

评论

DOI: 10.12211/2096-8280.2021-083

生物活体功能材料研究进展

王宇翔¹, 吴夏泠², 张文彬¹

(¹北京分子科学国家研究中心, 高分子化学与物理教育部重点实验室, 软物质科学与工程中心, 北京大学化学与分子工程学院, 北京 100871; ²集美大学海洋食品与生物工程学院, 福建 厦门 361021)

摘要: 生物活体功能材料是合成生物学和材料科学(特别是高分子科学)交叉的研究领域: 合成生物学可以实现对生物体的重新编辑, 材料科学则提供了材料构建的基本思想及对构效关系的全面理解。随着合成生物学和材料科学的不断发展、交叉和融合, 各种响应性、程序化的生物活体功能材料不断涌现。中国科学院深圳先进技术研究院的戴卓君研究员和杜克大学的游凌冲教授团队借鉴高分子科学中互穿网络的概念, 通过基因回路设计控制细胞的程序性凋亡, 实现胞内反应性功能蛋白质的可控释放, 促进原位的蛋白质聚合和固定反应, 形成具有蛋白质与壳聚糖半互穿网络结构的微凝胶, 既可保护固定于其中的微生物不受环境侵害, 又可运用微生物应对环境扰动并影响环境, 从而提供了一个模块化的生物活体功能材料平台, 在生物医药等领域展现出广阔的应用前景。

关键词: 活体功能材料; 半互穿聚合物网络; 合成生物学; 谍标签; 谍捕手

中图分类号: Q819 **文献标志码:** A

Current advance in engineered living materials

WANG Yuxiang¹, WU Xialing², ZHANG Wenbin¹

(¹Beijing National Laboratory for Molecular Sciences, Key Laboratory of Polymer Chemistry & Physics of Ministry of Education, Center for Soft Matter Science and Engineering, College of Chemistry and Molecular Engineering, Peking University, Beijing 100871, China; ²College of Food and Biological Engineering, JiMei University, Xiamen 361021, Fujian, China)

Abstract: Engineered living materials are an emerging research field at the interface between synthetic biology and materials science (especially, polymer science). While materials science provides the fundamental idea about materials construction and a deep understanding on structure-property relationship, synthetic biology affords the possibility to engineer living organisms to fit into the needs of materials. With the development, crossover, and integration of synthetic biology and materials science, novel responsive engineered living materials have been continuously emerging. Recently, an engineered living material based on semi-interpenetrating polymer network was reported by the teams of Dr. Dai Zhuojun at Shenzhen Institute of Advanced Technology and Prof. You Lingchong at Duke University. This research used the genetic circuit to control the density-dependent cell lysis and the subsequent release of reactive

收稿日期: 2021-08-07 修回日期: 2021-09-20

基金项目: 国家重点研发计划 (2020YFA0908100); 国家自然科学基金 (21925102, 21991132, 92056118); 北京分子科学国家研究中心创新项目 (BNLMS-CXXM-202006)

引用本文: 王宇翔, 吴夏泠, 张文彬. 生物活体功能材料研究进展[J]. 合成生物学, 2022, 3(4): 621-625

Citation: WANG Yuxiang, WU Xialing, ZHANG Wenbin. Current advance in engineered living materials[J]. Synthetic Biology Journal, 2022, 3(4): 621-625

functional proteins which then polymerize in situ to form a semi-interpenetrating network with the chitosan matrix and anchor the effector proteins. The resulting capsule not only protects the cells from the environment, but also becomes resilient to environmental perturbations. This modular approach to engineered living materials holds great promise for diverse applications such as active biological therapy.

Keywords: living materials; semi-interpenetrating polymer network; synthetic biology; SpyTag; SpyCatcher

自1920年Staudinger首次提出高分子的概念以来, 高分子已成为材料领域不可或缺的组成部分, 逐渐建立了高分子链式结构的认知范式, 并从中衍生出两条截然不同的发展路径(分别是以聚烯烃为范例的合成高分子工业和以核酸、蛋白质为范例的分子生物学), 对人类社会持续发展产生着重要、广泛而深远的影响。高分子结构的特殊性来自于其随着分子量增大、分子结构复杂化以及多重分子链间次级相互作用而产生的涌现性能, 使其不仅可发生分子链缠结, 带来黏度、弹性等宏观性能的改变, 还可通过改变序列成为信息的载体, 并经由折叠实现多种多样的功能^[1]。线性高分子的交联进一步形成网络结构, 带来更为丰富的材料性质, 是包括塑料、橡胶、凝胶等多种高分子材料的实际存在形式。至今, 人们已经发展了多种策略, 以精准控制从分子参数(如长度、序列、立体化学、拓扑结构等)到网络结构(如互穿网络、双网络、纳米复合结构等)的高分子多级结构, 在相关材料研发上取得了长足的进展, 促进了对结构-性能关系的理解。

近年来, 合成生物学的发展又为材料科学领域增添了新的活力。合成生物学旨在编辑活体生物以实现用户功能导向的目标。类似于计算机编程, 合成生物学通过编辑DNA、蛋白质来改变亚细胞层次甚至个体层次的生命活动。2000年, 第1个基因层面的切换开关^[2]和抑制器元件^[3]设计成功, 揭开了合成生物学的序幕。此后, 研究者们陆续实现了对原核^[4]和真核细胞^[5]基因回路的编辑, 并逐步走向整个基因组的设计和合成^[6]。而类似CRISPR/Cas9等先进的基因编辑技术则使得其应用变得更加简单和直接^[7]。近年来, 结合计算机辅助蛋白质设计的进展, 研究者们又进一步实现了从用户需求出发的、基于蛋白质的逻辑回

路的从头设计^[8], 堪称合成生物学的又一个里程碑。这些工程化策略使得人们可以赋予细胞特定的材料属性, 发展相应的生物活体功能材料。2014年, Lu团队^[9]构建了工程化细菌与菌毛蛋白CsgA纳米纤维组装体相融合的活体材料, 可通过融合表达, 方便地调控活体材料的性能, 并和非生物组分组装, 实现器件化。这打开了材料科学崭新的一页。相比于传统材料, 活体材料最大的优势在于其兼具生命的特征和材料的功能, 不仅可自我生长、自我成形、具有生命体系的诸多复杂功能(如酶活性), 还具有对环境响应、自我修复、易与各种加工技术(3D打印、器件化)整合等优势。但是, 目前多数活体材料工作都集中在展示其生命特征上, 而殊少关注其材料属性, 尤其在力学性能方面远逊于传统高分子材料。要在这方面取得突破就必须借鉴材料科学(尤其是高分子科学)几十年来的丰硕成果。

2021年6月8日, 中国科学院深圳技术研究院的戴卓君研究员团队和杜克大学的游凌冲团队在《自然·通讯》上合作发表了以“Living fabrication of functional semi-interpenetrating polymeric materials”为题的研究。该研究以壳聚糖微凝胶为基质材料, 设计包裹含有工程化大肠杆菌的生物活体功能材料, 可自发表达、原位形成具有锚定功能蛋白的半互穿网络结构(图1)。当功能蛋白为 β -内酰胺酶(Bla)时, 该活体材料可保护小鼠在抗生素扰动下维持较为稳定的肠道菌群组成, 并有效减少给药次数。

在材料设计方面, 该工作将高分子科学的半互穿网络理念成功引入活体材料中, 其第一网络由三聚磷酸钠和壳聚糖通过静电作用交联所得, 而第二互穿组分则由工程化细菌产生和释放的反应性功能蛋白原位聚合而得。不同于传统高分子

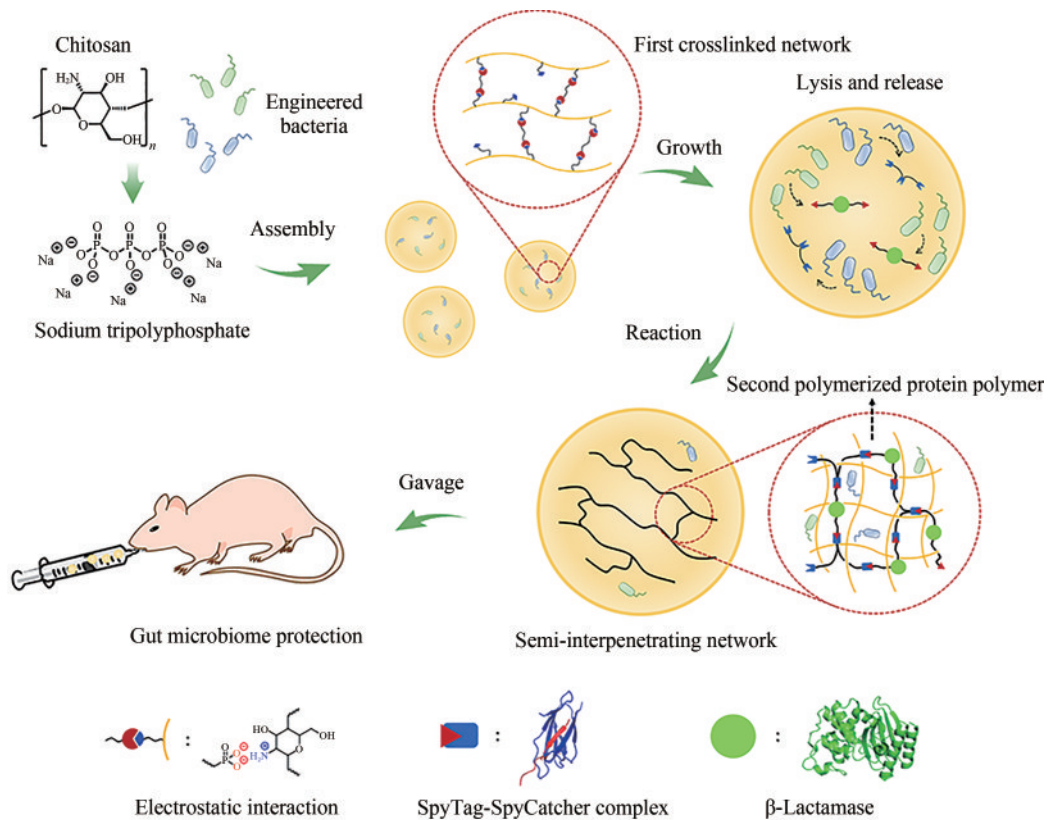


图1 半互穿网络活性材料的制备和应用

Fig. 1 Preparation and application of semi-interpenetrating network living materials

材料的加工制备，该工作的难点在于如何原位实现蛋白质单体的可控释放与有效聚合。研究者将具有密度诱导细菌自主裂解特点的ePop回路引入该体系，通过表达一种来源于噬菌体的、可阻碍其细胞壁合成的E蛋白毒素，使得当细菌密度生长至一定水平时，即自发裂解、释放出蛋白质单体。同时，研究者选用可基因编码的蛋白质反应对谍标签（SpyTag）和谍捕手（SpyCatcher）分别修饰蛋白质单体，使其在释放后局部浓度较高的情况下自发聚合，通过与第一组分的互穿，一方面实现蛋白质单体的固定化，一方面促进了其力学性能的提升，抑制了微凝胶在细菌生长过程中的塌缩。值得注意的是，半互穿网络的储能模量能达到2 kPa，远高于非互穿凝胶网络以及单纯的谍网络水凝胶^[10]或壳聚糖微凝胶。

在材料功能方面，该工作将可降解β-内酰胺类抗生素的Bla作为功能蛋白质单体融入半互穿网络，以期保护肠道菌群组成免受抗生素扰动。实验结果表明，半互穿网络的存在对于Bla的酶活具

有非常重要的保护作用。得益于工程菌具有不断产生Bla的功能以及互穿网络对酶稳定性的提升，在体外实验中，即使在抑制剂长时间作用下，其酶活性依然可在撤除抑制剂后快速恢复；在体内实验中，该活体材料被灌胃输送至小鼠肠道内，在静脉输入抗生素后，该小鼠肠道的菌群总量和菌群结构整体上展现出比对照组（无材料组、无互穿网络组以及无细胞组）更加显著的稳定性，较好地解决了Bla易受到环境影响而失活的问题。

这一研究成果为生物活体功能材料的构建提供了新的思路，提示活体材料的发展应多多借鉴和应用传统的高分子材料工程策略。在该工作中，高分子互穿网络通过机械互锁限制了两个组分的相对运动趋势，不仅使其兼具每个组分独特的性能优势，如环境响应性与特定功能，更达到了提高材料力学性能、改善其耐受性的效果。事实上，高分子网络结构调控还包括双网络结构、化学-物理交联协同、滑环交联点、纳米复合结构等诸多策略，均有其独特优势。例如，双网络水凝胶通

过第一网络的断裂作为“牺牲键”耗散能量，而通过稀疏交联的高分子量第二网络维持其整体性，从而协调两个组分，实现大幅增韧、有效提升力学性能^[11]。类似地，化学-物理交联协同的网络中，动态的物理交联在外力下不断断开并重新形成，高效耗散能量，而化学交联则维持了整体结构的稳定性^[12]。滑环交联点则是独特的可变交联点结构，可以像滑轮一样导致网络结构的重组，重新分散应力，带来增韧的效果^[13]。引入纳米材料作为多价交联点则可以制备纳米复合物，大幅提高材料的力学性能^[14]。首先，灵活利用这些策略可有效改善活体材料的力学性能和耐用性。其次，虽然活体材料的一个亮点在于可自发成型，但如果它兼容目前已经非常成熟的各种高分子加工方案，不失为更为便捷的应用途径。最后，生物体系所能够应用和提供的大分子构建相对有限，为了拓展活体材料的功能多样性，必须向传统高分子化学学习，引入并整合非天然的高分子组分。然而，在活体材料中应用高分子的相关策略并非易事，需要使用合成生物学的语言和工具^[15]。例如，要控制单体的释放和聚合，在这里就不能简单套用传统的高分子聚合反应，而是要用到新的、可基因编码的蛋白质偶联化学（如谍化学）；而要协调各个过程的时空次序，则不能简单通过外部操作的时序性来实现，更多应该是通过程序化控制基因回路来实现。这样的交叉融合不仅仅是理念上的，还需要研究工具、研究方法以及具体基元和分子模块上的融会贯通（图2）。

总之，合成生物学与材料科学尤其是高分子科学的交叉融合是大势所趋。传统高分子是以追

求静态结构的极限性能为目标，生命体是以追求特定环境压力下的最适生存为目标，而活体材料有望结合两者的主要优势，带来材料科学的变革。虽然生命体总是将生存作为第一优先权，总是要在满足这个要求的前提下来实现所有其他的功能属性，平添了不少限制，但同时也带来了包括自修复性、可再生性、超高活性、功能多样性等诸多优势。生命体本身也在进化过程中形成许多的活体功能材料。天然活体材料的成功启示我们：材料科学的发展应借鉴这些生命特征，不仅要注重单一的材料性质，还要追求多组分体系中复杂的相互作用网络所带来的涌现性质。毫不夸张地说，生物活体功能材料既是材料在人类智慧出现之前的自然选择，也是人造材料的理想未来。它既是起源，也是未来。为了更好地发展生物活体功能材料，我们认为应着重：①通过发展新颖的工具，融合合成生物学和高分子科学的理念和基元，广开思路，拓展现有的研究范式与思维；②仔细甄别两个体系的优势和劣势，设计可同时发挥两者长处的体系，将惰性成分和活性成分融合成为一个密不可分的功能整体；③针对特定应用场景，展示其“杀手锏”级应用。其中，蛋白质作为生命中心法则中功能的主要承载者，也是活体材料的重要主体。以蛋白质为核心，结合蛋白质工程，有望摆脱传统天然蛋白质作为材料的局限性，既可诠释序列、结构与功能的关系，又有望实现目的导向的可设计性，寻找到合适的切入点，迅速取得突破。合成生物学与材料科学在现阶段的诸多不同恰恰为两者在未来的合作和融合提供了广阔的发展空间。

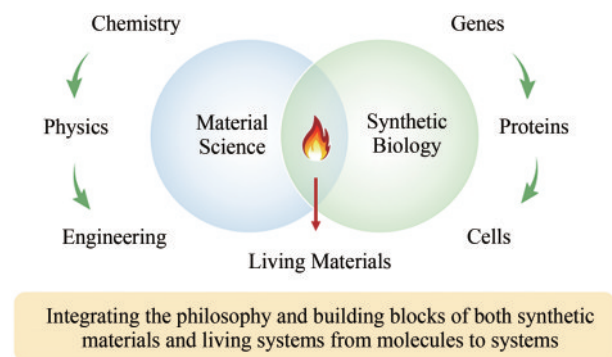


图2 合成生物学与材料科学的交叉与融合

Fig. 2 Intersection and integration between materials science and synthetic biology

参 考 文 献

- [1] ZHANG W B, CHENG S Z D. Giant is different: size effects and the nature of macromolecules[J]. *Giant*, 2020, 1: 100011.
- [2] GARDNER T S, CANTOR C R, COLLINS J J. Construction of a genetic toggle switch in *Escherichia coli*[J]. *Nature*, 2000, 403(6767): 339-342.
- [3] ELOWITZ M B, LEIBLER S. A synthetic oscillatory network of transcriptional regulators[J]. *Nature*, 2000, 403(6767): 335-338.
- [4] TAMSIR A, TABOR J J, VOIGT C A. Robust multicellular computing using genetically encoded NOR gates and chemical 'wires'[J]. *Nature*, 2011, 469(7329): 212-215.

- [5] ANNALURU N, MULLER H, MITCHELL L A, et al. Total synthesis of a functional designer eukaryotic chromosome[J]. *Science*, 2014, 344(6179): 55-58.
- [6] XIE Z X, LI B Z, MITCHELL L A, et al. "Perfect" designer chromosome V and behavior of a ring derivative[J]. *Science*, 2017, 355(6329): eaaf4704.
- [7] ZHANG W M, ZHAO G H, LUO Z Q, et al. Engineering the ribosomal DNA in a megabase synthetic chromosome[J]. *Science*, 2017, 355(6329): eaaf3981.
- [8] CHEN Z B, KIBLER R D, HUNT A, et al. *De novo* design of protein logic gates[J]. *Science*, 2020, 368(6486): 78-84.
- [9] CHEN A Y, DENG Z T, BILLINGS A N, et al. Synthesis and patterning of tunable multiscale materials with engineered cells[J]. *Nature Materials*, 2014, 13(5): 515-523.
- [10] SUN F, ZHANG W B, MAHDAVI A, et al. Synthesis of bioactive protein hydrogels by genetically encoded SpyTag-Spy-Catcher chemistry[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111(31): 11269-11274.
- [11] GONG J P. Why are double network hydrogels so tough? [J]. *Soft Matter*, 2010, 6(12): 2583.
- [12] SUN J Y, ZHAO X H, ILLEPERUMA W R K, et al. Highly stretchable and tough hydrogels[J]. *Nature*, 2012, 489(7414): 133-136.
- [13] OKUMURA Y, ITO K. The polyrotaxane gel: a topological gel by figure-of-eight cross-links[J]. *Advanced Materials*, 2001, 13(7): 485-487.
- [14] HARAGUCHI K, TAKEHISA T. Nanocomposite hydrogels: a unique organic-inorganic network structure with extraordinary mechanical, optical, and swelling/de-swelling properties[J]. *Advanced Materials*, 2002, 14(16): 1120.
- [15] XU L J, WANG X Y, SUN F, et al. Harnessing proteins for engineered living materials[J]. *Current Opinion in Solid State and Materials Science*, 2021, 25(1): 100896.



通讯作者: 张文彬(1981—),教授,博士生导师。研究方向:以“精密结构高分子”为中心,致力于结合生物大分子和合成大分子的设计理念和独特基元,创制具有精密结构的非传统高分子,实现对其化学结构和物理结构的精准控制,以发展健康和能源相关的功能材料。

E-mail: wenbin@pku.edu.cn



第一作者: 王宇翔(1997—),男,博士研究生。研究方向:通过计算方法与定向进化等手段辅助拓扑蛋白质的设计、合成与优化。

E-mail: wangyuxiang@stu.pku.edu.cn