

专论与综述

基于合成生物学治疗高尿酸血症的活体生物药研究进展

傅丽冰^{1,2}, 郑倩望^{1,2}, 林俊芳^{1,2}, 叶志伟^{1,2}, 王斌³, 魏韬^{*1,2}

1 华南农业大学 食品学院生物工程系, 广东 广州 510642

2 广东省微生态制剂工程技术研究中心, 广东 广州 510642

3 广东少和生物科技有限公司, 广东 广州 510220

傅丽冰, 郑倩望, 林俊芳, 叶志伟, 王斌, 魏韬. 基于合成生物学治疗高尿酸血症的活体生物药研究进展[J]. 微生物学通报, 2025, 52(6): 2411-2423.

FU Libing, ZHENG Qianwang, LIN Junfang, YE Zhiwei, WANG Bin, WEI Tao. Research progress in live biotherapeutic products for treating hyperuricemia based on synthetic biology[J]. Microbiology China, 2025, 52(6): 2411-2423.

摘要: 高尿酸血症(hyperuricemia, HUA)是一种常见的代谢性疾病, 尿酸过高时会积聚在关节内形成尿酸盐结晶, 引发痛风, 并可能触发其他健康问题。目前市售降尿酸药物种类繁多, 但普遍存在肾功能损害等副作用。相比之下, 活体生物药治疗高尿酸血症的安全性更高、见效更快且具有调节肠道菌群生态等优点。本文主要阐述了基于合成生物学技术开发治疗高尿酸血症的活体生物药的研究进展, 重点介绍了降解嘌呤前体物质、创建新嘌呤代谢途径、优化尿酸氧化酶表达、尿酸氧化反应的辅助强化等功能模块的构建方式及表达, 为高尿酸血症的活体生物药开发提供了新的思路。

关键词: 合成生物学; 高尿酸血症; 尿酸; 活体生物药

资助项目: 中山大学第六附属医院“揭榜挂帅”(培育支持)项目(2022ZSLYEC-414); 企业委托研发项目(h20220402, h20220403, h20220404, h20220405, h20231320, h20210921)

This work was supported by the Sixth Affiliated Hospital, Sun Yat-Sen University “Ranking and Lead” (Nurturing Support) Project (2022ZSLYEC-414) and the Enterprise-entrusted Research and Development Program (h20220402, h20220403, h20220404, h20220405, h20231320, h20210921).

*Corresponding author. E-mail: weitao@scau.edu.cn

Received: 2024-10-01; Accepted: 2024-12-23; Published online: 2025-01-23

Research progress in live biotherapeutic products for treating hyperuricemia based on synthetic biology

FU Libing^{1,2}, ZHENG Qianwang^{1,2}, LIN Junfang^{1,2}, YE Zhiwei^{1,2}, WANG Bin³, WEI Tao^{*1,2}

1 College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, Guangdong, China

2 Research Center for Microecological Agents of Guangdong Province, Guangzhou 510642, Guangdong, China

3 Guangdong Shaohe Biotechnology Limited Company, Guangzhou 510220, Guangdong, China

Abstract: Hyperuricemia (HUA) is a common metabolic disorder characterized by the accumulation of uric acid in the joints, which leads to the formation of urate crystals and the development of gout. Additionally, HUA can trigger other health issues. Despite the diverse urate-lowering drugs available on the market, they often come with side effects, including renal damage. Live biotherapeutic products are considered safer and more effective for treating hyperuricemia, with the additional benefits of regulating the gut microbiome. This article primarily discusses the research progress in developing live biotherapeutics for treating hyperuricemia based on synthetic biology. It focuses on the construction and expression of functional modules, such as the degradation of purine precursors, the creation of new purine metabolic pathways, the optimization of urate oxidase expression, and the enhancement of uric acid oxidation reactions. This review aims to provide new insights for the development of live biotherapeutic products for hyperuricemia.

Keywords: synthetic biology; hyperuricemia; uric acid; live biotherapeutic products

近年来,随着人们生活水平的不断提高及饮食结构的改变,高尿酸血症的患病率呈逐年上升的趋势,我国患病人数接近 2 亿。高尿酸血症与糖尿病、高血压、心血管疾病等多种疾病密切相关,甚至成为继糖尿病之后的第二大代谢性疾病,严重影响人类的健康水平和生活质量。传统治疗药物价格昂贵,容易对药物产生不良反应,治疗周期长、定期监测血尿酸含量等手续烦琐。因此,本文从高尿酸血症的形成过程切入嘌呤、尿酸的合成代谢途径,着重汇总近年来关于利用合成生物学技术治疗高尿酸血症的活体生物药研究,以期对该病症的治疗方法有更多的认识与启发。

1 高尿酸血症概况

高尿酸血症(hyperuricemia, HUA)是一种常见的代谢性疾病,其主要特征是血液中尿酸水

平升高。正常嘌呤饮食下,非同日 2 次空腹血尿酸水平 $>420\ \mu\text{mol/L}$ 即可诊断为高尿酸血症^[1]。高尿酸血症与性别、年龄、地域分布、饮食习惯等多方面因素密切相关。1948–1958 年,我国报道患高尿酸血症人数不超过 30 例,属于罕见病范畴^[2–3]。截至 2024 年,高尿酸血症患者已达 1.9 亿多,以定居沿海城市的男性为主;并且高尿酸血症患病率呈逐年增加、年轻化的趋势^[4]。因高尿酸血症发病率达 13.3%^[5],患病人数仅次于高血压、高血脂、高血糖,被人们称作“第四高”。

1.1 高尿酸血症的病因及危害

尿酸微溶于水,易形成晶体。尿酸由人体肝脏代谢产生,也是经过嘌呤代谢形成的最终产物。尿酸在人体的嘌呤代谢途径分布见图 1。

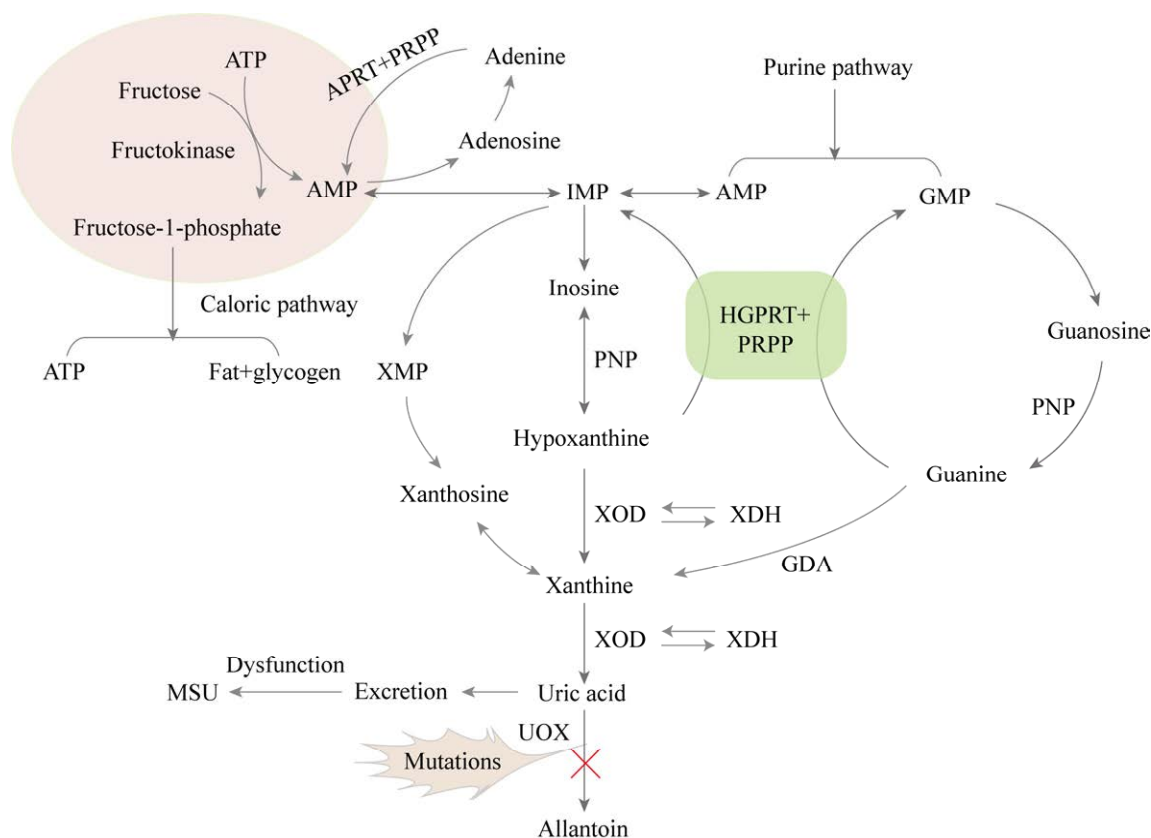


图1 人体尿酸代谢途径分布 人体尿酸生成主要分为3个部分:(1) 嘌呤代谢:①腺苷一磷酸(adenosine monophosphate, AMP)转换为肌苷一磷酸(inosine monophosphate, IMP), IMP 在多重酶促反应作用生成尿酸;②鸟苷一磷酸(guanosine monophosphate, GMP)多重酶作用生成终产物黄嘌呤(xanthine)进而在黄嘌呤氧化酶(xanthine oxidase, XOD)作用生成尿酸;尿酸因人体无法降解为尿囊素,进而沉积成尿酸结晶盐(monosodium urate, MSU)。(2) 腺嘌呤代谢为 AMP, AMP 进一步转换为 IMP 进而参与尿酸生成。(3) 果糖的摄入:果糖通过果糖激酶磷酸化作用会消耗三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)产生大量 AMP,进而导致过度嘌呤代谢分解为尿酸。APRT: 腺嘌呤磷酸核糖转移酶; PRPP: 磷酸核糖焦磷酸; XMP: 黄苷一磷酸; PNP: 嘌呤核苷磷酸化酶; HGPRT: 次黄嘌呤-鸟嘌呤磷酸核糖转移酶; GDA: 鸟嘌呤脱氨酶; XDH: 黄嘌呤脱氢酶; UOX: 尿酸氧化酶。

Figure 1 Distribution of human uric acid metabolic pathways. The generation of uric acid in the human body is mainly consists of three parts: (1) Purine metabolism: ① Adenosine monophosphate (AMP) is converted into inosine monophosphate (IMP), and IMP generates uric acid under the action of multiple enzymatic reactions; ② Guanosine monophosphate (GMP) undergoes a series of enzymatic reactions to ultimately form xanthine. This xanthine is subsequently oxidized into uric acid by the enzyme xanthine oxidase (XOD); The human body lacks the ability to break down uric acid into allantoin, leading to the accumulation of uric acid in the form of crystal salts. (2) Adenine is metabolized into AMP, and AMP is further converted into IMP and then participates in uric acid generation. (3) Fructose intake: Fructose will consume ATP through the phosphorylation of fructokinase to produce a large amount of AMP, which in turn leads to excessive purine metabolism and decomposition into uric acid. APRT: Adenine phosphoribosyltransferase; PRPP: Phosphoribosyl pyrophosphate; XMP: Xanthosine monophosphate; PNP: Purine nucleoside phosphorylase; HGPRT: Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase; GDA: Guanine deaminase; XDH: Xanthine dehydrogenase; UOX: Urate oxidase.

嘌呤的来源分为内源性嘌呤和外源性嘌呤：内源性嘌呤的占比为 80%、多来自核酸的氧化分解；外源性嘌呤占总嘌呤的 20%，主要来自食物摄取，如酒精、高果糖食物^[6]。人体内约 2/3 的尿酸经肾脏排泄，约 1/3 的尿酸经肠道排泄^[7]。如图 2 所示，当尿酸产生过量或是尿酸排泄量减少很可能会出现沉积尿酸结晶盐(monosodium urate, MSU)。

尿酸经肾小球过滤、近端肾小管重吸收、分泌和分泌后再吸收，最后，只有 10% 未吸收的尿酸通过远端肾小管排出体外^[8]。尿酸的重吸收和分泌都依赖于近端肾小管上皮顶端和基底外侧膜中的转运蛋白。这些蛋白质的表达量减少会引起肾脏转运吸收尿酸困难，使得尿酸排泄异常，导致血尿酸浓度升高^[9]。因此，尿酸在肾脏排泄异常时易引起尿酸盐肾结石和肾功能损害。此外，尿酸结晶盐直接黏附、沉积于人体滑膜、软骨等关节组织中，引起急性或慢性关节炎(痛性关节炎)，最终导致痛风^[10]。它还与心血管系统和代谢系统的多种疾病相关，如高

血压及冠状动脉疾病(coronary artery disease, CAD)等^[11]。

另一方面，尿酸会增强果糖激酶的表达，从而增加果糖-1-磷酸(fructose-1-phosphate)高水平的积累，果糖-1-磷酸与葡萄糖代谢酶作用产生的代谢物能够促进绒毛伸长并促进肠道吸收营养物质，进而促进脂肪的积累和肠道肿瘤的生长^[12-13]。同时，人体摄入果糖，果糖在果糖激酶作用下消耗 ATP；ATP 易转化为 AMP，从而诱导过量的嘌呤分解代谢产生尿酸^[14]。磷酸盐会以一种易于转化为脂质前体的形式转移到果糖中，加上果糖在肝脏的代谢过程中无限速酶且不存在负反馈作用，最终果糖的代谢会产生大量代谢中间产物，如脂肪酸、甘油三酯，从而增加脂肪肝和其他代谢的风险^[15]。综上，果糖的摄入会增强脂肪和尿酸的产生，从而增大了肥胖、患高尿酸血症的可能性^[16]。

1.2 治疗高尿酸血症的药物

一般治疗高尿酸血症的药物分为抗炎镇痛药物和降尿酸药物。传统抗炎镇痛药物包括秋

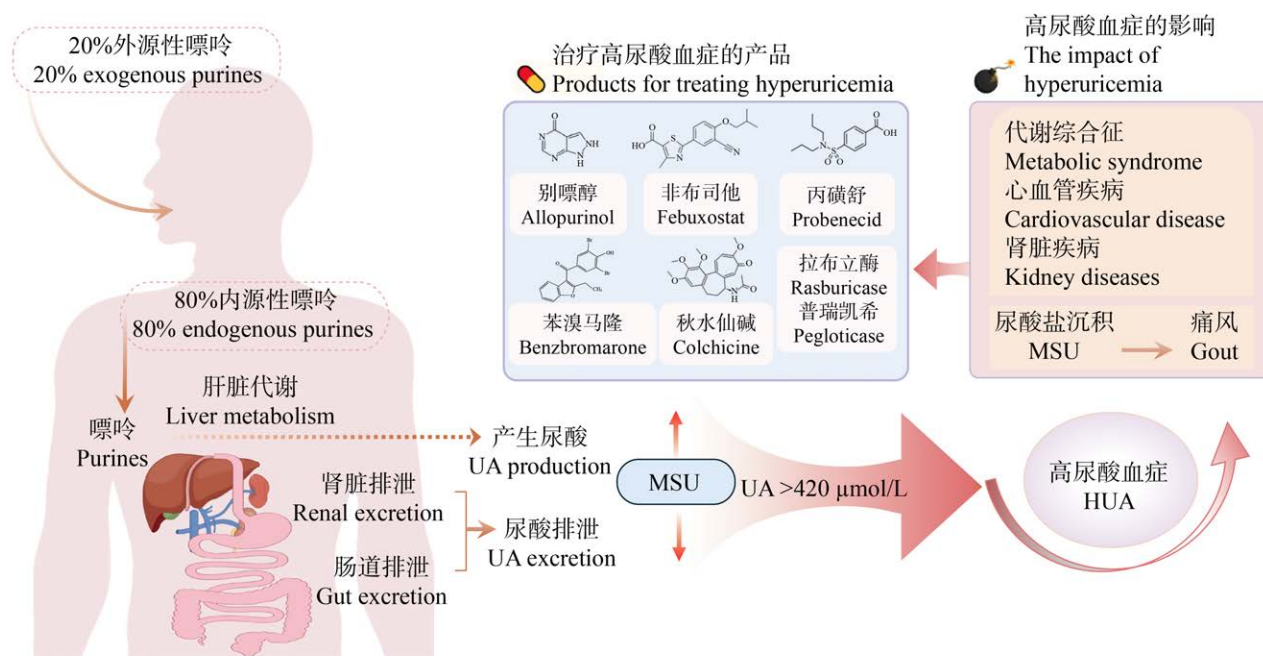


图 2 高尿酸血症形成机制示意图及治疗药物

Figure 2 Schematic diagram of the hyperuricemia formation mechanism and therapeutic drugs.

水仙碱、非甾体抗炎药(如吲哚美辛)和糖皮质激素。虽然这些药物在抗炎镇痛、抑制尿酸产生和促进尿酸排泄方面具有典型作用,但它们表现出严重的副作用和药物间相互作用,会引起肾脏和肝脏损伤以及胃肠道毒性等^[17]。中国指南建议当痛风患者血尿酸浓度 $\geq 480 \mu\text{mol/L}$ 或伴随其他病症且血尿酸浓度 $\geq 420 \mu\text{mol/L}$ 时,需进行降解尿酸药物治疗^[1]。降解尿酸药物以抑制尿酸产生、促进尿酸排泄及尿酸降解为目标。抑制尿酸产生的药物有嘌呤核苷磷酸化酶(purine nucleoside phosphorylase, PNP)抑制剂如乌地辛(ulodesine);黄嘌呤氧化酶抑制剂药物如别嘌呤醇、非布索坦,托匹司他(同时抑制黄嘌呤脱氢酶、黄嘌呤氧化酶的酶抑制剂)^[18]。促尿酸排泄药物有苯溴马隆、丙磺舒、磺胺吡酮等^[19]。然而,抑制尿酸产生的药物会引起严重超敏反应综合征,使用受到限制;促尿酸排泄的药物会增加肾脏的代谢负担,增加肾结石形成的风险^[20]。

此外,直接尿酸降解药物有重组尿酸氧化酶拉布立酶和聚乙二醇化重组尿酸氧化酶(pegloticase)。两者是均已获美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准的重组尿酸氧化酶制剂^[21],可用于治疗晚期痛风或预防化疗后的尿酸盐肾病。然而,使用聚乙二醇化重组尿酸氧化酶免疫原性高风险相关,导致该药物对某些患者无效;大多数患者在痛风治疗期间单独使用会产生抗药抗体,无法达到降尿酸作用反而增加注射酶制剂出现过敏反应的风险^[22-23]。但2022年7月普瑞凯希通过FDA获批适应证,可与甲氨蝶呤联用治疗难治性痛风^[24]。因此,近年来针对高尿酸血症的治疗研究取得显著进展,越来越多的活体生物药(live biotherapeutic product, LBP)被开发用于降解尿酸。

活体生物药也称活菌药物,将微生物作为配方药物应用到人体肠道,并可在肠道定殖生长^[25]。另外, FDA 对此定义有 3 个特征: (1)

含有活的生物体,如细菌; (2) 可用于预防、处理、治疗人类疾病或适应证; (3) 非疫苗品种。在研的 LBP 分为单菌、复合菌、工程菌、基于粪菌移植开发(fecal microbiota transplantation, FMT)等类型^[26]。不同于传统药物, LBP 药物不仅包含对人体有益处的肠道微生物,还结合了基因工程功效型工程菌。LBP 进入人体肠道后,作用机制更丰富且可复制;更容易获得良好的治疗效果,比传统药物安全性更高、见效更快^[27]。

微生物能够与人体肠道菌群共存,以益生菌形式去参与嘌呤、尿酸的降解;并且能够调节黄嘌呤氧化酶和肾脏尿酸转运蛋白^[28]。更重要的是,尿酸转运蛋白的调控不仅在肾脏,在肠道也存在其表达功能^[29-30],所以人体摄入活体生物药对于治疗高尿酸血症有一定的应用前景。

当人体摄入食物,微生物将从源头上分解嘌呤,减少肠道吸收量,减少产生尿酸,从而缓解机体排泄尿酸负担,例如乳酸杆菌(*Lactobacillus*)、双歧杆菌(*Bifidobacterium*)^[29]。黄晓琳等^[31]发现杭州远大生物制药有限公司生产的双歧杆菌四联活菌辅助治疗痛风效果显著,可有效降低尿酸水平。任宇杰等^[32]筛选的植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*) SR2-6 对肌苷和鸟苷的降解率分别达到 99.26%和 98.85%。甚至有研究在泡菜中筛选到乳酸菌复合菌 RSJ-1;进而分离到 2 株纯菌种,以其组合成比例 2:1 的复合菌系比原单菌降解尿酸能力提高了 67.22%^[33];证明了乳酸菌复合菌系对尿酸的降解作用优于单个菌株,为后续利用复合菌系缓解高尿酸血症提供了数据支持。而 Lee 等^[34]发现副干酪乳杆菌(*Lactocaseibacillus paracasei*) MJM60396 在高尿酸血症小鼠模型中有以下作用:吸收嘌呤、抑制黄嘌呤氧化酶表达以减少尿酸合成,并调节尿酸盐转运蛋白增加尿酸排泄。大多数微生物是通过减少嘌呤前体(如肌苷、鸟苷)来减少黄嘌呤生成,从而达到减少尿酸含量。

此外,研究在正常人群肠道筛选获得的降尿酸菌株粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*)在厌

氧、需氧条件下均具有较高的尿酸降解率,对常见的抗生素(如阿莫西林)具有较高的敏感性^[35]。与异源表达尿酸氧化酶的工程菌,像这种源自人体肠道的降解尿酸菌株可使人体免疫原性更低,宿主耐受性更佳。为今后更多的降解尿酸菌种资源提供参考并在临床应用该菌治疗 HUA 实践提供科学依据,具有极大的社会价值和意义。还有研究^[36]把植物乳杆菌(*Lactiplantibacillus plantarum*) KU985438 和鼠李糖乳杆菌(*Lactiplantibacillus rhamnosus*) KU985439 制作的功能性酸奶在高尿酸血症动物模型进行临床应用,表现出显著降解尿酸的作用;同时,对 MSU 诱导的大鼠关节炎也具有保护和治疗作用,这为后续开发相关降解尿酸产品提供新的思路。

传统治疗高尿酸血症的药物价格昂贵,治疗周期长,还需要定期监测血尿酸含量,而且高尿酸血症患者易出现对药物的过敏反应及代谢负荷。相较而言,治疗高尿酸血症的活体生

物药更安全可靠。因此,本文以合成生物学技术为出发点,汇总了当下基于 LBP 治疗高尿酸血症的方式(图 3),为更多地研究 LBP 治疗高尿酸血症提供重要有用的科学参考依据。随着科学技术的不断进步,相信高尿酸血症的治疗方法和手段也会不断得到完善,从而更好地帮助患者恢复。

2 合成生物学设计 LBP 治疗高尿酸血症的研究

近年来,由于新兴技术合成生物学的出现,改变了生命科学家设计和构建治疗药物的方式。合成生物学通过引入合成基因电路产生工程化活体生物药,从而实现多类型细胞的功能化。合成生物学建立在相互作用的基因和蛋白质的遗传回路之上,将分子生物学、工程学和计算机科学技术交叉联合,构建遗传系统所需的细胞行为。

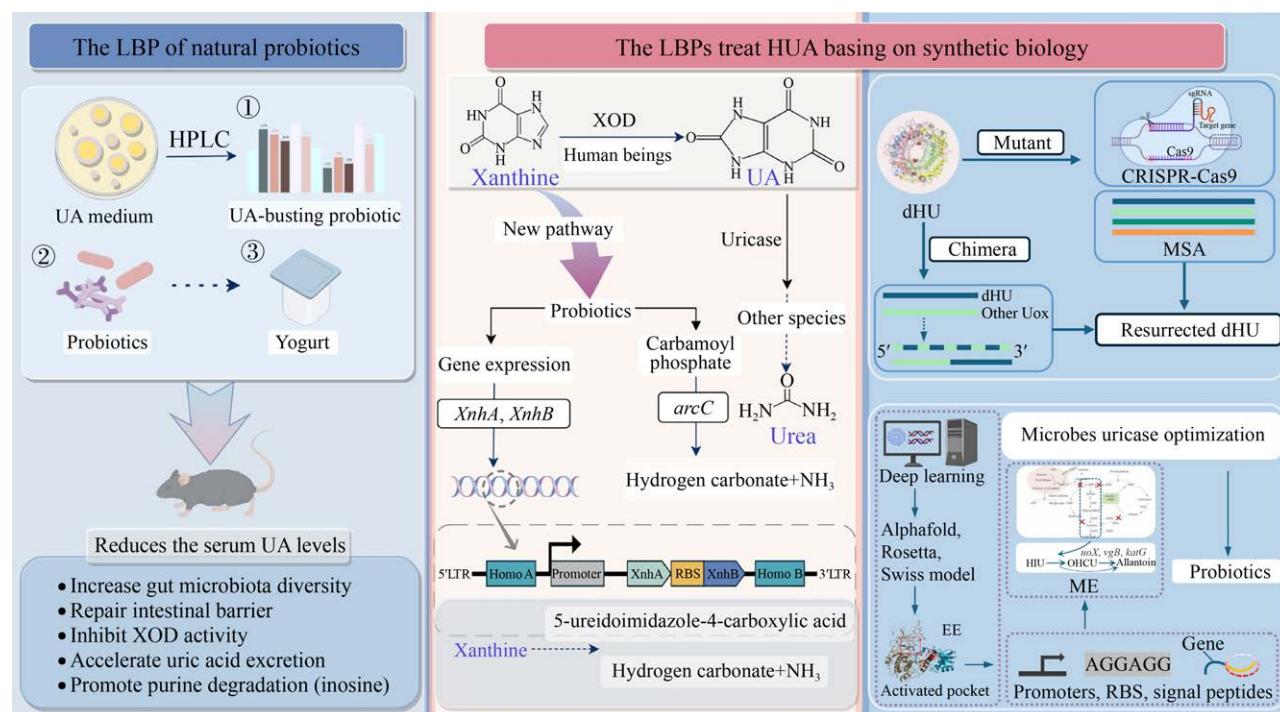


图3 活体生物治疗产品治疗高尿酸血症机制示意图

Figure 3 Schematic diagram of the mechanism for live biotherapeutic product (LBP) treating hyperuricemia.

2.1 合成生物学技术组成

遗传回路的结构一般可分为3个基本模块^[37]:

(1) 输入模块:检测生物或非生物信号并将其转换为可解释的分子信号。(2) 操作模块:计算从输入模块发送的信号并确定适当的细胞行为。(3) 输出模块:将计算出的信号转换为所需的细胞响应。这些模块的组成和集成主要包括以下几种技术^[38]: 1) 基因编辑技术:如 CRISPR-Cas9 系统; 2) 基因合成:用于构建新的基因或基因回路; 3) 基因回路设计:如布尔逻辑(AND、OR、NOT 等)以控制基因的表达; 4) 启动子、转录因子和调控元件设计:用来控制基因的表达和强度。5) 蛋白质工程:通过定向进化或计算设计方法改造蛋白质,以获得所需的功能; 6) 代谢工程:改造细胞的代谢途径,以增加特定化合物的产量或赋予细胞新的能力; 7) 细胞工程:将细胞改造成生产药物、燃料或其他有用化学物质的工厂; 8) 计算生物学和系统生物学:使用计算模型来预测生物系统的动态行为,指导实验设计。这些手段可以单独使用或组合使用,以实现合成生物学的目标,包括基础研究、生物技术应用和医学治疗^[33]。

2.2 减少合成尿酸量工程化 LBP

嘌呤主要存在于核酸如 DNA、RNA 及一些食物中。人体与之相关的有黄嘌呤、腺嘌呤、鸟嘌呤、次黄嘌呤、肌苷等。徐珏^[39]基于转录组学发现短乳杆菌(*Brevilactibacter* sp.) PDD-5 在嘌呤代谢通路中的特异性,该菌株将黄嘌呤代谢产物降解成碳酸氢根离子,而非产生尿酸,从而达到降解尿酸的效果。Tong 等^[40]按照黄嘌呤催化不产尿酸的思路,发现黄嘌呤降解成亚胺甲基甘氨酸的代谢途径,通过在黄嘌呤渗透酶(*xanQ*)、鸟嘌呤脱氨酶(*guaD*)和鸟嘌呤/次黄嘌呤渗透酶(*ghxQ*)等基因的上游插入强组成型启动子 P_{gapA} ,并将催化黄嘌呤释放 NH_3 的 *XnhA*、*XnhB* 酶基因整合进益生菌大肠杆菌 Nissle 1917;最终,该工程菌实现在厌氧条件下以黄嘌呤为唯一碳源生长,并证明在高

尿酸血症果蝇模型口服该工程菌后有缓解高尿酸血症的作用。简而言之,改变黄嘌呤代谢产生尿酸反应途径,催化其合成其他物质,能够减少尿酸生成量。

2.3 直接降解尿酸工程化 LBP

通过尿酸氧化酶降解尿酸的方法归结为两种途径:一种是将人类的尿酸氧化酶恢复活性;另外一种表达其他生物体具有活性的尿酸氧化酶。

不同物种之间的尿酸水平差异很大;相较于所有其他哺乳动物,人类的尿酸水平最高^[41]。尿酸氧化酶(urate oxidase, UOX)几乎存在于所有生物体中,从细菌到哺乳动物都具有共同的进化起源。而人尿酸氧化酶随着自然法则演绎逐渐失活,归因于外显子2中第33位密码子、第187位密码子的无义突变,以及外显子3中的剪接突变^[42-43]。

重组尿酸氧化酶对于人体是外源性蛋白质,当人被注射该产品会引起过敏反应等症状。这严重限制了临床上应用重组尿酸氧化酶制剂产品。以“pegloticase”为搜索词,报告了988起不良事件^[44]。2021年,Allena 制药公司开发的尿酸氧化酶口服剂 ALLN-346,经动物实验验证可降解肠道尿酸,并降低了全身性严重免疫反应的风险^[45]。由此可见,使用基因工程化的益生菌表达是直接降解肠道中尿酸酶的良好替代方案。

2.3.1 工程化人源 UOX

直接改造人体尿酸氧化酶的复性,有以下几种方式:(1) 利用 CRISPR 基因编辑系统将人体尿酸氧化酶的基因进行突变。利用 CRISPR-Cas9 技术成功激活人体细胞中尿酸氧化酶基因,并实现重组尿酸氧化酶与过氧化物酶共定位,证明此技术可用于 UOX 整合到人肾细胞中;该方法比注射聚乙二醇化重组尿酸氧化酶更少出现产生免疫反应过激情况,酶活性更加稳定^[46]。(2) 基于多序列比对,通过定点突变改造尿酸氧化酶蛋白结构。研究发现人假设尿酸氧化酶

(deduced human uricase, dHU)有 15 个显著不同的氨基酸位点,通过对 dHU 结构点突变最终构建得到具有活性的人尿酸氧化酶 rHU19,活性达 (8.29 ± 0.07) U/mg,与 dHU 相似性为 93.75%^[47]。(3) 构建人尿酸氧化酶与其他生物尿酸氧化酶之间的嵌合体:比如人-猪 UOX 嵌合体、犬-人 UOX 嵌合体等^[48-49]。改造 UOX 嵌合体由于需要考虑人体免疫反应,一般都通过生物学技术改造获得更人源化的 UOX 嵌合体。基于此,可以减少免疫反应刺激、降低过敏反应或其他不良反应的风险,从而提高治疗的安全性和有效性。

Xie 等研究^[49]把 dHU 替换野生猪尿酸酶(wild porcine uricase, wPU) 3、5、6 号外显子,并对 24 位和 83 位的氨基酸进行点突变(E24D & E83G)得到酶 $H_{1-2}P_3H_4P_{5-6}H_{7-8}$ (E24D & E83G);该酶的比酶活为 (6.03 ± 0.06) U/mg 与 dHU 的相似性增加达到 91.45%,但在改造人源嵌合体除存在免疫反应,还出现包涵体不能正确表达蛋白等情况。Zhou 等^[50]在大肠杆菌(*Escherichia coli*)将 dHU-wHU 联合双融合标签麦芽糖结合蛋白(maltose binding protein, MBP)、小分子泛素相关修饰蛋白(small ubiquitin related modifier, SUMO)过表达,酶活性达到 (5.0 ± 0.25) U/mg,在 1 L 的 M9 培养基中获得 15 mg 可溶性 UOX 蛋白。Wang 等^[51]将 *wPU* 基因的 N 端序列、*dHU* 基因的 C 端序列相嵌合成猪-人重组尿酸氧化酶(porcine-human recombinant uricase, PHRU),通过定点突变 dHU (*33R & *187R),并且采用聚乙二醇来增强 PHRU 稳定性和降低免疫原性,实现了在大肠杆菌中成功表达融合蛋白聚乙二醇化猪肝-人重组尿酸氧化酶(polyethylene glycol-porcine-human recombinant uricase, PEG-PHRU);同时,动物实验研究表明 PEG-PHRU 显著降低大鼠血尿酸水平,并减轻肾损伤。这种新型融合蛋白在治疗高尿酸血症及并发症方面展现出巨大的市场应用潜力,为降解尿酸的临床治疗提供了有前景的治疗策略。

2.3.2 工程化微生物 UOX

虽然人和猿类 UOX 失活,但近来发现越来越多微生物可以产尿酸氧化酶^[52],若以此作为口服剂来降解尿酸,或将成为治疗高尿酸血症的突破口。

微生物可以在含尿酸的环境中生长,所以可以从中筛选降解尿酸的菌株。例如,从鸡饲料中分离筛选出产 UOX 的枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*) SP6,使用 Plackett Burman 设计筛选出影响酶产量的关键因素,并以此运用中心复合设计进一步优化培养基碳、氮源,相较于初始培养基,优化后的培养基使得 UOX 的产量增加了 13.23 倍^[53]。使用易错 PCR 方法获得 UOX 突变酶库,并进行高通量筛选方法得到突变体(L171I/Y182F/Y187F/A193S)^[54]。Wang 等^[55]筛选到产尿酸氧化酶的酵母菌株 NBRC 1777,通过与亲和标签纤维素、自裂解内含肽融合表达,比酶活性 50.54 U/mg。此外,研究通过计算生物信息学及分子动力学模拟计算得到构建尿酸氧化酶突变体 HorUm (E183Y)和 TetUm (D265E)的酶活性比野生型分别提高了 2.02 倍和 1.17 倍^[56-57]。

由于尿酸氧化酶的酶促反应需要氧气并会产生有害物质,如过氧化氢,Zhao 等^[58]构建了一株能够在常氧和低氧条件下快速降解尿酸的工程化菌株 *Escherichia coli* Nissle 1917 (EcN);基于 EcN 异源表达枯草芽孢杆菌降解尿酸相关酶基因 *pucL*^(MT)和 *pucM*,并引入尿酸转运蛋白 YgfU、过氧化氢酶和血红蛋白,同时进行动物实验证实了该工程菌可以有效地降解尿酸。此外,Gencer 等^[59]开发了一种结合枯草芽孢杆菌蛋白 PucR、绿色荧光蛋白 GFP 的尿酸报告工程菌以监测肠腔中尿酸浓度的变化,PucR 蛋白是参与诱导嘌呤降解途径的转录激活因子;另外构建了降解尿酸表达模块,经实验表明,尿酸报告工程菌以剂量依赖性检测尿酸浓度,降解尿酸表达模块成功降解尿酸。但 He 等^[60]发现尿酸转运蛋白 YgfU 有时不能准确地运输尿

酸,并且尿酸氧化酶在细胞表达的位置也会影响降解尿酸的效率;他们利用信号肽融合表达 UOX,驱使酶进入细菌周质空间构建得到 EcN C6 工程菌株,经验证,口服 EcN C6 可以减轻高尿酸血症大鼠模型的高尿酸血症症状。这些研究从不同角度探索尿酸的降解内容,从酶促反应出发构建工程菌,再到尿酸转运、尿酸氧化酶表达位置的优化等,不断深入研究尿酸降解机制,为未来治疗高尿酸血症等提供了理论依据和实验基础。

2.4 LBP 基于合成生物学技术治疗高尿酸血症风险

尽管合成生物学技术为治疗高尿酸血症提供了新的研究方向,但基于合成生物学研究 LBP 与生物安全问题密切相关。对于活体生物药商业化后是否足够安全投放于市场,需要经过多重风险评估与监管措施。确定合成生物学技术与人类健康有关的风险因素有 4 种类型:过敏、抗生素耐药性、致癌性和致病性或毒性;同时其和环境污染相关也有 4 种风险类型:环境的变化或枯竭、与本地物种的竞争、基因水平转移和致病性或毒性^[61]。

合成生物学是基于多个基因元件组装的工程,其设计的新组装元件功能特性是否能稳定准确表达,尤其是新型酶(人源化尿酸氧化酶、野生酶突变体)在体外试验和动物实验效果显著,但在人体内的活性需进一步临床研究。此外,活体生物药可能引发免疫反应或具有未知的毒性,这需要在临床试验中进行严格评估^[62]。基于合成生物学技术的 LBP 后续可能存在生产不稳定、批次间差异大等问题,也会影响药物的疗效和安全性;对于环境是否可能造成微生物耐药威胁如生物入侵等风险^[63]。

活体生物药的使用涉及伦理问题,如基因编辑技术:CRISPR/Cas9 基因编辑技术存在脱靶(在目标基因的编辑过程中对非目标位置进行编辑)的潜在生物安全问题;基因编辑技术也存在被误用和滥用的风险,若实验操作不当、

对遗传物质造成意外改造或修饰,将会产生不可预估的后果^[64]。这些都需要建立相应的监管框架来确保研究的合规性和安全性。

合成生物学治疗高尿酸血症的活体生物药可能对人体产生长期影响,这些影响目前尚不完全清楚,需要进行长期跟踪研究。因此,在推广合成生物学治疗高尿酸血症的活体生物药时,应充分考虑这些潜在风险,并采取相应的措施来确保药物的安全性和有效性。

3 讨论与展望

活体生物药治疗高尿酸血症研究机制分为两部分:一是获得降解嘌呤前体物质,利用尿酸的益生菌菌株或是益生菌对肠道菌群生态环境的影响,以此来达到治疗高尿酸血症;二是从酶出发,抑制黄嘌呤氧化酶,增强尿酸氧化酶的表达量,多在动物实验层面得到验证。这里利用生物技术如基因编辑技术以及转录组学、生物信息学等来更深层次地认识酶基因或者代谢途径。进一步以此构建含有活性的尿酸氧化酶,黄嘌呤氧化酶工程菌株降解尿酸或是阻遏合成尿酸,最终达到缓解高尿酸血症的效果。但是,通过活体生物药治疗高尿酸血症存在临床研究少、药物安全、用户疗效个性化及国家部门监管审批等问题。

目前,益生菌治疗高尿酸血症只是通过目标物质的筛选,如发现益生菌可以调节肠道菌群和影响嘌呤代谢等作用;这里需要更多的临床试验验证具体的作用机制。或许可运用同位素标记法示踪菌株或目标物质,以探明菌株如何吸收并降解尿酸,进而基于合成生物学技术让整个代谢通路顺应改造的方向前进,如研究利用深度学习和分子动力学模拟揭示肽作为黄嘌呤氧化酶非竞争性抑制剂的调节机制。

除此之外,基于合成生物学治疗高尿酸血症的 LBP 还有以下几个方面需要考量及优化。

(1) 在构建表达尿酸氧化酶的工程菌以治疗高尿酸血症时,应优化载体的设计,减少外源性

抗性基因的残留。目前,有研究改造益生菌大肠杆菌 Nissle1917 的内源性质粒 pMUT1 和 pMUT2 实现无抗性表达^[65]。未来可以开发稳定性更好、没有抗性的隐藏质粒。此外,运用 CRISPR-Cas9 基因编辑技术改造菌株虽然可以实现无抗性表达,但要确保技术是否影响菌株生长,导致其他代谢紊乱。并且相较于质粒表达,基因组表达由于拷贝数低、表达酶蛋白量少,治疗功效大大减弱。除考虑整合基因组拷贝数外,还需考虑整合位点的稳定性。通过合成生物学技术优化改造生产菌株,采用低拷贝质粒调控转录水平、筛选高效表达的菌株底盘,实现蛋白酶的高效表达。进一步通过理性设计(如关键氨基酸位点突变)优化酶活性和稳定性。(2) 开发基于工程菌的肠道递送系统需要考量菌在肠道的生长情况及定殖能力、LBP 递送效率及药效持久性等问题^[66]。因此,需要进一步优化菌生长环境和耐受条件,做出具体的方案评估药效。(3) LBP 以微生物为主,其安全性必然是需要考量的。除去定量调控目标基因的表达,还要防止菌株基因突变。需要对 LBP 做毒理学、药物代理学等实验,观察 LBP 临床治疗过程患者的不适和副作用,及时遏制生物污染。(4) 对已挖掘的天然 LBP 和酶代谢途径,可以运用合成生物学技术继续改造。如 Zhang 等研究^[67]基于已有的代谢通路,将旁支基因敲除,实现高效的尿酸氧化酶和黄嘌呤脱氢酶表征,获得 2 360 mg/L 的尿囊素。

如今活性生物药在市场接受力度日趋向上,LBP 生成效率更高,是安全可控的生物药。降解尿酸工程益生菌形式各异,但挖掘新的方式改造酶并提高降解尿酸的能力还需要结合多学科技术。若是将计算生物信息学、高通量筛选技术联合以筛选出降解尿酸功能更活跃的天然益生菌菌株会是一个新的方向。此外,Tran 等研究^[68]证明了将重组祖先尿酸氧化酶封装在纳米材料中,通过口服给予 UOX 敲除小鼠模型,可以预防内源性尿酸水平的积累,并在有限的治疗方案中抑制由高尿酸血症引起的

一些肾脏损伤。这为肠道递送活性药物提供了一定的参考价值。最后,人源尿酸氧化酶基因具体失活机制现已清楚,若结合碱基编辑技术对其改造,加上肝细胞培育也会是一个新的治疗方向。由于人体肠道菌群复杂,使用益生元产品既可以提供治高尿酸血症的功效又能改善人体肠道菌生态,工程菌治疗高尿酸血症的方式将会逐步成为新式潮流。

作者贡献声明

傅丽冰:文献收集、绘图与论文撰写;郑倩望、林俊芳、叶志伟:论文指导;王斌:文献收集与经费支持;魏韬:指导、论文审校与经费支持。

作者利益冲突公开声明

作者声明绝无任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

REFERENCES

- [1] 方宁远,吕力为,吕晓希,向阳,李兵,李彩凤,何超,陈伟,陈彤,周建军,高鑫,梅长林,梁朝朝,管阳太,薛鸾,戴宇翔,李林,朱小霞,林寰东,戴若莲,等. 中国高尿酸血症相关疾病诊疗多学科专家共识(2023 年版)[J]. 中国实用内科杂志, 2023, 43(6): 461-480.
FANG NY, LV LW, LV XX, XIANG Y, LI B, LI CF, HE C, CHEN W, CHEN T, ZHOU JJ, GAO X, MEI CL, LIANG ZZ, GUAN YT, XUE L, DAI YX, LI L, ZHU XX, LIN HD, DAI RL, et al. China multi-disciplinary expert consensus on diagnosis and treatment of hyperuricemia and related diseases (2023 edition)[J]. Chinese Journal of Practical Internal Medicine, 2023, 43(6): 461-480 (in Chinese).
- [2] 张超,常岭迪,冯伟,韩东晖,李宇,彭诗元,杨力军,张杰,张克英,秦卫军. 高尿酸血症发病机制与治疗策略的研究进展[J]. 空军军医大学学报, 2024(10): 1184-1190.
ZHANG C, CHANG LD, FENG W, HAN DH, LI Y, PENG SY, YANG LJ, ZHANG J, ZHANG KY, QIN WJ. Research progress on the pathogenesis and treatment strategies of hyperuricemia[J]. Journal of Air Force Medical University, 2024(10): 1184-1190 (in Chinese).
- [3] 赵敏,陈婷,黄振光,钟秋安. 1990-2019 年中国痛风疾病负担研究[J]. 现代预防医学, 2021, 48(21): 3974-3978.
ZHAO M, CHEN T, HUANG ZG, ZHONG QA. Disease burden of gout in China, 1990-2019[J]. Modern Preventive Medicine, 2021, 48(21): 3974-3978 (in Chinese).

- [4] LI Y, SHEN ZY, ZHU BW, ZHANG H, ZHANG XY, DING XQ. Demographic, regional and temporal trends of hyperuricemia epidemics in the mainland of China from 2000 to 2019: a systematic review and meta-analysis[J]. *Glob Health Action*, 2021, 14(1): 1874652.
- [5] LIU R, HAN C, WU D, XIA XH, GU JQ, GUAN HX, SHAN ZY, TENG WP. Prevalence of hyperuricemia and gout in the mainland of China from 2000 to 2014: a systematic review and meta-analysis[J]. *BioMed Research International*, 2015: 762820.
- [6] JUNG SW, KIM SM, KIM YG, LEE SH, MOON JY. Uric acid and inflammation in kidney disease[J]. *American Journal of Physiology Renal Physiology*, 2020, 318(6): F1327-F1340.
- [7] ROMAN YM. The Daniel K. inouye college of pharmacy scripts: perspectives on the epidemiology of gout and hyperuricemia[J]. *Hawai'i Journal of Medicine & Public Health*, 2019, 78(2): 71-76.
- [8] RUIZ A, GAUTSCHI I, SCHILD L, BONNY O. Human mutations in SLC2A9 (Glut9) affect transport capacity for urate[J]. *Frontiers in Physiology*, 2018, 9: 476.
- [9] DU L, ZONG Y, LI HR, WANG QY, XIE L, YANG B, PANG YD, ZHANG CQ, GAO JJ. Hyperuricemia and its related diseases: mechanisms and advances in therapy[J]. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2024, 9(1): 212.
- [10] CHOI HK, MOUNT DB, REGINATO AM. Pathogenesis of gout[J]. *Annals of Internal Medicine*, 2005, 143(7): 499-516.
- [11] 刘开翔, 田冬琴, 冯杰. 慢性肾脏病高尿酸血症危害及管理研究进展[J]. *西部医学*, 2019, 31(2): 322-325.
LIU KX, TIAN DQ, FENG J. The risk and management of hyperuricemia in chronic kidney disease: a review[J]. *Medical Journal of West China*, 2019, 31(2): 322-325 (in Chinese).
- [12] TAYLOR SR, RAMSAMOOJ S, LIANG RJ, KATTI A, POZOVSKIY R, VASAN N, HWANG SK, NAHIYAAN N, FRANCOEUR NJ, SCHATOFF EM, JOHNSON JL, SHAH MA, DANNENBERG AJ, SEBRA RP, DOW LE, CANTLEY LC, RHEE KY, GONCALVES MD. Dietary fructose improves intestinal cell survival and nutrient absorption[J]. *Nature*, 2021, 597(7875): 263-267.
- [13] LANASPA MA, SANCHEZ-LOZADA LG, CICERCHI C, LI NX, RONCAL-JIMENEZ CA, ISHIMOTO T, LE M, GARCIA GE, THOMAS JB, RIVARD CJ, ANDRES-HERNANDO A, HUNTER B, SCHREINER G, RODRIGUEZ-ITURBE B, SAUTIN YY, JOHNSON RJ. Uric acid stimulates fructokinase and accelerates fructose metabolism in the development of fatty liver[J]. *PLoS One*, 2012, 7(10): e47948.
- [14] ROMAN YM. The role of uric acid in human health: insights from the uricase gene[J]. *Journal of Personalized Medicine*, 2023, 13(9): 1409.
- [15] HERMAN MA, BIRNBAUM MJ. Molecular aspects of fructose metabolism and metabolic disease[J]. *Cell Metabolism*, 2021, 33(12): 2329-2354.
- [16] JAMES A, KE HM, YAO T, WANG YS. The role of probiotics in purine metabolism, hyperuricemia and gout: mechanisms and interventions[J]. *Food Reviews International*, 2023, 39(1): 261-277.
- [17] 刘秀婵, 白人骁. 痛风发病机制及药物治疗最新研究进展[J]. *河北医科大学学报*, 2016, 37(9): 1108-1112.
LIU XC, BAI RX. Recent advances in the pathogenesis and pharmacological treatment of gout[J]. *Journal of Hebei Medical University*, 2016, 37(9): 1108-1112 (in Chinese).
- [18] 张梦婷, 何丽娜, 吕奕菁. 治疗高尿酸血症的药物研究进展[J]. *中国药物经济学*, 2024, 19(1): 114-117.
ZHANG MT, HE L, LV YJ. Advances in Drug Therapy for Hyperuricemia[J]. *China Journal of Pharmaceutical Economics*, 2024, 19(1): 114-117 (in Chinese).
- [19] 张雄峰, 李正胜, 钟琴, 刘正奇, 谢娟, 曹跃朋. 慢性肾脏病合并高尿酸血症治疗的现状与挑战[J]. *中国全科医学*, 2019, 22(17): 2020-2024.
ZHANG XF, LI ZS, ZHONG Q, LIU ZQ, XIE J, CAO YM. Treatment of chronic kidney disease with hyperuricemia: current situation and challenges with hyperuricemia[J]. *Chinese General Practice*, 2019, 22(17): 2020-2024 (in Chinese).
- [20] 高天舒, 胡伟凤, 肖愉箫, 苏晓语, 李嘉琦, 贾昱晗, 王星, 陈真. 黄嘌呤氧化酶抑制剂的研究进展[J]. *药学研究*, 2022, 41(9): 605-610.
GAO TS, HU WF, XIAO YX, SU XY, LI JQ, JIA YH, WANG X, CHEN Z. Research progress of xanthine oxidase inhibitors[J]. *Journal of Pharmaceutical Research*, 2022, 41(9): 605-610 (in Chinese).
- [21] 周启蒙, 赵晓悦, 梁宇, 孔德文, 张森, 张雯, 宋俊科, 杜冠华. 治疗高尿酸血症相关药物研究新进展[J]. *中国新药杂志*, 2021, 30(10): 929-936.
ZHOU QM, ZHAO XY, LIANG Y, KONG DW, ZHANG S, ZHANG W, SONG JK, DU GH. New progress in research on drugs for treatment of hyperuricemia[J]. *Chinese Journal of New Drugs*, 2021, 30(10): 929-936 (in Chinese).
- [22] BOTSON JK, SAAG K, PETERSON J, PARIKH N, ONG S, LA D, LoCICERO K, OBERMEYER K, XIN Y, CHAMBERLAIN J, LaMOREAUX B, VERMA S, SAINATI S, GREWAL S, MAJJHOO A, TESSER JRP, WEINBLATT ME. A randomized, placebo-controlled study of methotrexate to increase response rates in patients with uncontrolled gout receiving pegloticase: primary efficacy and safety findings[J]. *Arthritis & Rheumatology*, 2023, 75(2): 293-304.
- [23] TROUM O, BOTSON J, OBERMEYER K, VERMA S, LAMOREAUX B. ab1255 pegloticase+methotrexate cotherapy in uncontrolled gout patients with prior pegloticase monotherapy failure: findings of the advance open-label trial[J]. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 2023, 82: 1853-1854.
- [24] KERNEL N NI. Study of KRYSTEXXA® (pegloticase) plus methotrexate in patients with uncontrolled gout[J]. *Case Medical Research*, 2019. <http://dx.doi.org/10.31525/ct1-nct03994731>.
- [25] 邹丹阳, 董雨萌, 陈晶瑜. 活体生物药: 生物技术推动的创新药研发前沿[J]. *生物工程学报*, 2023, 39(4): 1275-1289.
ZOU DY, DONG YM, CHEN JY. Live biotherapeutic products: the forefront of innovative drug development driven by biotechnology[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2023, 39(4): 1275-1289 (in Chinese).
- [26] 朱永亮. 活体菌药物产业化[J]. *生命科学*, 2023, 35(3): 340-346.
ZHU YL. Industrialization of living bacteria drug[J].

- Chinese Bulletin of Life Sciences, 2023, 35(3): 340-346 (in Chinese).
- [27] KHANNA S. Microbiota replacement therapies: innovation in gastrointestinal care[J]. Clinical Pharmacology & Therapeutics, 2018, 103(1): 102-111.
- [28] 卢涵, 赵可新, 薛玉玲, 马新颖, 王世杰. 肠道菌群介导的不同饮食模式与高尿酸血症相关性研究进展[J]. 食品科学, 2024, 45(9): 330-338.
- LU H, ZHAO KX, XUE YL, MA XY, WANG SJ. Research progress on the correlation between different dietary patterns and hyperuricemia mediated by intestinal flora[J]. Food Science, 2024, 45(9): 330-338 (in Chinese).
- [29] 任思齐, 李青青, 么春艳, 蒋单栋, 俞盈. 微生物参与人体尿酸的合成、分解和转运[J]. 中国微生态学杂志, 2023, 35(10): 1223-1227.
- REN SQ, LI QQ, YAO CY, JIANG SD, YU Y. Microbes participate in the synthesis, decomposition and transport of human uric acid[J]. Chinese Journal of Microecology, 2023, 35(10): 1223-1227 (in Chinese).
- [30] 黄佳豪, 李先平, 赵军英, 乔为仓, 刘璐, 陈历俊. 益生菌缓解高尿酸血症作用机制研究进展[J]. 食品科学, 2023, 44(23): 282-292.
- HUANG JH, LI XP, ZHAO JY, QIAO WC, LIU L, CHEN LJ. Progress in understanding the mechanism by which probiotics alleviate hyperuricemia[J]. Food Science, 2023, 44(23): 282-292 (in Chinese).
- [31] 黄晓琳, 王志文. 双歧杆菌四联活菌联合常规药物治疗痛风的效果[J]. 中国微生态学杂志, 2022, 34(11): 1324-1329.
- HUANG XL, WANG ZW. Effect of quadruple viable *Bifidobacterium* combined with conventional medication in the treatment of gout[J]. Chinese Journal of Microecology, 2022, 34(11): 1324-1329 (in Chinese).
- [32] 任宇杰, 单成俊, 王英, 张会, 刘浩男, 刘小莉, 周剑忠. 降解嘌呤核苷乳酸菌的筛选及益生特性探索[J]. 微生物学通报, 2023, 50(2): 541-552.
- REN YJ, SHAN CJ, WANG Y, ZHANG H, LIU HN, LIU XL, ZHOU JZ. Screening of purine nucleoside-degrading lactic acid bacteria and exploration of its probiotic properties[J]. Microbiology China, 2023, 50(2): 541-552 (in Chinese).
- [33] 徐红敏, 王敬红, 刘欢, 申贵男, 张正海, 梅雪松, 孙宇峰, 董艳, 魏丹, 王伟东. 降解尿酸乳酸菌复合菌系的筛选与菌株组合提升降解效果[J]. 微生物学通报, 2023, 50(6): 2545-2555.
- XU HM, WANG JH, LIU H, SHEN GN, ZHANG ZH, MEI XS, SUN YF, DONG Y, WEI D, WANG WD. Screening of *Lactic acid bacteria* complex for uric acid degradation and combination of strains to enhance degradation effect[J]. Microbiology China, 2023, 50(6): 2545-2555 (in Chinese).
- [34] LEE YJ, WERLINGER P, SUH JW, CHENG JH. Potential probiotic *Lactocaseibacillus paracasei* MJM60396 prevents hyperuricemia in a multiple way by absorbing purine, suppressing xanthine oxidase and regulating urate excretion in mice[J]. Microorganisms, 2022, 10(5): 851.
- [35] 梁美婷, 杨珊珊, 贺怡, 玛依娜·卡哈尔, 陈邬锦, 李瑞, 孙玉萍. 一株人肠源性高效尿酸降解菌的分离、鉴定及降尿酸条件优化[J]. 现代生物医学进展, 2023, 23(21): 4013-4019, 4006.
- LIANG MT, YANG SS, HE Y, MA YN·KAHAER, CHEN WJ, LI R, SUN YP. Isolation, identification and optimization of uric acid degradation conditions of a human enterogenic high efficiency uric acid degrading bacterium[J]. Progress in Modern Biomedicine, 2023, 23(21): 4013-4019, 4006 (in Chinese).
- [36] NEGM EL-DEIN A, EZZAT A, ALY HF, YOUNIS EA, AWAD GA, FARID MAM. Hypouricemic, anti-inflammatory, and antioxidant activities of *Lactobacillus*-based functional yogurt in induced-arthritic male Wistar rats: Therapeutic and protective potentials[J]. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2023, 47: 102597.
- [37] CUBILLOS-RUIZ A, GUO TX, SOKOLOVSKA A, MILLER PF, COLLINS JJ, LU TK, LORA JM. Engineering living therapeutics with synthetic biology[J]. Nature Reviews Drug Discovery, 2021, 20(12): 941-960.
- [38] LI YJ, WANG YN, LUO YG, YANG HC, REN JR, LI X. Advances in synthetic biology-based drug delivery systems for disease treatment[J]. Chinese Chemical Letters, 2024, 35(11): 109576.
- [39] 徐珏. 吸收嘌呤核苷的乳酸菌筛选及其降血尿酸功能研究[D]. 南京: 南京师范大学硕士学位论文, 2021.
- XU J. Screening of lactic acid bacteria absorbing purine nucleoside and its hypouricemic function[D]. Nanjing: Master's Thesis of Nanjing Normal University, 2021 (in Chinese).
- [40] TONG Y, WEI YF, JU YJ, LI PS, ZHANG YM, LI LQ, GAO LJ, LIU SN, LIU DZ, HU YL, LI Z, YU HB, LUO YZ, WANG J, WANG YW, ZHANG Y. Anaerobic purinolytic enzymes enable dietary purine clearance by engineered gut bacteria[J]. Cell Chemical Biology, 2023, 30(9): 1104-1114.e7.
- [41] KRATZER JT, LANASPA MA, MURPHY MN, CICERCHI C, GRAVES CL, TIPTON PA, ORTLUND EA, JOHNSON RJ, GAUCHER EA. Evolutionary history and metabolic insights of ancient mammalian uricases[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2014, 111(10): 3763-3768.
- [42] 赵百学, 陈建华. 灵长类尿酸酶假基因化机制及其与灵长类进化关系研究进展[J]. 中国医药生物技术, 2014, 9(5): 361-364.
- ZHAO BX, CHEN JH. Research progress on pseudogenetic mechanism of uricase in primates and its relationship with primate evolution[J]. Chinese Medicinal Biotechnology, 2014, 9(5): 361-364 (in Chinese).
- [43] WU XW, MUZYNY DM, LEE CC, CASKEY CT. Two independent mutational events in the loss of urate oxidase during hominoid evolution[J]. Journal of Molecular Evolution, 1992, 34(1): 78-84.
- [44] 龚中洁, 于佳, 卢云, 余谦. 基于 FAERS 数据库的聚乙二醇重组尿酸酶注射液不良事件信号挖掘研究[J]. 风湿病与关节炎, 2023, 12(9): 17-21.
- GONG ZJ, YU J, LU Y, YU Q. Research on signal mining of adverse event caused by polyethylene glycol recombinant uricase injection based on FAERS database[J]. Rheumatism and Arthritis, 2023, 12(9): 17-21 (in Chinese).
- [45] PIERZYNOWSKA K, DESHPANDE A, MOSIICHUK N, TERKELTAUB R, SZCZUREK P, SALIDO E, PIERZYNOWSKI S, GRUJIC D. Oral treatment with

- an engineered uricase, ALLN-346, reduces hyperuricemia, and uricosuria in urate oxidase-deficient mice[J]. *Frontiers in Medicine*, 2020, 7: 569215.
- [46] de LIMA BALICO L, GAUCHER EA. CRISPR-Cas9-mediated reactivation of the uricase pseudogene in human cells prevents acute hyperuricemia[J]. *Molecular Therapy Nucleic Acids*, 2021, 25: 578-584.
- [47] JIANG N, XU CQ, ZHANG LH, CHEN JH. "Resurrected" human-source urate oxidase with high uricolytic activity and stability[J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2021, 149: 109852.
- [48] ZHANG C, FAN K, ZHANG WT, ZHU RX, ZHANG LJ, WEI DZ. Structure-based characterization of canine-human chimeric uricases and its evolutionary implications[J]. *Biochimie*, 2012, 94(6): 1412-1420.
- [49] XIE GR, YANG WZ, CHEN J, LI MM, JIANG N, ZHAO BX, CHEN S, WANG M, CHEN JH. Development of therapeutic chimeric uricase by exon replacement/restoration and site-directed mutagenesis[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2016, 17(5): 764.
- [50] ZHOU ZL, ZHAO H, ZHANG LG, XIE QL, LIU QW, TONG MJ, YU XW, XIONG S. Soluble expression of bioactive recombinant porcine-human chimeric uricase mutant employing MBP-SUMO fusion system[J]. *Protein Expression and Purification*, 2022, 189: 105978.
- [51] WANG XY, LU H, RONG J, SUN ZJ, ZHENG YH, FAN BL, JIA ZM. PEGylated porcine-human recombinant uricase: a novel fusion protein with improved efficacy and safety for the treatment of hyperuricemia and renal complications[J]. *Open Life Sciences*, 2024, 19(1): 20220799.
- [52] DAVID L. NELSON MMC. LEHNINGER Principles of Biochemistry (4th edition)[M]. New York: W. H. Freeman, 2004: 866-876.
- [53] PUSTAKE SO, BHAGWAT PK, DANDGE PB. Statistical media optimization for the production of clinical uricase from *Bacillus subtilis* strain SP6[J]. *Heliyon*, 2019, 5(5): e01756.
- [54] FENG T, YANG XL, WANG DQ, HU XL, LIAO J, PU J, ZHAO XY, ZHAN CG, LIAO F. A practical system for high-throughput screening of mutants of *Bacillus fastidiosus* uricase[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2017, 181(2): 667-681.
- [55] WANG BC, LUO LP, WANG DM, DING R, HONG J. Efficient purification of a recombinant tag-free thermostable *Kluyveromyces marxianus* uricase by pH-induced self-cleavage of intein and expression in *Escherichia coli*[J]. *3 Biotech*, 2018, 8(9): 400.
- [56] 魏韬, 傅丽冰, 梁锦满, 孔令杰, 高瑜彤, 蔡伟谊, 苏振荣, 刘婷婷, 王斌. 黑酵母菌尿酸氧化酶及其突变体和应用: CN118497162A[P]. 2024-08-16.
WEI T, FU LB, LIANG JM, KONG LJ, GAO YT, CAI WY, SU ZR, LIU TT, WANG B. A black yeast urate oxidase as well as mutant and application thereof: CN118497162A[P]. 2024-08-16 (in Chinese).
- [57] 魏韬, 傅丽冰, 梁锦满, 孔令杰, 高瑜彤, 蔡伟谊, 苏振荣, 刘婷婷, 王斌. 斜生四链藻尿酸氧化酶及其突变体和应用: CN118240786A[P]. 2024-06-25.
WEI T, FU LB, LIANG JM, KONG LJ, GAO YT, CAI WY, SU ZR, LIU TT, WANG B. Four-chain algae urate oxidase as well as mutant and application thereof: CN118240786A[P]. 2024-06-25 (in Chinese).
- [58] ZHAO R, LI ZM, SUN YQ, GE W, WANG MY, LIU HW, XUN LY, XIA YZ. Engineered *Escherichia coli* Nissle 1917 with urate oxidase and an oxygen-recycling system for hyperuricemia treatment[J]. *Gut Microbes*, 2022, 14(1): 2070391.
- [59] GENCER G, MANCUSO C, CHUA KJ, LING H, COSTELLO CM, CHANG MW, MARCH JC. Engineering *Escherichia coli* for diagnosis and management of hyperuricemia[J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2023, 11: 1191162.
- [60] HE LN, TANG W, HUANG L, ZHOU W, HUANG SJ, ZOU LX, YUAN LS, MEN D, CHEN SY, HU YB. Rational design of a genome-based insulated system in *Escherichia coli* facilitates heterologous uricase expression for hyperuricemia treatment[J]. *Bioengineering & Translational Medicine*, 2023, 8(2): e10449.
- [61] GÓMEZ-TATAY L, HERNÁNDEZ-ANDREU JM. Biosafety and biosecurity in synthetic biology: a review[J]. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2019, 49(17): 1587-1621.
- [62] VORNHOLT T, JESCHEK M. The quest for xenobiotic enzymes: from new enzymes for chemistry to a novel chemistry of life[J]. *ChemBioChem*, 2020, 21(16): 2241-2249.
- [63] 徐美娟, 上官春雨, 陈鑫, 张显, 杨套伟, 饶志明. 谷氨酸棒杆菌耐受胁迫机制及工业鲁棒性合成生物学研究进展[J]. *生物工程学报*, 2021, 37(3): 831-845.
XU MJ, SHANGGUAN CY, CHEN X, ZHANG X, YANG TW, RAO ZM. Advances in stress tolerance mechanisms and synthetic biology for the industrial robustness of *Corynebacterium glutamicum*[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2021, 37(3): 831-845 (in Chinese).
- [64] 马丽丽, 欧亚昆, 任怡佳, 雷瑞鹏, 刘欢. 合成生物学的生物安全风险及其管理对策研究[J]. *科学与社会*, 2022, 12(3): 15-32.
MA LL, OU YK, REN YJ, LEI RP, LIU H. Research on biosafety and management countermeasures of synthetic biology[J]. *Science and Society*, 2022, 12(3): 15-32 (in Chinese).
- [65] ZHOU SY, ZHAO LL, ZUO WJ, ZHENG YL, ZHANG P, SUN YN, WANG Y, DU GC, KANG Z. Minimizing endogenous cryptic plasmids to construct antibiotic-free expression systems for *Escherichia coli* Nissle 1917[J]. *Synthetic and Systems Biotechnology*, 2024, 9(1): 165-175.
- [66] ZHAO NL, SONG YJ, XIE XQ, ZHU ZQ, DUAN CX, NONG C, WANG H, BAO R. Synthetic biology-inspired cell engineering in diagnosis, treatment, and drug development[J]. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2023, 8(1): 112.
- [67] ZHANG FJ, SUN XX, SHEN XL, YAN YJ, WANG J, YUAN QP. Biosynthesis of allantoin in *Escherichia coli* via screening a highly effective urate oxidase[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2022, 119(9): 2518-2528.
- [68] TRAN L, DAS S, ZHAO LJ, FINN MG, GAUCHER EA. Oral delivery of nanoparticles carrying ancestral uricase enzyme protects against hyperuricemia in knockout mice[J]. *Biomacromolecules*, 2023, 24(5): 2003-2008.