>1,2</sup>, 孙良<sup>1,2</sup>, 李莎<sup>1,2</sup>, 邱益彬<sup>1,2</sup>, 王瑞<sup>1,2</sup>, 徐虹<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup> 南京工业大学食品与轻工学院, 江苏 南京 210009; <sup>2</sup> 材料化学工程全国重点实验室, 江苏 南京 210009)

**摘要:** 高黏性蛋白材料因其卓越的生物黏附性和潜在的生物相容性, 在生物医用材料和黏合剂领域展现出巨大的应用潜力。然而, 传统方式获取的高黏蛋白材料面临诸多挑战, 如产量低、结构复杂、难以规模化生产等。合成生物学作为新兴的交叉学科, 为解决这些瓶颈提供了创新策略。本综述系统总结了近年来高黏性蛋白材料的生物合成、改性及应用进展, 重点突出了合成生物学在解决高黏性蛋白材料产量、可控性以及功能多样性等方面的优势。全面梳理了基因工程实现对贻贝黏蛋白、藤壶胶蛋白和扇贝足丝蛋白等黏附蛋白的精确设计和高效表达, 从而克服高黏蛋白材料在产量和可控性方面的限制。同时, 综述了这些蛋白材料在生物黏合剂和医用功能涂层方面的独特优势, 如贻贝蛋白的湿面黏附性、藤壶胶蛋白的强黏附性以及类弹性蛋白的可调控性。通过合成生物学方法, 可以突破高黏蛋白材料在产量、性能和功能方面的限制, 加速其在组织工程、表界面改性等领域的应用。最后, 总结了当前合成生物学在高黏蛋白材料领域的最新进展和创新点, 并展望了其未来的发展方向, 为开发高性能、多功能的高黏蛋白材料提供了新的思路和策略。

**关键词:** 高黏性蛋白; 生物黏合剂; 功能涂层; 合成生物学

**中图分类号:** Q816 **文献标志码:** A

## Synthetic biology and applications of high-adhesion protein materials

LI Quanfei<sup>1,2</sup>, CHEN Qian<sup>1,2</sup>, LIU Hao<sup>1,2</sup>, HE Kundong<sup>1,2</sup>, PAN Liang<sup>1,2</sup>, LEI Peng<sup>1,2</sup>, GU Yi'an<sup>1,2</sup>, SUN Liang<sup>1,2</sup>, LI Sha<sup>1,2</sup>, QIU Yibin<sup>1,2</sup>, WANG Rui<sup>1,2</sup>, XU Hong<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup> College of Food Science and Light Industry, Nanjing University of Technology, Nanjing 210009, Jiangsu, China; <sup>2</sup> State Key Laboratory of Materials-oriented Chemical Engineering, Nanjing 210009, Jiangsu, China)

**Abstract:** Due to their exceptional bioadhesive properties and potential biocompatibility, high-viscosity protein materials exhibit significant application prospects in the fields of biomedical materials and adhesives. However,

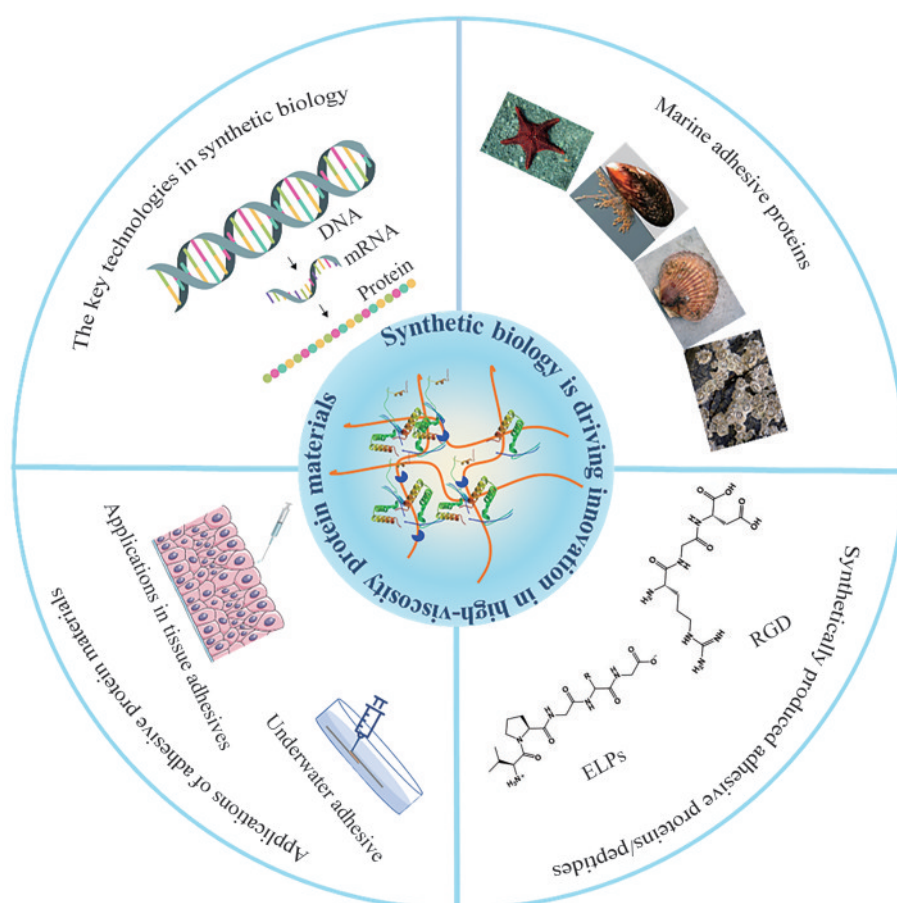
收稿日期: 2025-05-08 修回日期: 2025-07-02

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (22478185); 江苏省合成生物学基础研究中心项目 (BK20233003); 南京工业大学材料化学工程全国重点实验室项目 (KL-MCE-22A05, SKL-MCE-23A17)

引用本文: 李全飞, 陈乾, 刘浩, 贺坤东, 潘亮, 雷鹏, 谷益安, 孙良, 李莎, 邱益彬, 王瑞, 徐虹. 高黏性蛋白材料的合成生物学及应用[J]. 合成生物学, 2025, 6(4): 806-828

Citation: LI Quanfei, CHEN Qian, LIU Hao, HE Kundong, PAN Liang, LEI Peng, GU Yi'an, SUN Liang, LI Sha, QIU Yibin, WANG Rui, XU Hong. Synthetic biology and applications of high-adhesion protein materials[J]. Synthetic Biology Journal, 2025, 6(4): 806-828

traditionally sourced high-viscosity protein materials encounter numerous challenges, including low yields, structural complexity, and difficulties in scaling up production. Synthetic biology, as an emerging interdisciplinary field, offers innovative strategies to address these bottlenecks. This review systematically summarizes recent advances in the biosynthesis, modification, and applications of high-viscosity protein materials, focusing on the advantages of synthetic biology in addressing issues related to the yield, controllability, and functional diversity of these materials. The precise design and efficient expression of adhesive proteins, such as mussel adhesive proteins, barnacle cement proteins, and scallop foot proteins, achieved through genetic engineering, are comprehensively reviewed, demonstrating the overcoming of limitations in the production and controllability of high-viscosity protein materials. Furthermore, the unique advantages of these protein materials in bioadhesives and functional medical coatings, such as the wet adhesion of mussel proteins, the strong adhesion of barnacle cement proteins, and the tunable properties of elastin-like proteins, are summarized. By employing synthetic biology approaches, limitations in the yield, performance, and functionality of high-viscosity protein materials can be overcome, thereby accelerating their application in areas such as tissue engineering and surface modification. Finally, the latest advancements and innovations in the field of synthetic biology for high-viscosity protein materials are summarized, and future development directions are envisioned, offering new ideas and strategies for the development of high-performance, multifunctional high-viscosity protein materials.



**Keywords:** high-adhesion proteins; bioadhesives; functional coatings; synthetic biology

合成生物学作为一门新兴交叉学科,正在快速推动生物材料领域的创新与发展<sup>[1-3]</sup>。它整合了工程学的设计理念与生物学的精密调控机制<sup>[4]</sup>,致力于构建具备特定功能的人工生物系统,从而实现生物材料性能的精准定制<sup>[5-6]</sup>。近年来,合成生物学在高黏附蛋白材料的设计与构建中展现出巨大的潜力,为解决传统黏合剂和生物医学工程领域所面临的诸多挑战提供了崭新的思路<sup>[7]</sup>。

自然界中,生物黏附现象广泛存在,如贻贝在潮湿岩石上的牢固附着,藤壶在船底的顽固生长<sup>[8]</sup>,以及扇贝在水下基质表面的强力附着,无不展现出生物黏附系统卓越的性能。这些生物黏附系统依赖于一系列特殊的黏附蛋白,例如贻贝足丝蛋白(Mussel foot protein, Mfp)、藤壶胶蛋白(Barnacle adhesive protein, Bap)以及扇贝足丝蛋白(Scallop byssus proteins, Sbp)等。这些蛋白独特的氨基酸序列、结构特征以及黏附机制,赋予了它们在复杂环境下稳定黏附的能力<sup>[9]</sup>。深入研究这些天然黏附蛋白的结构与功能,揭示其黏附机制<sup>[10]</sup>,并将其应用于黏附材料的设计,一直是生物材料领域的研究热点。然而,直接提取天然黏附蛋白面临着产量低、纯化困难、批次间差异大等瓶颈<sup>[11]</sup>,例如,从10 000头贻贝中仅能提取1 mg蛋白<sup>[12]</sup>。此外,天然黏附蛋白的性能往往难以完全满足特定应用的需求,如黏附强度、耐水性以及生物相容性等方面<sup>[13-14]</sup>。因此,如何借助合成生物学方法,突破天然黏附蛋白的局限性,构建兼具优异性能与可控功能的黏附蛋白材料,已成为当前研究亟待解决的关键问题。近年来,研究者们正致力于通过基因重组技术,设计并生产具有特定序列和修饰的黏附蛋白,以期获得更卓越的性能<sup>[15]</sup>。

合成生物学在黏附蛋白材料领域的应用体现在多个方面。基因工程改造可优化天然黏附蛋白基因,从而提高表达量、改善理化性质并赋予其全新的功能<sup>[16]</sup>。例如,通过引入特定的黏附基序,能够增强蛋白与特定材料表面的结合力;通过引入交联位点,能够提高蛋白的机械强度和耐水性;还可以通过引入响应性元件,使蛋白的黏附性能能够响应外界环境的变化。此外,合成生物学亦可用于设计和构建具有特定功能的黏附蛋白,包

括对天然黏附蛋白进行改造,以及从头设计全新的黏附蛋白模块。例如Xue等<sup>[17]</sup>通过调整功能低效的氨基酸空间位置,在不增加甚至减少黏附氨基酸数量的前提下,提升贻贝蛋白的黏附性能和表达水平。该团队基于Tyr残基的SASA值优化了其位置和数量,并通过实验验证了突变体的性能。分子模拟进一步研究了序列调整对贻贝蛋白黏附和溶解度的影响。最终,自组装突变体N33Y/Y32A/Y51A表现出良好的生物黏附性能,具有作为黏合涂层的潜力。3,4-二羟基苯丙氨酸(DOPA)是贻贝黏附蛋白的关键成分,Fichman等<sup>[18]</sup>用合成生物学的设计理念,设计了包含DOPA的自组装肽。通过精确控制氨基酸序列,使肽段能够自组装成纤维状纳米结构,并同时具备金属还原能力和黏附性能。此外,他们还通过引入赖氨酸,进一步增强了肽对玻璃表面的黏附力,体现了合成生物学在从头设计功能性黏附蛋白方面的潜力。Cui等<sup>[19]</sup>构建了富含低复杂蛋白结构域(low-complexity domains)的重组蛋白,并利用该蛋白所具有的液-液相分离(liquid-liquid phase separation)以及液态到固态相转变的逐步自组装能力,成功设计出在不同材料表面均表现出极强黏附效果的水下黏合涂层材料。

本综述将系统地介绍合成生物学在高性能黏附蛋白材料领域的研究进展,重点关注贻贝足丝蛋白、藤壶胶蛋白、扇贝足丝蛋白、类弹性蛋白以及人工多肽等黏附蛋白的设计、构建与应用。探讨了这些黏附蛋白在黏合剂和生物医学工程领域的应用,包括高性能黏合剂、生物医用黏合剂、组织工程支架、药物递送系统等。为促进合成生物学在高性能黏附蛋白材料领域的进一步发展,为解决黏合剂和生物医学工程领域面临的挑战提供新的思路和方法。

## 1 合成生物学构建高黏蛋白材料的关键技术

### 1.1 高黏性蛋白基因的理性设计

基因设计与合成是合成生物学构建高黏蛋白材料的基础,通过精确控制编码序列,实现对材

料结构与功能的精细调控<sup>[20]</sup>。由于海洋生物与陆地生物在基因组组成和生理环境上的差异,直接将海洋黏性蛋白(如贻贝或藤壶蛋白)的基因序列导入到常用宿主细胞(如大肠杆菌)中进行表达,常面临表达量低、蛋白功能异常等问题<sup>[21]</sup>。因此,针对海洋黏性蛋白的特性优化基因设计与合成策略至关重要。密码子优化作为一项关键策略,可以根据宿主细胞的密码子偏好性调整目标基因的密码子组成,从而提升蛋白翻译效率<sup>[22]</sup>。近年来,密码子优化策略在提高黏性蛋白表达方面已取得显著进展。例如, Yao等<sup>[23]</sup>通过对编码 Mfp-5 和 Mfp-3B 蛋白的基因进行密码子优化,显著提升了其在大肠杆菌中的表达量。诸如 Gene Optimizer 等在线工具和软件的涌现,极大简化了密码子优化的流程<sup>[24]</sup>。此外,综合考量 mRNA 二级结构、核糖体结合位点等因素,研究者们提出了更为精细的全局性密码子优化策略,以期进一步提高蛋白表达效率,降低错误翻译风险<sup>[25]</sup>。

在密码子优化的基础上,模块化设计进一步实现了高黏性蛋白材料的功能定制<sup>[26]</sup>。模块化设计将基因划分为多个功能模块,其中每个模块编码特定的蛋白结构域或功能元件。通过调整不同模块的组合和排列顺序,可以精细调控材料的黏附性能、机械强度和生物相容性等关键特性。钟超团队<sup>[27]</sup>通过模块化遗传策略对具有自组装和黏附功能的蛋白进行工程改造,例如将黏附蛋白结构域与淀粉样蛋白结构域融合,设计的淀粉样蛋白由大肠杆菌生物膜蛋白 CsgA、来自环状芽孢杆菌几丁质酶的几丁质结合结构域(CBD)和贻贝足蛋白(Mfps)组成,具有优异的黏附性和弹性。此外,自组装黏附蛋白的构建也得益于模块化设计。这类蛋白能够自发形成纳米纤维或微球等结构,从而构建具有特殊形貌和功能材料<sup>[28]</sup>。

基因组编辑技术为高黏性蛋白材料的生产提供了又一强大工具<sup>[29]</sup>。利用基因组编辑技术,研究者可以将编码高黏蛋白的基因精确地插入到宿主细胞的特定位点,或敲除宿主细胞中影响蛋白表达的内源基因,从而提高蛋白的表达水平。此外,基因组编辑还可用于改造宿主细胞的代谢途径,提高底物利用效率,降低生产成本<sup>[30]</sup>。其中,CRISPR-Cas9 系统能够精确修改宿主细胞基因组,

从而实现对蛋白表达量和质量的精准调控<sup>[31]</sup>。例如,对于贻贝黏附蛋白的研究,基因组编辑技术可用于构建高效表达 Mfp 的工程菌株,并改造宿主细胞的代谢途径,提高 DOPA 的生物合成能力<sup>[32]</sup>。更为先进的基因组编辑技术,如碱基编辑和先导编辑,能够实现更精确的基因组修改,显著减少脱靶效应。这些技术为构建更高效、更稳定的高黏蛋白生产菌株提供了新的可能性,也为未来高黏蛋白材料的规模化生产奠定了坚实基础。

## 1.2 蛋白表达与纯化

在合成生物学构建高黏蛋白材料的流程中,除了精巧的基因设计与合成,高效的蛋白表达与纯化同样至关重要<sup>[33]</sup>。选择合适的宿主细胞以及采用有效的纯化方法,能够显著提高高黏蛋白的产量和质量,为后续的材料应用奠定坚实的基础。

宿主细胞的选择直接影响重组蛋白的表达效率、翻译后修饰以及生产成本。目前常用的宿主细胞包括细菌、酵母、哺乳动物细胞和植物细胞等,每种宿主细胞都有其独特的优势和局限性<sup>[34]</sup>(表1)。大肠杆菌是最常用的原核表达系统,具有生长速度快、培养成本低、遗传背景清晰等优点,适用于表达结构简单的、不需要复杂翻译后修饰的蛋白<sup>[35]</sup>。然而,大肠杆菌缺乏真核细胞的翻译后修饰机制,并且容易形成包涵体,导致蛋白活性降低<sup>[36]</sup>。近年来,通过优化培养条件、使用可溶性标签和共表达伴侣蛋白等方法,可以提高重组蛋白在大肠杆菌中的可溶性表达<sup>[37]</sup>。针对高黏蛋白,大肠杆菌常被用于表达 Mfp-3 和 Mfp-5 等小分子蛋白,并通过融合标签提高其溶解度。如 Wang 等<sup>[38]</sup>利用 SUMO 和 TrxA 两种融合标签,通过构建双顺反子表达载体进行共表达,显著提高了 Mfp-3B 及其杂合蛋白(Mfp-3-1, Mfp-3-3, Mfp-3-5)的溶解性表达,其中 SUMO-TrxA 组合使 Mfp-3 溶解性表达提高了 18.07%。黏附能力也与商品化的贻贝黏附剂 Cell-Tak 相当,更适合大规模生产和实际应用。为实现 Mfp-3 和 Mfp-5 在枯草芽孢杆菌中表达, Yan 团队<sup>[39]</sup>通过筛选信号肽,发现枯草芽孢杆菌中分泌的一个小的伴侣蛋白(Spy)与 Mfp-3 和 Mfp-5 融合表达产量分别达

表1 重组蛋白表达常用宿主细胞比较

Table 1 Comparison of common host cells for recombinant protein production

宿主细胞	优点	缺点	适用性
大肠杆菌	生长快速,培养成本低廉,遗传背景清晰,易于基因操作	缺乏真核细胞的翻译后修饰机制,容易形成包涵体,可能导致蛋白活性降低	适用于表达结构简单、不需要复杂翻译后修饰的蛋白
枯草芽孢杆菌	分泌表达能力强,有利于蛋白的正确折叠,无内毒素污染	蛋白酶含量高,可能导致目的蛋白降解	适用于表达分泌蛋白
酿酒酵母/ 毕赤酵母	真核表达系统,能够进行一些简单的翻译后修饰,分泌表达能力较强	糖基化修饰可能与人源蛋白不同	适用于表达高分子量的、需要糖基化的蛋白
动物细胞	能够进行完整的翻译后修饰,保证蛋白的正确折叠和生物活性	生长速度较慢,培养成本很高,容易受到病毒污染	适用于表达需要复杂糖基化修饰的蛋白,例如抗体和治疗性蛋白
植物细胞	培养成本低廉,易于大规模培养,安全性高	翻译后修饰能力有限,表达水平相对较低	适用于表达一些结构简单的蛋白,或者用于大规模生产

255 mg/L 和 119 mg/L。另外,日本 Kamino 课题组<sup>[40-41]</sup>利用大肠杆菌表达系统成功表达红巨藤壶(*Megabalanus rosa*) *Mrcp19k* 和 *Mrcp20k* 重组黏胶蛋白,并以可溶性形式获得和纯化。

酵母是常用的真核表达系统,具有生长速度较快、培养成本适中、易于进行基因操作等优点<sup>[42]</sup>。与大肠杆菌相比,酵母能够进行一些简单的翻译后修饰,并且分泌表达能力较强<sup>[43]</sup>。常用的酵母菌株包括酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)和毕赤酵母(*Pichia pastoris*)。毕赤酵母具有更高的蛋白分泌能力和更强的甲醇利用能力,适用于表达高分子量的、需要糖基化的蛋白。如李楠楠等<sup>[44]</sup>用酿酒酵母 S78 成功表达出 *Mcofp-3*, 闫云君教授团队<sup>[45]</sup>用毕赤酵母成功表达 *Mrcp20k*。

动物细胞是高级真核表达系统,能够进行完整的翻译后修饰,保证蛋白的正确折叠和生物活性<sup>[46]</sup>。动物细胞表达系统适用于表达需要复杂糖基化修饰的蛋白,例如抗体和治疗性蛋白<sup>[47]</sup>。然而,动物细胞的生长速度较慢、培养成本较高,并且容易受到病毒污染。例如 Lim 等<sup>[48]</sup>等在昆虫细胞 Sf9 中可溶性表达 *Mfp*, 发现重组 *Mfp* 含有体内翻译后修饰的多巴残基,以及丝氨酸和脯氨酸的羟基化,这是首次报道重组 *Mfp* 能进行多巴和其他氨基酸残基的体内修饰。

植物细胞表达系统具有培养成本低、易于大规模培养、安全性高等优点<sup>[49]</sup>。植物细胞能够进行一些真核细胞的翻译后修饰,并且可以实现蛋白的长期储存<sup>[50]</sup>。近年来,利用植物细胞进行高黏蛋白表达的研究也逐渐增多,例如在烟草表达系统中重组表达了贻贝黏附蛋白 *Mfp-5*<sup>[51]</sup>。也有报

道通过农杆菌介导法将含有 *Mfp-5* 基因的物表达载体整合到菊苣(*Cichorium intybus*)基因组中,并得到纯度 98.61%、产量为 0.99 μg/g 的重组蛋白,产物具有一定的黏附功能<sup>[52]</sup>。

大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、酵母等表达系统各有优缺点,适用于不同类型的高黏性蛋白生产。选择合适的表达系统需要综合考虑目标蛋白的特性、所需产量、成本预算等因素。未来,高黏性蛋白表达系统的发展方向将是开发更高效的表达系统、优化翻译后修饰、降低生产成本,从而提高高黏性蛋白的商业化可行性。

重组蛋白的纯化是获得高纯度蛋白的关键步骤。常见的纯化方法包括亲和色谱、离子交换色谱、分子筛色谱和疏水色谱等,它们各有特点,常需联合使用(表2)。然而,高黏蛋白的纯化面临蛋白聚集、氧化和内毒素污染等特殊挑战,需采取针对性策略<sup>[53]</sup>。

针对高黏蛋白易聚集的问题<sup>[54]</sup>,可通过添加甘油、精氨酸等优化缓冲液体系,增加蛋白溶解度。控制蛋白浓度、缩短纯化时间、避免剧烈搅拌亦有助于缓解蛋白聚集。其次是蛋白氧化问题,贻贝黏附蛋白富含 DOPA,在纯化过程中添加适量抗坏血酸等可抑制氧化<sup>[55]</sup>。此外,若重组蛋白在细菌中表达,需去除内毒素,避免免疫反应<sup>[56]</sup>。Triton X-114 萃取、离子交换色谱、亲和色谱以及超滤等方法均可用于内毒素去除<sup>[57]</sup>。针对高黏性蛋白的特点,需要选择合适的纯化方法和优化纯化条件。例如 Hwang 等<sup>[58]</sup>利用 *Mfp* 含有大量的赖氨酸,呈碱性的原理,在纯化 *Mfp-151* 时,先用酸性缓冲液(pH 3.0)提取蛋白,然后通过透析或超

表2 常见蛋白纯化方法的对比

Table 2 Comparison of characteristics of common protein purification methods

纯化方法	原理	优点	缺点
亲和色谱	基于目标蛋白与特定配体(如抗体、金属离子、辅酶等)之间的高特异性结合	高特异性、高纯度、操作简便	可能需要添加标签,洗脱条件可能较为苛刻,某些配体价格昂贵
离子交换色谱	基于目标蛋白与固定化的带电基团之间的静电相互作用	适用于大规模纯化,成本较低	特异性不如亲和色谱,需要优化洗脱条件
凝胶过滤色谱	基于目标蛋白的分子大小进行分离	操作简便,可以确定蛋白的分子量	分辨率较低,不适用于分离分子量相近的蛋白
疏水相互作用色谱	基于目标蛋白表面的疏水性与固定化的疏水基团之间的相互作用	适用于分离疏水性蛋白	需要优化盐浓度和洗脱条件
超滤/透析	利用半透膜对分子大小的截留作用	操作简便,适用于大规模处理	不能分离分子大小相近的蛋白
沉淀法	通过改变溶液的条件(如盐浓度、pH值、温度等),使目标蛋白溶解度降低,从而沉淀析出	成本低廉,适用于大规模初步纯化	特异性较低,可能需要后续的精纯化

滤将 pH 值调节到中性,从而获得较为纯净的 Mfp-151。

### 1.3 翻译后修饰与功能化

黏性蛋白独特的生物功能和优异的材料性能,很大程度上受到翻译后修饰(PTM)的调控<sup>[59]</sup>。其中,DOPA修饰是贻贝黏附蛋白中最具代表性的修饰。DOPA由酪氨酸转化而来,其邻苯二酚结构赋予了Mfp强大的黏附能力,能与金属离子配位形成交联结构,增强蛋白之间的相互作用,从而提高材料的强度和黏附性<sup>[60]</sup>。糖基化则是指在蛋白质上连接糖链的过程,可以影响蛋白质的溶解度、稳定性、免疫原性以及与其他分子的相互作用,例如,贻贝黏附蛋白Pvfp-1通过苏氨酸和色氨酸O-甘露糖基化,增加构象稳定性和增强蛋白质结合能力<sup>[61-62]</sup>。磷酸化修饰指在蛋白质的丝氨酸、苏氨酸或酪氨酸残基上添加磷酸基团,从而改变蛋白质的电荷分布、构象和与其他蛋白的相互作用。例如蛛丝蛋白(SSP)的磷酸化修饰可以调控其自组装行为,影响丝蛋白纤维的力学性能<sup>[63]</sup>。

除了利用宿主细胞自身的翻译后修饰机制,引入非天然氨基酸(uAA)作为一种新兴的蛋白质工程策略,为高黏蛋白材料的功能化提供了有力工具<sup>[64]</sup>。与天然氨基酸不同,uAA可赋予蛋白质独特的化学性质和生物活性<sup>[65]</sup>。目前,常用的方法包括扩展遗传密码子法和化学选择性连接法<sup>[66]</sup>。前者依赖于工程化的tRNA和氨酰tRNA合成酶,将uAA插入特定密码子位点。后者则利用化学反

应将带有特定基团的uAA连接至蛋白质。通过引入uAA,可赋予高黏蛋白材料点击化学反应位点、光交联位点和金属螯合位点,这些位点分别可用于材料连接、光控交联以及构建具有催化或磁性的材料<sup>[67]</sup>。近年来,新型uAA的开发不断涌现,进一步拓展了蛋白质的功能边界。例如,Li等<sup>[68]</sup>将uAA(如对叠氮苯丙氨酸)引入类弹性蛋白多肽(elestin-like polypeptide, ELP)结构域,实现了蛋白质囊泡的光交联,并通过改变ELP疏水性和离子强度调节囊泡尺寸。Deshmukh等<sup>[69]</sup>通过将源于葡萄糖醛酸的非天然氨基酸结构单元Glc=Tap侧接氨基酸Tyr和Lys形成寡肽聚体poly(Lys=Glc=Tap=Tyr)和poly(Glc=Tap=Tyr),结果表明它们是优秀的黏附化合物,兼具高效合成性和良好的黏附性能。

## 2 海洋黏附蛋白的合成生物学构建与应用

### 2.1 Mfp

贻贝,作为海洋环境中常见的生物,其强大的水下黏附能力一直备受科学界关注<sup>[70]</sup>。这种卓越的黏附性能主要归功于其分泌的足丝蛋白,即贻贝足丝蛋白。目前,已鉴定出约25~30种Mfp<sup>[10]</sup>,在足丝黏附斑块中发现6种(图1),其余分布在细丝的其他部分<sup>[71]</sup>。Mfp-1被认为是主要的基底结合蛋白;Mfp-2则参与蛋白网络构建和柔韧

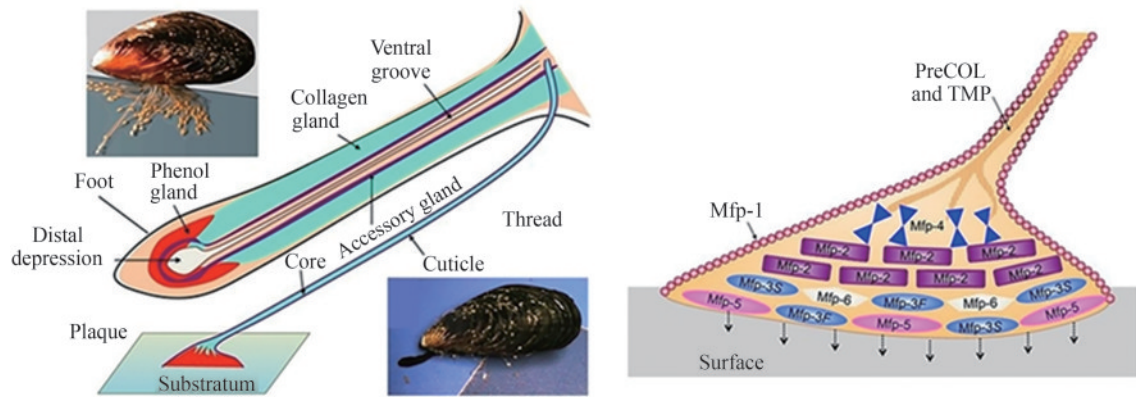


图1 Mfp的结构及其黏附机制<sup>[10]</sup>

Fig. 1 Structure and adhesion mechanism of Mfps<sup>[10]</sup>

性调节<sup>[72]</sup>；Mfp-3富含DOPA，具有最丰富的多态性<sup>[73]</sup>；Mfp-4存在于斑块-椎弓根丝连接处，有助于胶原蛋白的递送<sup>[74]</sup>；Mfp-5的DOPA含量最高，富含甘氨酸和赖氨酸，在界面黏附中起决定性作用<sup>[75]</sup>；Mfp-6是一种富含巯基的界面贻贝黏附蛋白，已被报道为贻贝的蛋白质抗氧化剂，有助于DOPA保持表面黏附能力<sup>[76]</sup>。不同Mfp的氨基酸序列和结构域组成差异，导致其黏附特性和力学性能各异，从而实现对不同基底和环境的适应性。

Mfp重组表达规模化生产面临挑战，主要原因包括特定氨基酸含量高、高度重复序列以及需要特殊的翻译后修饰<sup>[12]</sup>。合成生物学为解决这些难题做出重大贡献。比如，Cha团队<sup>[77]</sup>在大肠杆菌中利用重组Mfp-151和酪氨酸酶的共表达策略成功地在体内修饰了酪氨酸残基，与体外酪氨酸酶处理的Mfp-151相比，来自共表达体系的Mfp-151显示出大约4倍的黏合强度。另外Lee等<sup>[78]</sup>发现，融合OmpA信号肽可使Mfp-1的表达量翻倍。Hwang等<sup>[58]</sup>和Gim等<sup>[11]</sup>的研究则表明，构建融合蛋白Mfp-151和Mfp-353能有效解决可溶性表达和细胞生长抑制的问题，同时保持了贻贝蛋白的强黏附功能，并显著提高了溶解度（Mfp-151约为330 g/L）。

#### 2.1.1 重组Mfp在水下黏合剂中的应用

常规的黏胶剂在空气中具有优异的黏接强度，而在水中却表现出较弱的黏合性和较差的生物相容性<sup>[79]</sup>。开发高性能水下胶黏剂的新兴策略是基于模拟和改进海洋生物中天然存在的水下黏合剂<sup>[80]</sup>。Mfp在水下黏合剂领域的应用正日益受到

关注，其主要优势在于其优异的水下黏附性能、良好的生物相容性以及环境友好性<sup>[81]</sup>。与传统的合成水下黏合剂相比，Mfp黏合剂通常具有更强的黏附力，能够在更广泛的pH值和温度范围内发挥作用，并且对多种材料表现出良好的黏附性，包括金属、玻璃、塑料以及各种生物材料<sup>[82]</sup>。

近年来，一些以DOPA为基础设计的多肽、水凝胶、聚合物等材料不断涌现，在界面黏附领域引起了广泛关注<sup>[83]</sup>。例如，Cha团队<sup>[84]</sup>通过基因融合富含组氨酸的连接蛋白Mfp-4结构域与富含DOPA的足斑蛋白Mfp-1，开发出一种新型混合黏附蛋白HRfp1。该蛋白利用组氨酸-Zn金属配位形成水凝胶，由于DOPA未参与交联而保留了黏附活性，从而克服了传统Mfp研究中黏附性与交联相互制约的难题，同时维持了优异的水下高黏附性能。这种组氨酸协同DOPA的多维设计策略为开发兼具自愈能力和强黏附性的仿生材料提供了新思路[图2(a)]。类似地，Yin等<sup>[85]</sup>利用合成生物技术将蛛丝蛋白（ADF3）与Mfp-1相结合，开发了一种高性能仿生黏合剂。他们利用SpyCatcher-SpyTag系统将两种蛋白共价偶联，并通过氧化贻贝足蛋白中的酪氨酸生成DOPA以增强黏附性[图2(b)]。

同时，一种利用理性设计结合模块基因策略的方法被用于水下黏合材料。通过这种方法构建的多结构域蛋白能够自组装形成性能媲美甚至超越天然材料的分子材料。钟超教授团队<sup>[19]</sup>将哺乳动物细胞DNA结合蛋白TDP43的低复杂结构域LC与Mfp-5融合，制备了重组蛋白TLC-M。TLC-

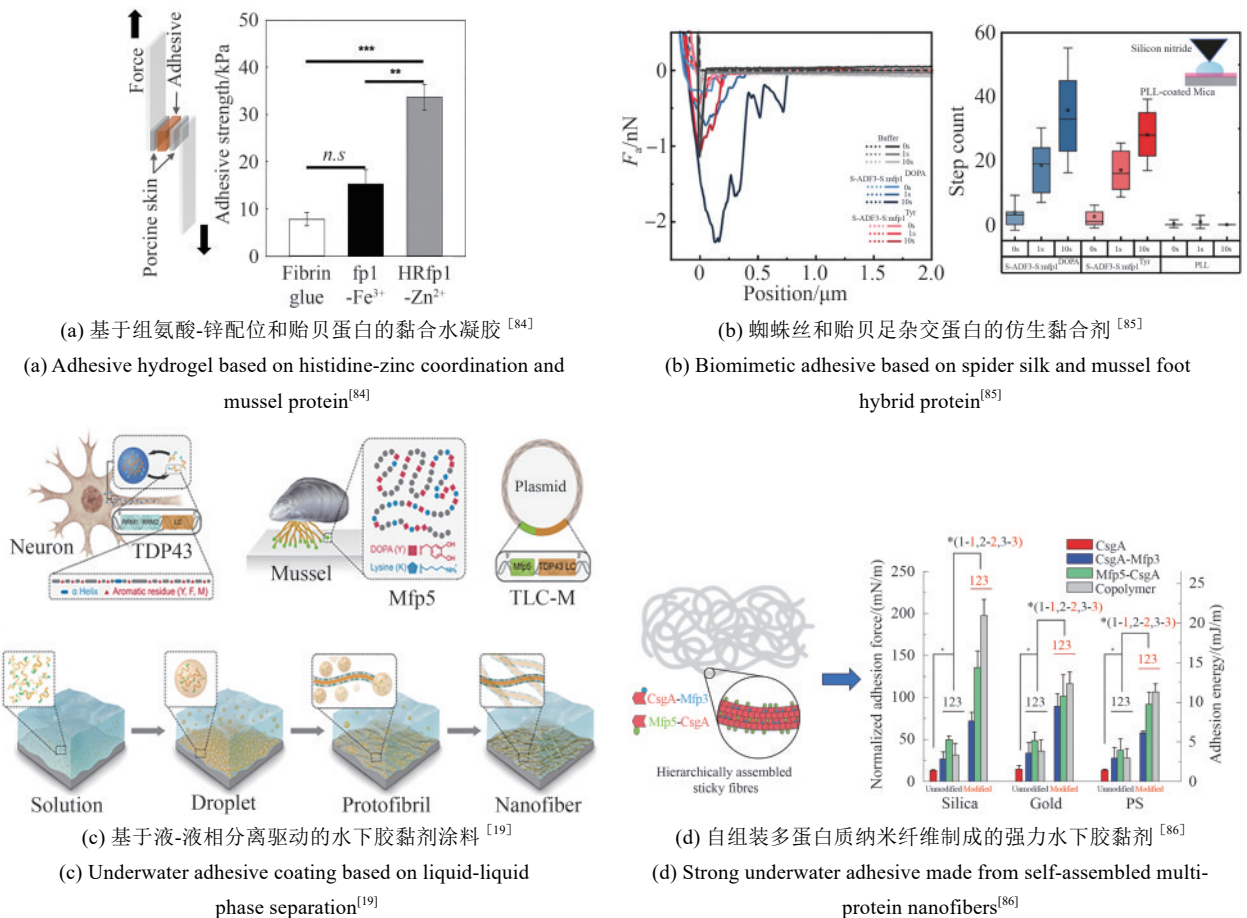


图2 Mfp在水下黏合剂中的应用

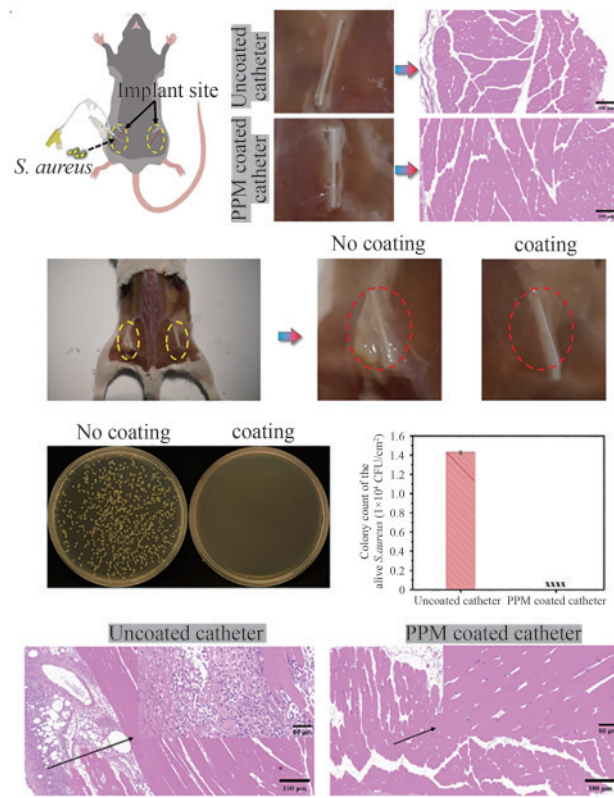
Fig. 2 Applications of Mfps in underwater adhesives

M融合蛋白在低温下通过LC结构域的液-液相分离性质形成蛋白浓度很高的凝集体。该液态凝集体易逐层吸附在基底表面，最终能够进一步脱水组装成致密的淀粉样蛋白纤维涂层，表现出很强的水下黏附性能。这为构建基于液固相转变和自组装驱动的可控功能蛋白材料提供了新方向 [图2(c)]。该团队还将Mfp与大肠杆菌淀粉样蛋白CsgA融合，构建了多功能水下黏合剂。该杂化材料能够自组装成Mfp黏附域暴露于CsgA淀粉样蛋白核心之外的高阶结构，水下黏附能可达20.9 mJ/m<sup>2</sup>，是目前生物衍生蛋白质黏合剂的1.5倍。其性能优于单独的Mfp或CsgA纤维，且在pH≥7.0时具有更强的抗氧化性<sup>[86]</sup> [图2(d)]。

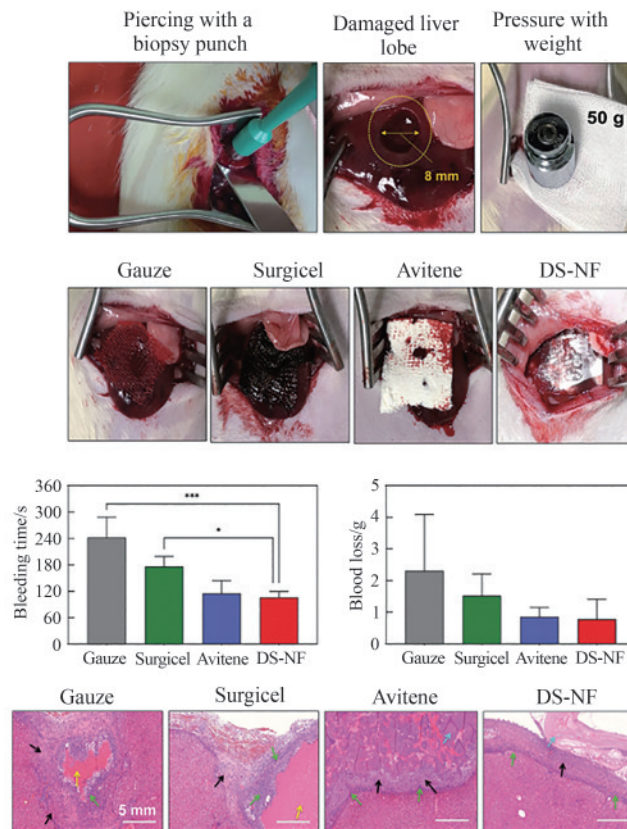
### 2.1.2 重组Mfp在医用涂层中的应用

Mfp凭借其优异的黏附能力和生物相容性在生物医学领域也发挥着重要作用。通过旋涂、浸涂等方法使Mfp在医用材料表面形成涂层，从而改

善细胞的黏附、增殖和分化等行为<sup>[87]</sup>。此外，Mfp还可作为介质材料，将细胞微环境因子、核酸、治疗药物、无机纳米粒子等生物分子固定在靶表面上<sup>[88]</sup>。然而，由于天然黏性蛋白或重组黏性蛋白组分单一、机械性能不理想，因此，通过设计功能肽或其他重组蛋白与Mfp的融合来实现的复合型黏合材料应运而生。例如，Kin等<sup>[89]</sup>将抗菌肽(AMP)与Mfp融合，以克服AMP稳定性和毒性限制。研究表明，该融合蛋白是一种具有新型抗菌活性的、热稳定且安全的革兰氏阴性菌抑制剂。此外，Hu等<sup>[90]</sup>基于聚乙烯吡咯烷酮(PVP)-聚乙二醇丙烯酸酯(PEGDA)的化学交联网络和Mfp-5的物理网络，开发了一种双网络水凝胶涂层(PPM)。得益于Mfp-5的仿生黏附特性和抗菌活性，PPM表现出优异的抗菌能力和超润滑性能 [图3(a)]。类似地，Lee等<sup>[91]</sup>基于Mfp与丝素蛋白(SF)构建了双面电纺纳米纤维止血敷



(a) 基于重组贻贝蛋白的双网络水凝胶涂层在医用导尿管中的应用<sup>[90]</sup>  
 (a) Application of a recombinant mussel protein-based double network hydrogel coating in medical catheters<sup>[90]</sup>



(b) 基于贻贝和蚕丝蛋白纳米纤维止血敷料<sup>[91]</sup>  
 (b) Hemostatic dressing based on mussel and silk protein nanofibers<sup>[91]</sup>

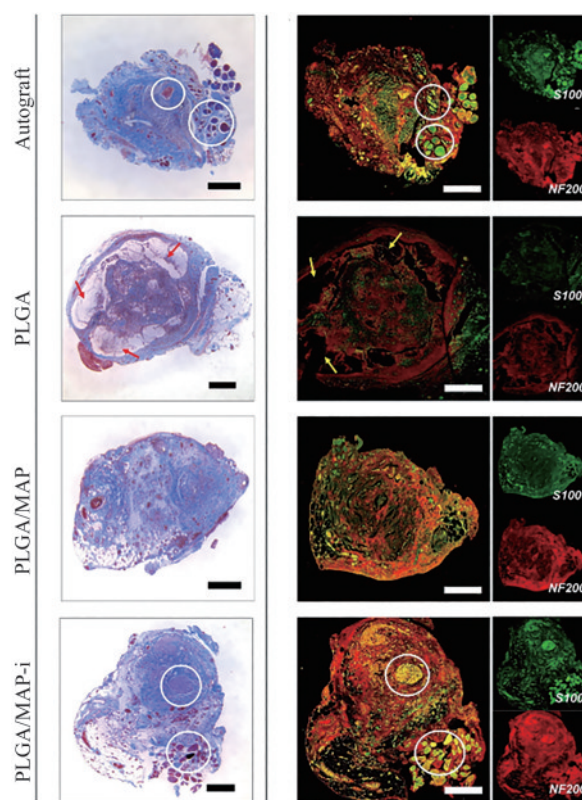
(c) 基于贻贝蛋白胶的纳米纤维导管加速功能性神经再生<sup>[92]</sup>(c) Nanofiber conduits based on mussel protein glue accelerate functional nerve regeneration<sup>[92]</sup>

图3 基于Mfp的医用材料

Fig. 3 Mussel protein-based medical materials

料：内侧含DOPA的Mfp层通过氢键、金属配位等激活血小板并增强凝血，同时提供湿态组织黏附；外侧由于SF的表面特性转换，保护伤口部位免受意外黏附以及包括细菌在内的污染物的渗透。实验验证表明，这种局部多功能双面纳米纤维止血敷料基于两种生物相容性和可生物降解的蛋白质生物材料，在内出血护理应用中具有良好的应用前景 [图3(b)]。Cheong等<sup>[92]</sup>将Mfp与细胞外基质（ECM）中的生物功能肽相结合，通过增强细胞黏附、增殖、神经分化和神经突形成，加速神经再生。为了促进神经和雪旺细胞的接触引导，将Mfp与合成聚合物聚乳酸-羟基乙酸（PLGA）结合，制成电纺对齐纳米纤维导管，以控制溶解度和机械性能。体外和体内实验表明，Mfp的黏附性、ECM肽的整合素介导相互作用以及对齐纳米纤维的接触引导的多维策略协同加速了功能性神经再生。这种基于Mfp的多维方法为神经再生应用（包括神经移植）提供了新的机遇 [图3(c)]。

## 2.2 Bap

### 2.2.1 Bap的结构与功能

Bap是藤壶在水下环境中实现牢固附着力的关键，赋予了藤壶非凡的黏附能力，使其能够在各种表面上生存和繁衍<sup>[93]</sup>。近年来，对藤壶蛋白结构和功能的研究不断深入，为开发新型生物黏合剂和防污涂层提供了新的思路。

Bap是一种由多种蛋白质组成的复杂生物黏合剂。不同的Bap亚型具有不同的结构和功能。目前，已鉴定出多种Bap，并以其理论分子量大小命名，主要包括cp7k、cp16k、cp19k、cp20k、cp22k、cp36k、cp43k、cp52k、cp57k、cp58k、cp68k、cp100k、cp105k和cp114k等<sup>[63]</sup>。cp19k蛋白和cp20k蛋白被认为是固体基质和藤壶底板之间的界面层，因而在藤壶特有的牢固结合中起核心作用，其中，cp19k负责与外部基底表面的黏附，cp20k负责与藤壶钙质底部的黏附连接<sup>[94]</sup>。

研究表明，cp19k蛋白具有氨基酸偏好性，其

中丙氨酸、缬氨酸、甘氨酸、苏氨酸、丝氨酸和赖氨酸6种氨基酸约占蛋白质氨基酸总量的66%~70%，且含有大量疏水性氨基酸<sup>[95]</sup>。同时，cp19k具有自组装成纳米纤维的能力，这些纳米纤维可以形成复杂的网络结构，增强黏附结构的稳定性和韧性<sup>[96]</sup>。

Liang等<sup>[97]</sup>成功克隆并表达了白脊藤壶(*Balanus albicostatus*)的cp19k同源基因(*Balcp19k*)，且通过融合蛋白Trx-Balcp19k产生的凝胶，其黏附强度高达(2.10±0.67)MPa，媲美商用PVA胶和UHU胶。Liu等<sup>[98]</sup>在研究中进一步发现，*Balcp19k*在模拟海水条件(0.6 mol/L NaCl, pH 8.0)下可自组装形成典型淀粉样原纤维，其直径约16~62 nm，以β-折叠结构为主(占比48%)。

cp20k是藤壶黏结剂中的关键黏附蛋白，富含半胱氨酸(Cys, 超过14%)和带电氨基酸(Asp、Glu、Lys、Arg、His)<sup>[99]</sup>。Kamino团队<sup>[40]</sup>通过原核表达在大肠杆菌中表达了重组红巨藤壶(*Megabalanus rosa*)黏蛋白20 kDa(*Mrcp20k*)。*Mrcp20k*的半胱氨酸形成分子内二硫键，使蛋白质肽链交联形成紧密结构。附着力测试表明，*Mrcp20k*对碳酸钙和金属氧化物的黏附性优于玻璃和合成聚合物。Mori等<sup>[41]</sup>研究也发现，*Mrcp20k*蛋白可选择性地吸附在方解石表面，而不能黏附于玻璃和合成聚合物上。由于方解石底盘缺少反应性官能团，*Mrcp20k*蛋白对基底的选择性黏附表明它与方解石底盘之间存在非共价的相互作用。另外，华中科技大学闫云君教授团队<sup>[100]</sup>用毕赤酵母成功表达*Mrcp20k*，并采用融合表达策略将*Mrcp20k*与米根霉脂肪酶proROL进行融合表达，进一步提高*Mrcp20k*在毕赤酵母中的表达量。

### 2.2.2 Bap的应用进展

对藤壶胶黏附机制和黏胶蛋白的研究成果，为水下黏附剂的研发提供了坚实的理论基础。Ye等<sup>[101]</sup>通过基因设计并过表达了一种由cp19k和蛛丝蛋白(*MaSp1*)组成的融合蛋白(cp19k-*MaSp1*)，并且通过静电纺丝制备的cp19k-*MaSp1*蛋白纤维支架表现出非常高的极端拉伸强度[(112.7±11.6)MPa]和优异的延展性(438.4%±43.9%) [图4(a)]。Yan团队<sup>[102]</sup>为了提高*Mrcp19k*的水下黏弹性能与非水性环境下的黏附性能，利

用基因工程学的方法，将不同的蛋白功能模块与*Mrcp19k*融合，构建了多种融合型黏合蛋白。结果显示，功能模块SpyCatcher/SpyTag以及ELP与黏合蛋白*Mrcp19k*融合，均能进一步提高黏合蛋白*Mrcp19k*的水下黏弹性能与非水性环境下的黏附性能。

此外，Bap因其黏附性、耐水性、稳定性和生物相容性而在生物医学中引起了广泛关注，使其成为开发新型生物材料的理想选择。Fujii等<sup>[103]</sup>基于cp52k的β-折叠序列(R-Y)，设计并合成了三种RGDS(精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸, arginine-glycine-aspartic acid)修饰肽(R-Y-RGDS、RGDS-R-Y、R-RGD-Y)，以探究其自组装特性及生物医学应用。研究发现，将RGDS引入R-Y的N端(RGDS-R-Y)或替换内部序列(R-RGD-Y)可保留β-折叠结构，形成高机械强度水凝胶(弹性模量达3872 Pa)，且水凝胶多孔纳米纤维网络可以模拟天然细胞外基质。细胞培养实验显示，RGDS-R-Y和R-RGD-Y修饰的基底显著促进小鼠成纤维细胞(L929)的黏附与扩散(黏附率>90%)，优于未修饰的R-Y及C端修饰的R-Y-RGDS。该材料在盐浓度依赖下形成稳定水凝胶，且无需翻译后修饰，尤其在创伤修复与3D细胞培养中具有潜在的应用价值。闫云君教授团队<sup>[104]</sup>创新性地将cp19k和*MaSp1*整合到细菌纤维素(BC)基质中，并辅以壳聚糖，构建了一种新型复合水凝胶BC/cp19k-*MaSp1*/C150k。该水凝胶相比BC/C150k具有显著的机械强度(3.92 MPa)和黏附性(8.4 kPa)，同时具备抗菌活性、促凝血性和生物相容性。在糖尿病大鼠模型中，BC/cp19k-*MaSp1*/C150k水凝胶表现出卓越的伤口愈合能力，14天时伤口闭合率超过98%，优于BC和商业敷料3M™Tegaderm™。

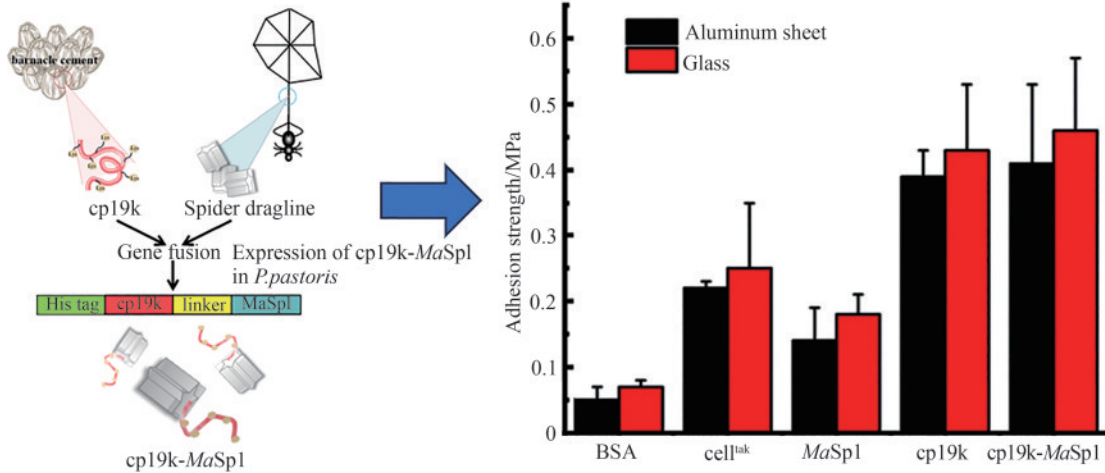
Bap作为一种复杂而高效的水下生物黏合剂，其独特的结构和功能机制为开发新型黏合材料和生物医用材料提供了重要的灵感。通过深入研究Bap的结构特点、自组装行为以及与基底的相互作用，并结合合成生物学和材料科学的手段，可以设计和构建出具有优异性能的仿生材料。未来，Bap有望在水下修复、防污涂层、组织工程、药物递送等领域发挥重要作用，为解决相关领域的挑战提供新的解决方案。

### 2.3 Sbp

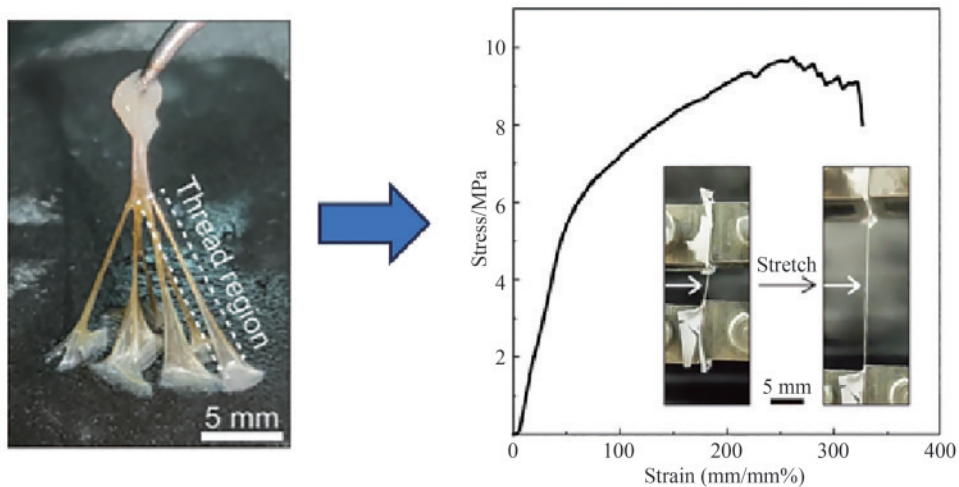
天然扇贝足丝具有非凡的延伸性，可拉伸至超过其原始长度的两倍以上。Sbp并非单一的蛋白质，而是一个由多种蛋白质构成的复杂家族，共同赋予扇贝在严苛的海洋环境中牢固附着于各种表面的能力。其中，Sbp5-2是目前研究最为深入的一种，作为足丝中最主要的成分，它主要负责提供足丝所需的高延伸性和结构支撑，其独特的氨基酸序列和形成的 $\beta$ -折叠片层结构，使其在维持足丝的整体结构和力学性能方面发挥关键作用。此外，Sbp5-2还含有能够形成二硫键的半胱氨酸残基以及可以与金属离子配位的带负电荷氨基酸残基，这些特性都有助于增强蛋白质之间的交联

和对特定表面的黏附力。另一种常见的蛋白质是Sbp4-1，虽然对其研究相对较少，但它同样存在于足丝的高延伸区域，推测可能与Sbp5-2协同作用，共同赋予足丝优异的延伸性能。除了这两种主要的蛋白质外，扇贝足丝中还包含其他多种Sbp，它们可能在足丝的结构组装、基底识别以及黏附调控等方面发挥着各自独特的作用，例如，某些Sbp可能负责识别不同的基底材料，实现对特定表面的选择性黏附，而另一些则可能具有抗菌或抗氧化等生物活性，保护足丝免受环境侵害<sup>[105]</sup>。扇贝足丝蛋白的种类多样，功能各异，它们相互协作，共同构成了扇贝强大的水下黏附系统。

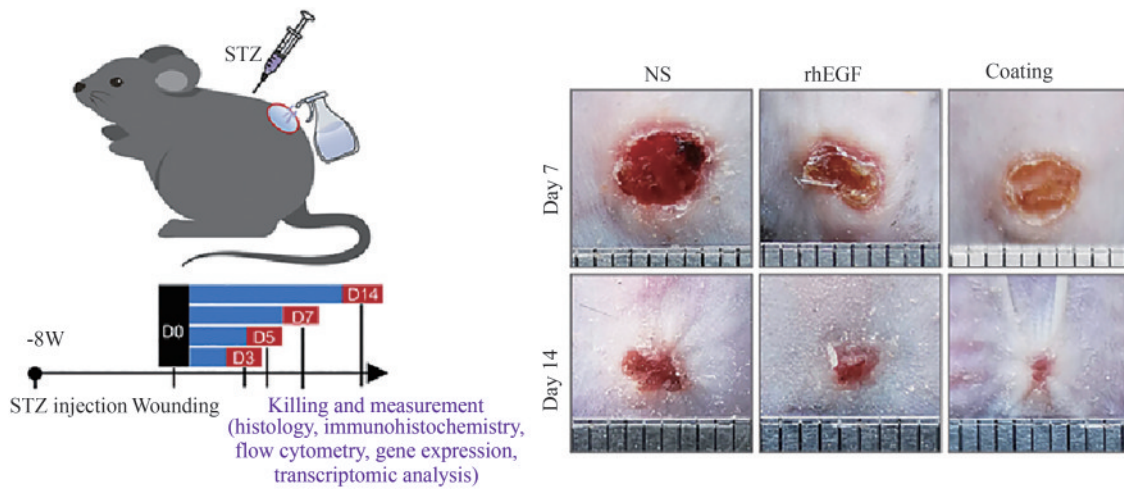
Sbp的水下黏附能力，使其成为理想的生物医



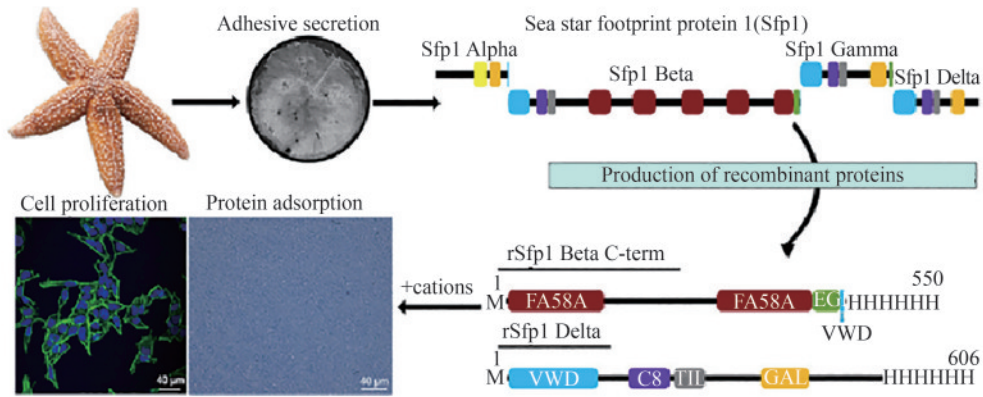
(a) 由藤壶胶单蛋白和蛛丝蛋白制成的仿生蛋白胶黏剂<sup>[101]</sup>  
 (a) Biomimetic protein adhesive made from barnacle glue monoprotein and spider silk protein<sup>[101]</sup>



(b) 扇贝丝线衍生的可延展和自恢复蛋白质材料<sup>[106]</sup>  
 (b) Scallop byssus-derived, stretchable, and self-healing protein materials<sup>[106]</sup>



(c) Sbp9  $\Delta$  的ECM模拟内在多功能涂层<sup>[107]</sup>  
(c) ECM-mimicking intrinsic multifunctional coating of Sbp9  $\Delta$ <sup>[107]</sup>



(d) 受海星启发的重组黏附蛋白涂层<sup>[110]</sup>  
(d) Sea star-inspired recombinant adhesive protein coating<sup>[110]</sup>

图4 藤壶和扇贝等其他海洋黏附蛋白的应用

Fig. 4 Applications of other marine adhesive proteins, such as those from barnacles and scallops

用黏合剂候选材料。例如，钟超团队<sup>[106]</sup>的研究揭示了扇贝足丝蛋白Sbp5-2中TRM结构赋予材料高延展性和自恢复特性。他们利用基因工程构建了含7个TRM串联的重组蛋白rTRM7，并在大肠杆菌中高效表达后，通过拉丝工艺制备的仿生纤维再现了天然材料的力学性能。研究发现，氢键、金属配位和二硫键构成的分子交联网络是性能调控的关键。通过嵌入石墨烯，他们开发出e-rTRM7导电纤维，并成功应用于人体运动监测传感器。该工作为生物基高性能材料设计提供了新思路，其可扩展生产和环境适应性在智能穿戴、医疗监测领域展现出潜在的应用前景[图4(b)]。Wang等<sup>[107]</sup>则聚焦于扇贝足丝蛋白Sbp9 $\Delta$ （含10~13个表皮生长因子样EGFL模块），发现其二价钙离子

可在30 min内触发原位形成多孔网络涂层。该涂层具有优异的湿吸附性、生物相容性及抗氧化能力，并能促进细胞增殖和迁移。通过融合抗菌肽LL37，涂层展现出抗菌和免疫调节功能。动物实验证实，该涂层通过调控巨噬细胞M2极化、清除活性氧和抑制创面细菌，显著改善糖尿病伤口微环境，加速愈合。EGFL模块作为细胞外基质（ECM）的共性组分，其自组装特性为开发新型多功能生物材料提供了新思路，尤其在创面修复领域展现出重要的应用潜力[图4(c)]。

## 2.4 其他海洋黏性蛋白

除了广为人知的贻贝、藤壶和扇贝，海洋中

还存在着许多其他具有强大黏附能力的生物，如海星和沙堡蠕虫等<sup>[108]</sup>。它们独特的黏附蛋白结构和功能为我们提供了新的设计思路，有望开发出性能更优异的高黏性材料。尽管对这些蛋白的研究相对较少，但已有的成果揭示了其在水下黏附、组织修复和生物医学等领域的巨大应用潜力<sup>[109]</sup>。

Sfp1是目前为止了解最为深入的一种海星黏附蛋白，其在海星分泌型黏附蛋白中含量最为丰富。Sfp1可以通过其亚基（如Beta和Delta）在水下基质上形成高效黏附，Hennebert团队<sup>[110]</sup>利用大肠杆菌重组产生Sfp1的Beta C端和Delta亚基，发现这些蛋白质在NaCl存在下能自组装成寡聚体和聚集体，并在Na<sup>+</sup>或Ca<sup>2+</sup>作用下吸附于玻璃和聚苯乙烯表面，形成不同结构的涂层。这些涂层对HeLa细胞无细胞毒性，甚至促进细胞增殖，显示出在细胞培养和生物医学应用中的潜力[图4(d)]。

Pc-1是沙堡蠕虫分泌的关键黏附蛋白，这一蛋白结构中的多巴和赖氨酸是发挥湿黏附的主要组分，其比例接近1:1，Liu团队<sup>[111]</sup>根据这一原理设计合成了结构简单、含有三肽的黏附分子丁二胺-多巴-赖氨酸-多巴（DbayKY）。该黏附分子可以通过简单的结构变化进而引发多种类型的聚合反应，从而接枝在各类聚合物的末端。另外，将水凝胶简单浸没在含有DbayKY的化合物或聚合物的溶液中，即可实现水凝胶的功能化，例如水凝胶抗菌、支持细胞黏附和促进伤口修复的功能。

综上所述，对海洋生物黏附蛋白的研究，将推动水下黏合剂、生物医用材料、防污涂层等领域的革新，并促进生物学、材料科学与工程学的交叉融合。未来，这些源于海洋的“黏性分子”有望广泛应用于医疗、海洋工程等领域，提升对海洋生态系统价值的认识。

### 3 人工合成黏性蛋白/多肽的设计、调控与应用

#### 3.1 基于ELP的组织黏合剂

与天然黏附蛋白相比，人工合成的黏性蛋白/多肽具有显著优势。首先，它们的可设计性极强，研究者可以根据特定需求，精确调控其氨基酸序

列、分子量、结构以及功能基团，从而定制其黏附强度、耐水性、生物相容性等关键性能<sup>[112]</sup>。其次，人工合成的黏性蛋白/多肽可以通过化学修饰或基因工程手段引入各种功能基团，例如交联剂、响应性元件、生物活性分子等，赋予其多功能性，以满足更复杂应用场景的需求<sup>[113]</sup>。

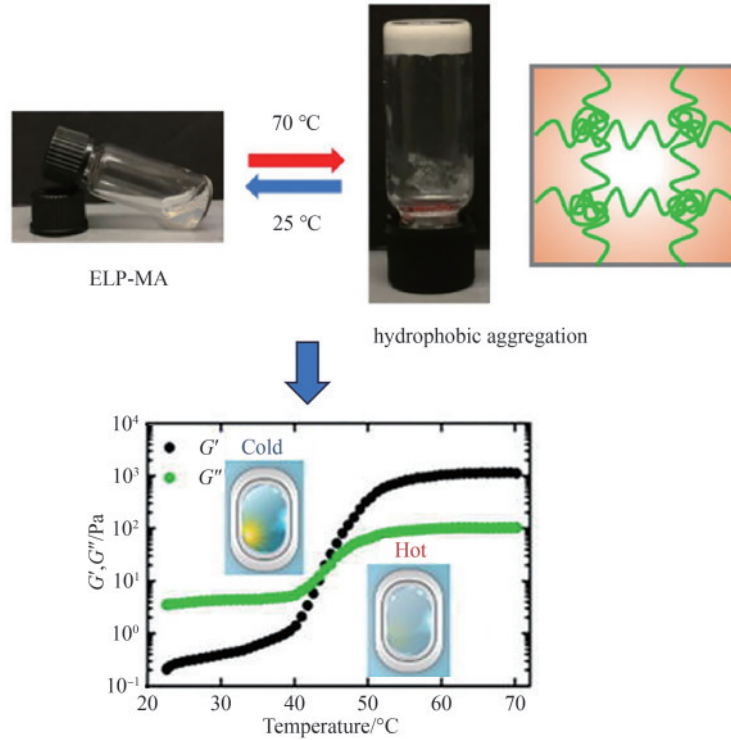
ELP是一类人工合成的蛋白质聚合物，其序列主要由重复的五肽单元（Val-Pro-Gly-Xaa-Gly）组成，其中Xaa可以是除脯氨酸以外的任何氨基酸<sup>[114]</sup>。利用ELP作为组织黏合剂的成分，不仅能保证重组蛋白的稳定表达和产量，还能有效利用其结构特性，增强黏合剂的黏附性能，从而满足组织黏合的实际需求<sup>[115]</sup>。ELP具有独特的温度敏感性，在低于特定转变温度（transition temperature,  $T_t$ ）时，表现出水溶性；而当温度高于 $T_t$ 时，ELP会发生疏水性聚集，从溶液中沉淀出来，这种现象被称为可逆相转变或凝聚<sup>[116]</sup>。通过改变ELP序列中疏水性氨基酸的种类和数量，可以精确调控其转变温度<sup>[117]</sup>。因此，将ELP引入组织黏合剂，不仅赋予其无毒副作用的温度响应特性，还可利用其独特的结构转变机制，调控黏合剂的黏附性能，实现更智能化的组织黏合<sup>[118]</sup>。

ELP被广泛用作再生医学、组织工程和药物递送的仿生材料，是开发纳米生物技术工具包的重要组成部分。例如，清华大学深圳国际研究生院弥胜利教授团队<sup>[119]</sup>设计并合成了一种基于基因工程化富含赖氨酸的类弹性蛋白多肽，并通过化学方法用甲基丙烯酸基团对赖氨酸位点进行共价修饰。通过实验和模拟相结合的方法验证了结构转变的预测。通过控制甲基丙烯酸酯化程度和ELP-MA浓度，可以调控水凝胶的物理性质，如机械强度、孔径和溶胀率。体内实验表明，ELP-MA水凝胶具有良好的生物相容，可作为光透射调节器和弹性黏合剂，在组织工程等生物医学领域具有潜在的应用价值[图5(a)]。

此外，刘凯团队<sup>[120]</sup>通过将ELP与其他分子复合，从而形成强内聚性交联分子网络，发展了一系列多功能的蛋白基黏合材料。例如，他们开发了一种由软骨素（CS）与带正电荷的类弹性蛋白（ELP<sub>2</sub>）静电结合而成的新型蛋白黏合剂。在软骨缺损大鼠模型中，该蛋白黏合剂表现出良好的治

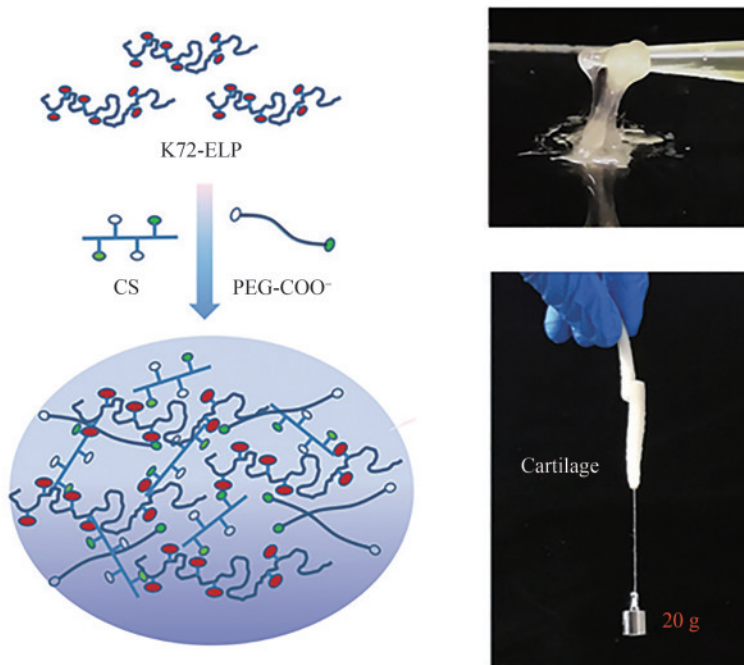
疗效果，有望在软骨修复领域实现转化应用<sup>[121]</sup> [图5(b)]。该团队还通过基因工程，将精氨酸(R)或赖氨酸(K)编码到ELP中，生成高阳离子性蛋白质。通过静电作用，将这些蛋白质与鲑鱼

精子DNA或十二烷基苯磺酸钠(SDBS)结合，形成基于凝聚层的胶黏剂，即R-DNA和R-SDBS。其中，R144-DNA胶黏剂在多种材料表面展现出卓越的黏附强度和能量，超越了现有蛋白质胶黏剂。



(a) 基于类弹性蛋白多肽的功能水凝胶<sup>[119]</sup>

(a) Elastin-like polypeptide-based functional hydrogel<sup>[119]</sup>



(b) 一种用于修复软骨的工程蛋白质黏合<sup>[121]</sup>

(b) An engineered protein adhesive for cartilage repair<sup>[121]</sup>

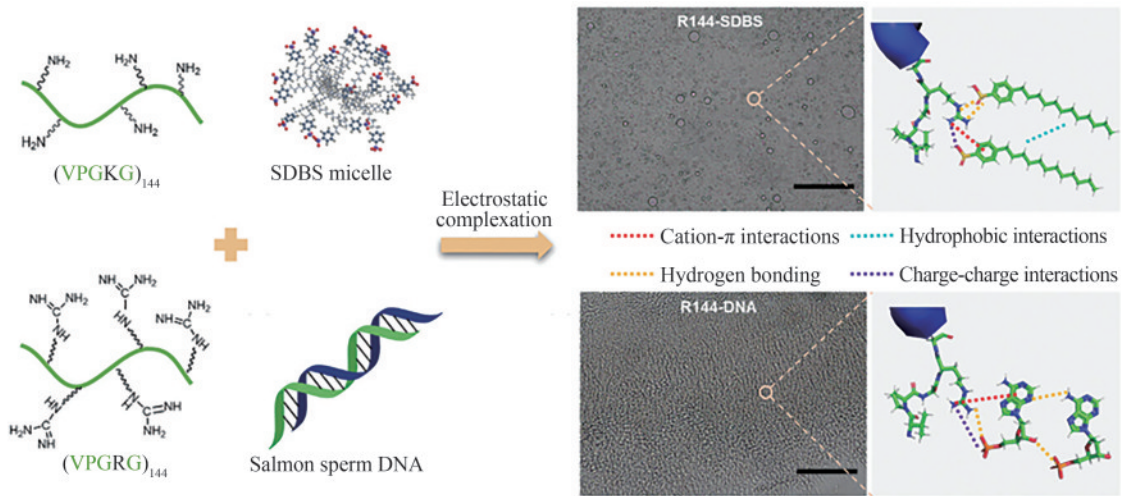
(c) 一种基于生物合成的结构蛋白胶水<sup>[122]</sup>(c) A biosynthetic structural protein-based glue<sup>[122]</sup>(d) 来自基因工程多肽的超强生物胶水<sup>[123]</sup>(d) Super-strong bio-glue from genetically engineered polypeptides<sup>[123]</sup>

图5 ELP在高黏性材料中的应用

Fig. 5 Applications of ELPs in highly viscous materials

此外, 该胶黏剂还具备快速止血、促进组织再生、抑制炎症和抗菌等特性, 使其在伤口修复和组织工程领域具有广阔的应用前景<sup>[122]</sup> [图5(c)]。另外, 通过将超正电荷类弹性蛋白与表面活性剂分子进行静电络合, 形成了复杂凝聚态胶水 SUP-SDBS。SUP-SDBS 在多种底材 (玻璃、金属、PVC 或 PE) 上的黏附性能与商用氰基丙烯酸酯胶相当, 同时表现出促进止血和加速愈合的作用<sup>[123]</sup> [图5(d)]。

### 3.2 基于 RGD 修饰增强细胞黏附

除了 ELP, 精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸 (RGD)

因其出色的细胞黏附能力, 也备受关注<sup>[124]</sup>。RGD 序列是许多细胞外基质蛋白 (如纤联蛋白、玻联蛋白) 中的关键黏附位点<sup>[125]</sup>。相较于天然 RGD 序列, 人工合成 RGD 最显著的特点在于其高度的可定制性和可控性<sup>[126]</sup>。通过化学合成或生物工程手段, 可以精确地设计和构建具有特定序列、结构和后修饰的 RGD 肽, 从而实现对材料性质和生物活性的精细调控。这种人工合成的 RGD 肽, 摆脱了天然来源的限制, 能够引入非天然氨基酸、环化结构、多聚化修饰以及各种功能基团, 赋予其天然 RGD 肽所不具备的特性<sup>[127]</sup>。例如, 可以提高与特定整合素的亲和力、增强靶向性、延长体内

循环时间，甚至结合药物分子或成像探针，实现靶向治疗和诊断的双重功能<sup>[128]</sup>。此外，人工合成RGD肽的纯度、浓度和批次稳定性也更容易控制，这对于生物医学应用至关重要。

RGD肽及其衍生物被广泛用于促进细胞黏附、铺展和增殖<sup>[129-130]</sup>。例如，Kang团队<sup>[131]</sup>设计并克隆了编码来自蚕丝素的含有RGD基序的基因单体。通过基因单体倍增-延伸和表达，获得了不同聚合度的RGD，并通过大肠杆菌成功表达。L929细胞体外培养结果表明，4倍体和8倍体对细胞的黏附和增殖性能有明显的促进作用。Xu等<sup>[132]</sup>将RGD引入水凝胶，显著增强了细胞与基质的相互作用，并有效促进了细胞的黏附和增殖。更重要的是，RGD通过二硫键连接到水凝胶网络，这意味着可以通过谷胱甘肽处理来调节RGD的含量，从而精确控制RGD的密度和水凝胶的生物活性。这种可调控的特性使得水凝胶上的细胞行为可以按需定制。这种具有可控生物活性的可注射水凝胶为开发能够动态调节细胞黏附的ECM模拟支架提供了一个有前景的策略。另外，大量研究表明，将RGD肽修饰到生物材料表面，能够大幅度改善材料的细胞生物相容性和黏附能力。Waku等<sup>[133]</sup>的研究表明，在RGD融合的人工蛋白中引入材料结合肽(MBP)，可以增强蛋白质在聚合物表面的定向吸附并改善其细胞黏附能力。Wohlrab等<sup>[134]</sup>通过基因(融合氨基酸序列GRGDSPG)和化学方法[使用环状肽c(RGDfK)]将RGD修饰到工程重组蛛丝蛋白eADF4(C16)上。基因工程构建的杂合蛋白(具有线性RGD序列)显示出与化学修饰环状RGD肽的丝蛋白相似或略好的细胞黏附性能。这表明线性RGD序列在促进细胞黏附方面具有潜力。

## 4 总结与展望

高黏性蛋白材料凭借其优异的黏附性能、可降解性和可定制性，在生物医学和材料科学领域展现出蓬勃的生命力。基因重组技术的应用，使得我们能够精确设计和合成具有特定序列和结构的高黏性蛋白，从而实现对材料性能的精准调控。

目前，研究主要集中在天然蛋白改造(如

Mfp)和人工合成蛋白设计(如ELP)两个方向。前者旨在提高天然蛋白的黏附性和强度，后者则侧重于构建具有特殊功能的蛋白或多肽。这些材料在生物医学领域具有广泛的应用前景，例如作为生物黏合剂用于伤口闭合和组织修复，作为药物递送载体实现靶向治疗，以及作为细胞支架促进组织再生。在材料科学领域，高黏性蛋白材料可用于制造高性能黏合剂和涂层，从而改善材料的表面性能。

尽管高黏性蛋白材料的研究已经取得了显著的进展，但仍然面临着一些挑战。首先，生产成本较高，限制了其广泛应用。为了实现更高效经济的生产，亟待优化基因工程表达系统，例如选择更高效的宿主细胞和优化培养条件。同时，还需要开发新型的分选纯化技术，例如使用亲和色谱和超滤等方法，提高蛋白的纯度和回收率。其次，材料的机械强度和稳定性有待提升。与传统的合成材料相比，高黏性蛋白材料的强度和韧性较低，容易发生降解。为了提高材料的机械性能，可以通过交联、共聚、复合等手段增强其力学性能，满足更广泛的应用需求。例如，可以使用化学交联剂对高黏性蛋白材料进行交联，使其形成更稳定的网络结构；可以将高黏性蛋白材料与其他材料进行共聚，例如与聚乙二醇、聚乳酸等；可以将高黏性蛋白材料与无机材料进行复合，例如与纳米颗粒、陶瓷等。最后，长期生物相容性和安全性需要深入评估。尽管高黏性蛋白材料通常具有良好的生物相容性，但仍需要通过动物实验、临床试验等手段，评估材料的毒性、免疫原性及降解产物的影响，确保其长期使用的安全性。

高黏性蛋白材料作为极具潜力的生物材料，将在未来科技发展中发挥重要作用。通过不断创新突破，有望开发出更多具有优异性能和广泛应用前景的材料，为人类健康和可持续发展做出贡献。未来的研究需更注重多学科交叉融合，结合材料科学、生物学、化学和工程学等领域的知识，共同推动发展。同时，还需加强国际合作，共同应对研究挑战，实现资源共享和优势互补。充分发挥高黏性蛋白材料的潜力，将其转化为实际的应用，为人类社会带来福祉。我们有理由相信，随着技术的不断进步和研究的深入，高黏性蛋白

材料将在生物医学和材料科学领域开创更加辉煌的未来。

### 参 考 文 献

- [1] LIU A P, APPEL E A, ASHBY P D, et al. The living interface between synthetic biology and biomaterial design[J]. *Nature Materials*, 2022, 21(4): 390-397.
- [2] ZHANG X Y, WANG J X, ZHANG Y, et al. Synthesizing biomaterials in living organisms[J]. *Chemical Society Reviews*, 2023, 52(23): 8126-8164.
- [3] MALCI K, LI I S, KISSEROUDIS N, et al. Modulating microbial materials-engineering bacterial cellulose with synthetic biology[J]. *ACS Synthetic Biology*, 2024, 13(12): 3857-3875.
- [4] ZHAO H M. Synthetic biology continues to grow[J]. *ACS Synthetic Biology*, 2024, 13(1): 1-2.
- [5] LEI Q, ZHAO Y F, LIU S Y, et al. Nanomaterials boost the biomedical application of synthetic biology[J]. *Science China Materials*, 2024, 67(7): 2051-2066.
- [6] YAN X, LIU X, ZHAO C H, et al. Applications of synthetic biology in medical and pharmaceutical fields[J]. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2023, 8: 199.
- [7] XU T, HUANG X Y, DAO J W, et al. Synthetic biology for medical biomaterials[J]. *Interdisciplinary Medicine*, 2025: e20240087.
- [8] HAO D Z, LI X C, YANG E F, et al. Barnacle inspired high-strength hydrogel for adhesive[J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2023, 11: 1183799.
- [9] PAPOV V V, DIAMOND T V, BIEMANN K, et al. Hydroxyarginine-containing polyphenolic proteins in the adhesive plaques of the marine mussel *Mytilus edulis* [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1995, 270(34): 20183-20192.
- [10] WAITE J H. Mussel adhesion-essential footwork[J]. *The Journal of Experimental Biology*, 2017, 220(Pt 4): 517-530.
- [11] GIM Y S, HWANG D S, LIM S H, et al. Production of fusion mussel adhesive fp-353 in *Escherichia coli*[J]. *Biotechnology Progress*, 2008, 24(6): 1272-1277.
- [12] HWANG D S, GIM Y, CHA H J. Expression of functional recombinant mussel adhesive protein type 3A in *Escherichia coli*[J]. *Biotechnology Progress*, 2005, 21(3): 965-970.
- [13] 郝东, 魏文培, 周浩, 等. 重组贻贝粘蛋白 Mfp-3P 的制备及促进伤口愈合的作用[J]. *生物工程学报*, 2024, 40(5): 1498-1508.
- HAO D, WEI W P, ZHOU H, et al. Preparation of recombinant mussel mucin Mfp-3P and its promotion of wound healing[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2024, 40(5): 1498-1508.
- [14] HWANG D S, KIM K R, LIM S H, et al. Recombinant mussel adhesive protein as a gene delivery material[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2009, 102(2): 616-623.
- [15] QI H S, ZHENG W W, ZHANG C, et al. Novel mussel-inspired universal surface functionalization strategy: protein-based coating with residue-specific post-translational modification *in vivo*[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2019, 11(13): 12846-12853.
- [16] JO Y K, KIM H J, JEONG Y, et al. Biomimetic surface engineering of biomaterials by using recombinant mussel adhesive proteins[J]. *Advanced Materials Interfaces*, 2018, 5(9): 1800068.
- [17] XUE R, ZHANG M, ZHANG C X, et al. Molecular simulations guiding recombinant mussel protein with enhanced applicable properties for adhesive materials[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2025, 307: 141988.
- [18] FICHMAN G, ADLER-ABRAMOVICH L, MANOHAR S, et al. Seamless metallic coating and surface adhesion of self-assembled bioinspired nanostructures based on di-(3,4-dihydroxy-L-phenylalanine) peptide motif[J]. *ACS Nano*, 2014, 8(7): 7220-7228.
- [19] CUI M K, WANG X Y, AN B L, et al. Exploiting mammalian low-complexity domains for liquid-liquid phase separation-driven underwater adhesive coatings[J]. *Science Advances*, 2019, 5(8): eaax3155.
- [20] WANG X, LIANG Q Y, LUO Y X, et al. Engineering the next generation of theranostic biomaterials with synthetic biology [J]. *Bioactive Materials*, 2024, 32: 514-529.
- [21] YU Y, LIU Z M, CHEN M, et al. Enhancing the expression of recombinant  $\kappa$ -carrageenase in *Pichia pastoris* using dual promoters, co-expressing chaperones and transcription factors [J]. *Biocatalysis and Biotransformation*, 2020, 38(2): 104-113.
- [22] PAPAMICHAIL D, LIU H M, MACHADO V, et al. Codon context optimization in synthetic gene design[J]. *IEEE/ACM Transactions on Computational Biology and Bioinformatics*, 2018, 15(2): 452-459.
- [23] YAO L, WANG X Y, XUE R, et al. Comparative analysis of mussel foot protein 3B co-expressed with tyrosinases provides a potential adhesive biomaterial[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2022, 195: 229-236.
- [24] WEI W, KIM J M, MEDINA D, et al. GeneOptimizer program-assisted cDNA reengineering enhances sRAGE autologous expression in Chinese hamster ovary cells[J]. *Protein Expression and Purification*, 2014, 95: 143-148.
- [25] ZHANG M Y, SONG J, XIAO J, et al. Engineered multiple translation initiation sites: a novel tool to enhance protein

- production in *Bacillus licheniformis* and other industrially relevant bacteria[J]. *Nucleic Acids Research*, 2022, 50(20): 11979-11990.
- [26] LIU J, XU L M, JIN Y, et al. Cell-targeting cationic gene delivery system based on a modular design rationale[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2016, 8(22): 14200-14210.
- [27] CUI M K, QI Q, GURRY T, et al. Modular genetic design of multi-domain functional amyloids: insights into self-assembly and functional properties[J]. *Chemical Science*, 2019, 10(14): 4004-4014.
- [28] ZHOU X M, SHIMANOVICH U, HERLING T W, et al. Enzymatically active microgels from self-assembling protein nanofibrils for microflow chemistry[J]. *ACS Nano*, 2015, 9(6): 5772-5781.
- [29] ALJABALI A A A, EL-TANANI M, TAMBUWALA M M. Principles of CRISPR-Cas9 technology: advancements in genome editing and emerging trends in drug delivery[J]. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 2024, 92: 105338.
- [30] GARAY-NOVILLO J N, RUIZ-MASÓ J Á, DEL SOLAR G, et al. Easy-curing and pH-regulated CRISPR-Cas9 plasmids for gene editing and plasmid curing in *Lactococcus cremoris* [J]. *Microbial Biotechnology*, 2024, 17(12): e70060.
- [31] ZHENG R X, ZHANG L X, PARVIN R, et al. Progress and perspective of CRISPR-Cas9 technology in translational medicine[J]. *Advanced Science*, 2023, 10(25): 2300195.
- [32] KIM S, SUNG B H, KIM S C, et al. Genetic incorporation of L-dihydroxyphenylalanine (DOPA) biosynthesized by a tyrosine phenol-lyase[J]. *Chemical Communications*, 2018, 54(24): 3002-3005.
- [33] ASENJO J A, PARRADO J, ANDREWS B A. Rational design of purification processes for recombinant proteins[J]. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1991, 646(1): 334-356.
- [34] BEYGMORADI A, HOMAEI A, HEMMATI R, et al. Recombinant protein expression: challenges in production and folding related matters[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 233: 123407.
- [35] RESTREPO-PINEDA S, O PÉREZ N, VALDEZ-CRUZ N A, et al. Thermoinducible expression system for producing recombinant proteins in *Escherichia coli*: advances and insights [J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2021, 45(6): fuab023.
- [36] NAKAMURA T, KOMA D, OSHIMA M, et al. Application of chromosomal gene insertion into *Escherichia coli* for expression of recombinant proteins[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2018, 126(2): 266-272.
- [37] DE MARCO A, DEUERLING E, MOGK A, et al. Chaperone-based procedure to increase yields of soluble recombinant proteins produced in *E. coli*[J]. *BMC Biotechnology*, 2007, 7: 32.
- [38] WANG X Y, FENG X X, XUE R, et al. Promoting soluble expression of hybrid mussel foot proteins by SUMO-TrxA tags for production of mussel glue[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 225: 840-847.
- [39] WU P P, TAO Q, LIU Y X, et al. Efficient secretion of mussel adhesion proteins using a chaperone protein Spy as fusion tag in *Bacillus subtilis*[J]. *Biotechnology Journal*, 2023, 18(10): 2200582.
- [40] URUSHIDA Y, NAKANO M, MATSUDA S, et al. Identification and functional characterization of a novel barnacle cement protein[J]. *The FEBS Journal*, 2007, 274(16): 4336-4346.
- [41] MORI Y, URUSHIDA Y, NAKANO M, et al. Calcite-specific coupling protein in barnacle underwater cement[J]. *The FEBS Journal*, 2007, 274(24): 6436-6446.
- [42] BILL R M. Recombinant protein subunit vaccine synthesis in microbes: a role for yeast? [J]. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2015, 67(3): 319-328.
- [43] MISSOUM A. Recombinant protein production and purification using eukaryotic cell factories[J]. *Methods in Molecular Biology*, 2021, 2290: 215-228.
- [44] 李楠楠, 王智平, 鲁涛, 等. 厚壳贻贝足丝黏附蛋白 mcofp-3 的重组真核表达[J]. *生物技术通报*, 2010, 26(12): 148-153.
- LI N N, WANG Z P, LU T, et al. Recombinant expression of mcofp-3 from *Mytilus coruscus* plaque[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2010, 26(12): 148-153.
- [45] 王绪霞, 张龙雨, 王磊, 等. 藤壶附着机理及其粘胶蛋白的研究进展[J]. *生物工程学报*, 2022, 38(12): 4449-4461.
- WANG X X, ZHANG L Y, WANG L, et al. The adhesion mechanism of barnacle and its cement proteins: a review[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2022, 38(12): 4449-4461.
- [46] CARON A W, ARCHAMBAULT J, MASSIE B. High-level recombinant protein production in bioreactors using the baculovirus-insect cell expression system[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 1990, 36(11): 1133-1140.
- [47] THOMPSON C M, MONTES J, AUCOIN M G, et al. Recombinant protein production in large-scale agitated bioreactors using the baculovirus expression vector system[J]. *Methods in Molecular Biology*, 2016, 1350: 241-261.
- [48] LIM S H, KIM K R, CHOI Y S, et al. *In vivo* post-translational modifications of recombinant mussel adhesive protein in insect cells[J]. *Biotechnology Progress*, 2011, 27(5): 1390-1396.
- [49] RADEMACHER T, SACK M, BLESSING D, et al. Plant cell packs: a scalable platform for recombinant protein production and metabolic engineering[J]. *Plant Biotechnology Journal*,

- 2019, 17(8): 1560-1566.
- [50] XU J F, KIELISZEWSKI M J. A novel plant cell bioproduction platform for high-yield secretion of recombinant proteins[M/OL]//Recombinant gene expression. Methods in molecular biology. Totowa, NJ: Humana Press, 2012, 824: 483-500. (2011-11-21)[2025-07-01]. [https://doi.org/10.1007/978-1-61779-433-9\\_26](https://doi.org/10.1007/978-1-61779-433-9_26).
- [51] 吕玉伟, 张雨靖, 吕亚维, 等. 贻贝粘蛋白 Mgfp-5 基因在烟草中的转化[J]. 基因组学与应用生物学, 2016, 35(1): 172-182.  
LV Y W, ZHANG Y J, LV Y W, et al. Transformation of *Mytilus galloprovincialis* foot protein type 5(Mgfp-5) gene in tobacco[J]. Genomics and Applied Biology, 2016, 35(1): 172-182.
- [52] 吕亚维. 贻贝粘蛋白 Mgfp-5 基因在菊苣中的表达研究[D]. 西安: 西北大学, 2018.  
LÜ Y W. Expression study of mussel adhesive protein Mgfp-5 gene in *Cichorium intybus*[D]. Xi'an: Northwest University, 2018.
- [53] PINA A S, LOWE C R, ROQUE A C A. Challenges and opportunities in the purification of recombinant tagged proteins [J]. Biotechnology Advances, 2014, 32(2): 366-381.
- [54] MUWONGE K, YAMAN B, MÉSZÁROS A, et al. Improved expression of aggregation-prone tau proteins using a spidroin-derived solubility tag[J]. Separations, 2024, 11(7): 198.
- [55] TRIPATHI N K. Production and purification of recombinant proteins from *Escherichia coli*[J]. ChemBioEng Reviews, 2016, 3(3): 116-133.
- [56] JIANG R Z, YUAN S T, ZHOU Y L, et al. Strategies to overcome the challenges of low or no expression of heterologous proteins in *Escherichia coli*[J]. Biotechnology Advances, 2024, 75: 108417.
- [57] LI G Y, XIAO Z Z, LU H P, et al. A simple method for recombinant protein purification using self-assembling peptide-tagged tobacco etch virus protease[J]. Protein Expression and Purification, 2016, 128: 86-92.
- [58] HWANG D S, GIM Y, YOO H J, et al. Practical recombinant hybrid mussel bioadhesive fp-151[J]. Biomaterials, 2007, 28(24): 3560-3568.
- [59] SAGERT J, SUN C J, WAITE J H. Chemical subtleties of mussel and polychaete holdfasts[M/OL]//Biological adhesives. Berlin, Heidelberg: Springer, 2006: 125-143[2025-07-01]. [https://doi.org/10.1007/978-3-540-31049-5\\_7](https://doi.org/10.1007/978-3-540-31049-5_7).
- [60] ZHU Y J, HUANG S C, QIAN Z G, et al. Direct and efficient incorporation of DOPA into resilin-like proteins enables cross-linking into tunable hydrogels[J]. Biomacromolecules, 2023, 24(4): 1774-1783.
- [61] OHKAWA K, NISHIDA A, YAMAMOTO H, et al. A glycosylated byssal precursor protein from the green mussel *Perna viridis* with modified Dopa side-chains[J]. Biofouling, 2004, 20(2): 101-115.
- [62] ZHAO H, SAGERT J, HWANG D S, et al. Glycosylated hydroxytryptophan in a mussel adhesive protein from *Perna viridis*[J]. Journal of Biological Chemistry, 2009, 284(35): 23344-23352.
- [63] HENNEBERT E, MALDONADO B, LADURNER P, et al. Experimental strategies for the identification and characterization of adhesive proteins in animals: a review[J]. Interface Focus, 2015, 5(1): 20140064.
- [64] BRITTAIN W D G, LLOYD C M, COBB S L. Synthesis of complex unnatural fluorine-containing amino acids[J]. Journal of Fluorine Chemistry, 2020, 239: 109630.
- [65] ADHIKARI A, BHATTARAI B R, ARYAL A, et al. Reprogramming natural proteins using unnatural amino acids [J]. RSC Advances, 2021, 11(60): 38126-38145.
- [66] ZHOU J L, LIU Y Q, SUN Z K. LADA strategy for the synthesis of unnatural amino acids and direct modifications of peptides[J]. Science China Chemistry, 2023, 66(6): 1788-1794.
- [67] SAAL K A, RICHTER F, REHLING P, et al. Combined use of unnatural amino acids enables dual-color super-resolution imaging of proteins *via* click chemistry[J]. ACS Nano, 2018, 12(12): 12247-12254.
- [68] LI Y R, CHAMPION J A. Photocrosslinked, tunable protein vesicles for drug delivery applications[J]. Advanced Healthcare Materials, 2021, 10(15): 2001810.
- [69] DESHMUKH M, SINGH S, GEYER A. Synthetic adhesive oligopeptides with rigid polyhydroxylated amino acids[J]. Biopolymers, 2013, 99(5): 273-281.
- [70] PRIEMEL T, PALIA G, FÖRSTE F, et al. Microfluidic-like fabrication of metal ion-cured bioadhesives by mussels[J]. Science, 2021, 374(6564): 206-211.
- [71] FAN X M, FANG Y, ZHOU W K, et al. Mussel foot protein inspired tough tissue-selective underwater adhesive hydrogel [J]. Materials Horizons, 2021, 8(3): 997-1007.
- [72] KROGSGAARD M, NUE V, BIRKEDAL H. Mussel-inspired materials: self-healing through coordination chemistry[J]. Chemistry-A European Journal, 2016, 22(3): 844-857.
- [73] WEI W, YU J, BROOMELL C, et al. Hydrophobic enhancement of Dopa-mediated adhesion in a mussel foot protein[J]. Journal of the American Chemical Society, 2013, 135(1): 377-383.
- [74] LU Q Y, DANNER E, WAITE J H, et al. Adhesion of mussel foot proteins to different substrate surfaces[J]. Journal of the Royal Society, Interface, 2013, 10(79): 20120759.
- [75] YANG B S, JIN S L, PARK Y J, et al. Coacervation of

- interfacial adhesive proteins for initial mussel adhesion to a wet surface[J]. *Small*, 2018, 14(52): 1803377.
- [76] SHIN M, YOON T, YANG B, et al. Thiol-rich fp-6 controls the tautomer equilibrium of oxidized Dopa in interfacial mussel foot proteins[J]. *Langmuir*, 2022, 38(11): 3446-3452.
- [77] CHOI Y S, YANG Y J, YANG B, et al. *In vivo* modification of tyrosine residues in recombinant mussel adhesive protein by tyrosinase co-expression in *Escherichia coli*[J]. *Microbial Cell Factories*, 2012, 11: 139.
- [78] LEE S J, HAN Y H, NAM B H, et al. A novel expression system for recombinant marine mussel adhesive protein Mefp1 using a truncated OmpA signal peptide[J]. *Molecules and Cells*, 2008, 26(1): 34-40.
- [79] BASHIR Z, YU W T, XU Z Y, et al. Engineering bio-adhesives based on protein-polysaccharide phase separation[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(17): 9987.
- [80] ZHANG H, BRÉ L P, ZHAO T Y, et al. Mussel-inspired hyperbranched poly(amino ester) polymer as strong wet tissue adhesive[J]. *Biomaterials*, 2014, 35(2): 711-719.
- [81] KIM H J, HWANG B H, LIM S, et al. Mussel adhesion-employed water-immiscible fluid bioadhesive for urinary fistula sealing[J]. *Biomaterials*, 2015, 72: 104-111.
- [82] CUI C Y, LIU W G. Recent advances in wet adhesives: adhesion mechanism, design principle and applications[J]. *Progress in Polymer Science*, 2021, 116: 101388.
- [83] ZHANG F, LIU S W, ZHANG Y, et al. Underwater bonding strength of marine mussel-inspired polymers containing DOPA-like units with amino groups[J]. *RSC Advances*, 2012, 2(24): 8919-8921.
- [84] MAENG S W, PARK T Y, PARK Y J, et al. Self-healable adhesive hydrogel with a preserved underwater adhesive ability based on histidine-zinc coordination and a bioengineered hybrid mussel protein[J]. *Biomacromolecules*, 2024, 25(1): 379-387.
- [85] YIN Y, ROAS-ESCALONA N, LINDER M B. Molecular engineering of a spider silk and mussel foot hybrid protein gives a strong and tough biomimetic adhesive[J]. *Advanced Materials Interfaces*, 2024, 11(8): 2300934.
- [86] ZHONG C, GURRY T, CHENG A A, et al. Strong underwater adhesives made by self-assembling multi-protein nanofibres[J]. *Nature Nanotechnology*, 2014, 9(10): 858-866.
- [87] BARROS N R, CHEN Y, HOSSEINI V, et al. Recent developments in mussel-inspired materials for biomedical applications[J]. *Biomaterials Science*, 2021, 9(20): 6653-6672.
- [88] LEE H, HA Y M, LEE S H, et al. Spontaneously restored electrical conductivity of bioactive gel comprising mussel adhesive protein-coated carbon nanotubes[J]. *RSC Advances*, 2016, 6(90): 87044-87048.
- [89] KIM D Y, OH Y B, PARK J S, et al. Anti-microbial activities of mussel-derived recombinant proteins against gram-negative bacteria[J]. *Antibiotics*, 2024, 13(3): 239.
- [90] HU Y B, QIAO Y Z, LEI P, et al. Dual network hydrogel coatings based on recombinant mussel protein with enhanced antibacterial and super-lubrication properties for urinary catheter applications[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2023, 474: 145502.
- [91] LEE J Y, KIM E J, KIM K J, et al. Protective topical dual-sided nanofibrous hemostatic dressing using mussel and silk proteins with multifunctionality of hemostasis and anti-bacterial infiltration[J]. *Small*, 2024, 20(18): 2308833.
- [92] CHEONG H Y, KIM J M, KIM B J, et al. Multi-dimensional bioinspired tactics using an engineered mussel protein glue-based nanofiber conduit for accelerated functional nerve regeneration[J]. *Acta Biomaterialia*, 2019, 90: 87-99.
- [93] DICKINSON G H, YANG X, WU F H, et al. Localization of phosphoproteins within the barnacle adhesive interface[J]. *Biological Bulletin*, 2016, 230(3): 233-242.
- [94] XU Z Z, LIU Z C, ZHANG C, et al. Advance in barnacle cement with high underwater adhesion[J]. *Journal of Applied Polymer Science*, 2022, 139(37): e52894.
- [95] TILBURY M A, MCCARTHY S, DOMAGALSKA M, et al. The expression and characterization of recombinant cp19k barnacle cement protein from *Pollicipes pollicipes*[J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences*, 2019, 374(1784): 20190205.
- [96] LI F, YE L N, ZHANG L Y, et al. Design of a genetically programmed barnacle-curli inspired living-cell bioadhesive[J]. *Materials Today Bio*, 2022, 14: 100256.
- [97] LIANG C, LI Y Q, LIU Z M, et al. Protein aggregation formed by recombinant cp19k homologue of *Balanus albicostatus* combined with an 18 kDa N-terminus encoded by pET-32a(+) plasmid having adhesion strength comparable to several commercial glues[J]. *PLoS One*, 2015, 10(8): e0136493.
- [98] LIU X P, LIANG C, ZHANG X K, et al. Amyloid fibril aggregation: an insight into the underwater adhesion of barnacle cement[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2017, 493(1): 654-659.
- [99] JIA L, YU Y B, ZHENG J Y, et al. Self-assembling bioadhesive inspired by the fourth repetitive sequence of *Balanus albicostatus* cement protein 20kDa (*Balcp-20k*) [J]. *Marine Biotechnology*, 2022, 24(6): 1148-1157.
- [100] 李婧. 藤壶粘胶蛋白 Mrcp20K 在毕赤酵母中的高效表达[D]. 武汉: 华中科技大学, 2021.
- LI J. High-level expression of barnacle adhesive protein

- Mrcp20K in *Pichia pastoris*[D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2021.
- [101] YE L N, LIU X X, LI K, et al. A bioinspired synthetic fused protein adhesive from barnacle cement and spider dragline for potential biomedical materials[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 253: 127125.
- [102] SHI Y X, XU Y, ZHANG L Y, et al. Genetically programmed temperature-responsive barnacle-derived protein with an enhanced adhesion ability[J]. *ACS Applied Bio Materials*, 2024, 7(7): 4573-4579.
- [103] FUJII D, TAKASE K, TAKAGI A, et al. Design of RGDS peptide-immobilized self-assembling  $\beta$ -strand peptide from barnacle protein[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(3): 1240.
- [104] YE L N, YAN Y J, YAN J Y. Design and biofabrication of barnacle and spider silk protein decorated composite bacterial cellulose for diabetic wound healing[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2025, 354: 123301.
- [105] DAI X T, ZHU X, BAO L S, et al. Decoding the byssus fabrication by spatiotemporal secretome analysis of scallop foot [J]. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 2022, 20: 2713-2722.
- [106] ZHANG X K, CUI M K, WANG S S, et al. Extensible and self-recoverable proteinaceous materials derived from scallop byssal thread[J]. *Nature Communications*, 2022, 13: 2731.
- [107] WANG L L, XUE B, ZHANG X, et al. Extracellular matrix-mimetic intrinsic versatile coating derived from marine adhesive protein promotes diabetic wound healing through regulating the microenvironment[J]. *ACS Nano*, 2024, 18(22): 14726-14741.
- [108] STEWART R J. Protein-based underwater adhesives and the prospects for their biotechnological production[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2011, 89(1): 27-33.
- [109] BRUBAKER C E, MESSERSMITH P B. The present and future of biologically inspired adhesive interfaces and materials [J]. *Langmuir*, 2012, 28(4): 2200-2205.
- [110] LEFEVRE M, FLAMMANG P, ARANKO A S, et al. Sea star-inspired recombinant adhesive proteins self-assemble and adsorb on surfaces in aqueous environments to form cytocompatible coatings[J]. *Acta Biomaterialia*, 2020, 112: 62-74.
- [111] ZHANG D H, LIU J J, CHEN Q, et al. A sandcastle worm-inspired strategy to functionalize wet hydrogels[J]. *Nature Communications*, 2021, 12: 6331.
- [112] SU R, MA C, HAN B, et al. Proteins for hyperelastic materials [J]. *Small*, 2025, 21(9): e2406388.
- [113] ARIAS F J, SANTOS M, IBANEZ-FONSECA A, et al. Elastin-like recombinamers as smart drug delivery systems[J]. *Current Drug Targets*, 2018, 19(4): 360-379.
- [114] MISEREZ A, YU J, MOHAMMADI P. Protein-based biological materials: molecular design and artificial production [J]. *Chemical Reviews*, 2023, 123(5): 2049-2111.
- [115] VARANKO A K, SU J C, CHILKOTI A. Elastin-like polypeptides for biomedical applications[J]. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 2020, 22: 343-369.
- [116] GUO Y S, LIU S W, JING D, et al. The construction of elastin-like polypeptides and their applications in drug delivery system and tissue repair[J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2023, 21(1): 418.
- [117] LÓPEZ BARREIRO D, MINTEN I J, THIES J C, et al. Structure-property relationships of elastin-like polypeptides: a review of experimental and computational studies[J]. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 2023, 9(7): 3796-3809.
- [118] NETTLES D L, CHILKOTI A, SETTON L A. Applications of elastin-like polypeptides in tissue engineering[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2010, 62(15): 1479-1485.
- [119] GUO Z W, XU Y Y, DONG L N, et al. Design of functional hydrogels using smart polymer based on elastin-like polypeptides [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2022, 435: 135155.
- [120] 李敬敬, 马超, 王帆, 等. 生物合成高性能蛋白及材料应用 [J]. *合成生物学*, 2022, 3(4): 638-657.
- LI J J, MA C, WANG F, et al. Biosynthesis of high-performance protein materials and their applications[J]. *Synthetic Biology Journal*, 2022, 3(4): 638-657.
- [121] ZHANG J R, LI B, ZUO J L, et al. An engineered protein adhesive with properties of tissue integration and controlled release for efficient cartilage repair[J]. *Advanced Healthcare Materials*, 2021, 10(12): 2100109.
- [122] WANG Z L, GU X Q, LI B, et al. Molecularly engineered protein glues with superior adhesion performance[J]. *Advanced Materials*, 2022, 34(41): 2204590.
- [123] MA C, SUN J, LI B, et al. Ultra-strong bio-glue from genetically engineered polypeptides[J]. *Nature Communications*, 2021, 12: 3613.
- [124] YANG M, ZHANG Z C, LIU Y, et al. Function and mechanism of RGD in bone and cartilage tissue engineering[J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2021, 9: 773636.
- [125] TJONG W Y, LIN H H. The role of the RGD motif in CD97/ADGRE5-and EMR2/ADGRE2-modulated tumor angiogenesis [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2019, 520(2): 243-249.
- [126] CAO F Y, YIN W N, FAN J X, et al. Evaluating the effects of charged oligopeptide motifs coupled with RGD on osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2015, 7(12): 6698-6705.
- [127] 邱凯, 陈馨, 李天全. 生物活性短肽 RGD 在骨组织诱导再生中

- 的研究进展[J]. 生物医学工程学杂志, 2003, 20(3): 546-549.
- QIU K, CHEN X, LI T Q. The advance of bioactive peptide RGD in the research of bone regeneration[J]. Journal of Biomedical Engineering, 2003, 20(3): 546-549.
- [128] SANATI M, AFSHARI A R, AMINYAVARI S, et al. RGD-engineered nanoparticles as an innovative drug delivery system in cancer therapy[J]. Journal of Drug Delivery Science and Technology, 2023, 84: 104562.
- [129] 杜学亮, 陈颖伟, 王连升, 等. 人工合成RGD小肽对肝星状细胞分泌细胞外基质的影响[J]. 放射免疫学杂志, 2004, 17(6): 433-435.
- DU X L, CHEN Y W, WANG L S, et al. The effect of synthesized RGD peptide on the secretion of extracellular matrix (ECM) by the hepatic stellate cell[J]. Journal of Radioimmunology, 2004, 17(6): 433-435.
- [130] NOIRI M, KUSHIRO K, TOGO S, et al. Influence of cell adhesive molecules attached onto PEG-lipid-modified fluid surfaces on cell adhesion[J]. Colloids and Surfaces B, Biointerfaces, 2019, 175: 375-383.
- [131] KANG Z, WANG Y N, XU J J, et al. An RGD-containing peptide derived from wild silkworm silk fibroin promotes cell adhesion and spreading[J]. Polymers, 2018, 10(11): 1193.
- [132] XU Q H, ZHANG Z, XIAO C S, et al. Injectable polypeptide hydrogel as biomimetic scaffolds with tunable bioactivity and controllable cell adhesion[J]. Biomacromolecules, 2017, 18(4): 1411-1418.
- [133] WAKU T, IMANISHI Y, YOSHINO Y, et al. Fusion of polymeric material-binding peptide to cell-adhesion artificial proteins enhances their biological function[J]. Biointerphases, 2017, 12(2): 021002.
- [134] WOHLRAB S, MÜLLER S, SCHMIDT A, et al. Cell adhesion and proliferation on RGD-modified recombinant spider silk proteins[J]. Biomaterials, 2012, 33(28): 6650-6659.



**通讯作者:** 王瑞(1987—), 男, 教授, 博士生导师。研究方向为高性能蛋白材料合成生物学与应用。

E-mail: ruiwang2013@njtech.edu.cn



**第一作者:** 李全飞(1998—), 男, 博士研究生。研究方向为高黏性蛋白的生物合成及分离纯化。

E-mail: 202462218257@njtech.edu.cn