中国科学: 生命科学 2015 年 第 45 卷 第 10 期: 915 ~ 927
SCIENTIA SINICA Vitae www.scichina.com life.scichina.com
《中国科学》杂志社
SCIENCE CHINA PRESS
评 述 中国科学院学部 科学与技术前沿论坛 合成生物学专辑

合成生物学在生命起源、进化、结构和功能相互关系研究中的作用

肖敏凤, 张炳照, 刘陈立*

中国科学院深圳先进技术研究院, 合成生物学工程研究中心, 深圳 518055
* 联系人, E-mail: cl.liu@siat.ac.cn

收稿日期: 2015-03-12; 接受日期: 2015-05-27
国家重点基础研究发展计划(批准号: 2014CB745202)、国家自然科学基金(批准号: 31471270，31400006)、国家自然科学基金委员会-中国科学院学科发展战略研究合作项目(批准号: L1222037)、广东省自然科学基金(批准号: Y360091001)和深圳市科技创新委员会项目(批准号: JCYJ20140610152828703)资助
doi: 10.1360/N052015-00046

摘要 生命从何而来? 生物进化的原理和分子机制是什么? 生物如何组装具有特定结构的分子和细胞, 又如何从一个细胞生长发育为一个有规则结构的生物体? 这些古老的生物学基本问题至今仍然蒙着神秘的面纱. 在过去几十年中, 合成生物学这门新兴交叉学科融合了生命科学、工程学、物理学与化学等诸多学科中的内容, 旨在通过设计和建造新的生物元件、功能和系统, 以创建在自然界中并不存在的可控方式、生物逻辑和生命系统. 合成生物学的出现或许能够克服此前的技术障碍, 在回答生命起源、进化、结构与功能等问题上提供新的有趣的观点; 此外, 它也可能改变对生命已被广泛接受的定义, 从而挑战认知生命的方式.

关键词
合成生物学
生命起源
生命进化
结构与功能

生命的起源、进化、结构生成是生命科学的基础问题. 几个世纪以来, 人们尽管对这些挑战性的问题不断增加新的见解, 却依然没能给出确切的回答. 合成生物学作为一门新兴学科, 其目的是通过全新的方式将生命系统工程化, 从而解析和重建新的生命形式. 合成生物学的研究方向指向生命与非生命物质的交界处. 曾有合成生物学家试图在非自然的化学系统中重新创造具有生命特质的生物系统[1]. 那么, 合成生物学研究是否能阐明这些古老的科学问题呢? 本文主要探讨以下 3 个方面的问题: (ⅰ) 合成生物学的研究内容; 给这门新兴学科的研究框架做一个初步的勾画. (ⅱ) 理清诠释生命起源、进化、结构生成等问题的挑战有哪些; 这样, 才有可能明确合成生物学将如何回答这些令全世界着迷的难题, 以及它能回答到何种程度. (ⅲ) 合成生物学可以用于创造新的生命形式, 在某种意义上是对生命起源问题的间接描述, 也是对传统生命定义的一种挑战.

1 合成生物学的研究尺度

当代合成生物学的终极目标是设计和建造完整的生物分子和遗传系统, 并通过特殊的信号反应对其加以控制和处理, 以实现处理信息、操作化合物、制造材料、生产能源等目的, 从而促进食品生产、改善人类健康并维护环境[2]. 依据合成生物学的研究尺度, Lucentini[3]将合成生物学分为 I 型(基因回路的设

引用格式: 肖敏凤, 张炳照, 刘陈立. 合成生物学在生命起源、进化、结构和功能相互关系研究中的作用. 中国科学: 生命科学, 2015, 45: 915–927
Xiao M F, Zhang B Z, Liu C L. Synthetic biology in studying the origin of life, evolution, and structure-function relation. SCIENTIA SINICA Vitae, 2015, 45: 915–927, doi: 10.1360/N052015-00046

https://engine.scichina.com/doi/10.1360/N052015-00046

计)、Ⅱ型(全基因组的设计)和Ⅲ型(生命体的设计)合成生物学. 时至今日, 日新月异的合成生物学研究依然可以归纳到基因回路、全基因组和生命体这 3 个不同的层面上, 只是在各个层面上的研究范畴变得更加广泛.

1.1 基因回路的设计与合成

在 RNA 和蛋白质的调控下, 基因之间通过相互作用形成复杂网络, 被称为基因网络或基因回路. 如同电路一样, 基因回路也有正向或负向的反馈回路, 以及线性或非线性的互作. 基因回路的从头设计和制造是当代合成生物学的主要着眼点, 其目标是根据科学家的意愿进行基因回路的全面设计, 即“Ⅰ型合成生物学”. 合成振荡回路[4~6]、开关、双稳态开关的设计与制造[7,8]、乃至自调控回路稳定性的探究[9]等都归属这个范畴. 在振荡回路的研究中, 人工设计的基因回路被插入细菌基因网络中, 使细菌能周期性合成荧光蛋白[4], 从而呈现出可视钟的效果. 这类合成生物学研究的特点在于: 设计合成特定的基因回路, 实现预期的功能, 且不影响底盘生物正常的功能. “生物砖”(biobricks)[10]的设计目的在于可以将待实现的功能模块化, 进而组装执行更复杂的行为. 与电子学一样, 合成生物学也需要建造标准化的元件库. 同时, 还需要用于安装模块、并呈现其功能的底盘生物(chassis organisms). 底盘不仅要有良好的表达外源基因的适配性, 还需要有维持其核心功能的稳定性[11].

1.2 全基因组的设计与合成

这类合成生物学研究的目的是人工合成或编辑整个基因组, 并在新的细胞中完全替代原有的遗传物质, 从而实现既定的功能, 即“Ⅱ型合成生物学”. 化学合成天花病毒 RNA 基因组[12]、人工合成生殖支原体 DNA 基因组[13]、物种间的全基因组交换[14]以及基因组简易化和重新设计[15]等均属此类. 生殖支原体全基因组的合成分 5 个步骤, 通过体外合成、PCR 以及转化关联重组 (transformation-associated recombination, TAR)等技术最终在酵母中完成全序列的拼接. 尽管只是勉强合成了全基因组, 但这项研究为生命系统的全合成提供了可能. 此外, 此类研究还将为人类了解最小基因组及其条件提供重要依据.

1.3 生命体的设计与合成

除设计制造基因回路、合成全基因组之外, 合成生物学还包括旨在设计新的生命系统的研究, 即“Ⅲ型合成生物学”, 其目的不再是复制和修改自然生命体, 而是研究物质由非生命物质向生命的转变过程, 其目标是在体外合成化学体系, 使其具有代谢、繁殖、遗传和变异等生命特性. 此类研究包括可自组装的亲水性分子、能自发地自组装成胶团或双分子层囊泡的脂类或脂肪酸、以及原始细胞的合成[16], 它们可能具有生长、萌发、分裂、融合以及催化其他囊泡形成等生命特性[17], 甚至能够催化其他类似 RNA 的聚合物的合成, 这说明早期的生命可能源于脂类和某种早期遗传物质形式. 相比较而言, 合成生物学在生命体的设计与合成尺度上, 更倾向于操作简单的小分子目标, 以架起非生命和生命物质间的桥梁. 它既没有将“生物砖”或“基因网络”插入已有的生物体中, 也没有复制现有生命体来化学合成全基因组或生命. 在生命体设计与合成尺度上的合成生物学旨在研究有机化合物到原始细胞的转变过程. 化学合成生物学(chemical synthetic biology)是“Ⅲ型合成生物学”不可或缺的部分, 旨在采用化学全合成的方法建造自然界不存在的生物大分子和生物系统, 通过合成、比对自然与非自然生物大分子的结构和功能, 揭示自然界在漫长的物种起源与进化过程中“何以是此而非彼”的进化选择[18]. DNA 中为什么是核糖和脱氧核糖这样的呋喃糖结构, 而不是更常见更稳定的葡萄糖那样的吡喃糖结构? 自然界为什么选择 DNA 和 RNA 作为遗传物质, 而没有选择同样可以特异性识别和结合核酸序列的肽核酸(peptide nucleic acid, PNA)? 那些人工合成且自然界不存在的 RNA 和蛋白质是否可以替代自然界现存的遗传和催化物质, 并展现出相应的生物属性? 如何合成原始细胞, 并使其具备自我维持(代谢)、自我复制和进化的能力? 这些都是化学合成生物学需要解决的问题.

2 合成生物学与生命起源

2.1 生命起源的问题

生命起源的研究旨在阐明 40 亿年前地球形成早期由非生命物质到生命的转变过程. 太古时期的分

https://engine.scichina.com/doi/10.1360/N052015-00046

子化石表明，在 35 亿年前就有生命存在于地球上[19]. 然而，人类对于它们是如何出现的，至今没有明确的诠释. 当代生命起源的研究涉及十分宽泛的范畴，包括生命起源前化学物质、人工细胞工程、理论生物模型、地质学、古生物学乃至行星学等. 其中最大的挑战就是在当时的地球环境下，非生命物质是如何转变为生命物质的[20]? 解释宇宙和早期地球上的那些简单分子是如何形成可以行使多种生命功能的复杂聚合物，要从以下 3 个方面来入手.

(1) 生命起源前分子. 地球形成早期到全功能原始细胞出现这个阶段存在的分子都可以视为“生命起源前分子”，它们在地球生命起源的诠释中起着关键作用，可大致分为 4 类: (ⅰ) 地球形成最早期在地球和太空中存在的宇宙分子，包括甲烷、氨和水; (ⅱ) 在生命起源前条件下合成的有机化合物，包括氨基酸、短肽、糖、碱基、核酸、寡糖和脂类等; (ⅲ) 具有交叉催化功能的多聚物和具有自组装功能的生命起源前大分子化合物，包括寡肽、短 RNA 链，及其他可能早于 RNA 的具有遗传和催化功能的聚合物; (ⅳ) 最早期的功能性分子组织，其中一些可称为原始细胞. 这些分子和早期地球大气组成、pH、温度等化学和环境条件相适应.

(2) 生命起源前演化过程. 生命起源前的演化过程将明确一类分子是如何转变为另一类分子，乃至形成最初的原始细胞. 从宇宙分子转变为原始细胞至少要经过 3 个步骤. (ⅰ) 从宇宙分子到生命起源前有机物的合成过程. 典型的研究实例包括通过对甲烷、氨、水和氢气放电合成氨基酸[21]; 利用氢氰酸和氨的混合物合成核酸碱基[22]. (ⅱ) 具有特殊功能特性的复杂有机分子的出现，将解释一系列生命起源前实体(prebiotic bricks)是如何转变为生命起源前功能性分子的. (ⅲ) 生命起源前的自组装过程. 将解释在生命起源前条件下，具有一定结构(如囊泡)和功能系统(如自我维护的自催化网络)机体的首次出现. 结构性自我组织过程包括囊泡在特定浓度、pH、温度，并含有两亲化合物分子的溶液中的自发形成[17,23]，膜的选择性分子交换、生长、萌发、融合、分裂和表面催化特性[24]，及交联催化核酸、交联催化 RNAs[25,26]和一系列交联催化寡肽的出现等. 人们相信这样的自我组织过程，可能与其他某些过程耦合或互作，进而促成了全功能原始细胞的形成.

(3) 原始细胞的功能机制. 即明确原始细胞如何具备不同的特性而使其“存活”. 同时，还需了解原始细胞在其短暂的一生中如何实现它的功能. 原始细胞在体外被成功合成，功能性机体可能进而组装成原始细胞模型，“化学子”(chemoton)或“自我再生系统”(autopoietic system)常被用于描述原始细胞模型. 化学子，即最小的细胞模型，由 3 个系统组成: (ⅰ) 代谢系统，产生用于细胞自我维系的化合物; (ⅱ) 模板复制系统，复制代谢和调控所需的信息; (ⅲ) 具有连续更新和生长功能的膜系统，并包裹前两个系统. 如能阐明原始细胞功能机制，将有可能理解一个原始细胞如何通过实现不同特性来使其在一定程度上保持生存状态.

2.2 从合成生物学看生命起源

合成生物学能否诠释生命的起源? 这个问题的回答取决于合成生物学在 3 个尺度上的研究能够在何种程度上解答生命起源所涉及的 3 个主要问题.

在基因震荡回路的设计中，Elowitz 与其团队[4]通过 PCR 克隆构建了一个特殊的质粒，并将其转入大肠杆菌(*Escherichia coli*)中. 该过程中的所有步骤及其涉及的分子都没有任何生命起源前相关性. 很显然，合成生物学在基因回路的设计与合成层面上的研究无法诠释生命的起源. Venter 团队[27]合成生殖支原体的全基因组时，他们利用现代技术在酵母中实现了全基因组的组装，但其中没有哪一个实验步骤是可能在地球形成早期自发完成的.

值得一提的是，合成生物学在全基因组层面上的研究，尤其是对最小生命细胞或生命体必需的最小基因组的研究，可以给生命起源的问题提供新的见解. 合成生物学在生命体的设计与合成层面上的研究可能是这个领域对其所操作的分子在生命起源前的相关性最关注的. 化学合成生物学家们特别关注用于合成 DNA 和 RNA 的单糖(核糖和脱氧核糖)、碱基(鸟嘌呤、腺嘌呤、胞嘧啶、胸腺嘧啶和尿嘧啶)是否可以用其他的单糖和吡啶来替代，这些生物分子在生命起源前存在何种相互关联也同样值得研究. 当 Szostak 等人[28]准备通过将催化性 RNAs 折合进囊泡从而合成原始细胞，假设非生命物质向生命物质转变时，这些聚合体的潜在相关性是他们需要考虑的问题之一. 此外，在原始催化物质和遗传物质形成时，DNA, RNA 和蛋白质是生命起源前地化环境下的偶然发生，还是自然选择的必然结果，都是化学合成

https://engine.scichina.com/doi/10.1360/N052015-00046

生物学意欲解答的问题. 因此, 化学合成生物学研究对于揭示生命起源前分子及环境的特征具有指导意义[29]. 由此可见, 合成生物学在生命体的设计与合成层面上的研究也许能够为生命的起源提供一些解释, 尽管没有过多解释构成研究所需的生物模块的分子起源, 但对于这些生物模块需要多少分子、以及它们的自组装能够导致原始生命形式的形成给出了解答.

明确生命起源前演化过程对非生命物质到生命物质的逐步转变意义重大, 但却不是合成生物学研究的初衷. 研究基因回路设计的研究不会指向任何演化过程, 其目标是设计并在基因震荡器中执行特殊的功能, 这与生命起源的问题并无关联, 无法解释任何生命起源前演化过程. 全基因组层面上的合成生物学研究也没有关注生命起源前演化过程的领域. 在合成全基因组时, Cello 等人[12]同 Venter 的团队一样, 都将注意力集中在终产物目标基因组上. 为了实现这个目的, PCR 扩增、质粒转导、转化关联重组(TAR)克隆等都可以用来实现核酸到寡核苷酸乃至 DNA 和全基因组的合成. 显然, 这样的过程与生命起源前演化过程并无关联.

相比较而言, 合成生物学在生命体层面上的研究目标略有不同. 研究脂类、脂肪酸等物质如何自然组装形成具有生长、分裂和融合能力的胶团和双分子囊泡时, 需要关注这些过程的潜在关联. 完成胶团或者囊泡形成的实验过程可以很好地模拟生命起源前演化过程, 这个用来解释早期地球上类似结构的出现. Deamer 及其团队[17]展示了类似RNAs的聚合物能够在脂质环境中由单核苷酸非酶催化的下是如何合成的, 以及这些类似 RNA 的聚合物如何最终被折合进脂质囊泡中的. 他们认为这个过程为早期进化至 RNA 世界提供了一个实验模型. 因此, 合成生物学在生命体层面上的的研究强调了他们依照演化过程工作的关联性, 这将可能诠释生命起源前的演化过程.

在合成生物学领域对于理解生物系统的功能机制存在两种互相矛盾的观点. 部分人倾向于更加关注结果, 而不是精确理解内在的机制的"黑匣子理论"(black box). 这样的例子比比皆是, Venter 团队成功合成了生殖支原体基因组, 但他们却没有理清其中的机制和原理, 以及为什么最后组装任务只能在酵母而不能在大肠杆菌中完成. 科学家在既定的底盘生物中实现了基因震荡器, 却没有理解为什么可以这样工作, 以及为什么同样的基因震荡器却不能在另一相近的物种中实现. Deamer 及其团队[17]在非酶催化的脂质环境下实现了从单核苷酸到 RNA 类似物的合成, 合成的产物还能够折合进入脂质囊泡, 但他们却无法对这种现象给出全面的解释. 因此, 基于"黑匣子理论", 合成生物学无法对早期生命系统的功能机制给出详细的解释. 与此同时, 也存在着另外一种对立的观点. "我不能创造的东西, 我也无法完全理解(what I can not create, I do not understand)"[30]. 基于这个观点, 搞清楚它们是如何工作的也是合成生物学的重要目标. Szostak 等人[28]通过催化 RNAs 和脂质囊泡来合成自组装的原始细胞时, 其主要目标是实现原始细胞的合成并确保正常工作, 但同时也希望能够弄清它是如何工作的. 要弄清楚这个, 需要明确 3 点: (ⅰ) 要对组成系统的各个元件有详细的认识, 如 RNA 链、脂质分子等; (ⅱ) 对于实现目标所需的条件要足够明确. 例如, 分子浓度、pH、温度、主导脂质分子自行组装成胶团或不同形状囊泡的化学与热力学动态过程, 以及 RNA 进入脂质囊泡的过程等; (iii) 对原始细胞成功合成之后, 各个分子之间在组装、生长、萌发、分裂与融合等过程中是如何互作和进化的要有清晰的认识. 如果成功实现这些目标, 合成生物学自然能够为原始细胞的功能机制提供有力的解释, 也会对执行原始生命形式的功能机制所需的分子成分、实验条件等做出有效的解释.

合成生物学虽然无法诠释生命起源早期化合物的生命起源前合成以及演化过程, 却可以诠释早期生命出现过程的后期, 如原始细胞的形成过程. 尤其是基于生命体的设计与合成层面上的研究, 可以为生命的起源带来新的见解(图 1).

3 合成生物学研究对生命进化的新见解

3.1 合成生物学研究进化原理

19 世纪, 拉马克和达尔文先后在《动物学哲学》和《物种起源》中提出了物种进化学说, 成为生物学上重要的转折点. 然而, 至今对复杂生物系统的进化原理仍缺乏认知. 近年来, 随着合成生物学领域的迅猛发展, 利用简单的模式系统、遗传工程技术以及数学模型, 开始理性地操控生物学功能, 以更主动的方式研究生物的进化. 通过自下而上地合成简单的生物系统, 合成生物学提供了崭新的途径来帮助理解和预测进化——大自然设计创造复杂生命遵循什么

https://engine.scichina.com/doi/10.1360/N052015-00046

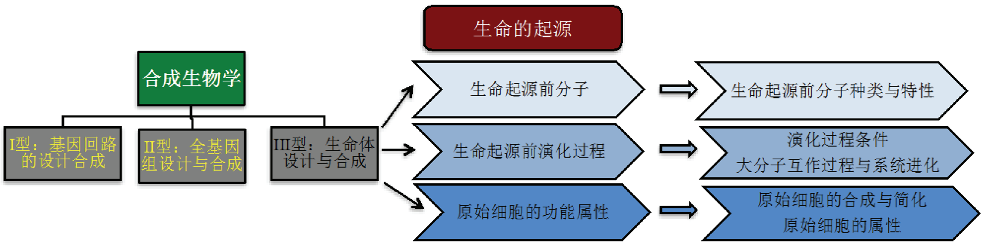

图 1　当前合成生物学对生命起源的诠释(网络版彩图)

原则，即如何选择特定的生物系统、自然选择(natural selection)存在何种约束(constraint)等. 进化并不意味着每个特性都达到最优化，大多数情况下诸如功能或代谢的权衡(tradeoff)等因素会对自然选择产生约束，因为某些特性可能因为现存理由之外的原因而进化[31]，而一个最优性模型即使不被大自然采用也可能具有十分关键的信息价值[32]. 下文就将阐述如何将合成生物学的先进理念和方法应用于研究进化的最优性(optimality).

(1) 调控系统的最优性.　面临不同的环境时，细胞感应外界变化并调控行为和生理状态是最基本的能力. 在不同环境的需求相冲突的情况下，普遍的观点是调控反应可能倾向于进化. 然而，传统实验方法很难对此进行验证，并且解释选择压力和约束[33]. 为了克服这些困难，Poelwijk 等人[34]开发了一个合成生物学方法，并且证明了一个调控系统在面临不同环境给予的挑战时可进化为最优调控反应. 他们在大肠杆菌中设计构建了一个包含 *sacB* 和 *cmR* 两个基因的操纵子，其表达量受到调控蛋白 Lac I 的抑制，也受到环境因子异丙基硫代半乳糖苷(isopropyl β-D-1-thiogalactopyranoside，IPTG)的诱导(图 2a). 在含蔗糖的培养基中，操纵子被 IPTG 诱导表达后会降低细菌生长速率；在含抗生素氯霉素培养基中，操纵子被 IPTG 诱导表达后会逐渐提高细菌生长速率. 为了分析进化反应，他们突变了调控蛋白 Lac I 后在两个对比环境中轮流竞争培养细菌. 于是两个冲突的目标出现了：在蔗糖环境中降低操纵子表达，而在抗生素环境中增加其表达. 他们测量了这两个对立环境下适应性的权衡，从而对各调控表型间的竞争进行预测. 他们证明了从对两个环境均不适应的野生表型出发，调控蛋白的突变迅速产生了仅适应其中一个环境的表型，而进一步的适应进化则使得调控蛋白 Lac I 对其诱导因子 IPTG 产生了与本来相反的反应，全新的调控蛋白克服了约束，并且使得最优化表型产生. 这些结果意味着，可以在权衡最优化理论上理解调控进化.

(2) 生物网络的最优性.　多个相互作用的组分构成了生物网络，除了分析某特定网络结构的最优表现可达何种程度之外，生物网络的最优性还可以从另一个角度看待——对某个特定的任务，在众多网络拓扑结构中哪一个能最优化地完成该任务. 大肠杆菌(*E. coli*)趋化(chemotaxis)网络的研究是一个很好的例子，它是至今理解最透彻的复杂生物网络之一. Barkai 和 Leibler[35]曾经利用完成趋化任务所需的最基本组成分子设计了一个最小拓扑结构，Kollman 等人[36]则设计了另外 3 个结构，并且分析了这 4 个结构对噪声(noise)的稳健性(robustness). 在这 4 个结构中，有两个对实验噪声水平高度稳健，野生型大肠杆菌采用的是这两者中拓扑结构较小的那个，而并非 Barkai 和 Leibler 设计的最小结构(图 2b). 虽然该结构也可能是因为噪声之外的其他原因进化而来，该结果仍然说明进化最终为细菌装备了一套以最少资源达到最优表现的趋化性网络. 枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)中调控感受态(competence)的生化网络也是研究类似问题的理想模式系统，因为其基因回路和生物学功能较简单、描述也较透彻. 在环境压力下，小部分枯草芽孢杆菌会瞬时分化进入感受态，此时就能吸收胞外 DNA 并将其整合入染色体. 该过程受到一个简单回路的调控——转录调控蛋白 ComK 抑制其激活因子 ComS 的表达. Cagatay 等人[37]设计合成了一个负反馈回路，其负反馈效应通过 ComK 激活抑制因子 MecA 来实现，这与天然枯草芽孢杆菌所采用的通过激活因子被抑制来实现的负反馈机制相反. 他们直接比较二者发现，合成系统虽然能够呈现相同的感受态分化过程，但在噪声的动力学分布上却有所不同. 这导致了合成系统在感受态发生的时

https://engine.scichina.com/doi/10.1360/N052015-00046

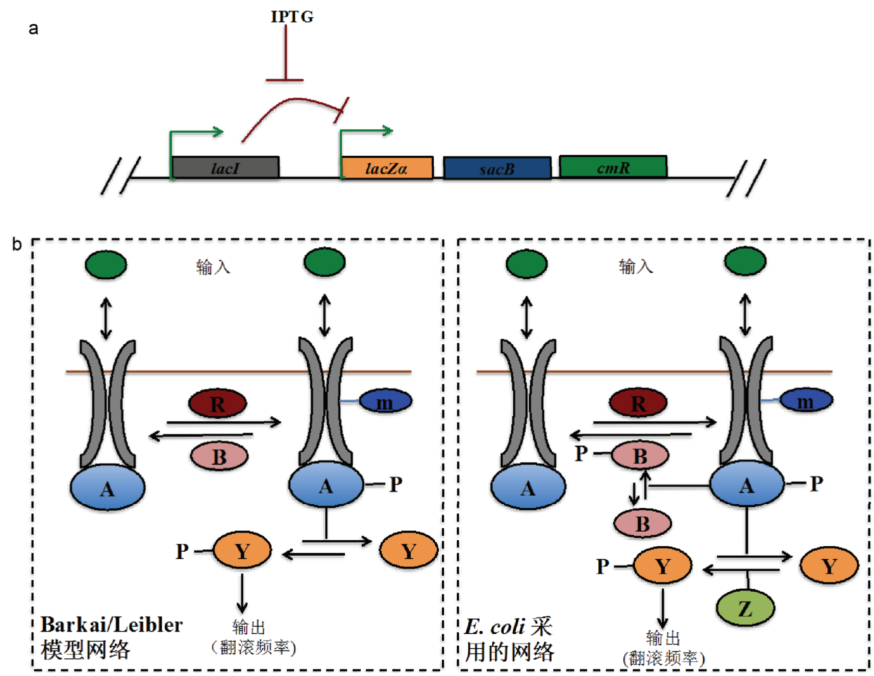

图 2　合成生物学理念研究进化原理(网络版彩图)

合成生物学理念研究调控系统的最优性(a)以及生物网络(*E. coli* 趋化网络)的最优性(b). R: CheR, 甲基转移酶(加 CH_3); B: CheB, 甲基转移酶(除 CH_3); A: CheA, 激酶(加 PO_4); Z: CheZ, 磷酸酶(除 PO_4); Y: CheY, 信号蛋白; m: methylation, 甲基化; P: phosphorylation, 磷酸化

机控制方面不如天然系统精准, 在 DNA 浓度未知的环境下天然系统更具优势. 这些研究说明在面对功能相似而拓扑结构不同的网络时, 进化可能基于这些结构的噪声特点进行选择.

3.2　合成生物学阐述进化的分子机制

通过合成生物学方法在实验室模拟进化, 可以在全新的层面理解不同类型的突变在进化中扮演何种角色. 下文将以细胞内信号网络的相关研究为例, 阐述合成生物学如何有助于理解进化过程中的分子机制. 一个信号网络拥有多重组分, 这些组分的一系列动态相互作用决定了网络能否运行良好. 为了使细胞适应波动的环境, 信号网络会随之进行调整促使细胞产生特定的反应. 进化突变可以通过改变蛋白与 DNA 之间的相互作用, 也可以改变蛋白与蛋白之间的相互作用来重塑信号网络. 蛋白间相互作用是介导细胞调控网络信号处理的关键, 影响蛋白间作用的突变类型不同可导致进化轨迹呈显著差异, 从而使网络重塑千差万别. 合成生物学可以通过替换氨基酸、重组结构域(domain)、创造嵌合(chimeric)蛋白等方法人工创造特定突变来影响蛋白间相互作用, 从而揭示进化中间物、比较不同的进化通路、以及理解突变在进化中的作用[38].

(1) 替换氨基酸. 可以通过氨基酸替换从而改变调控蛋白或底物结合位点来进化, 从而重塑信号网络. 双组分系统(two-component system)就是一个广泛研究的例子, 它是细菌主要的信号系统, 该系统阐述了取代介导相互作用的残基(residue)如何通过扩展中间物的特异性来进化重塑信号网络. 双组分系统由一个感应组氨酸激酶(histidine protein kinases, HK)和一个反应调控蛋白(response regulator, RR)构成: HK 的激活引起其本身自磷酸化, 接着将磷酸基团转移至一个同源 RR[39]. RR 激活后能通过转录调控改变很多细胞过程. 细胞内存在多个 HK-RR 对. 每对 HK 和 RR 间的特异性相互作用非常重要, 如此当一个 HK 激活时, 就只有对应的 RR 被磷酸化[40]. Groban 等人[41]和 Siryaporn 等人[42]利用计算方法鉴别了 HK 和 RR 上可能负责作用特异性的共变(co-vary)残基, 然后将大肠杆菌某一双组分系统的 HK 中负责特异性的共变残基替换为另一个双组分系统的 HK 中的该残基. 他们发现仅一两个残基替换就使得磷酸基团的转移特异性从一个扩展到了到两个双组分

https://engine.scichina.com/doi/10.1360/N052015-00046

系统的 RR. 而进一步替换第 3 个残基则使磷酸基团的特异性彻底转变成针对第二个系统的 RR, 这意味着相互作用特异性可以逐渐进化, 并且通过向网络增加分支的广谱特异性的中间状态发生. 此外, 这种少数几个残基足以扭转结合特异性的现象表明进化能够通过少数几步突变就改变特异性.

(2) 重组模块结构域. 模块结构域的重组有 3 个可能的进化效应: (ⅰ) 进化全新的信号处理能力. 取决于结构域的特定类型、排列组合、或是各结构域间链接的长度和灵活度等, 可以创造不同的多输入信号处理能力. Dueber 等人[43]利用合成生物学方法创造了一个小型文库, 他们通过调整结构域的顺序和链接的长度, 对 3 个相互作用结构域(GBD, PDZ 和 SH3)与 N-WASP 催化结构域进行重组, 得到了 34 个全新模块. 他们发现其中 20 个模块呈现刺激物依赖性, 更重要的是这 20 个中又有 18 个可以对两种不同的刺激物作出反应. 这意味着多结构域开关是高度模块化的, 同时证明了进化可以产生全新变构(allosteric)的输入/输出关系, 这可能通过改变调控和催化结构域的突变来达成. (ⅱ) 避免网络重塑产生的杂乱中间物. 尽管从头(*de novo*)创造结构域也可以是一个逐渐发生的过程, 但网络重塑更常通过重组、复制或者转座这些突变事件来一步到位地改变现存蛋白的结构域组成. 由于这些突变过程并不是逐渐的, 结构域重组引起的进化轨迹并非一定要通过广谱中间物. 以双组分系统为例, 上文提到过 Groban 等人[41]分析了 HK 和 RR 对之间的作用特异性如何进化. 当他们用 RstB 的 DHp 取代 EnvZ HK 的 DHp 结构域(包含所有决定特异性的残基)时, 产生了一个嵌合 EnvZ HK, 该嵌合体可以磷酸化 RstA 却失去了磷酸化 EnvZ RR 的能力. 这表明互换 DHp 结构域改变了特异性, 并且在去除祖系分支的同时添加了新的进化分支. (ⅲ) 改变蛋白相互作用的时空定位. Peisajovich 等人[44]研究了亚细胞定位或者相互作用动力学变化如何改变网络功能, 他们基于源自酵母交配通路(mating pathway)的 11 个蛋白的结构域创造了一个文库, 该文库包含全部可能的 66 个重组突变体. 其中约 15%的突变体具有交配通路激活的动力学变化, 荧光显微研究表明, 亚细胞定位可能扮演了重要角色.

(3) 创造嵌合支架(scaffold)蛋白. 支架蛋白作为网络中心具有巨大的进化潜力, 它可以结合多个信号成分从而在时空上对它们进行组织, 还可通过把信号蛋白及其底物限制在特定位置, 以增强信号逼真度(fidelity)避免欺骗性串扰(cross talk). 大量的信号通路具有支架, 如酵母支架蛋白 Ste5 和 Pbs2(分别参与交配和高渗透性(high osmolarity)反应)[38]. 在更高等的真核生物中, 支架也是关键成分, 如 T 细胞活化连接蛋白(linker for activation of T cells, LAT)和淋巴细胞胞浆蛋白 2(lymphocyte cytosolic protein 2, lcp2)[45]. 已经有若干研究利用合成生物学理念阐述了进化如何通过支架蛋白的突变来改变信号通路的功能, Park 等人[46]在酵母中制作了一个嵌合支架蛋白, 其中不仅包含 Ste5 与上游交配信号成分 Ste4 和 Ste11 的结合位点, 还包含了 Pbs2 与下游高渗透性信号成分 Hog1 的结合位点, 该嵌合蛋白就能将一个交配输入信号导向成一个高渗透压输出信号, 表明支架突变引起的信号成分共定位的改变可能足以重塑网络.

3.3 合成生物学与定向进化(directed evolution)方法的开发

上述突变都是针对预先已知的组分, 这种目标明确的方法的确便于分析, 但自然界中的进化一般都是随机地发生在基因组水平. 迄今, 靶向多个基因或基因组任意基因的方法数不胜数, 但大多限于研究应激反应或代谢工程. 事实上, 近年来微阵列和全基因组测序技术的飞速发展已经可以辨别进化过程中发生的绝大多数甚至全部突变碱基, 及其频率和对最终表型的影响, 这显著加强了基因组水平进化研究的流行趋势.

一个著名的例子就是哈佛医学院的 Church 实验室[47,48]所创造的“多重自动基因组改造术”(multiplex automated genome engineering, MAGE), 它同时针对基因组的不同区域设计一系列的单链寡核苷酸简并引物, 利用λ-Red 同源重组系统将这些简并引物整合到基因组上, 实现单个细胞基因组多个位点的改造或细胞群体间基因组改造的多样性, 因此十分适合用于研究同一或不同网络内的不同基因是如何共进化的. 他们针对该技术的周期性和可扩展性设计了可以实现该过程的自动化操作装置. 利用该技术定向改造大肠杆菌中番茄红素合成过程中的 20 个基因的核糖体结合位点(ribosome binding site, RBS 区), 设计不同的简并引物, 使它们定向进化到认为可以提高表达量的经典的 SD 序列(TAAGGAGGT)模式, 最

https://engine.scichina.com/doi/10.1360/N052015-00046

终筛选得到高产菌株，并对这些高产菌株的基因序列分析得出参与番茄红素合成起始以及末端基因的RBS序列趋于相似.

最近，Ellefson等人[49]将T7 RNA聚合酶的大肠杆菌细胞内转录活性与Taq DNA聚合酶的胞外PCR活性相结合，设计出一种不连续的定向进化系统(compartmentalized partnered replication, CPR). 具体而言，先通过易错PCR等方法构建T7 RNA聚合酶突变文库，再将突变文库与受T7启动子控制的Taq DNA聚合酶一起转化入大肠杆菌，由此得到的菌群中每个细胞均有不同活性的T7 RNA聚合酶突变体. 获得高活性T7 RNA聚合酶突变的大肠杆菌相应地可以表达更多的Taq DNA聚合酶. 再通过乳化反应将各个细胞分割在不同乳球中，利用T7 RNA聚合酶引物对每个细胞进行单独的PCR. 表达Taq酶较多的细胞具有更高的PCR活性，其T7 RNA聚合酶被高效扩增，在PCR产物中占优势. 经过若干轮CPR后，T7 RNA聚合酶文库中活性最高的突变株就可以被筛选出来. 通过设计，Taq DNA聚合酶亦可以与其他基因联合，对其进行定向进化. 这是一个将基因的胞内表达与胞外PCR筛选相结合的方法. 整个定向进化系统包含3个独立的部分，突变文库的获取、突变基因转化内表达、突变株的PCR筛选. 但是系统将进化过程中的"突变"与"选择"分割成两个不连续的部分，每获得一个突变库就要进行若干轮CPR筛选，工作量较大. 同时第二轮突变文库构建与筛选一般在前面CPR筛选出的优势株的基础上进行，容易漏筛.

哈佛大学Liu实验室[50,51]开发了一种噬菌体辅助连续定向进化系统(phage-assisted continuous evolution, PACE)(图3). 它主要包含噬菌体模块(selection phage, SP)、诱变模块(accessory plasmid, AP)、辅助模块(mutagenesis plasmid, MP) 3个模块. 在进化池(lagoon)中，噬菌体侵染宿主细胞时，将其遗传物质SP注入宿主细胞，利用宿主细胞内的复制系统进行遗传物质的复制，与此同时，在阿拉伯糖的诱导下，宿主细胞内MP上的dnQ296表达、umuD'C跨损伤合成系统执行功能，导致SP突变的产生. 若SP产生的突变可以诱导PIII蛋白的产生，产生具有侵染性的子代噬菌体，则进行下一轮的循环，如果不能诱导产生PIII蛋白，这些子代就不具有侵染性，最终被洗脱出系统. 该系统通过调控"进化池"中培养基的稀释速率，使得宿主细胞在该装置中的停留时间短于其复制所需时间，进而保证突变的积累只发生在进化了的噬菌体中，避免宿主细胞本身的突变积累对系统进化的影响. 与其他定向进化方法相比较，PACE的优点在于无需构建突变文库，无需对进化文库进行筛选，每轮进化中间无需人为干预，并且能依靠噬菌体的增殖而自发地进行连续进化. 不过，它仍存在着一些不足，包括系统复杂、无法高通量、进化突变不能被即时识别等.

针对这些问题，本实验室正在开发一种全新的空间进化方法，通过控制细菌在琼脂板上的运动进行进化实验(结果待发表). 传统的进化实验只有时间尺度，而利用本实验室的方法可将空间尺度也引入到定向进化研究中，有望实现进化过程在空间上的可视化以及目标进化产物的快速识别和筛选等诸多优点.

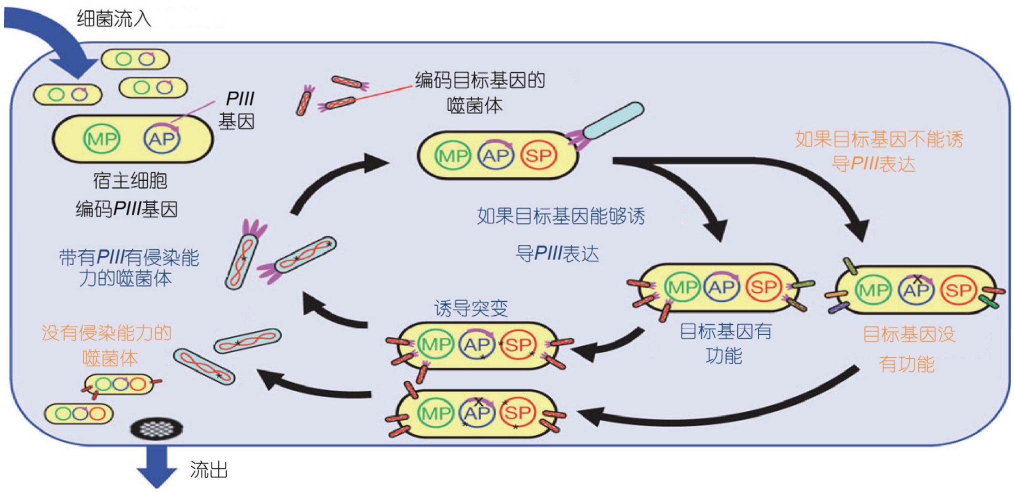

图3　噬菌体辅助连续定向进化系统原理示意(网络版彩图)

https://engine.scichina.com/doi/10.1360/N052015-00046

4　合成生物学用于研究生物结构与功能

4.1　分子结构与功能

DNA 和 RNA 均能在特定的物理条件下自我组织成相应的结构, 利用核酸的这种自组装特性, 研究人员可以设计构建复杂的合成生物学分子结构和功能, 为进一步建造先进的三维立体功能性纳米结构奠定基础, 类似研究将有潜力应用于智能药物投递等领域. 20 世纪 90 年代起, Seeman 等人就开始利用少量DNA序列创造小型周期性晶格(lattice)[52]和生物电子装置[53], 若干年后又进一步利用重复的 DNA 瓦片(tile)组装大型周期性晶格[54]. 然而, 这些结构的组装面临一个重大挑战——DNA 链需要精确的化学计量. 随后, Rothemund[55]创造的 DNA 折纸(origami)解决了这一难题, 因为在该结构中即使过量的 DNA 链也能被利用. DNA 折纸由一个支架和 200 余个“钉书钉”(staple)构成, 其中支架是一条长单链 DNA, 而钉书钉是合成的短链. 因此该 DNA 折纸结构也有一个缺陷——每组装一个新的结构, 就需要重新设计支架和一套新的钉书钉 DNA 链. 此外, 折纸三维结构的组装也低效且耗时. 两年后, Yin 等人[56]去除了支架链, 仅用比传统 DNA 瓦片更短小的无有序结构的单链瓦片就组装出了大型二维结构. 最近, 他们在 DNA 瓦片的基础上延伸出了单链 DNA 砖块(brick)[57], 这些 DNA 砖块可以组成表面具有两个钉的积木(LEGO brick), 各积木之间呈 90°连接在一起, 形成了层层叠叠的周期性三维结构. 并且, 他们利用该 DNA 积木创造出了 102 种不同形态的结构, 包括正方体、太空飞船等, 这证明了 DNA 积木组装三维结构的普遍性和多样性. 然而, DNA 积木自发组装成特定三维立体结构的原理还不甚清晰, 并且在组装更大的结构时也存在产出较慢的困扰. 正如 Ke 等人[57]所述, 由于较早期的DNA砖块和较后期的DNA积木两种方式是兼容的, 合并二者有可能解决这个问题.

除了以上所述的静态结构外, 研究人员还利用合成生物学方法构建了各种动态体系. Yurke 等人[58]就制造了一种把 DNA 作为“燃料”的机器, 组成该机器的 3 条 DNA 链呈一对镊子状, 加入补链(auxiliary strand)即可控制机器的开关, 每个循环都排出“废弃”产物——一条双链 DNA. Sherman 和 Seeman[59]用 DNA 实现了分子行走马达的构想, 该装置由一对足及其固定轨道组成, 加入 DNA 链就能精确控制对足(biped)在轨道上的前行或后退. 受到电子回路的激发, Seelig 等人[60]基于 DNA 设计构造了类似的生化回路, 其中“与”、“或”和“非”门通过识别和取代 DNA 序列作为输入和输出, 并且也具有电子回路其他的属性如信号存储、反馈等. Yin 等人[61]利用了 DNA 发卡单元模块结构域的互补关系, 设计构造了多种触发式分子自组装及解体结构.

4.2　单细胞形态与功能

即使各分子结构的运行原理和功能都跃然纸上, 但要将其整合入活细胞从而行使想要的功能仍面临巨大的挑战. 研究人员当然并不满足于分子水平的控制和研究, 于是他们尝试进一步将天马行空的设计在细胞中实现, 希望最终通过组装活细胞作为微型机器人来应用于具体领域, 如在人体治疗疾病等. Yeh 等人[62]通过改造蛋白并将其整合入某些真核细胞的回路, 这些细胞遇到一些新型生化信号时就能形成特定的预期形态, 如长刺突状(filopodia), 或是扁平伸展的板状(lamellipodia). 在改造过的回路中, 只要一个很常见的信号分子——蛋白激酶, 细胞就能演变成这些形态. 合成生物学理念和方法用于对细胞形态的时空操控将不再是想像, 研究者们需要将类似研究一方面拓展到更广泛种类的生物细胞, 同时尝试对更多样和复杂的细胞形态进行创造, 另一方面不能将对表型的控制蒙蔽于“黑匣子”, 还要在此过程中理解自然界中相应生物细胞产生各形态的深层机制——这些都是该领域未来发展需要越过的一座又一座山峰.

本实验室设计构建了特定的基因回路, 将其整合入大肠杆菌细胞, 已能初步控制细胞使其呈现有别于常见杆状的可遗传形态(结果待发表). 尽管还需要进一步验证和拓展研究, 除了对表型的预测操纵之外, 已有证据表明极有可能在此过程中发现细胞控制自身形态的全新天然机制.

4.3　多细胞群体图案与功能

从拥有了改造基因的能力开始, 在物种水平创造生命体就是研究人员的终极梦想, 合成生物学控制多细胞行为使人们离这一梦想更进一步. 过去几年, 大量研究向人们展示了细胞间的合成信号系统[63,64]. 其中大多都受到了群体密度感应系统 *luxR I* 的启发, 细菌的群体密度感应系统依赖于 AHL(acyl homoserine lactone)家族分子, 它们能进行自由扩散

https://engine.scichina.com/doi/10.1360/N052015-00046

透过细菌细胞膜[65]. Basu 等人[66]把 *luxR I* 系统一分为二, 分别置于发射细胞(表达 *lux I* 催化 AHL 产生)和接收细胞(表达 *luxR* 感应 AHL 浓度). 他们设计了一个基因回路使细胞对不同浓度的 AHL 产生不同反应, 从而细胞群体在固态琼脂培养基上形成惊人的牛眼状图案. 最近, Danino 等人[67]将 *lux I*, *aiiA*(编码 AHL 降解酶)以及一个编码荧光蛋白 yemGFP 的报告基因置于 *lux I* 启动子控制范围, 从而 LuxR-AHL 复合物诱导 *aiiA* 表达, 随之降低 *lux I* 表达. 他们通过这种简单的遗传振荡器, 创造出了漂亮的时间周期性图案.

不久前, 本实验室[68]在大肠杆菌中构建了一个生物图案形成的模式系统, 该系统包含生长、运动和细胞间信号传导的基础要素. 仅利用了一个简单的基因回路来控制细菌的趋化性, 以在群体密度高时抑制细胞运动, 这使得细胞群体在半固态琼脂培养基上产生了高度周期性的环形图案. 在这个合成生物学系统内, 通过定量分析每个关键因素来研究环形图案形成的动态过程, 这使系统具有高度可预测性. 通过研究这一图案结构的形成过程, 发现了一个全新的生物周期性结构形成原理.

5 新的生命形式

合成生物学其本质就是去创造自然界不存在的、无法通过自然进化来产生的新生命形式. 在大肠杆菌、酵母等已有生命形式中执行新的基因回路, 或是采用完全人工合成的基因组代替已有生命的基因组, 亦或是完全合成新的生命, 实际上都是创造了新的生命[3]. 因此, 合成生物学拓展了已知生命的范畴. 通过工程性基因回路的编辑或插入所创造新的生命, 在复杂程度、功能多样性上和自然界已有的生命体存在较大的相似性, 这是对生命的“平行拓展”. 研究最小基因组是对基因组进行删减, 从而诠释简易的生命, 是对生命的“垂直拓展”. 将生命的范畴由基于最小基因组细胞拓展到原始细胞, 从而窥探地球上最原始的生命形式, 是对生命的“原始拓展”.

合成生物学通过对生命的拓展已经上升成为了一个哲学问题——生命的定义. 对于是不是是活的(alive)的生命定义方式, 合成生物学通过设计新的生命形式提供了见解. 对最小生命体的设计, 无论是现有生命体的简化, 还是全新的生命系统, 都将挑战传统的对生命的二元定义(dichotomous definition). 事实上, 对于某些生命系统是否应该定义为活的, 都存在着争议. 例如, 病毒和能够自我复制的 RNA 链, 部分人认为它们缺乏代谢活动, 不应该定义为活的, 另一部分人则认为病毒能形成“病毒工厂”, RNA 能自我复制和变异, 当然应该被定义为活的. 除了在生命和非生命界限问题上存在分歧之外, 具有清晰的界定性的生化系统也是不存在的. 可以说, 非生命物质向生命物质的转变, 已经不是“全或无”的问题, 而是“多和少”的问题.

6 结语

合成生物学的研究尺度可以分为3个层面: 基因回路、全基因组和生命的设计与合成. 生命的起源也可分 3 个方面讨论: 生命起源前分子相关性、生命起源前演化过程的明确和功能机制的明确. 总体来讲, 合成生物学能为诠释生命起源过程提供新的见解. 另外, 通过合成生物学, 正在一步一步增强对自然进化如何塑造复杂生物系统的理解. 同时, 通过将合成生物学与定向进化相结合, 将生物进化运用到实际生产应用中的能力也在不断增强. 至于生物结构与功能方面的研究, 合成生物学家在分子水平已经做了许多有益的尝试, 也取得了一些可喜的成果, 如上文提到的 DNA 积木. 单细胞及多细胞水平结构与功能的研究目前还充满挑战, 即使清楚各元件的运行原理和功能, 但要将其整合入有生命的细胞乃至细胞群体从而行使想要的功能, 甚至进一步在诸如组织工程等领域进行实际应用, 仍任重道远. 由于合成生物学能够在不同的尺度或模式上表现出不同的生命系统功能多样性, 拓展已知生命范畴, 它最终能够制造不同“类型”的生命系统. 因此, 合成生物学研究很可能重塑认知生命的方式, 并帮助重新定义生命的基本概念.

参考文献

1 Benner S A, Sismour A M. Synthetic biology. Nat Rev Genet, 2005, 6: 533–543

https://engine.scichina.com/doi/10.1360/N052015-00046

2 Koide T, Pang W L, Baliga N S. The role of predictive modelling in rationally re-engineering biological systems. Nat Rev Microbiol, 2009, 7: 297–305
3 Lucentini J. Is this life? Scientist, 2006, 20: 30
4 Elowitz M B, Leibler S. A synthetic oscillatory network of transcriptional regulators. Nature, 2000, 403: 335–338
5 Sprinzak D, Elowitz M B. Reconstruction of genetic circuits. Nature, 2005, 438: 443–448
6 Stricker J, Cookson S, Bennett M R, et al. A fast, robust and tunable synthetic gene oscillator. Nature, 2008, 456: 516–519
7 Gardner T S, Cantor C R, Collins J J. Construction of a genetic toggle switch in *Escherichia coli*. Nature, 2000, 403: 339–342
8 Kim J, White K S, Winfree E. Construction of an *in vitro* bistable circuit from synthetic transcriptional switches. Mol Syst Biol, 2006, 2: 68
9 Becskei A, Serrano L. Engineering stability in gene networks by autoregulation. Nature, 2000, 405: 590–593
10 Endy D. Foundations for engineering biology. Nature, 2005, 438: 449–453
11 Metzgar D, Bacher J M, Pezo V, et al. *Acinetobacter* sp. ADP1: an ideal model organism for genetic analysis and genome engineering. Nucleic Acids Res, 2004, 32: 5780–5790
12 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
13 Gibson D G, Benders G A, Andrews-Pfannkoch C, et al. Complete chemical synthesis, assembly, and cloning of a mycoplasma genitalium genome. Science, 2008, 319: 1215–1220
14 Lartigue C, Glass J I, Alperovich N, et al. Genome transplantation in bacteria: changing one species to another. Science, 2007, 317: 632–638
15 Chan L Y, Kosuri S, Endy D. Refactoring bacteriophage T7. Mol Syst Biol, 2005, 1: 2005. 0018
16 Noireaux V, Bar-Ziv R, Godefroy J, et al. Toward an artificial cell based on gene expression in vesicles. Phys Biol, 2005, 2: 1–8
17 Monnard P A, Deamer D W. Membrane self-assembly processes: steps toward the first cellular life. Anat Rec, 2002, 268: 196–207
18 Luisi P L, Chiarabelli C. Chemical Synthetic Biology. Chichester: Wiley, 2011
19 Schopf J W. Fossil evidence of Archaean life. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 2006, 361: 869–885
20 Kasting J F. Earth’s early atmosphere. Science, 1993, 259: 920–926
21 Miller S L. A production of amino acids under possible primitive earth conditions. Science, 1953, 117: 528–529
22 Orgel L E. Prebiotic chemistry and the origin of the RNA world. Crit Rev Biochem Mol Biol, 2004, 39: 99–123
23 Hargreaves W R, Deamer D W. Liposomes from ionic, single-chain amphiphiles. Biochemistry, 1978, 17: 3759–3768
24 Rajamani S, Vlassov A, Benner S, et al. Lipid-assisted synthesis of RNA-like polymers from mononucleotides. Orig Life Evol Biosph, 2008, 38: 57–74
25 Kim D E, Joyce G F. Cross-catalytic replication of an RNA ligase ribozyme. Chem Biol, 2004, 11: 1505–1512
26 Ashkenasy G, Jagasia R, Yadav M, et al. Design of a directed molecular network. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101: 10872–10877
27 Hutchison C A, Peterson S N, Gill S R, et al. Global transposon mutagenesis and a minimal mycoplasma genome. Science, 1999, 286: 2165–2169
28 Szostak J W, Bartel D P, Luisi P L. Synthesizing life. Nature, 2001, 409: 387–390
29 Chiarabelli C, Luisi P L. Chemical synthetic biology. Sci Prog, 2014, 97: 48–61
30 Kamionkowski M. The universe in a nutshell. Science, 2002, 296: 267–267
31 Gould S J, Lewontin R C. The spandrels of san marco and the panglossian paradigm: a critique of the adaptationist programme. Proc R Soc Lond B Biol Sci, 1979, 205: 581–598
32 Parker G A, Smith J M. Optimality theory in evolutionary biology. Nature, 1990, 348: 27–33
33 Scheiner S M. Selection experiments and the study of phenotypic plasticity. J Evol Biol, 2002, 15: 889–898
34 Poelwijk F J, de Vos M G, Tans S J. Tradeoffs and optimality in the evolution of gene regulation. Cell, 2011, 146: 462–470
35 Barkai N, Leibler S. Robustness in simple biochemical networks. Nature, 1997, 387: 913–917
36 Kollmann M, Lovdok L, Bartholome K, et al. Design principles of a bacterial signalling network. Nature, 2005, 438: 504–507
37 Cagatay T, Turcotte M, Elowitz M B, et al. Architecture-dependent noise discriminates functionally analogous differentiation circuits. Cell, 2009, 139: 512–522
38 Peisajovich S G. Evolutionary synthetic biology. ACS Syn Biol, 2012, 1: 199–210
39 Stock A M, Robinson V L, Goudreau P N. Two-component signal transduction. Annu Rev Biochem, 2000, 69: 183–215
40 Skerker J M, Perchuk B S, Siryaporn A, et al. Rewiring the specificity of two-component signal transduction systems. Cell, 2008, 133: 1043–1054

https://engine.scichina.com/doi/10.1360/N052015-00046

41 Groban E S, Clarke E J, Salis H M, et al. Kinetic buffering of cross talk between bacterial two-component sensors. J Mol Biol, 2009, 390: 380–393
42 Siryaporn A, Perchuk B S, Laub M T, et al. Evolving a robust signal transduction pathway from weak cross-talk. Mol Syst Biol, 2010, 6: 452
43 Dueber J E, Yeh B J, Chak K, et al. Reprogramming control of an allosteric signaling switch through modular recombination. Science, 2003, 301: 1904–1908
44 Peisajovich S G, Garbarino J E, Wei P, et al. Rapid diversification of cell signaling phenotypes by modular domain recombination. Science, 2010, 328: 368–372
45 Good M C, Zalatan J G, Lim W A. Scaffold proteins: hubs for controlling the flow of cellular information. Science, 2011, 332: 680–686
46 Park S H, Zarrinpar A, Lim W A. Rewiring map kinase pathways using alternative scaffold assembly mechanisms. Science, 2003, 299: 1061–1064
47 Isaacs F J, Carr P A, Wang H H, et al. Precise manipulation of chromosomes *in vivo* enables genome-wide codon replacement. Science, 2011, 333: 348–353
48 Wang H H, Isaacs F J, Carr P A, et al. Programming cells by multiplex genome engineering and accelerated evolution. Nature, 2009, 460: 894–898
49 Ellefson J W, Meyer A J, Hughes R A, et al. Directed evolution of genetic parts and circuits by compartmentalized partnered replication. Nat Biotechnol, 2014, 32: 97–101
50 Carlson J C, Badran A H, Guggiana-Nilo D A, et al. Negative selection and stringency modulation in phage-assisted continuous evolution. Nat Chem Biol, 2014, 10: 216–222
51 Esvelt K M, Carlson J C, Liu D R. A system for the continuous directed evolution of biomolecules. Nature, 2011, 472: 499–503
52 Seeman N C. Nucleic acid junctions and lattices. J Theor Biol, 1982, 99: 237–247
53 Robinson B H, Seeman N C. The design of a biochip: a self-assembling molecular-scale memory device. Protein Eng, 1987, 1: 295–300
54 Seeman N C. DNA in a material world. Nature, 2003, 421: 427–431
55 Rothemund P W. Folding DNA to create nanoscale shapes and patterns. Nature, 2006, 440: 297–302
56 Yin P, Hariadi R F, Sahu S, et al. Programming DNA tube circumferences. Science, 2008, 321: 824–826
57 Ke Y, Ong L L, Shih W M, et al. Three-dimensional structures self-assembled from DNA bricks. Science, 2012, 338: 1177–1183
58 Yurke B, Turberfield A J, Mills A P Jr. et al. A DNA-fuelled molecular machine made of DNA. Nature, 2000, 406: 605–608
59 Sherman W B, Seeman N C. A precisely controlled DNA biped walking device. Nano Lett, 2004, 4: 1801–1801
60 Seelig G, Soloveichik D, Zhang D Y, et al. Enzyme-free nucleic acid logic circuits. Science, 2006, 314: 1585–1588
61 Yin P, Choi H M, Calvert C R, et al. Programming biomolecular self-assembly pathways. Nature, 2008, 451: 318–322
62 Yeh B J, Rutigliano R J, Deb A, et al. Rewiring cellular morphology pathways with synthetic guanine nucleotide exchange factors. Nature, 2007, 447: 596–600
63 Boyle P M, Silver P A. Harnessing nature's toolbox: regulatory elements for synthetic biology. J R Soc Interface, 2009, 6 Suppl 4: S535–S546
64 Purnick P E, Weiss R. The second wave of synthetic biology: from modules to systems. Nat Rev Mol Cell Biol, 2009, 10: 410–422
65 Jayaraman A, Wood T K. Bacterial quorum sensing: signals, circuits, and implications for biofilms and disease. Annu Rev Biomed Eng, 2008, 10: 145–167
66 Basu S, Gerchman Y, Collins C H, et al. A synthetic multicellular system for programmed pattern formation. Nature, 2005, 434: 1130–1134
67 Danino T, Mondragon-Palomino O, Tsimring L, et al. A synchronized quorum of genetic clocks. Nature, 2010, 463: 326–330
68 Liu C, Fu X, Liu L, et al. Sequential establishment of stripe patterns in an expanding cell population. Science, 2011, 334: 238–241

https://engine.scichina.com/doi/10.1360/N052015-00046

Synthetic Biology in Studying the Origin of Life, Evolution, and Structure-Function Relation

XIAO MinFeng, ZHANG BingZhao, LIU ChenLi

Center for Synthetic Biology Engineering Research, Shenzhen Institutes of Advanced Technology, Chinese Academy of Sciences, Shenzhen 518055, China

How did life originate? What are the principles and molecular mechanisms underlying biological evolution? How do organisms assemble molecules and cells with specific structures? How does a cell subsequently grow into a regular-structured organism? The mysteries of these ancient biological fundamentals remain to be unveiled. In the past decades, synthetic biology, the new interdisciplinary subject that merges biological sciences, engineering, physics, and chemistry, aims to create steerable modes, bio-logics, and biosystems by designing and building new biological devices, functions, and systems. The emergence of synthetic biology may overcome the previous technical obstacles and shed new light on possible answers to questions about the origin, evolution, structure, and function of life. Meanwhile, it may also alter the generally accepted concepts towards life, thus challenging our way of understanding the fundamentals of life.

synthetic biology, the origin of life, evolution of life, structure and function

doi: 10.1360/N052015-00046

https://engine.scichina.com/doi/10.1360/N052015-00046