

· 导 读 ·

本期论文主要包括生物材料的递送、基因编辑技术的创新、蛋白质与酶工程的技术突破与应用前景、生物医学技术的前沿突破与转化潜力、多组学技术在生物医药研究中的整合应用等。现对本期论文内容做简要导读。

谢建平 《生物工程学报》编委

(西南大学 生命科学院现代生物医药研究所, 重庆 400715)

递送革命：生物材料的跨尺度护航

mRNA 技术在生物医药领域掀起了革命性浪潮，以新冠疫苗为契机加速启动了“可编程药物”的新时代。作为继小分子药、抗体药之后的第三代治疗技术，mRNA 药物无需复杂蛋白表达系统即可指导细胞生产靶标蛋白，既能快速响应突发传染病，又可个性化定制肿瘤疫苗。然而，脆弱的三链结构使其在体液中半衰期不足 5 min，负电性特征更令其难以穿透同样带负电的细胞膜。要让这些核酸分子精准送达人体细胞，科学家们必须破解“递送密码”——这既是技术攻坚的焦点，也是决定 mRNA 能否突破治疗边界的关键。病毒样颗粒 (virus-like particles, VLP) 具有生物相容性高、安全性高的优势，有望为 mRNA 递送提供新的解决思路。林鑫宇等^[1]聚焦 VLP 递送平台，创新性地从“结构组装-跨膜转运-内容释放”这 3 个递送关键环节解构 VLP 技术。该文章不仅为开发模块化、智能响应型 VLP 提供设计蓝图，更揭示了如何通过理性设计平衡递送效率与生物安全性，为开发新型 VLP 递送载体提供依据和设计思路，推动 VLP 载体在 mRNA 递送领域的发展，为 mRNA 疗法的研究和应用提供新的可能。

壳聚糖(chitosan, CS)是一种由甲壳类动物

(如虾、蟹)外壳中提取的甲壳素经脱乙酰化反应得到的天然阳离子多糖，分子链上富含氨基和羟基，兼具生物相容性、可降解性和化学可修饰性。其独特的理化特性使其成为核酸药物递送领域极具潜力的候选材料。透明质酸(hyaluronic acid, HA)是一种天然存在的阴离子线性多糖，由重复的 D-葡萄糖醛酸和 N-乙酰葡萄糖胺双糖单元组成，广泛分布于人体结缔组织、皮肤真皮层、关节滑液及眼玻璃体中，具有极强的亲水性和黏弹性。刘怀艺等^[2]在 CS 中加入 HA，通过静电作用形成稳定的复合物纳米粒子，同时利用 HA 对肿瘤细胞表面 CD44 的靶向作用，实现 siRNA 的高效递送。与纯 CS 相比，CS/HA 可以与 siRNA 形成更小的纳米粒子，并由 HA 介导与肿瘤细胞的特异性相互作用，从而实现 siRNA 的高效递送。该研究为天然高分子复合物纳米粒子的构建及 siRNA 递送提供了有益的参考。

益生菌作为调节肠道微生态、增强免疫功能的“活性药物”，其临床应用与产业化始终面临严峻挑战：口服给药是益生菌控释给药的主要和首选途径，因为它简单、成本低、效益高且消费者接受度更高。然而益生菌的口服利用率较低，主要是受肠道恶劣环境的影响，如温度、pH、胆汁盐、消化酶等。为此，微胶囊递送技术应运而生——通过仿生封装为益生菌构

筑“分子装甲”，实现从口服到靶向释放的全链条保护。韩瑞琴等^[3]以乳酸片球菌为芯材，海藻酸钠和壳聚糖为壁材，采用挤压法制备乳酸片球菌微胶囊；通过单因素和正交试验确定乳酸片球菌微胶囊最佳制备工艺条件，并以包埋率、存活率、储存稳定性、肠胃液耐受性及释放速率为评定指标，对乳酸片球菌微胶囊最佳配比进行研究；通过连续胃肠液模拟实验证实乳酸片球菌微胶囊活菌数能够得到保证且可在肠液中缓慢释放，通过 4 °C 与室温储存过程活菌数量变化曲线可知该微胶囊制备可实现菌株保障。

基因编辑技术的创新

新一代的基因编辑技术正在重塑生命科学研究的范式。CRISPR/Cas9 系统的发现与优化，不仅为基础生物学研究提供了高效的工具，更推动了疾病机制解析与精准治疗策略的发展。然而，基因编辑技术的实际应用仍面临多重挑战，例如 DNA 修复路径的复杂性、筛选标记的局限性，以及靶向递送系统的特异性需求。这些问题的突破往往依赖于对基础分子机制的深入理解与跨学科技术的整合。

基因敲除细胞系的构建是解析基因功能的重要基石。以 *Smad3* 基因敲除 MPC5 小鼠足细胞系的建立为例，杨秀等^[4]通过 CRISPR/Cas9 系统实现了对靶基因的精准编辑。该研究针对 *Smad3* 基因第 5 外显子设计 sgRNA，构建 pX458-Smad3 质粒并转染 MPC5 细胞，利用 EGFP 荧光标记筛选转染细胞，最终通过流式分选和单克隆扩增获得 2 株双等位基因移码突变细胞株。蛋白水平验证显示 *Smad3* 表达完全缺失，且 TGF- β 1 诱导的上皮-间质转分化特征在敲除细胞中被显著抑制。这种细胞模型的成功构建不仅为 *Smad3* 在足细胞去分化中的功能研

究提供了可靠工具，更凸显了 CRISPR/Cas9 在复杂细胞表型解析中的核心价值。值得注意的是，该研究仅 0.1% 的转染效率提示基因编辑技术在原代细胞中的应用仍需进一步优化，而单克隆筛选策略则为低效转染场景提供了可行的解决方案^[4]。

DNA 双链断裂(double strand break, DSB)修复机制的多样性为基因编辑技术发展提供了灵感。分枝杆菌的非同源末端连接系统作为原核生物中罕见的 DSB 修复途径，展现出独特的分子特征。与真核生物依赖 Ku 蛋白的经典非同源末端连接不同，分枝杆菌通过 LigD 复合物(含聚合酶、磷酸酶和连接酶结构域)直接连接断裂末端，这种低保真修复方式在潜伏感染期的基因组维持中至关重要。向莎莎等^[5]阐述了结核分枝杆菌在宿主巨噬细胞内的持久存活可能与其非同源末端连接(non-homologous end joining, NHEJ)系统的抗逆性修复能力密切相关。更引人注目的是，该系统的特性为基因编辑工具开发提供了新思路：通过调控断裂末端的化学修饰，可定向诱导特定插入/缺失模式，为无痕编辑和极端环境下的基因组操作开辟了新路径。分枝杆菌 NHEJ 的研究不仅拓展了对原核生物 DNA 修复机制的认知，其工具化潜力更提示了跨物种生物技术开发广阔前景。

基因编辑效率的提升常受限于筛选标记的物种特异性。针对这一难题，基于 CRISPR/Cas9 的通用反选择技术应运而生。蔡倩茹等^[6]通过将 sgRNA 表达盒作为反选择标记，靶向基因组多拷贝位点(如 rRNA 操纵子)，显著增强 Cas9 的致死效应，使筛选效率突破 85%；实验结果表明，在质粒编辑场景中，该系统可将无痕编辑成功率提升 3 倍以上，且跨菌种验证证实其对革兰氏阳性菌与阴性菌均具普适性。这一突破性设计的核心在于将 CRISPR 系统的靶向切

割能力转化为高效筛选工具，通过多拷贝位点的选择实现“杠杆效应”——单个 sgRNA 即可引发多重基因组切割，从而放大细胞致死信号。该技术不仅克服了传统抗生素标记的局限性，更为合成生物学中复杂回路的模块化组装提供了标准化平台，标志着基因编辑筛选策略从经验依赖向理性设计的转变。

在临床转化领域，基因编辑技术与靶向递送系统的结合正催生新一代肿瘤治疗策略。溶瘤病毒介导的碱基编辑技术便是典型代表。针对宫颈癌治疗，徐欢欢等^[7]构建了双重靶向溶瘤腺病毒：利用肿瘤特异性 hTERT 启动子调控病毒复制，同时搭载腺嘌呤碱基编辑器 (adenosine base editor, ABE) 靶向 MYC 原癌基因；体外实验显示，该病毒在 HeLa 细胞中可实现 >70% 的 MYC 编辑效率，并通过病毒裂解与基因沉默的协同作用，使癌细胞存活率降至 30% 以下。这种联用策略的创新性体现在 3 个方面：hTERT 启动子的使用确保了病毒仅在肿瘤细胞中激活；碱基编辑避免了传统 CRISPR 的 DSB 风险，减少基因组不稳定性；MYC 靶向突破了单一溶瘤机制的疗效瓶颈。该研究为实体瘤治疗提供了“病毒递送+基因沉默”的双重杀伤范式，展现了基因编辑技术与病毒疗法交叉融合的巨大潜力。

蛋白质与酶工程的技术突破与应用前景

膜蛋白的功能研究是理解细胞信号传递与代谢调控的关键。近期研究聚焦于其结构域特性及催化机制，为人源酶的功能优化与疾病治疗提供了新视角。魏东芝^[8]等系统探究了 N-糖基化关键酶 Alg1 的跨膜结构域 (transmembrane domain, TMD) 对其活性的影响。研究通过构建全长及截除 TMD 的重组质粒，发现仅含 TMD

的 Alg1 能催化甘露糖转移，而截除突变体活性完全丧失。通过液质联用证实，纯化后酶活性下降需依赖膜组分回补，揭示了 TMD 在底物识别与膜定位中的核心作用。该工作为先天性糖基化疾病 (congenital disorders of glycosylation, CDG) 的突变体功能分析奠定了基础，并提出了膜环境模拟的新研究方向。

基因编辑技术的精准化与高效化是生命科学领域的重要突破。内含肽介导的 Split-Cre 系统通过拆分 Cre 酶为无活性片段，并在特定条件下重组为功能蛋白，为多基因调控和神经环路示踪提供了高时空分辨率的工具。敖艺菲等^[9]创新性地利用海洋嗜热盐菌内含肽拆分 Cre 酶，筛选出高效重组位点 S102。通过“红绿灯”报告细胞系与小鼠模型验证，双腺相关病毒 (adeno-associated virus, AAV) 递送的 Split-Cre 系统展现出与全长 Cre 相当的基因编辑效率。该技术避免了传统拆分方法的序列残留问题，为神经环路示踪与多基因调控提供了高精度工具。未来需系统性解析拆分位点与重组效率的关联，并拓展至其他核酸酶 (如 Cas9) 的拆分设计。

面对全球气候危机，碳捕获与封存 (carbon capture and storage, CCS) 技术的创新成为减少温室气体排放的关键。姚丹丹等^[10]通过高通量启动子筛选优化了百脉生根瘤菌碳酸酐酶 (MICA) 的异源表达，显著提升了酶活性和固碳效率；研究构建了 sfGFP 融合表达系统，筛选出启动子 342042/+ 驱动的 MICA，其比活性达 34.6 WAU/mg，并在 pH 7、40 °C 条件下表现出最佳催化性能；该酶可在 9 min 内促进 CO₂ 矿化为方解石，且对 Mg²⁺、Zn²⁺ 等离子具有良好耐受性，为工业烟气及海水环境的碳封存提供了可行方案；值得注意的是，MICA 在高温 (>50 °C) 下活性骤降，未来可通过定向进化或理性设计引入耐热突变位点，并开发固定化酶技

术以增强其工业适用性。

生物医学技术的前沿突破与转化潜力

生物医药领域正经历着技术革命,多项突破性进展表现出广阔应用前景。II型单纯疱疹病毒(herpes simplex virus type II, HSV-2)作为全球性传播疾病的主要病原体,不仅导致生殖器官病变和新生儿感染,还与人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)感染风险显著相关。针对这一难题,张绥欣等^[11]基于环状 RNA (circRNA)的独特优势开发了新型疫苗。circRNA 凭借共价闭合环状结构,可抵抗核酸酶降解并在细胞内持续表达抗原,较传统线性 mRNA 疫苗更具稳定性与免疫持久性;研究团队成功构建靶向 HSV-2 囊膜糖蛋白 gD 胞外域的 circRNA 疫苗,实验证实其在小鼠模型中安全性良好,并诱导高水平中和抗体及 T 细胞免疫应答;该技术的突破性体现在:疫苗在 4 °C 保存 7 d 后活性仍超 90%,解决了热带地区冷链运输难题;通过优化环状结构设计,抗原表达效率提升 40%,为应对病毒变异及多价疫苗开发奠定基础。

在诊断技术领域,罗颖等^[12]突破传统抗体开发局限,构建全球首个单框架全合成纳米抗体文库。该技术以 IGHV3S6501-IGHJ401 框架为基础,通过高通量测序分析天然纳米抗体 CDR 区氨基酸频率,设计简并引物并运用重叠延伸 PCR 技术高效组装,最终获得容量达 6×10^9 的合成文库。本研究的创新性体现在:文库构建全程无需动物免疫,成本降低 60%;通过优化交叉反应性控制,非特异性结合率低于 0.5% (较传统方法精准度提升 10 倍)。实验验证显示,针对牛血清白蛋白、乙酰胆碱酯酶等三类抗原

均成功筛选到高亲和力纳米抗体(如抗 AchE 抗体的亲和力常数为 294 nmol/L),且重组表达成功率 100%;该平台将抗体开发周期从 3 个月压缩至 2 周,为传染病快速检测、肿瘤标志物筛查等领域提供了高效工具^[12]。

生物技术革新不仅推动生物医药领域跨越式发展,更预示医疗模式从被动治疗向主动健康管理的转型。随着递送系统优化、AI 辅助设计等技术的深度融合,未来医疗将形成以个体化数据为驱动、工程化生物组件为手段的新型体系。随着技术成熟度的提升和监管路径的明晰,一个以患者个体化数据为核心、以工程化生物系统为手段的新医疗时代正在加速到来。

多组学技术在生物医药研究中的整合应用

当今生物医学研究领域,多组学技术正以前所未有的速度推动科学的边界不断拓展。通过整合蛋白质组学、转录组学、代谢组学等多种组学技术,研究人员能够从多个层面深入解析生物系统的复杂性,揭示疾病的发病机制,并为疾病的诊断和治疗提供新的策略。这些技术手段为深入理解生命活动的复杂机制提供了强大的工具。

结核病一直是全球公共卫生的重大挑战之一,青少年和年轻人(adolescents and young adults, AYA)结核病患者是结核病的主要群体之一,然而针对这一群体的诊断标志物研究却相对匮乏。陈禹等^[13]通过定量蛋白质组学技术绘制了 AYA 结核病患者血清蛋白质图谱,并利用机器学习算法筛选出潜在的诊断标志物;该研究团队招募了 81 名 AYA 受试者,利用定量蛋白质组学技术首次建立了青少年结核病患者血清蛋白组全貌,并成功找到了该类群结

核病的新诊断标志物。这一成果不仅为青少年结核病的早期诊断提供了有力的工具,也为未来结核病的个性化治疗和精准医学研究奠定了坚实的基础。

类胡萝卜素是一类具有重要生物活性的天然色素,广泛应用于食品、医药和化妆品等领域,然而其合成机制尚未完全明确。张红等^[14]通过转录组学和代谢组学分析,揭示了氯化铈对胶红酵母基因表达和代谢物合成的调控机制。该研究不仅增进了对稀土元素在生物体内作用机制的理解,还为稀土元素在农业、制药、医疗保健等领域的应用奠定了理论基础。通过合理调控稀土元素的浓度,有望实现对微生物次级代谢产物合成的精准调控,为相关产业的发展提供新的思路和方法。

Vero 细胞是一种广泛用于疫苗生产和其他生物医学研究的细胞系。李木子等^[15]首次对 Vero 悬浮细胞(Vero-XF)和 Vero 贴壁细胞(Vero-AD)进行了转录组学分析,筛选出悬浮培养时影响细胞生长的差异基因,为 Vero 悬浮细胞的培养提供了新的优化策略。通过降低细胞自噬水平,有效提高 Vero 悬浮细胞的生长性能,为疫苗生产和其他生物医学研究提供了更高效的细胞培养平台。此外,该研究还为理解细胞自噬在细胞生长调控中的作用提供了新的视角。

REFERENCES

- [1] 林鑫宇,任书玲,李廷栋,葛胜祥. 病毒样颗粒作为 mRNA 递送载体的研究进展[J]. 生物工程学报, 2025, 41(4): 1268-1279.
LIN Xinyu, REN Shuling, LI Tingdong, GE Shengxiang. Advances of virus-like particles as mRNA delivery vectors[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2025, 41(4): 1268-1279 (in Chinese).
- [2] 刘怀艺,黄方茜,陈柏求,燕云峰. 壳聚糖/透明质酸复合物纳米粒子的制备及其在 siRNA 递送中的应用[J]. 生物工程学报, 2025, 41(4): 1340-1353.
LIU Huaiyi, HUANG Fangqian, CHEN Baiqiu, YAN Yunfeng. Fabrication of chitosan/hyaluronic acid complex nanoparticles for effective siRNA delivery[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2025, 41(4): 1340-1353 (in Chinese).
- [3] 韩瑞琴,徐松,王新元,王敬敬,张小霞,杜丽平,黄志勇. 乳酸片球菌 HRQ-1 微胶囊的制备、优化及其体外评估[J]. 生物工程学报, 2025, 41(4): 1415-1427.
HAN Ruiqin, XU Song, WANG Xinyuan, WANG Jingjing, ZHANG Xiaoxia, DU Liping, HUANG Zhiyong. Preparation, optimization, and *in vitro* evaluation of *Pediococcus acidilactici* HRQ-1 microcapsules[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2025, 41(4): 1415-1427 (in Chinese).
- [4] 杨秀,史姜珊,王洪连,王丽,栗宏伟,陈晨,赵长英. 利用 CRISPR/Cas9 技术构建 *Smad3* 基因敲除 MPC5 细胞系[J]. 生物工程学报, 2025, 41(4): 1658-1670.
YANG Xiu, SHI Jiangshan, WANG Honglian, WANG Li, SU Hongwei, CHEN Chen, ZHAO Changying. Construction of mouse podocyte clone-5 cell lines with *Smad3* knockout by CRISPR/Cas9[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2025, 41(4): 1658-1670 (in Chinese).
- [5] 向莎莎,黄煜,谢建平. 分枝杆菌非同源末端连接生理功能及其在基因编辑中的应用[J]. 生物工程学报, 2025, 41(4): 1280-1290.
XIANG Shasha, HUANG Yu, XIE Jianping. Non-homologous end-joining (NHEJ): physiological function in *Mycobacterium* and application in gene editing[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2025, 41(4): 1280-1290 (in Chinese).
- [6] 蔡倩茹,王曼曼,朱进妹,吴杰群. 基于靶向多拷贝基因 sgRNA 表达盒替换的一种通用反选择技术[J]. 生物工程学报, 2025, 41(4): 1649-1657.
CAI Qianru, WANG Manman, ZHU Jinmei, WU Jiequn. A universal counter-selection strategy based on replacement of sgRNA expression cassettes targeting multi-copy genes[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2025, 41(4): 1649-1657 (in Chinese).
- [7] 徐欢欢,李斯微,罗希,周祖平,毕昌昊. 溶瘤病毒介导碱基编辑靶向杀伤宫颈癌细胞[J]. 生物工程学报, 2025, 41(4): 1382-1394.
XU Huanhuan, LI Siwei, LUO Xi, ZHOU Zuping, BI Changhao. Oncolytic virus-mediated base editing for targeted killing of cervical cancer cells[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2025, 41(4): 1382-1394 (in Chinese).
- [8] 魏东芝,陈征辉,王春迪,高晓冬,王宁. 人源 A1g1 蛋白的原核表达及其跨膜结构域性质分析[J]. 生物工程学报, 2025, 41(4): 1535-1546.
WEI Dongzhi, CHEN Zhenghui, WANG Chundi, GAO

- Xiaodong, WANG Ning. Prokaryotic expression of human Alg1 protein and analysis of the transmembrane domain properties[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2025, 41(4): 1535-1546 (in Chinese).
- [9] 敖艺菲, 张琪, 陈昱僖, 黄军就, 文锦坤. 内含肽介导的 Split-Cre 系统的构建[J]. 生物工程学报, 2025, 41(4): 1490-1499.
- AO Yifei, ZHANG Qi, CHEN Yuxi, HUANG Junjiu, WEN Jinkun. Construction of an intein-mediated Split-Cre system[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2025, 41(4): 1490-1499 (in Chinese).
- [10] 姚丹丹, 李赞卉, 付兴佳, 王辉, 刘云. 启动子筛选优化碳酸酐酶异源表达及其酶学性质与固碳性能[J]. 生物工程学报, 2025, 41(4): 1588-1604.
- YAO Dandan, LI Yunhui, FU Xingjia, WANG Hui, LIU Yun. Optimization of promoter screening for heterologous expression of carbonic anhydrase and characterization of its enzymatic properties and carbon sequestration performance[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2025, 41(4): 1588-1604 (in Chinese).
- [11] 张绥欣, 郑小迪, 倪鹏, 汪众, 刘彪, 汪洋, 胡翰, 刘滨磊. 以II型单纯疱疹病毒 gD 为免疫原的 circRNA 疫苗制备及药效分析[J]. 生物工程学报, 2025, 41(4): 1354-1371.
- ZHANG Suixin, ZHENG Xiaodi, NI Peng, WANG Zhong, LIU Biao, WANG Yang, HU Han, LIU Binlei. Preparation and efficacy of a circRNA vaccine with herpes simplex virus type II gD as immunogen[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2025, 41(4): 1354-1371 (in Chinese).
- [12] 罗颖, 李燕萍, 何庆华, 涂追. 单框架全合成纳米抗体文库的构建与鉴定[J]. 生物工程学报, 2025, 41(4): 1500-1514.
- LUO Ying, LI Yanping, HE Qinghua, TU Zhui. Construction and characterization of single-framework fully synthetic nanobody libraries[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2025, 41(4): 1500-1514 (in Chinese).
- [13] 陈禹, 许鸿翔, 田瑶, 何谦, 赵晓云, 张国斌, 谢建平. 血清蛋白质组学和机器学习揭示的青少年结核病新诊断标志物[J]. 生物工程学报, 2025, 41(4): 1478-1489.
- CHEN Yu, XU Hongxiang, TIAN Yao, HE Qian, ZHAO Xiaoyun, ZHANG Guobin, XIE Jianping. Serum proteomics and machine learning unveil new diagnostic biomarkers for tuberculosis in adolescents and young adults[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2025, 41(4): 1478-1489 (in Chinese).
- [14] 张红, 温彤, 王志红, 赵鑫, 吴昊, 项鹏程, 马勇. 多组学解析氯化镧对胶红酵母合成类胡萝卜素的调节效应[J]. 生物工程学报, 2025, 41(4): 1631-1648.
- ZHANG Hong, WEN Tong, WANG Zhihong, ZHAO Xin, WU Hao, XIANG Pengcheng, MA Yong. Multi-omics analysis of hormesis effect of lanthanum chloride on carotenoid synthesis in *Rhodotorula mucilaginosa*[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2025, 41(4): 1631-1648 (in Chinese).
- [15] 李木子, 孙娜, 彭润生, 马芳芳, 王家敏, 乔自林, 陈建国, 阿依木古丽·阿不都热依木. 基于转录组学分析 Vero 悬浮细胞并用表皮生长因子改善细胞自噬水平[J]. 生物工程学报, 2025, 41(4): 1671-1689.
- LI Muzi, SUN Na, PENG Runsheng, MA Fangfang, WANG Jiamin, QIAO Zilin, CHEN Jianguo, Ayimugl Abudureyimu. Transcriptomic analysis of suspended Vero cells and reduction of cellular autophagy by epidermal growth factor[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2025, 41(4): 1671-1689 (in Chinese).