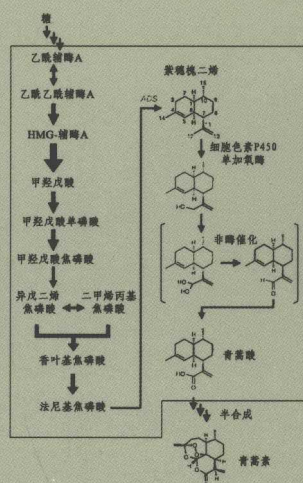


“十二五”国家重点图书出版规划项目

| 生 | 命 | 科 | 学 | 前 | 沿 |

# 合成生物学与合成酶学

张 今 施 维 李桂英 盛永杰 编著  
姜大志 孙妍红 李全顺



Synthetic Biology and Synthetic Enzymology



科学出版社

“十二五”国家重点图书出版规划项目  
生命科学前沿

# 合成生物学与合成酶学

张 今 施 维 李桂英 盛永杰 编著  
姜大志 孙妍红 李全顺

科学出版社

北 京

## 内 容 简 介

合成生物学的兴起是 21 世纪生命科学领域的大事件。合成生物学的快速发展为其他学科注入了新的研究理念, 提供了强有力的工具。分子酶学工程与合成生物学的交叉和整合出现了新的研究领域——合成酶学。本书共分 7 章。第 1 章合成生物学概述, 使读者对合成生物学有一个全面的认识; 第 2 章分子酶学工程概要, 使读者对分子酶学工程与合成生物学的关系有基本的了解; 第 3 章、第 4 章和第 5 章详细介绍了合成生物元件、装置、基因网路和系统; 第 6 章介绍合成代谢途径; 第 7 章介绍合成酶学。

本书可供从事生命科学研究与教学的人员参考, 也可用作生命科学学科专业高年级本科生及研究生的教材和参考用书。

### 图书在版编目(CIP)数据

合成生物学与合成酶学/张今等编著. —北京: 科学出版社, 2012  
“十二五”国家重点图书出版规划项目. 生命科学前沿  
ISBN 978-7-03-033988-1

I. ①合… II. ①张… III. ①生物合成②合成酶 IV. ①Q503②Q559  
中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2012) 第 061068 号

责任编辑: 马 俊 / 责任校对: 张怡君  
责任印制: 钱玉芬 / 封面设计: 耕者设计工作室

科学出版社出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

装 订 厂 印 刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

\*

2012 年 4 月第 一 版 开本: 787×1092 1/16

2012 年 4 月第一次印刷 印张: 18 3/4

字数: 440 000

定价: 68.00 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

# 前 言

生命科学正处于从体外到体内，从静态到动态，从定性到定量，从组分到线路、网络或途径再到系统的转变期。对于生命过程，研究人员正在用新的理念进行再思考、再设计和再构建。由于有核酸科学和蛋白质科学等学科的一系列成就，越来越多的生物学家、化学家、物理学家、数学家和工程学家积极尝试整合各种科学技术的成果并予以标准化和模块化，于是诞生了多学科交叉、各种技术集成的工程学科——合成生物学（synthetic biology），这是 21 世纪生命科学领域的大事件。

习惯从分子角度观察生命过程的生物化学和分子生物学家似乎对合成生物学有些陌生，其实合成生物学也必须以分子水平为基础，这样才能构成可持续发展的科学体系。生物系统是由分子生物学所揭示和正在揭示的各种成分组成的，基于分子水平才能够真正了解生物系统。合成生物学代表了应用生物分子和分子生物学资料的范例。合成生物学可以说是在分子水平上“认识生物系统→改造生物系统→创造正交生物系统”的学科。

当前两个新兴学科——系统生物学和合成生物学的发展态势，犹如 19 世纪 30 年代的合成有机化学。“分析”与“合成”这两种方法不仅推动了化学科学的发展，而且也推动了生命科学技术的发展。“分析”是“合成”的前提条件，“合成”是“分析”的必然结果。合成生物学的关键在于合成，它是整合的合成、系统的合成、模块化的合成，如合成生物元件（part）、装置（device）和系统（system），合成其他工程难以甚至不能实现的目标，乃至合成生命体。

目前，合成生物学已从“声明”阶段进入研究和快速发展时期。由于其独特的研究理念、富有挑战性的目标和巨大的应用潜力，已成为科学界的焦点之一。然而，由于合成生物学建议者的多样化背景，合成生物学概念还处于开放、探索的阶段。我们应该从联系和发展的观点，以兼容并蓄的科学态度对待合成生物学。合成生物学应包括三个方面：①认识生命；②改造生命；③创造生命。具体地讲，合成生物学应以天然生物系统的结构（包括动态结构）与功能为基础，以工程生物系统为核心，以标准模块化为导向，研究生物元件、装置和系统的设计与构建的理论和技術，开发生物系统的新功能、新性质，进而重构生命，为人类造福。

生物技术无论如何发展都离不开酶，尤其是工程酶。合成生物学的诞生和发展更是如此。酶（包括蛋白酶和核酸酶）是最基础、最通用的生物元件。分子酶学工程的发展为合成生物元件、装置和系统提供了技术支持，同时，合成生物学的快速发展为分子酶学工程注入了新的研究理念，提供了强有力的工具。可以预见，在不久的将来，合成生物学的发展将使分子酶学工程以崭新的面貌出现在生命科学技术的“世界”。要想使分子酶学工程茁壮地发展，就要借鉴合成生物学的研究理念和方法。上述两个学科交叉和整合将出现新的研究领域——合成酶学（synthetic enzymology）。由工程酶到工程酶系统



再到工程生命，这是合成酶学的目标。

本书共分7章。第1章和第2章由张今教授和姜大志副教授编写；第3章由张今教授和盛永杰副教授编写；第4章由施维教授和李全顺博士编写；第5章由李桂英教授编写；第6章由盛永杰副教授编写；第7章由姜大志副教授编写。本书成稿后由张今教授和姜大志副教授统编，孙妍红高级工程师完成书稿的计算机输入、图表制作、初稿校对和排版。

本书引用了国内外有关分子酶学工程和合成生物学的文献资料，在此对这些参考文献的作者致以衷心的感谢。科学出版社编辑为本书的出版付出了辛勤劳动，在此向他们表示诚挚的谢意。本书的出版得到吉林大学“985”工程整合生物学创新平台的资助及分子酶学工程教育部重点实验室、生命科学学院的支持，特此致谢。

由于作者学术水平有限，书中欠妥或不足之处在所难免，诚恳地希望广大读者批评指正，不胜企盼之至。

2011年9月

# 目 录

## 前言

第 1 章 合成生物学概述 .....	1
1.1 合成生物学概念 .....	2
1.2 合成生物学研究的核心内容 .....	5
1.2.1 生物成分标准模块化设计和构建 .....	7
1.2.2 中心法则的再设计和构建 .....	8
1.2.3 生物网络的设计和构建 .....	9
1.2.4 底盘基因组的设计和构建 .....	14
1.2.5 基因组合成 .....	16
1.3 合成生物学的研究策略和方法 .....	18
1.3.1 合成策略和方法 .....	18
1.3.2 分析策略和方法 .....	25
1.4 合成生物学的应用研究 .....	26
1.4.1 设计和构建新的生物大分子 .....	26
1.4.2 设计和构建新的途径/网络 .....	27
1.4.3 合成传感器 .....	29
1.4.4 合成生物学用于药物发现、生产和治疗 .....	31
1.4.5 合成生物学用于控制代谢流量 .....	32
1.4.6 工程细胞 .....	33
1.4.7 合成生态系统 .....	34
1.5 设计与构建新的遗传系统 .....	35
1.6 合成生物学面临的问题和挑战 .....	36
1.6.1 表征、标准化和模块化 .....	36
1.6.2 噪声的处理 .....	36
1.6.3 表观遗传 .....	37
1.6.4 计算工具 .....	37
1.6.5 程序化抽提 .....	37
1.6.6 合成生物学结果处理 .....	38
1.6.7 元件不相容问题 .....	38
1.7 社会及伦理问题 .....	38
1.8 结束语 .....	38
参考文献 .....	39



<b>第2章 分子酶学工程概要</b> .....	41
2.1 引言.....	42
2.2 酶分子进化工程.....	43
2.2.1 酶定向进化.....	43
2.2.2 酶的混杂性和多专一性的进化及新酶设计.....	46
2.3 蛋白酶分子工程.....	55
2.3.1 DNA加工酶分子工程.....	55
2.3.2 结构域和模块工程.....	58
2.3.3 程序化合成酶和合成催化.....	61
2.4 核酸酶分子工程.....	65
2.4.1 基于基序体外选择核酶.....	65
2.4.2 DNAzyme——“生物学意义”的合成酶.....	67
2.5 酶分子的计算设计.....	69
2.5.1 酶活性部位的计算设计.....	70
2.5.2 配体进出路径的计算设计.....	71
2.5.3 蛋白质间相互作用界面的计算设计.....	73
2.5.4 正、负及中性突变的计算分析.....	73
2.5.5 酶稳定性的计算设计.....	75
2.5.6 展望.....	75
2.6 酶分子的从头设计.....	76
2.6.1 Kemp消除酶的从头设计.....	76
2.6.2 逆醇醛缩合酶的从头设计.....	78
2.6.3 Diels-Alder (狄尔斯-阿尔德) 酶的从头设计.....	82
2.7 从工程酶到工程酶系统再到工程生命.....	84
参考文献.....	86
<b>第3章 合成生物元件、装置和生物模块</b> .....	87
3.1 引言.....	88
3.2 合成生物元件、装置、系统和模块的定义.....	89
3.2.1 元件.....	89
3.2.2 装置.....	89
3.2.3 系统.....	89
3.2.4 生物模块.....	90
3.2.5 生物骨架.....	91
3.3 合成蛋白质元件.....	92



3.3.1	蛋白质合成生物学基础	92
3.3.2	合成非天然蛋白质元件	93
3.3.3	基于基序合成蛋白质元件	96
3.4	合成蛋白质装置	101
3.4.1	基于分子相互作用合成蛋白质装置	101
3.4.2	基于结构域合成蛋白质装置	103
3.5	合成 RNA 元件	107
3.5.1	RNA 传感器	108
3.5.2	RNA 调节器	108
3.6	合成 RNA 装置	112
3.6.1	传感器和调节器元件直接偶联的 RNA 装置	112
3.6.2	不同信息传递功能整合的 RNA 装置	112
3.6.3	功能组成骨架结构——模块组装装置	113
3.6.4	天然核开关	115
3.6.5	设计核酶和 RNA 逻辑装置	115
3.6.6	合成 RNA 装置的各种技术	117
3.6.7	合成 RNA 元件和装置的应用研究	118
3.7	合成 DNA 元件和装置	119
3.7.1	合成 DNA 元件库——iGEM Registry	119
3.7.2	合成启动子	120
3.7.3	合成动态 DNA 装置	120
3.8	结束语	123
	参考文献	124
<b>第 4 章</b>	<b>合成基因（或蛋白质）网络</b>	<b>127</b>
4.1	引言	128
4.2	合成基因（或蛋白质）线路	129
4.2.1	逻辑基因线路	129
4.2.2	功能基因线路	133
4.3	合成基因（或蛋白质）网络	136
4.3.1	合成转录基因网络	137
4.3.2	合成转录后基因网络	140
4.3.3	合成信号转导网络	142
4.3.4	合成宿主界面基因网络	143
4.3.5	合成跨细胞基因网络	144





4.4	定向进化基因线路与网络	146
4.4.1	合成生物学与基因表达的进化	146
4.4.2	合成基因线路与网络的重构、工程化	148
4.4.3	组合合成与基因网络的定向进化	152
4.4.4	工程化基因网络的机遇与挑战	154
4.5	合成基因线路与网络的应用	155
4.5.1	合成基因线路与网络在医药工业领域中的应用	155
4.5.2	合成基因线路与网络在生物能源领域中的应用	156
4.5.3	合成基因线路与网络用于构建生物传感系统	156
4.6	结束语	157
	参考文献	158
<b>第 5 章</b>	<b>合成生物系统</b>	<b>161</b>
5.1	引言	162
5.2	从头合成基因组	162
5.2.1	从头合成基因组的相关概念	163
5.2.2	合成基因组的基本路线	164
5.2.3	合成基因和基因组的方法	164
5.3	合成简化的生物系统	174
5.3.1	最小基因组和必需基因	174
5.3.2	人工合成脊髓灰质炎病毒	175
5.3.3	合成基因组控制的 $\phi$ X174 噬菌体	176
5.3.4	重构 T7 噬菌体	177
5.3.5	重构 1918 年西班牙流感病毒	177
5.3.6	嵌合基因组细胞	178
5.3.7	重组有活性的蝙蝠 SARS 样冠状病毒	178
5.3.8	转化生殖支原体	179
5.3.9	人造基因组控制的活细胞	180
5.4	合成多细胞系统	181
5.4.1	概述	181
5.4.2	合成多细胞系统的基础研究	182
5.4.3	合成多细胞系统的一些应用	191
5.5	无细胞合成生物系统	194
5.5.1	概述	194
5.5.2	无细胞合成生物系统中蛋白质合成的机制和优越性	195
5.5.3	主要的无细胞合成生物系统	196
5.5.4	无细胞合成生物系统的主要应用	197



5.5.5 前景展望	199
参考文献	199
<b>第 6 章 合成代谢途径</b>	<b>205</b>
6.1 引言	206
6.2 合成代谢途径的定向进化	207
6.2.1 合成代谢途径定向进化策略	207
6.2.2 类胡萝卜素生物合成途径定向进化	210
6.3 合成代谢途径的构建与最佳化	214
6.3.1 合成代谢途径的构建	214
6.3.2 合成代谢途径的最佳化	216
6.4 合成代谢途径中关键酶分子工程	217
6.4.1 酶水平的合成生物学	218
6.4.2 途径水平的合成生物学	221
6.5 合成代谢途径的设计	226
6.5.1 现有代谢途径的再设计	228
6.5.2 从头合成代谢途径	231
6.6 合成代谢途径的调控	234
6.6.1 通过操纵子调控合成代谢途径	235
6.6.2 多基因表达调控	235
6.7 结束语	237
参考文献	237
<b>第 7 章 合成酶学</b>	<b>241</b>
7.1 引言	242
7.2 合成药物	242
7.2.1 青蒿素	243
7.2.2 聚酮化合物	248
7.3 合成能源	252
7.3.1 合成氢	252
7.3.2 醇	264
7.3.3 生物柴油	277
7.4 合成生物质产品或材料	281
7.4.1 葡萄糖二酸	281
7.4.2 聚乳酸	283
7.5 结束语	284
参考文献	285



# 第 1 章

## 合成生物学概述

- 1.1 合成生物学概念
- 1.2 合成生物学的核心内容
  - 1.2.1 生物成分标准模块化设计和构建
  - 1.2.2 中心法则的再设计和构建
  - 1.2.3 生物网络的设计和构建
  - 1.2.4 底盘基因组的设计和构建
  - 1.2.5 基因组合成
- 1.3 合成生物学的研究策略和方法
  - 1.3.1 合成策略和方法
  - 1.3.2 分析策略和方法
- 1.4 合成生物学的应用研究
  - 1.4.1 设计和构建新的生物大分子
  - 1.4.2 设计和构建新的途径/网络
  - 1.4.3 合成传感器
  - 1.4.4 合成生物学用于药物发现、生产和治疗
  - 1.4.5 合成生物学用于控制代谢流量
  - 1.4.6 工程细胞
  - 1.4.7 合成生态系统
- 1.5 设计与构建新的遗传系统
- 1.6 合成生物学面临的问题和挑战
  - 1.6.1 表征、标准化和模块化
  - 1.6.2 噪声的处理
  - 1.6.3 表观遗传
  - 1.6.4 计算工具
  - 1.6.5 程序化抽提
  - 1.6.6 合成生物学结果处理
  - 1.6.7 元件不相容问题
- 1.7 社会及伦理问题
- 1.8 结束语



## 1.1 合成生物学概念

合成生物学 (synthetic biology) 是 21 世纪初诞生的一门新兴工程学科, 并有望成为 21 世纪引领生命科学技术发展的带头学科。关于合成生物学, 国内开展了相关研究 (张春霆, 2009; 宋凯, 2010; 张柳燕等, 2010)。例如, 天津大学生物信息学中心建立了必需基因数据库 DEG, 其系统生物工程教育部重点实验室利用两个群体感应信号转导回路, 设计和构建了一个合成生态系统; 清华大学生物信息学教育部重点实验室实现了代谢通路的逆向工程设计; 北京大学 iGEM 团队设计合成了一种由多个模块组成的新的遗传时序逻辑线路; 中国科技大学开发出一种人工转录元件的通用化设计策略; 中国科学院心理研究所于 2007 年参与欧盟第六框架设计合成生物学研究 (Programmable Bacterial Catalysts, PROBACTYS), 在重要微生物全基因组水平代谢网络重构方面作出了贡献。

合成生物学位于生物学、化学、物理学、数学和工程学研究领域的接口处, 它的诞生和发展是上述领域交叉的结果, 但其诞生最直接的基础应是生物化学与分子生物学。1953 年, Watson 和 Crick 提出了 DNA 双螺旋结构模型, 从此开辟了分子生物学研究领域。1958 年, Crick 提出了分子生物学中心法则, 给出了生命的基本过程和性质。工程中心法则是合成生物学最核心的研究内容之一。1961 年, Jacob 和 Monod 提出了基因表达调控的操纵子模型, 它是合成生物学中基因线路设计和构建的基础 (Jacob and Monod, 1961)。1970 年, Smith 阐明了 DNA 限制酶, DNA 限制酶与 DNA 连接酶联合应用, 诞生了 DNA 重组技术, 是合成生物学诞生最直接的分子酶学工程背景。1974 年, 波兰科学家 Szybalski 根据分子生物学的成熟度展望了生物学发展的可能性, 指出“直到现在, 我们继续工作在分子生物学阶段, …… , 但是当我们的研究领域进入合成生物学阶段, 真正的挑战才即将开始。我们将设计新的调控单元, 并将这些新的模块加到现有的基因组中, 或构建全新的基因组, 这将是一个具有无限扩展潜力的领域” (Szybalski, 1974)。继之, 1978 年, Szybalski 指出“限制酶的工作不仅提供了重组 DNA 的工具, 而且引领我们进入了新的‘合成生物学’领域” (Szybalski and Skalka, 1978), 由此提出了富有现代内涵的合成生物学的思想。1980 年, Hobom 发表了《基因外科: 合成生物学开端》的论文, 用“合成生物学”术语描述经重组基因组技术改造的细菌 (Hobom, 1980)。1990 年, 人类基因组计划的启动和模式生物基因组计划的快速实施, 使合成生物学术语在学术刊物和互联网上逐渐涌现。2000~2008 年, 合成生物学已由“声明”阶段进入研究程序和快速发展时期。现在, 合成生物学已成为一门多学科交叉、各种技术集成的工



程学科，并取得了巨大的成功（表 1.1）（张柳燕等，2010）。

表 1.1 合成生物学标志性工作（2000~2010 年）

年份	成 就
2000	合成细菌双稳态开关 合成阻遏振荡器（repressilator） 实现工程细胞-细胞通讯
2002	遗传线路的定向进化 实现单细胞内随机基因表达
2003	美国麻省理工学院（MIT）学生们根据 Elowitz 阻遏振荡器设计出生物振荡器
2004	第一届大学间遗传工程机器（iGEM）竞赛在 MIT 举行，5 个队参赛并建立了标准生物元件注册；2004 年 6 月，约 300 位科学家聚集在 MIT 举行的国际合成生物学 1.0 会议，实现可编程细菌种群的调控，并建立了哺乳动物双稳态开关
2005	实现了可编程模式，基因网络噪声传播的分析，酵母中人工细胞-细胞通讯
2006	设计的细菌表达透明质酸酶，并可破坏癌细胞 工程酵母生产青蒿酸
2007	实现生物界之间细胞-细胞通讯 实现基于 RNA 干扰（RNAi）和阻遏蛋白的开关 实现基于 RNAi 的逻辑线路和核酶开关 用 13 个已知酶组成一个新的非天然催化系统，催化淀粉和水产生氢
2008	第五届 iGEM，来自 21 个国家的 84 个队参赛 通过与转录因子化学互补产生逻辑门 完成细菌基因组的全合成、克隆和组装
2009	实现基因组在生物界的转移，从原核细胞到真核细胞再回到原核细胞
2010	Venter 团队成功制造出全球首个“合成细胞”

合成生物学领域正处于多种生物学研究领域的交叉点，它的概念还处于开放、探索的阶段。虽然不同的建议者对合成生物学有不同的诠释，但大多数建议者赞同合成生物学应包括：①新的生物元件（part）、装置（device）和系统（system）的设计与构建；②为特殊目的，对天然系统的再设计；③所设计和构建的生物系统用来解决能源、健康、环境，以及生物技术进一步发展的催化剂等重大问题（Rabinow and Bennett, 2009）。总之，合成生物学的目标是多样的，最终目标是创造人工生命体，造福人类社会。

过去 10 年，许多科学家都试图设计和构建新的生物系统，然而合成生物学成为新的研究领域还是最近的事情。合成生物学与生物工程之间的界线由模糊逐渐到清晰。合成生物学是基于系统的生物工程，不能简单地视为生物工程各分支的延伸和扩张或整合。例如，通过调整代谢网络的某种成分来改进某种代谢物的产生应属于生物工程领域；将几个外源酶引入代谢网络以产生新的化合物则属于合成生物学范围。合成生物学旨在设计和制造自然界不存在的生物元件、装置和系统，包括现有的生物元件、装置和系统的再设计和再制造。合成生物学的基础是机体的遗传信息和机体利用信息的能力；合成生物学的工程原理（包括系统和信号理论）是根据功能模块确定生物系统。所谓模块，

是根据精确的输入/输出特性所表征的功能单元。

合成生物学和系统生物学之间的关系相当密切，可称之为姐妹学科。系统生物学的目标基本上是研究天然生物系统，并且应用模拟和建模工具与实验信息进行定量比较。合成生物学的目标是应用同样的工具构建新的人工生物系统，它是生物科学的工程应用。系统生物学的基础在于用工程系统和信号理论分析生物系统。它可用数学公式和复杂模型来定义系统。合成生物学可以把系统还原为各种元件，应用经典工程还原论的方法由确定的元件和装置构建复杂系统。

作为系统生物学的姐妹领域，合成生物学或许最好描述为“不是你做什么，而是你如何做它”。按照这种观点，合成生物学强调的是设计、建模、合成和分析4个步骤（图1.1）。这个工艺流程往往是高度循环的。设计是以元件、装置和系统所规定技术要求进行，然后通过大量的模建检验工程设计，这是合成生物学的重要步骤。模建之后是合成，这是合成生物学的关键步骤。最后是分析，对产品的性能进行检测和验证。此后针对过程中存在的问题重新循环，直至达到所希望的结果。

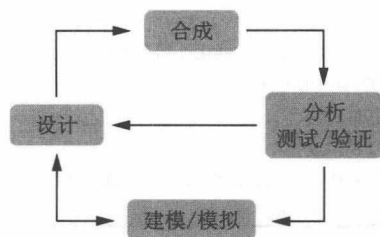


图 1.1 合成生物学基本工艺流程

设计和建模步骤是计算；合成和分析步骤是实验。图中表示各步骤之间的一种逻辑关系

建模/模拟包括借助计算机的高性能计算指导生物元件、装置和系统的合理设计和实验最佳化。但是目前定量的建模、预测和最佳化还不能作为合成生物学的主要手段，只能起辅助作用，提供参考信息，这是因为人们对生物系统的了解还处于“黑匣子”阶段。

设计包括借鉴电子学技术与程序设计实现生物元件、装置和系统的模块化和标准化，这是合成生物学的特质，是区别于生物学其他学科的标志。但是，生物系统的复杂度远非电子学等系统可比。生物系统的工程化与电子学等学科有着本质的区别，既类似又不同（图1.2）。由图1.2可见，电子学线路中的开关和振荡器，在生物学中存在类似的单元，如启动子、抑制物和诱导物等，这样，通过模拟电子线路便可以设计和构建具有相似功能的合成生物线路。

合成包括遗传单元和模块的合成、基因线路和网络的合成、最小基因组和底盘（chassis）工程的合成及全基因组合成等。

分析包括目的产物或新功能的检测和验证、生物模块的稳定性（stability，即系统承受最大干扰的幅值和频率）、健壮性（robustness，是指在干扰情况下系统维持正常功能

的能力和快速响应性(fast responsibility, 指正常系统对内和外部环境的快速反应能力)。

合成生物学应该包括三个方面: ①认识生命; ②改造生命; ③创造生命。具体地讲, 它是以天然生物系统的结构(包括动态结构)与功能为基础, 以工程生物系统为核心, 以标准模块化为导向, 研究生物元件、装置和系统设计及构建的理论策略和方法, 开发生物系统的新功能、新性质, 进而重构生命, 为人类造福。合成生物学的概念随着科学研究的不断深入发展将会进一步充实和改进, 进一步增强统一性和权威性。

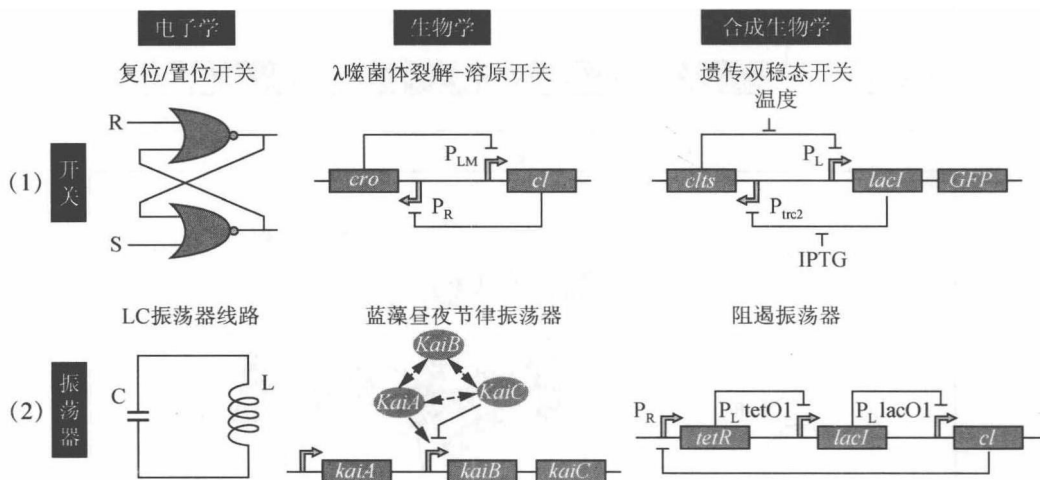


图 1.2 从电子学的线路到合成生物学的模块 (Khalil and Collins, 2010)

(1) 开关: 在电子学中, 储存记忆的一个最基本的单元是根据逻辑 NOR 门的复位-位置 (RS)。这个装置是双稳态, 它可以规定输入传递开关。去除输入, 线路仍长期保持其目前状态的记忆。在生物学中, 这种记忆和状态开关的各种形式具有重要的功能。例如, 细胞系统通过遗传相互抑制实现双稳态。 $\lambda$  噬菌体的天然  $P_R$ - $P_{LM}$  遗传开关, 其用此网络结构控制溶解-溶原性。它是由 2 个启动子组成, 每一个启动子通过基因产物 (即通过 Cro 或 CI 阻遏蛋白) 抑制另一个。图中合成生物学遗传双稳态开关是这个共阻遏基因调节合成工程的突变体。在一个遗传双稳态开关突变体中,  $\lambda$  噬菌体的  $P_L$  启动子用于驱动 *lacI* 转录, 其产物抑制第二个启动子  $P_{lac2}$  (Lac 启动子突变体)。反之,  $P_{lac2}$  驱动编码温度敏感 (ts)  $\lambda$  CI 阻遏蛋白的基因 (*cts*) 的表达, 其抑制  $P_L$  启动子。该线路的活性是用 GFP 启动子监测。该系统在一个方向上可外源加入 IPTG 开关, 或在另一方向上瞬间提高温度开关。重要的是, 在去除这些外源信号后, 该系统仍保持其目前状态, 产生细胞的记忆形式。

(2) 振荡器: 定时机制更像记忆, 是许多电子学和生物学系统的基础。电子学的时间测量可以用基本的振荡器线路完成, 如 LC 线路 (感应器 L 和电容器 C), 它作为产生周期电子信号的谐振器。生物学时间测量广布于各种生命机体, 它是昼夜节律时钟和相似的振荡器线路完成的, 如在蓝细菌中一个负责同步的光合成和固氮的关键过程。蓝细菌的昼夜节律时钟是根据其他的调节机制, 即时钟基因 *kaiA*、*kaiB* 和 *kaiC* 上缠绕的正反馈和负反馈回路实现的。图 1.2 所示的合成生物学的振荡器不是根据时钟基因而是根据标准转录阻遏振荡器 (repressilator) 而设计的。这里, 周期性的负反馈回路是由 3 个基因-启动子对组成的, 阻遏蛋白表达相当于基因表达中的振荡输出

## 1.2 合成生物学研究的核心内容

目前, 合成生物学研究的核心内容是设计和构建新的生物成分, 如酶分子、基因线

路和网络、基因组或是再设计现有的生物系统和生物过程。随着合成工程的发展，每一生物成分被赋予标准化和模块化（图 1.3），它们都有详细的表征说明，使用者可以根据需要进行“搭建”。具体地讲，目前合成生物学研究的核心内容包括以下 4 个方面。

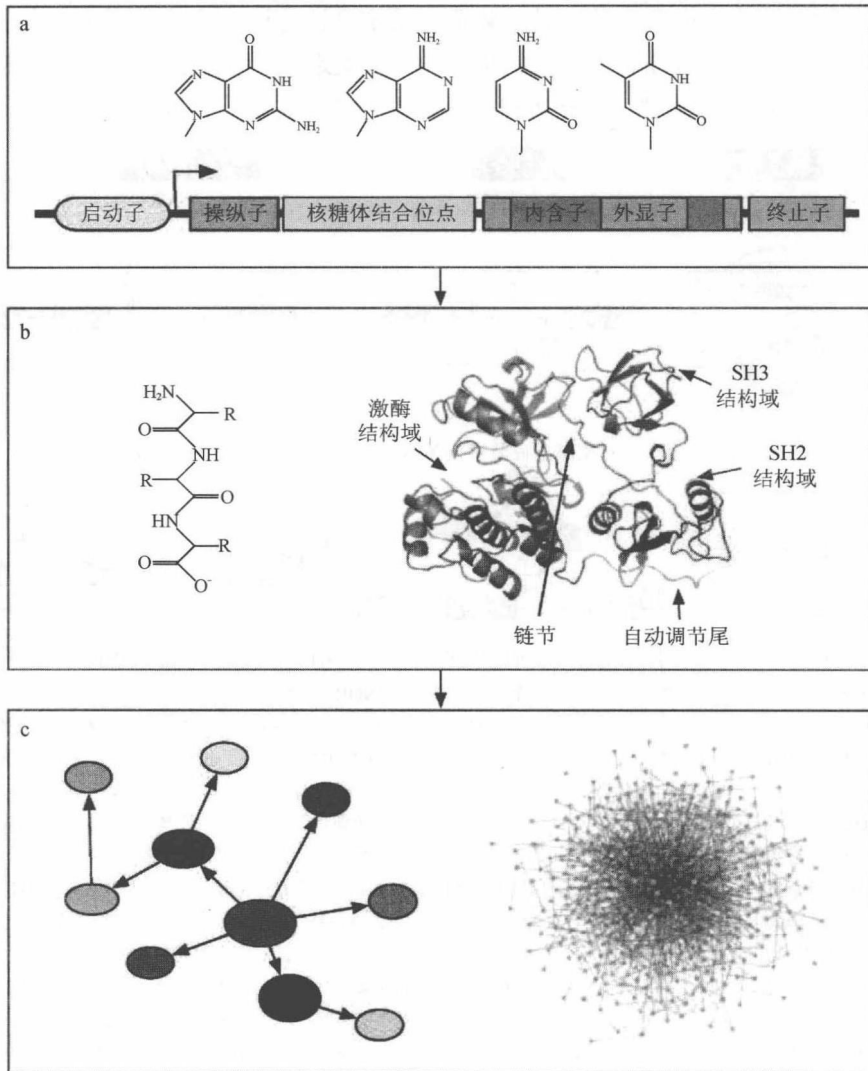


图 1.3 生物成分的模块化 (Agapakis and Silver, 2009)

a. DNA 是由核苷酸构成的，其编码各种模块元件，包括启动子、阻遏蛋白结合位点、核糖体结合位点，以及带有编码 miRNA 的内含子、外显子和终止子。b. 上述各种 DNA 元件以紧密的调节方式为模块蛋白质编码，蛋白质如人的 c-Src（如图所示），往往含有多个结构域，其行使催化活性（激酶结构域），调节同其他蛋白质（SH2 和 SH3 结构域）的相互作用，并调节它们自己的活性（链节和自动调节尾）。c. 不同蛋白质之间的相互作用导致局部生物途径和整个细胞的复杂行为





- (1) 生物成分标准模块化设计和构建;
- (2) 中心法则再设计和构建;
- (3) 生物网络的设计和构建;
- (4) 最小化基因组和合成基因组。

### 1.2.1 生物成分标准模块化设计和构建

合成生物学是通过精制的生物模块合成生物系统, 强调生物成分的合成 (synthesis)、抽象化 (abstraction) 和标准化 (standardization), 这是合成生物学有别于生物学其他学科的标志性特征。合成涉及生物模块, 即可再使用的生物元件、装置和系统 (通常由 DNA 产生)。抽象化涉及生物模块的功能而不是组成。标准化涉及具有即插即用 (plug and play) 特征, 可再生产和可交换的所有合成的元件、装置和系统。所谓标准化, 是按照一定标准或规范设计和构建生物成分的过程。

模块化的目的是简化生物系统, 使设计、建模、合成和分析更易操作, 更易规模化。然而, 生物系统是高度复杂的, 远远超过非生物系统。一般来说, 工程上应对复杂系统往往采用解耦 (decoupling)、抽象化 (abstraction) 的概念和方法。所谓解耦, 就是解耦合, 将模块之间的依赖度降低到最小, 根据了解和需要将整个系统分割成相对独立的子系统。所谓抽象化, 就是利用抽象的层次模型从不同层次对生物系统的独立性和协同作用分别进行表征。

合成生物学家为了有效地组合基本成分, 使细胞最佳化和定制最佳化的细胞, 创造性地提出生物模块 (BioBrick) 的概念, 并构建了相应的 DNA 元件文库——iGEM Registry。BioBrick 标准包含组合各种遗传单元序列的一种有效的 DNA 克隆机制 [标准见 [open wetware BioBrick standard web page](#) (详见第 3 章)]。这个标准会很快普及, 这是克隆机制的简易化, 避免了常规克隆技术的繁琐操作。延伸 BioBrick 标准仍然是一个重要挑战。至少, 我们需要知道每个元件的基本表征, 如基本转录调节单元可以应用 POP 表征; 反之, 某些基本后翻译调节单元可以通过其磷酸化活性来表征。组合的各种元件将需要更复杂的描述, 或许需要应用数学模型。关键是组合的各元件的模型也必须能够组合, 这样甚至可以描述更大的组合元件。

目前标准化努力集中于产生基本元件库, 这样容易组合并便于一起发挥作用。一种途径是产生具有相似动力学性质和输入输出阈值的各元件。它可以通过或简单 (如单一碱基突变) 或复杂 (如结构域改组) 的遗传操作来完成。工程学科中的标准化, 可以使各成分容易组合形成较大系统, 而它依赖成分之间的模块化。然而, 标准化和模块化是受细胞前后序列效应影响的, 我们不能保证一种功能模块适合于所有细胞类型。在设计过程中, 研究人员需要注意细胞内、细胞间或细胞外环境。此外, 把合成成分整合到新的细胞环境本身可以改变细胞的前后效应。各种元件和模块需要在系统和有意义的前后效应中进行表征。如果它们适应系统动力学, 这些模块将是有效的。或者, 我们完全可以工程新的细胞环境或亚细胞环境 (如细胞器), 使合成的各模块功能与天然系统呈正交关系。