

• 主编导读 •

本期主编导读主题: DNA 计算、基因编辑、蛋白质自组装、小分子药物靶蛋白发现、细胞活性影响预测、线粒体治疗、微针、疟疾快检和人工生物固碳等技术和方法。

DNA 计算,顾名思义,就是利用组成 DNA 分子中 A、T、C、G 四种碱基的不同组合方式来存储不同的数据,并将运算对象编码为 DNA 分子。然后,根据 DNA 分子所特有的双螺旋结构和碱基互补配对的基本原则,在特定酶的作用下,让 DNA 分子完成某种生物化学反应,将一种基因代码(输入数据)转变另外一种基因代码(运算结果),从而实现一个计算过程。利用这一基本原理和 DNA 编码信息的多样性,可以实现复杂的计算过程。由于 DNA 分子可以储存极高密度的信息,而生化反应基本上都在常温下进行,且计算可以在多个 DNA 链上同步发生,因此高信息密度、高能量效率和并行计算是 DNA 计算最大的优点。DNA 分子间的特异性杂交是 DNA 计算中最核心的反应,在这个过程中可能发生的碱基突变,直接影响到计算的效率和精度。杨姗等作者<sup>[1]</sup>(1120-1130 页)对 DNA 计算的基本原理、发展现状、面临挑战和潜在应用进行了详细的总结,这是一篇不多见的清晰表述 DNA 计算科学内涵的综述,可读性很强。DNA 是一种分子计算,它代表了一种新的计算形式。随着 DNA 高通量高保真酶法合成和 DNA 原位实时测序技术的发展,DNA 存储、DNA 电路和 DNA 计算作为生命科学、数据科学和数学的交叉结合,对第四范式下的技术创新可能会产生颠覆性的变革作用。

广为熟知的 CRISPR/Cas9 基因编辑系统中的 Cas9 蛋白来自酿脓链球菌,又称为 SpCas9。但这

个蛋白对 PAM (Protospacer adjacent motifs) 的识别范围有限,且容易脱靶。拓展 PAM 识别范围,降低脱靶效应,同时保持其对 DNA 的剪切活性,一直是对 Cas9 蛋白进行改造的目标。薛冬梅等作者<sup>[2]</sup>(1385-1395 页)从能量的角度出发,采用 Rosetta 软件对 Cas9 蛋白上影响 Cas9 和 DNA 相互作用的氨基酸进行计算、分析和突变,获得自由能更低、构象更稳定、更接近天然结构的突变体,以期提高对 PAM 的兼容性,同时降低脱靶率。这一理性设计取得了较好的结果,所获得的 yCas9 突变体具有更宽泛的 PAM 识别范围,脱靶率也比野生型 SpCas9 显著降低,表明这一方法可以对影响 Cas9 性能最关键的两个问题有所贡献。同期,史梦然等作者<sup>[3]</sup>(1205-1228 页)详细总结了 CRISPR/Cas9 系统在疾病研究和治疗中的应用。除了 PAM 序列的限制和脱靶效应这两个问题外,CRISPR/Cas9 在医学领域的应用还要解决自身免疫带来的安全问题,因此如何有效、安全地将 CRISPR/Cas9 递送到细胞内也是迫切需要解决的重要技术问题。作为一种高效的基因编辑工具,CRISPR/Cas9 不仅在构建疾病动物模型、延缓动物模型疾病进展方面已经显示出重要的应用前景,在疾病功能基因鉴定和疾病发生发展机理解析方面也大有可为。

目前已经可以利用试剂盒高通量筛选蛋白质结晶。张托弟等作者<sup>[4]</sup>(1396-1405 页)发现,利用高通量筛选蛋白质结晶的试剂盒也可以筛选出

发生了自组装的蛋白质组装体。他们在组装体的筛选过程中,发现会形成很多表观透明的液滴,但是并不清楚这些表观透明的液滴中存在什么物质。在这项研究中,作者以 $\beta$ -乳球蛋白组装体为研究对象,发现在透明液滴中存在微-纳尺度的蛋白质自组装体。为什么蛋白质与筛选试剂盒的相互作用会产生表观透明的液滴?在这些液滴中发现的微-纳尺度蛋白质自组装体具有怎样的形貌?这些微-纳尺度蛋白质自组装体的结构随着时间的推移如何变化?作者采用激光共聚焦显微镜连续拍摄技术和原位X-射线衍射技术,对这些问题进行了回答。

小分子药物通过作用于细胞内特定的靶分子(主要是蛋白质)来发挥作用,因此找到细胞内小分子药物的靶蛋白,对进一步理解小分子药物的作用机理非常重要。传统方法需要先对小分子药物进行化学修饰,才能用于鉴定靶蛋白。但化学修饰往往会改变小分子药物的活性,因此需要发展不进行化学修饰也能找到靶蛋白的方法。马婕等作者<sup>[5]</sup>(1131-1138页)对无化学修饰鉴定靶蛋白的方法和应用进行了总结。这类方法的基本原理是,小分子药物和靶蛋白结合后,往往会改变靶蛋白的稳定性。利用结合了小分子药物的靶蛋白和其他蛋白在稳定性上出现的差异,就可以鉴定出靶蛋白。例如,小分子药物和靶蛋白结合后,靶蛋白对蛋白酶的稳定性增强,用蛋白酶将其他蛋白消化掉,就可以利用质谱很容易地鉴定出靶蛋白。再如,利用靶蛋白和小分子药物结合后热力学稳定性发生变化的特性,可以用热蛋白质学分析技术来鉴定出靶蛋白。这些方法可以在原位状态下研究小分子药物和靶蛋白的结合,因此研究结果对实际应用更具指导意义。

在药物筛选研究中,特定的化合物对不同的细胞能够产生不同的扰动信号,能否根据这些不

同的扰动信号,预测出特定化合物对细胞活性变化的影响,是药物敏感性需要研究的问题。陆家兴等作者<sup>[6]</sup>(1346-1359页)开发了一种细胞活性预测算法,通过使用已有数据集中的差异表达基因与细胞表型信息,能够利用已有的组学数据,较好地预测药物对正常细胞和病变细胞活性的影响,为精准医疗提供辅助支撑。利用工程改造的微生物菌株生产化学品,菌株自身的活力对其化学品生产能力具有重要影响。在发酵生产过程中,随着环境条件的不断变化,微生物细胞的死亡率也在不断增加。刘佳等作者<sup>[7]</sup>(1277-1286页)发现在大肠杆菌培养过程中添加半胱氨酸等抗衰老药物,能够延长大肠杆菌细胞的时序寿命,进而提升其生产性能。本质上,细胞的衰老一般与其抗氧化能力密切相关,因此能够提高细胞氧胁迫抗性的物质,理论上都可以提高细胞的存活率,进而提升工程菌株生产目标化学品的能力。进一步的研究若能阐明不同的抗衰老药物具体如何影响和调控微生物的时序寿命,将有助于从机理层面更好地理解微生物的时序寿命及其代谢能力的关系。

线粒体是细胞的“能量工厂”。线粒体结构和功能出现异常后,往往就会引发疾病。很多时候,线粒体结构和功能的破坏是不可逆的,利用分子诊疗或基因编辑技术对线粒体进行修复,效果也十分有限。通过向细胞内补充正常的线粒体,来替代细胞内原有的功能障碍线粒体,也可以起到修复线粒体功能的效果。那么,外源加入的线粒体,如何才能通过各种组织屏障进入细胞?进入细胞后,是否能保持其完整结构,以及是否会发生免疫应激或排异反应?外源线粒体是否能以相同的效率进入所有细胞?需要多少剂量的外源线粒体才能产生修复作用?加入外源线粒体在哪些疾病的治疗方面已经取得了进展,针对不同疾病

的线粒体治疗效果是否有所差异?是否会产生相应的伦理问题?真正用于临床治疗的线粒体,如何大规模制备,质量标准如何控制?赵梓圳等作者<sup>[8]</sup>(1168-1177页)对线粒体治疗这一新型生物学疗法相关的问题和挑战进行了讨论。在这个领域,还有很多问题目前难以回答,需要通过更多的基础研究来加深理解。

尺寸为几百微米的微针阵列,不仅是一种新型的无痛、微创皮下注射给药方式,也可以用作对血液和组织液进行原位分析和实时检测的生物传感平台。自然界中最常见的微针就是蚊子的口针、蜜蜂的毒刺以及蛇牙等,受这些生物微针启发,人们陆续研发出了仿生人造微针和人造微针。人造微针又可以分为类似于微缩注射针头的中空微针、用硅或金属材料制备的实体微针、在实体微针上加了药物涂层的涂层微针以及用生物相容性可降解材料制成的可溶微针等。配以微量抽液系统,这些微针已经可以用于生物标志物的检测和特定代谢物的浓度分析。刘天琦等作者<sup>[9]</sup>(1139-1154页)对微针及其在生物诊疗中的应用研究进行了总结。微针生物传感器的稳定性、针对不同人群的适用性以及如何实现大规模低成本的生产,是下一步需要解决的问题。

在边境口岸对输入性传染病病例进行快速筛查,需要开发操作简单、特异性强、灵敏度高、能够实时(或接近实时)检测的技术。陈凡等作者<sup>[10]</sup>(1360-1367页)针对目前用于疟疾筛查的显微镜镜检、免疫学诊断、PCR检测等技术耗时较长的问题,利用金芯片表面固定的疟原虫特异性抗原HRP2与HRP2抗体结合后可以产生表面等离子体共振(SPR)信号的原理,建立了用SPR蛋白芯片快速检测血清中疟疾抗体的方法,检测结果的特异性和灵敏性与荧光定量PCR方法相当,但在20min内即可完成,效率显著提高,为

在边境口岸进行输入性疟疾的快速筛查提供了一种新的可选方案。

当前,“碳达峰、碳中和”的“双碳目标”受到广泛关注。蓝藻是一种原核光能自养微生物,其生长速度较快,也可以被遗传改造。随着合成生物学和代谢工程技术的发展,近10年来被改造的蓝藻细胞工厂已经可以生产20余种不同的化学品。在几天到几周的时间内,目标化学品的浓度可以达到几百mg/L到几十g/L的水平,为光能驱动转化CO<sub>2</sub>生产化学品提供了可能。手性光学纯乳酸因可以用于制备生物可降解材料——聚乳酸而备受关注。目前构建的蓝藻细胞工厂可以将CO<sub>2</sub>转化为D-乳酸或L-乳酸,浓度可以达到g/L的水平。肖建勋等作者<sup>[11]</sup>(1229-1236页)对此技术的发展进行了总结。蓝藻细胞工厂发展的方向是要提高单位细胞连续转化CO<sub>2</sub>为产物的能力。包括提高单位体积中的细胞密度、提高细胞对光能的利用效率、提高单位体积中目标产物的浓度,这些是决定蓝藻细胞工厂生产化学品是否具有竞争力的关键。

## REFERENCES

- [1] 杨姗,李金玉,崔玉军,等. DNA计算的发展现状及未来展望. 生物工程学报, 2021, 37(4): 1120-1130.  
Yang S, Li JY, Cui YJ, et al. The current status and future prospects of DNA computing. Chin J Biotech, 2021, 37(4): 1120-1130 (in Chinese).
- [2] 薛冬梅,朱海霞,杜文豪,等. 基于结构的CRISPR蛋白xCas9的优化设计. 生物工程学报, 2021, 37(4): 1385-1395.  
Xue DM, Zhu HX, Du WH, et al. Structure-based optimization and design of CRISPR protein xCas9. Chin J Biotech, 2021, 37(4): 1385-1395 (in Chinese).
- [3] 史梦然,沈宗毅,张楠,等. CRISPR/Cas9系统在疾病研究和治疗中的应用. 生物工程学报, 2021, 37(4): 1205-1228.

- Shi MR, Shen ZY, Zhang N, et al. CRISPR/Cas9 technology in disease research and therapy: a review. *Chin J Biotech*, 2021, 37(4): 1205-1228 (in Chinese).
- [4] 张托弟, 邓旭东, 赵凤珠, 等. 蛋白质自组装条件筛选形成的透明液滴中存在的自组装现象. *生物工程学报*, 2021, 37(4): 1396-1405.
- Zhang TD, Deng XD, Zhao FZ, et al. Self-assembly in the transparent droplets formed during the screening of protein self-assembly conditions. *Chin J Biotech*, 2021, 37(4): 1396-1405 (in Chinese).
- [5] 马婕, 刘强. 无化学修饰的小分子药物靶蛋白鉴定技术及其应用进展. *生物工程学报*, 2021, 37(4): 1131-1138.
- Ma J, Liu Q. Identification techniques of small molecule drug target proteins without chemical modification and its applications: a review. *Chin J Biotech*, 2021, 37(4): 1131-1138 (in Chinese).
- [6] 陆家兴, 陈明, 秦玉芳, 等. 基于LINCS-L1000扰动信号通过SAE-XGBoost算法预测药物诱导下的细胞活性. *生物工程学报*, 2021, 37(4): 1346-1359.
- Lu JX, Chen M, Qin YF, et al. Prediction of drug-induced cell viability by SAE-XGBoost algorithm based on LINCS-L1000 perturbation signal. *Chin J Biotech*, 2021, 37(4): 1346-1359 (in Chinese).
- [7] 刘佳, 郭亮, 罗秋玲, 等. 细胞寿命在大肠杆菌细胞工厂构建中的应用. *生物工程学报*, 2021, 37(4): 1277-1286.
- Liu J, Guo L, Luo QL, et al. Application of chronological lifespan in the construction of *Escherichia coli* cell factories. *Chin J Biotech*, 2021, 37(4): 1277-1286 (in Chinese).
- [8] 赵梓圳, 付爱玲. 线粒体治疗: 一种新型的线粒体相关疾病的生物疗法. *生物工程学报*, 2021, 37(4): 1168-1177.
- Zhao ZZ, Fu AL. Mitochondrial therapy: a new strategy for treating mitochondrion-associated diseases. *Chin J Biotech*, 2021, 37(4): 1168-1177 (in Chinese).
- [9] 刘天琦, 宋高, 曾志勇, 等. 微针及其在生物诊疗中的应用研究进展. *生物工程学报*, 2021, 37(4): 1139-1154.
- Liu TQ, Song G, Zeng ZY, et al. Microneedles in diagnosis and treatment: a review. *Chin J Biotech*, 2021, 37(4): 1139-1154 (in Chinese).
- [10] 陈凡, 何建安, 董瑞玲, 等. SPR 蛋白质芯片在输入性疟疾筛查中的应用. *生物工程学报*, 2021, 37(4): 1360-1367.
- Chen F, He JA, Dong RL, et al. Application of SPR protein chip in screening for imported malaria. *Chin J Biotech*, 2021, 37(4): 1360-1367 (in Chinese).
- [11] 肖建勋, Pier-Luc Tremblay, 张甜. 蓝细菌固碳合成乳酸技术的发展与展望. *生物工程学报*, 2021, 37(4): 1229-1236.
- Xiao JX, Pier-Luc T, Zhang T. Production of lactate from carbon fixation by cyanobacteria: development and prospect. *Chin J Biotech*, 2021, 37(4): 1229-1236 (in Chinese).