

· 学科进展与展望 ·

合成生物学研究的进展

张春霆*

(天津大学生命科学与工程研究院, 天津 300072)

[摘要] 本文简要介绍了合成生物学发展的历史背景与定义,它的主要研究内容,包括基因线路、合成基因组、合成药物与生物基产品或材料等。探讨了合成生物学与基因工程的异同,介绍了合成生物学在中国的发展情况,讨论了伦理道德与安全问题,最后展望了合成生物学的发展前景。

[关键词] 合成生物学,基因线路,合成基因组,合成药物,合成生物基产品或材料,合成 DNA 序列

1 合成生物学的历史背景与定义

1990年人类基因组计划启动,随后模式生物基因组计划也快速实施,产生了大量的基因组 DNA 序列信息。由于新技术的出现,又促进了转录组学、蛋白质组学和代谢组学等的产生和发展。这一切又催生了一系列新兴交叉学科,如生物信息学和系统生物学等。基础研究的成果最终要转化为生产力,而合成生物学在 21 世纪初的出现则是上述学科发展的一个合乎逻辑的结果。那么什么是合成生物学呢?合成生物学网站是这样介绍的:合成生物学包括两重意义:(1)新的生物零件(part)、组件(device)和系统的设计与构建;(2)对现有的、天然存在的生物系统的重新设计,以造福人类社会(<http://syntheticbiology.org/>)。维基百科全书是这样描述的:合成生物学旨在设计和构建工程化的生物系统,使其能够处理信息、操作化合物、制造材料、生产能源、提供食物、保持和增强人类的健康和改善我们的环境(http://en.wikipedia.org/wiki/Sythetic_biology)。

2 合成生物学的主要研究内容

2.1 基因线路 (Genetic circuit)

说起基因线路或基因回路,最早可追溯到 Jacob 和 Monod 关于半乳糖操纵子模型的经典工作。*Nature* 杂志在 2000 年发表了基因振荡和基因双稳态两个基因线路,被认为是奠基性的工作。现在则

已发表了大量的有关基因线路的工作,本文不拟详加介绍。一个典型的基因线路是基因双稳态线路^[1],由两个蛋白质编码基因与两个相对应的启动子组成。线路是这样设计的:蛋白质 1 的表达抑制了蛋白质 2 的表达,系统只有蛋白质 1 存在;反之,蛋白质 2 的表达抑制了蛋白质 1 的表达,系统只有蛋白质 2 存在。可在双稳态线路中加入诱导物,促使系统在两个稳定状态之间任意翻转。基因线路有广泛的应用,因篇幅所限不能展开介绍,下面只介绍 3 个应用例子。

(1) 大肠杆菌照相术^[2]

首先从集胞兰细菌基因组中克隆两个基因并转入大肠杆菌,使之能生成对光敏感的藻青素,简称 PCB。接着利用大肠杆菌中双组份信号转导系统 *EnvZ-OmpR*,将与 PCB 共价结合的脱辅基蛋白与 *EnvZ* 的组氨酸激酶结构域融合构成一个嵌合体,成为一个光敏部件。同时,将 *ompC* 基因与 *lacZ* 基因融合,通过在 *lacZ* 基因上游引入 *ompC* 启动子使其表达依赖于 *OmpR*。通过这一基因线路,*lacZ* 基因的表达就会受光调控。当有红光照射时(相当于被摄物体的光亮部分),*EnvZ* 的自磷酸化被抑制,从而 *OmpR* 不能被磷酸化激活,*lacZ* 基因关闭,由涂抹在琼脂基片上的菌苔形成的底片保持原色。当没有红光照射时(相当于被摄物体的黑暗部分),过程正好相反,*EnvZ* 的自磷酸化被激活,从而使 *lacZ* 基因被磷酸化的 *OmpR* 激活而表达,其产物为半乳糖苷酶,催化菌苔中的 S-gal(一种化合物)反应生成

* 中国科学院院士。

本文于 2008 年 12 月 26 日收到。

一种黑色沉淀物,这样就形成对比度,得到一幅正片。可以达到每平方英寸1亿像素的分辨率。这一基因线路主要由当时年仅30岁的美国加州大学旧金山分校的合成生物学家C. Voigt设计。人们并不指望用大肠杆菌照相术来代替基于卤化银光分解的普通照相术,或基于电荷耦合器件CCD的数码照相术,但这件工作展现了高度的创造性和基因线路的巨大的潜力。

(2) 大肠杆菌计算机^[3]

这一生物计算机要解决的数学难题称之为烤饼问题。设想有一摞大小各不相同、烤面和背面任意取向的烤饼。欲把所有烤饼按从大到小的顺序排好,同时要求所有烤面朝上。规定每步只许改变一个或几个相邻烤饼的位置和方向,问最小要操作多少步才能完成任务。这是一个数学和计算机科学中的重要问题。当只有两个烤饼时,答案不言自明;当有6个烤饼时,它有46 080种排列组合;当有12个烤饼时,它有1.9万亿种排列组合,更不要说千百个烤饼了。现有的电子计算很难解决这一数学难题。美国Davidson学院的K. Haynes用长短和方向(5'→3'或3'→5')各不相同的DNA片断来代表烤饼。由重组酶Hin/hix来完成“烤饼”的换位和方向改变。设计一个基因线路,使当“烤饼”按要求排好后,抗四环素基因表达,反之则不表达。然后把这种工程化的大肠杆菌大量繁殖,使一个培养皿中达到数十亿个菌体。每个细菌都是一部“计算机”,它们各自独立,互不干扰地进行“计算”。这种生物计算机的巨大威力正在于它是高度并行进行计算的,实行的是“菌海战术”。一段时间后用四环素处理菌体,没有完成排序任务的细菌都被杀死了,剩下的只有完成排序任务的菌体。从一开始到找到完成任务的菌体所需时间模拟了最少操作步数。1994年Adleman曾提出用与DNA有关的化学反应来解决NP-完备性问题,但那是在体外,而这件工作是在细胞内,第一次由活的生物来执行计算任务,意义非同一般,打开了用人造生物来做科学计算,设计和构建生物计算机这一崭新研究领域的大门。此项工作具有高度的创造性和启发性。

(3) 大肠杆菌砷探测器^[4]

在世界各地尤其是孟加拉国,饮用水中砷或亚砷酸盐往往超标,危害数百万人的身体健康。世界卫生组织(WHO)要求饮用水中砷或亚砷酸盐的浓度不得超过10 ppb。现有的砷检测方法难以达到这一精度。为此,英国爱丁堡大学的合成生物学家设计

了专用于检测砷的基因线路。大肠杆菌的质粒R773中有一个抗砷操纵子,编码了两个阻遏蛋白质ArsR和ArsD,分别对低和高浓度砷或亚砷酸盐敏感。该基因线路利用了这两个蛋白质,用ArsR和ArsD分别控制 λcI 基因和 $lacZ$ 基因的表达,而 λcI 和 $lacI$ 一起控制尿素酶基因的表达。在没有砷(亚砷)酸盐时, λcI 基因不表达,通过加入异乳糖解除 $lacI$ 的阻遏后尿素酶基因表达,催化底物尿素产生氨使培养液呈碱性(pH值达到9以上)。在有低浓度砷或亚砷酸盐时(约5 ppb),其与ArsR结合形成复合体从而解除了对 λcI 基因的阻遏,表达生成的 λcI 又阻遏了尿素酶基因的表达,使培养液呈中性。当有高浓度砷或亚砷酸盐时(约20 ppb),其与ArsD结合从而解除了对 $lacZ$ 基因的抑制,表达生成的半乳糖苷酶催化半乳糖降解使之生成乙酸和乳酸,使培养液呈酸性,pH值可达5以下。利用pH试纸或通过pH指示剂,如甲基红,即可用肉眼检测砷(亚砷)酸盐的浓度。此法具有灵敏度高,操作简便,成本低廉等诸多优点。

以上这些例子表明了合成生物学基因线路巨大的发展潜力和广泛的应用前景。

2.2 合成基因组

生物是大自然亿万年进化的产物,但人类利用无机物合成生物物质甚至生物的努力一直没有停止。远的不说,1979年Khorana合成了酪氨酸阻遏tRNA基因(207 bp);2002年Wimmer小组合成了有生物活性的脊髓灰质炎病毒基因组(约7400 bp)^[5];2003年Venter小组合成了psiX174噬菌体基因组(约5400 bp)^[6];直到2008年他们又合成了生殖道支原体基因组(582.790 kb)^[7]。这是迄今为止人类在合成生物的过程中走得最远的一步。但是,离合成一个单细胞的细菌还差得很远,因为细菌除了基因组以外,还有蛋白质等多种成份,而且Venter等人合成的这个细菌基因组能否正常工作尚未报导。不过,Venter小组不久前发表了另一件工作,即把关系较近的两株支原体中的一株的基因组剔除,用另一株的基因组取而代之,结果仍能正常“工作”^[8]。他们应可以用这一技术来验证其所合成的基因组的有效性。合成细菌基因组研究提出了最小基因组的问题:即最少需要多少个蛋白质编码基因才能支持一个完整的细菌。这些基因被称为必需基因。可以把基因组中的基因逐一剔除来鉴别该基因是否必需。现已对14种细菌和6种真核生物基因组进行了这样或其他方法的实验,鉴别出近1万

个必需基因,存放在必需基因数据库 DEG 中^[9],它将对合成细菌基因组有参考价值。

2.3 合成药物与生物基产品或材料

这是合成生物学一个极其重要的应用领域。在这里仅举3个例子。其一是美国加州大学 Berkley 分校的 J. Keasling 关于合成抗疟疾药物青蒿素的经典工作^[10]。工作的难度在于对来自细菌,酵母与青蒿(高等真核生物)多种基因及其代谢途径的设计组装与精密调控。由于 J. Keasling 的不懈努力,使得用大肠杆菌及酵母细胞合成青蒿素前体——青蒿酸的能力有几个数量级的提高,从而将会大幅度地降低生产青蒿酸的成本。其二是生产能源物质氢的工作。Zhang 等人^[11]用13个已知酶组成一个新的非天然的催化体系及其催化途径,将淀粉和水在一般条件下产生氢,通过燃料电池产生电能,这有可能成为驱动汽车的绿色能源。其三是利用合成生物学技术生产生物柴油的工作。美国哈佛大学医学院教授 Church(他本人则是当前 DNA 序列合成技术研究的领军人物)等人发起成立了 LS9 可再生石油公司,而 Berry 是该公司的一名当时年仅 29 岁的研究人员,在“旗舰”风险投资公司的资助下,他正在领导一个小组来试制生物柴油燃料,目前已取得了进展,因而获得了美国 MIT《技术评论》2007 年度的 TR35 最高奖。他们的工作已经申请了专利但未见详细报导。顺便指出,生物炼制是利用农业秸秆、植物基淀粉和木质纤维素等为原材料,生产各种化学品、燃料和生物基材料的技术。合成生物学为生物炼制提供了新的技术手段。有关本小节的内容,更多的可以参阅赵学明的综述文章^[12],这里不再赘述。

除了上述应用研究以外,还合成了非天然的氨基酸和碱基,这对于深入理解生命现象的本质和研究天然蛋白质的折叠机制很有用处。例如,2001 年 Sisido 小组和 2003 年 Schultz 小组通过引入 4 或 5 个碱基的密码子合成含有非天然氨基酸的蛋白质;2006 年 Benner 小组和 2008 年 Romesberg 小组分别合成非天然碱基对,扩展了原有的生物遗传系统。

3 合成生物学与基因工程的异同

可以说基因工程和合成生物学是生物技术发展的两个阶段,后者是建立在前者的基础之上的。但要指出的是基因工程和合成生物学之间并没有明确的界线,有一部分内容是重叠的。总的来说,基因工程是通过自动测序技术来读取基因组 DNA 序列,并用分子生物学手段(如克隆、PCR 和 DNA 序

列重组等技术)来构建 DNA 序列;而合成生物学除了也需要上述手段以外,还要增加 DNA 序列的自动合成技术,并要建立一些标准和采用一些规则来简化人工生物系统的设计过程。具体说来两者之间至少有三方面的不同。其一,基因工程是将个别外源基因转移到某生物基因组内,使之能表达有益的蛋白质。例如,抗虫棉虽然携带了抗虫基因,但它还是棉花,而合成生物学则是从头设计和构建自然界中不存在的人工生物体系,这是两者显著不同之处。但是,合成生物学也包含了对现有生物的重新设计和改造的内容,在这点上两者又是一致的,可能在改造的深度和广度上有所不同。其二,在基因工程的实施过程中较少使用数学工具;而合成生物学在设计 and 构建人造生物体系时广泛使用各种数学工具来进行模拟,使得设计和构建的生物体系能正常工作。其三,在基因工程的实施过程中由于只转移个别外源基因,一般较少或不进行细胞网络分析;而合成生物学改变了“转移一个基因,表达一种蛋白质”的模式,而通常是转移一组基因,因而要在更大规模更多层次上涉及到细胞网络,如代谢网络等。所以,网络分析是合成生物学的核心内容之一,但是限于篇幅这一重要内容本文未加介绍。由于有这些差异,所以如果说基因工程是上一代生物技术的话,那么合成生物学则是下一代生物技术。或者说,合成生物学是生物技术发展的一个新的制高点。但是这并不意味着合成生物学要取代传统的基因工程技术,而是各有各的用处,两者竞相发展。有人预计,合成生物学技术会发展得更快些。然而, DNA 序列大规模、高精度和低成本的综合是合成生物学发展的关键技术,目前仍未解决,成为制约其发展的瓶颈问题。所以,目前合成一个高等真核生物基因组 DNA 序列仍然是不现实的。

合成生物学在设计 and 构建各种人工生物体时,往往参照了工程学的原理,同时使用各种数学工具。因此,合成生物学可以认为是生物学,工程学和数学的交叉学科。

4 合成生物学在中国的发展情况

合成生物学在中国的发展刚刚起步,这里仅通报一下活动情况及涉及的人员。早在 2005 年林其谁^[12],随后林森、段海青、陈惠鹏^[13]和赵学明、王庆昭^[14]先后发表综述文章,分别对合成生物学加以介绍。国际基因工程机器比赛(简称 iGEM)是以大学生为主体的基因线路设计的国际性大赛。为了推动

中国大学生参与这一比赛,2007年4月16日在天津大学举办了一个 iGEM 研讨会,来自北京大学、清华大学、天津大学和中国科技大学 4 所大学的有关师生参加了会议。由美国著名合成生物学家 MIT 的 Drew Endy 和 Caltech 的 C. Smolke 主讲介绍合成生物学。2007年6月16—17日在天津大学举办了亚太地区 iGEM 比赛领队教师的培训班。来自澳大利亚、日本、我国台湾和香港地区以及上述四所大学的有关教师参加了培训。主讲专家有 iGEM 的创始人 MIT 的 Tom Knight 和 Randy Rettberg。此外,还有美国 Davidson 学院的 K. Haynes,她设计和构建了大肠杆菌计算机。以上活动均由元英进组织和主持。2007年11月29日,英国爱丁堡大学-天津大学系统生物学和合成生物学联合研究中心挂牌成立,成为我国第一家合成生物学研究机构。2007年底传来消息,我国 4 所大学在参加的第 3 届 iGEM 大赛上取得了优异的成绩。最早由孙之荣、华泰立(Terry Hua)和赵学明等人发起,于 2008年5月12—13日召开了主题为《合成生物学》的第 322 次香山科学会议。魏江春、张春霆、华泰立、汤雷翰和孙之荣任大会执行主席,张春霆和华泰立分别做大会主题报告。在 2008年10月份召开的第四届国际合成生物学会议上被邀请做报告的我国内地学者有陈国强、来鲁华、祁庆生和元英进等人。2008年下半年,天津大学为本科生开设了一门创新课程“合成生物学导论”,有来自相关专业的 150 名大学生听课,由张春霆、赵学明和宋凯三人讲授。

5 合成生物学的伦理道德和安全问题

合成生物学要设计和构建自然界中不存在的人工生物体,如果这些人造的生物体逃逸到自然界中去,会不会引起问题?从原理上来说设计和构建一个人类基因组 DNA 序列是可能的,伦理道德是否允许?目前,合成生物学尚不广为人知,群众一旦了解了合成生物学的真相,会不会像克隆羊、干细胞研究和转基因农作物等一样引起争议甚至恐慌?此外,敌人或者恐怖分子会不会利用合成生物学技术制造生物武器来危害社会?所有这一切问题都应该进行充分研究并早做准备。

6 合成生物学发展展望

2004 年美国的《技术评论》杂志将合成生物学列为将改变世界的新出现的十大技术之一。美国生物经济研究会 2007 年发表了《基因组合成和设计之

未来,对美国经济的影响》的研究报告。欧盟 2007 年启动了《合成生物学——新出现的科学技术》引导项目共 18 项。第 322 次香山科学会议上与会专家也讨论了合成生物学对我国经济发展的影响,有的专家建议把合成生物学提升到关乎我国国民经济发展核心技术的高度来考虑。我在这里再一次呼吁国家自然科学基金委员会和国家科技主管部门,能给予合成生物学研究以充分的重视,并引导其健康快速地发展。

致谢:感谢赵学明、元英进、马红武和宋凯等教授的帮助。本文是作者在第 322 次香山科学会议上所做大会主题报告的详细摘要并作了适当的补充。

参 考 文 献

- [1] Gardner T S, Cantor C R, Collins J J. Construction of a genetic toggle switch in *E. coli*. *Nature*, 2000, 403: 339—342.
- [2] Levskaya A et al. Engineering *E. coli* to see light. *Nature*, 2005, 438: 441—442.
- [3] Haynes K A et al. Engineering bacteria to solve the Burst Pancake Problem. *J Biol Engineering*. 2008, 2: 8 (doi: 1186/1754-1611-2-8).
- [4] Aleksic J et al. Development of a novel biosensor for the detection of arsenic in drinking water. *IET Synthetic Biology*, 2007, 1: 87—90.
- [5] Cello J, Paul A V, Wimmer E. Chemical synthesis of poliovirus cDNA: generation of infectious virus in the absence of natural template. *Science*, 2002, 297: 1016—1018.
- [6] Smith H O et al. Generating a synthetic genome by whole genome assembly: phiX174 bacteriophage from synthetic oligonucleotides. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003, 100: 15440—15445.
- [7] Gibson D G et al. Complete Chemical Synthesis, Assembly and Cloning of a *Mycoplasma genitalium* Genome. 2008, *Science*, 319: 1215—1220.
- [8] Lartigue C et al. Genome transplantation in bacteria: changing one species to another. *Science*, 2007, 317: 632—638.
- [9] Zhang R, Ou H Y, Zhang C T. DEG: a database of essential genes. *Nucleic Acids Research*, 2004, 32: D271—D272.
- [10] Martin V J J et al. Engineering a mevalonate pathway in *E. coli* for production of terpenoids. *Nat Biotechnol*, 2003, 21: 796—802.
- [11] Zhang Y H P et al. High-Yield Hydrogen Production from Starch and Water by a Synthetic Enzymatic Pathway. *PLoS ONE*, 2007, 5: e456.
- [12] 林其谁. 合成生物学. *生命科学*, 2005, 17: 384—386.
- [13] 林森, 段海青, 陈惠鹏. 合成生物学. *军事医学科学院院刊*, 2006, 30: 572—574.
- [14] 赵学明, 王庆昭. 合成生物学: 学科基础、研究进展与前景展望. *前沿科学*, 2007, 3: 56—66.

ADVANCES IN SYNTHETIC BIOLOGY STUDIES

Zhang Chunting

(*Institute of Life Science and Biotechnology, Tianjin University, Tianjin 300072*)

Abstract The historical background for the development of synthetic biology, its definition and main study content, including genetic circuit, synthetic genome, synthesis of drugs and biology-based products or materials, are briefly presented in this paper. The relation between genetic engineering and synthetic biology is discussed. Advances of the development of synthetic biology in China are summarized. We also explore the ethical and security problems of synthetic biology. Prospect of future development of synthetic biology is expected finally.

Key words synthetic biology, genetic circuit, synthetic genome, synthesis of drugs and biology-based products or materials, synthesis of DNA sequences

· 资料 · 信息 ·

国家自然科学基金委员会设立“外国青年学者研究基金”

2009年2月,国家自然科学基金委员会委务会议审议通过了“外国青年学者研究基金”实施方案(试行),标志着该基金的实施工作正式启动。该基金旨在延揽外国优秀青年学者到我国内地开展基础研究,为青年一代在日益开放的基础研究环境中搭建学术联系的桥梁和纽带。

随着中国经济的发展,国家对基础研究的投入力度不断加大,基础研究条件不断改善并日趋成熟,研究机构 and 高等院校与国际学术界的交往也日趋紧密,已经具备了接纳国外学者长期来华进行学术研究的能力。这一举措顺应了当前科学研究国际化的趋势和国内外科技界的需求。

鼓励国外青年学者来华参与国内学术研究,不仅可以让他们加深对中国科研状况的了解,推进学术研究的进程并与国内研究人员形成长期稳定的合作关系,而且有利于外国年轻科研人员对中国社会和文化的接触和深入了解,对于培养未来与我国密

切开展科技合作的骨干力量具有十分重要的意义,是一项着眼于未来的战略举措。

根据该基金的实施方案,自然科学基金委资助外国青年学者在华6个月或12个月的研究经费,其依托单位提供研究条件和生活保障等。项目的评审遴选将着重外国青年学者的受教育背景、从事基础研究的经历和能力、以往取得的研究成果等。对于来华开展的研究课题,应属于当前学科前沿和研究热点领域。

作为试行,2009年该基金将采取中国科学院和教育部推荐人选、个人申请、国家自然科学基金委员会组织评审的方式予以实施,拟资助50位外国青年学者,资助总经费为1000万元人民币。具体实施方案与申请通告近期将予以公布。

(国际合作局、办公室 供稿)