动态应答人工生物系统研究进展

杨弋^①, 娄春波^②, 刘海燕^③, 马小军^④, 李益明^⑤, 欧阳颀^⑥^① 华东理工大学, 生物反应器工程国家重点实验室, 合成生物学与合成生物技术实验室, 上海 200237;^② 中国科学院微生物研究所, 中国科学院微生物生理与代谢工程重点实验室, 北京 100101;^③ 中国科学技术大学, 合肥微尺度物质科学国家实验室(筹), 合肥 230026;^④ 中国科学院大连化学物理研究所, 大连 116023;^⑤ 复旦大学医学院华山医院, 内分泌科, 上海 200040;^⑥ 北京大学定量生物学中心, 清华大学-北京大学生命科学联合中心, 北京 100871

E-mail: yiyang@ecust.edu.cn

收稿日期: 2015-03-17; 接受日期: 2015-04-16

国家自然科学基金(批准号: 31225008, 91313301, 31170815, 31470833)和上海市科学技术委员会科技计划(批准号: 12JC1402900, 11DZ2260600)资助

doi: 10.1360/N052015-00051

摘要 代谢和应答是生命的基本特征, 自然界中的生命有机体的应答与调控是极度动态和时空精密的. 复杂合成生物体系也应具有相应的应答调控特性. 通过动态可控的元器件及人工调控系统, 调控信息的流动使之对体内外环境动态应答, 可用于对生命行为的理解与操纵. 发展可与人体相互作用并动态应答的合成生物系统, 也将为疾病的干预提供新的可能性. 本文简要综述了近年来动态应答合成生物学器件与人工生物系统的研究进展.

关键词合成生物系统
应答调控
动态
定量
诱导物
光遗传学
基因治疗
糖尿病

近年来, 合成生物学受到世界各国的广泛关注, 发展十分迅速. 人工合成生物体系不仅可用于理解生命本质, 还为发展先进生物制造与诊疗技术、催生新的生物产业革命、促进经济可持续发展提供重大机遇. 目前, 国际合成生物学的研究存在代谢调控两种发展方向. 代谢和应答是生命的基本特征. 生命体能够有效利用环境中的物质与能源进行新陈代谢活动, 精准地处理体内外的各种信息并对生命活动进行动态的调控. 合成生物体系也应具有相应的代谢与应答调控特征(图 1). (i) 可通过人工代谢途径的构建, 改变物质流动方向, 进而发展生物化工产品、药物等

代谢物的生物制造技术. (ii) 通过动态可控的元器件及人工调控系统, 调控信息的流动使之对体内外环境动态应答, 可用于对生命行为的理解与操纵.

1 动态应答人工生物系统的需求与挑战

生物代谢通路调控网络的模块化设计和优化是国内外合成生物学研究的主要方向之一, 已有多种生物药物、生物基化学品都被微生物高效表达并展现出很好的应用前景. 随着被操纵基因数目增多和代谢通路的复杂化^[1,2], 人们发现利用调控元件精细地

引用格式: 杨弋, 娄春波, 刘海燕, 等. 动态应答人工生物系统研究进展. 中国科学: 生命科学, 2015, 45: 935–942

Yang Y, Lou C B, Liu H Y, et al. Recent progress in dynamic responding synthetic biological systems. SCIENTIA SINICA Vitae, 2015, 45: 935–942, doi: 10.1360/N052015-00051

图1 合成生物学在代谢与调控方向的发展思路(网络版彩图)

调整各个基因间比例关系,可使代谢流通畅和高效^[3-5]。最近代谢通路的设计又出现了由静态到动态调控演化的趋势,例如,利用感应元件动态地感知和平衡不同代谢通路^[6],或防止有害中间物的胞内积累^[7]。在我国,国家科技计划已立项的项目大多偏向细胞代谢途径改造,即通过改变细胞内物质的流动方向,发展各种生物能源、生化工程产品、创新药物与生物材料的生物制造,其中少量项目中有关于合成生物体系对体内外环境动态应答的研究内容,但都不是主要研究方向。

人工调控系统的基础研究在国际上一直是合成生物学主要发展方向之一。人们成功设计构建了各种逻辑门、计数器、振荡器、信号过滤器、时空斑图等基因回路^[8-11],为发展复杂的合成生命体系打下了基础。自然界中的生命有机体的应答与调控是极度动态和时空精密的,如新陈代谢、生物节律、细胞分化与死亡、发育。一旦调控出现紊乱,就会导致疾病的发生。可与人体相互作用并进行调控的人工生物系统为疾病的干预提供了新的可能性。疾病干预方面,合成生物学更是面临简单到复杂、静态到动态的挑战。相比微生物细胞,动物活体具有更复杂、动态的组织形式和行为。国际上在合成生物学的医学与健康干预应用的尝试正不断增多,有力推动了发展动态可控的复杂人工生物系统的需求。人们已经在试图发展更加复杂的动态调控基因回路,用于抑制蚊子(*Culicidae*)群体的繁衍控制传染病扩散^[12]、激活免疫细胞,其特异性免疫治疗效应^[13]、识别与杀死肿瘤细胞^[14,15]、调节体内代谢紊乱^[16,17]等。

其中,利用合成生物学技术干预糖尿病是国际研究的热点。人体内的糖代谢受饮食、运动、节律等

诸因素影响,被复杂的动态应答生物网络所调控。血糖、胰岛素等参数具有强烈的动态性,而在糖尿病患者身上,血糖的控制发生了失调,促进糖尿病发展及心血管等各种并发症发生。早期的严格血糖控制不仅可以缓解糖尿病早期患者的病情与进展,还可以有效预防糖尿病前期患者发展为糖尿病。但是由于患者糖代谢的动态变化和个体差异,口服降糖药和胰岛素等外源性药物的作用难以与体内血糖的变化吻合,导致临床干预时血糖降低不足影响治疗效果,或是血糖过度降低产生严重副作用。人源的胰岛或胰腺移植可以有效治疗1型糖尿病,但受供体组织来源、胰岛脆弱性的限制而很难推广^[18]。利用生物微反应器技术,可将异源胰岛包封在选择透过、免疫隔离的高分子材料亲水膜内,移植到患者体内发挥治疗作用。在大鼠(*Rattus norvegicus*)、狗(*Canis lupus familiaris*)甚至是猴(*Primates*)的1型糖尿病模型中,含有胰岛的生物微反应器可将血糖降低到正常水平,改善症状并维持数月^[19]。2009年美国国立卫生研究院(National Institutes of Health, NIH)、食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)已经启动微囊化猪(*Sus domesticus*)胰岛移植治疗1型糖尿病的临床试验方案和细节设计^[20],在新西兰微囊化猪胰岛产品已经进入二期临床研究。在人工胰岛功能的细胞方面,20世纪90年代就有人尝试利用S-14等葡萄糖响应的启动子来控制转基因的肝脏细胞内的胰岛素合成^[21],并在动物模型上实现了对1型糖尿病的长时间干预^[22]。虽然启动子、mRNA等元件可进行优化,但这些系统响应速度仍较慢,难以做到快速动态的血糖控制^[22,23]。有人构建了能够响应脂肪酸而动态释放食欲抑制药物普兰林肽的器件^[24],在小鼠(*Mus musculus*)上可减轻肥胖症状,对糖尿病干预也有一定的应用潜力。但是,这些合成生物器件仍然缺乏快速、定量干预血糖的能力。近期,瑞士科学家与本研究组分别构建了光控合成生物学线路,有效控制了糖尿病小鼠体内的血糖浓度(图2)^[16,17]。前者涉及复杂级联信号转导途径,易受内源信号干扰,难以优化;后者则简单且模块化强,更容易调控。此外,结合纳米技术与生物技术,可用射频信号激活应答调控系统,也可控制胰岛素的释放^[25]。这些研究为动态调控人工系统应用于人类糖尿病治疗提供了有力支持。

图 2 利用光控合成生物学线路干预糖尿病(网络版彩图)

A: 光敏级联信号转导途径控制胰高血糖素样肽 1(glucagon-like peptide-1, GLP-1)分泌^[16]. Gaq: Gaq 类 G 蛋白; PLC: 磷脂酶 C; PKC: 磷酸激酶 C; NFAT: 活化 T 细胞核因子; B: 光控基因表达系统控制胰岛素分泌^[17]. GAVPO: 优化光控转录因子; 5xUASG: 5 倍 Gal4 上游激活序列; TATA: TATA 框

2 动态调控合成生物学元器件

人工生物系统需要按照可设计、程序化的工程化方式来实现动态应答的合成生物器件与网络. 这些系统通常包含感应元件、信息整合与处理器件、以及应答元件, 这些元器件可以动态感知物理、化学信号, 处理与整合这些信号, 并输出动态模拟信号.

2.1 动态应答基因线路

各种元器件组装成的基因线路是动态应答人工生物系统的核心, 可完成多种调控功能. 基于转录调控元件的遗传双稳态^[26]和基因振荡器^[27]是合成生物学领域奠基型的两个器件. 此后相继发展了信号过滤器、时空斑图等可控合成生物器件. 最近, 人们已经能够利用合成生物学正向工程和逆向工程的方法, 实现了由多个功能模块耦合而成的、具有“按钮式开关”功能^[28], 或者可同步化的时钟^[29], 使细菌的基因表达呈现出复杂的时序逻辑模式. 甚至可以把多个逻辑门和双稳态组装成具有极其复杂应答功能的动态调控系统, 如具有巴甫洛夫条件反射式的应答行为的调控网络^[30].

由于基于转录调控的基因线路应答时间通常大于 30 min, 为了实现更快的动态调控, 基于 RNA 的转录后调控器件也开始出现^[31]. 利用正交的核糖体

RNA-mRNA 正交对和利用不同的正交对拓扑结构, 人们构建了多个翻译水平的逻辑门^[32]; 基于核糖开关(riboswitch)的调控机制也可得到模块化的核糖调控子, 执行反义 RNA 调控和短链 RNA 调控等多种形式的转录后调控. 人们利用这些核糖调控子还搭建了可以计数的基因网络, 该网络可以针对时间序列上不同位置的同一种信号做出不同的响应^[9]. 基于蛋白相互作用或修饰的应答过程速度更快, 其中, 基于光敏元件的开关时间甚至可以达到毫秒级. 因此, 对蛋白质相互作用系统进行重新编程也是合成生物学的一个重要的方向. 如 Lim 研究组^[33,34]在酵母细胞内将丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号转导通路的支架蛋白改造为工程化的合成支架蛋白, 作为空间上区域化的信号节点, 将原本基于支架蛋白的反应整合在一起, 得到完全依赖于蛋白质相互作用的, 可重新编程配置的人工信号通路, 实现了逻辑门、超敏开关等具有时序和动力学行为的生物器件.

目前已有的调控器件绝大部分都是离散型, 以开关的形式控制, 缺乏对输入与输出模拟信号的处理能力. 天然的调控系统面对的通常是定量性的信号, 会针对不同强度的输入信号作出不同程度的响应. 例如, 胰岛细胞可针对不同的血糖浓度, 释放出不同的胰岛素用于调控. 最近, 欧阳颀课题组^[35]在细

菌内设计实现了具有“半对数”计量响应曲线的感受器网络, 被认为突破了采用模拟信号的基因调控网络的设计局限。有人报道了一个能够感应4个数量级的浓度变化的模拟信号应答系统, 能够完成精密信号的加法、除法和幂率等计算过程^[36]。在定量调控方面, 光敏调控的元器件由于可以被不同强度、不同时间的光照定量激活, 因而具有明显的优势。这些模拟信号应答系统可承载更多信息量, 可依据输入信号的水平对输出信号进行定量的控制, 是动态应答合成生物系统发展的重要趋势, 发展相关的设计理论与组装工程化原则具有重要意义。

2.2 光敏调控元器件及光遗传学

光遗传学这一新兴学科是通过在细胞内导入遗传编码的光敏蛋白, 利用光对细胞内的分子活动直接进行特异、快速、远程、可逆、定量、定位的实时控制。神经科学是最早广泛应用光敏蛋白的领域, 利用改造过的感光离子通道, 可在毫秒量级内, 用光刺激激发或抑制特定类型神经细胞的活动, 从而能准确地探索不同类型的细胞在神经环路中的作用, 例如, 用激光控制斑马鱼(*Barchydanio rerio* var)的心脏跳动, 用光控制秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)的运动方向, 用光改变小鼠抑郁症行为。光遗传学的影响也迅速扩散到细胞生物学、生物化学与生物物理、发育生物学等核心生命科学领域。目前, 科学家已找到或者人工改造、合成了一些可用于控制细胞运动、神经肌肉动作^[37-39]、蛋白质相互作用与信号转导^[40,41]、肌动蛋白聚集与细胞运动^[42]、蛋白质剪切^[43]等光敏蛋白。2011年, *Nature Methods* 将光遗传学评选为“年度研究方法”^[44]。目前光遗传学已经成为了细胞分子活动操纵技术的前沿与趋势, 它引领人们进入微扰生物学时代, 使人类对生命现象在时间和空间尺度上的控制程度达到前所未有的水平, 使复杂生物学系统的研究模式彻底改变。

光遗传学的基因元器件具有极快的响应速度与定量性, 为合成生物学的研究提供了重要的新工具。但目前光遗传学技术基本都需要针对靶标蛋白进行一对一的设计, 还存在工程化的困难。近年来, 瑞士、中国与德国科学家分别发展了动物光控基因表达系统^[16,17,45], 可用于控制一切基因表达和几乎一切生命活动, 为光遗传技术的更广泛的应用提供了很好的条件。其中, 杨弋等人^[17]发明的 LightOn 光控基因

表达元件受到了国际同行的广泛关注, 已有170余研究组进行跟踪应用。最近有人在 *Science* 发文, 利用 LightOn 技术成功控制了神经干细胞的命运, 并认为该系统“可用于再生医学技术”^[46]。但这些技术还需要进一步优化与正交化, 在光控蛋白的激发波长、动力学参数等方面有更好的多样性以供选择。此外, 针对蛋白质合成、蛋白质降解、细胞增殖分化与凋亡等生物学过程的通用光遗传学技术仍然十分缺乏。这些问题都需要用合成生物学模块化、工程化的理念予以解决, 设计与筛选光可控功能蛋白质分子。

光遗传学交叉性也很强, 涉及到物理、化学、信息等学科。科学家们开发了各种创新的光传导与操纵技术、设备与信息系统。例如, 2013年哈佛大学的研究人员则结合研发出了一种原位形成的“光导凝胶”^[47], 实现了在动物体内同时对光学信号检测和控制的功能。利用光学探针的感知和光敏蛋白元件的操控性能, 可以用计算机系统及光信号对生物体系进行实时反馈控制^[48,49]。最近, 有人甚至利用脑电信号, 以光为媒介, 控制了合成生物体系内特定基因的表达^[49]。这种用光信号连接的实体电子线路和生命调控系统交互回路, 是合成生物学一个新的发展方向。

2.3 化学信号感受的优质动态调控元器件

如何获得优质可感受化学信号的调控元器件, 是发展动态应答合成生物系统的重要任务。人们已经发展了感受外源化学信号如糖类、抗生素、激素及金属离子等、操纵基因表达的体系, 其中一些在合成生物学体系中作为工具元件广泛应用。然而, 常用工具元件只响应有限的几种外源化学信号(如异丙基- β -D-硫代半乳糖苷(isopropyl- β -D-thiogalactoside, IPTG)、四环素、雷帕霉素、茶碱等)。尽管基于这些工具元件可以人为地干预细胞过程, 但并不能做到真正的动态调控: 即让细胞对自然环境中的特定代谢物进行原位应答。虽然近期人们又发展了感受脂肪、色氨酸、尿酸等内源代谢物的转录元器件^[24,51,52], 但目前仍然缺乏针对葡萄糖等核心代谢物快速响应的动态调控元器件。

在天然有机体中, 存在感受多种化学信号的基因元件, 如直接或间接响应胞内代谢物的启动子或核糖开关、细菌双组分系统与趋化系统等。但这些元件大多存在反应时间长、泄漏高、正交性低、适配性差、不可预测等诸多问题。利用化学信号响应天然蛋

白获得新的化学调控元件是目前蛋白质研究的重要课题^[53]. 从原有性质优异的基因元件出发, 采用设计和定向进化等手段可以针对性地改变其配基特异性; 通过结构域重排获得的基因元件, 则能够赋予细胞以新方式响应原化学信号的能力^[54]. 近年对蛋白质折叠、天然无结构蛋白等研究导致了一些具有更强模块化特点的新策略, 如可变折叠框架^[55]、互斥折叠类型等^[56], 这类方法更多依赖于调节蛋白质不同折叠状态的稳定性, 一定程度上避开对蛋白质-配基复合物的结构细节进行设计这一困难问题. 由于近年来蛋白质计算设计方法已发展到能够从头设计出自发折叠成高度稳定的三维结构的蛋白质^[57], 把从头设计与基于折叠稳定性的化学信号感知机制结合起来, 可能实现模块化设计的人工调控元件. 在人工核糖开关方面, 目前的主要瓶颈是常规适配体筛选技术是以配基-RNA 亲和力为筛选标准的, 目前采用这种方法获得适配体只有极少数适用于构建细胞内分子

开关^[58].

各种不同类型的调控元件性质见表 1.

3 总结和展望

随着合成生物学的迅速发展, 构建对环境变化及生命信号做出动态应答的合成生物器件已成为可能. 当然, 目前动态应答人工生物系统的构建仍然存在许多问题有待解决, (i) 缺乏优质感知元件, 即将特定胞内外物理化学信号转化为对特定生物过程调控信息的具体分子元件; (ii) 缺乏模块化地组装精密调控网络的方法和有预测能力的理论模型. 结合对生物医学的重大应用需求, 针对这些瓶颈问题展开深入研究, 系统性地发展可以快速、定量响应内源或外源信号的合成生物学元器件, 将不仅可以推动合成生物学理论和应用的发展, 也为人造生物系统的工程化和实用化发挥关键支撑作用.

表 1 调控型元件性质比较

类型	元件调控性质	诱导物	作用元件	种类	定量性	动态性	反应时间	可逆性	空间分辨性
1	无调控	无	蛋白质 RNA	多	高	无	h	差	低
2	化学小分子调控	小分子	蛋白质 RNA	多	中	中	min	较差	低
3	温度调控	温度	蛋白质 RNA	少	低	低	min	较差	低
4	光调控	光	蛋白质	多	高	高	ms	好	高

参考文献

- Martin V J, Pitera D J, Withers S T, et al. Engineering a mevalonate pathway in *Escherichia coli* for production of terpenoids. *Nat Biotechnol*, 2003, 21: 796–802
- Temme K, Zhao D, Voigt C A. Refactoring the nitrogen fixation gene cluster from *Klebsiella oxytoca*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 7085–7090
- Pflegler B F, Pitera D J, Smolke C D, et al. Combinatorial engineering of intergenic regions in operons tunes expression of multiple genes. *Nat Biotechnol*, 2006, 24: 1027–1032
- Holtz W J, Keasling J D. Engineering static and dynamic control of synthetic pathways. *Cell*, 2010, 140: 19–23
- Ajikumar P K, Xiao W H, Tyo K E, et al. Isoprenoid pathway optimization for taxol precursor overproduction in *Escherichia coli*. *Science*, 2010, 330: 70–74
- Zhang F, Carothers J M, Keasling J D. Design of a dynamic sensor-regulator system for production of chemicals and fuels derived from fatty acids. *Nat Biotechnol*, 2012, 30: 354–359
- Dahl R H, Zhang F, Alonso-Gutierrez J, et al. Engineering dynamic pathway regulation using stress-response promoters. *Nat Biotechnol*, 2013, 31: 1039–1046
- Basu S, Mehreja R, Thiberge S, et al. Spatiotemporal control of gene expression with pulse-generating networks. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 6355–6360
- Friedland A E, Lu T K, Wang X, et al. Synthetic gene networks that count. *Science*, 2009, 324: 1199–1202
- Liu C, Fu X, Liu L, et al. Sequential establishment of stripe patterns in an expanding cell population. *Science*, 2011, 334: 238–241
- Stricker J, Cookson S, Bennett M R, et al. A fast, robust and tunable synthetic gene oscillator. *Nature*, 2008, 456: 516–519
- Fu G, Lees R S, Nimmo D, et al. Female-specific flightless phenotype for mosquito control. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107:

- 4550–4554
- 13 Spiegel D A. Grand challenge commentary: synthetic immunology to engineer human immunity. *Nature chemical biology*, 2010, 6: 871–872
- 14 Anderson J C, Clarke E J, Arkin A P, et al. Environmentally controlled invasion of cancer cells by engineered bacteria. *J Mol Biol*, 2006, 355: 619–627
- 15 Xie Z, Wroblewska L, Prochazka L, et al. Multi-input RNAi-based logic circuit for identification of specific cancer cells. *Science*, 2011, 333: 1307–1311
- 16 Ye H, Daoud-El Baba M, Peng R W, et al. A synthetic optogenetic transcription device enhances blood-glucose homeostasis in mice. *Science*, 2011, 332: 1565–1568
- 17 Wang X, Chen X, Yang Y. Spatiotemporal control of gene expression by a light-switchable transgene system. *Nat Methods*, 2012, 9: 266–269
- 18 Shapiro A M, Ricordi C, Hering B J, et al. International trial of the Edmonton protocol for islet transplantation. *N Engl J Med*, 2006, 355: 1318–1330
- 19 de Vos P, Spasojevic M, Faas M M. Treatment of diabetes with encapsulated islets. *Adv Exp Med Biol*, 2010, 670: 38–53
- 20 Hering B J, Cooper D K, Cozzi E, et al. The international xenotransplantation association consensus statement on conditions for undertaking clinical trials of porcine islet products in type 1 diabetes—executive summary. *Xenotransplantation*, 2009, 16: 196–202
- 21 Mitanchez D, Doiron B, Chen R, et al. Glucose-stimulated genes and prospects of gene therapy for type 1 diabetes. *Endocr Rev*, 1997, 18: 520–540
- 22 Nett P C, Sollinger H W, Alam T. Hepatic insulin gene therapy in insulin-dependent diabetes mellitus. *Am J Transplant*, 2003, 3: 1197–1203
- 23 Alam T, Wai P, Held D, et al. Correction of diabetic hyperglycemia and amelioration of metabolic anomalies by minicircle DNA mediated glucose-dependent hepatic insulin production. *PLoS One*, 2013, 8: e67515
- 24 Rossger K, Charpin-El-Hamri G, Fussenegger M. A closed-loop synthetic gene circuit for the treatment of diet-induced obesity in mice. *Nat Commun*, 2013, 4: 2825
- 25 Stanley S A, Gagner J E, Damanpour S, et al. Radio-wave heating of iron oxide nanoparticles can regulate plasma glucose in mice. *Science*, 2012, 336: 604–608
- 26 Gardner T S, Cantor C R, Collins J J. Construction of a genetic toggle switch in *Escherichia coli*. *Nature*, 2000, 403: 339–342
- 27 Elowitz M B, Leibler S. A synthetic oscillatory network of transcriptional regulators. *Nature*, 2000, 403: 335–338
- 28 Lou C, Liu X, Ni M, et al. Synthesizing a novel genetic sequential logic circuit: a push-on push-off switch. *Mol Syst Biol*, 2010, 6: 350
- 29 Danino T, Mondragon-Palomino O, Tsimring L, et al. A synchronized quorum of genetic clocks. *Nature*, 2010, 463: 326–330
- 30 Zhang H, Lin M, Shi H, et al. Programming a pavlovian-like conditioning circuit in *Escherichia coli*. *Nat Commun*, 2014, 5: 3102
- 31 Isaacs F J, Dwyer D J, Ding C, et al. Engineered riboregulators enable post-transcriptional control of gene expression. *Nat Biotechnol*, 2004, 22: 841–847
- 32 Rackham O, Chin J W. A network of orthogonal ribosome X mRNA pairs. *Nat Chem Biol*, 2005, 1: 159–166
- 33 Park S H, Zarrinpar A, Lim W A. Rewiring map kinase pathways using alternative scaffold assembly mechanisms. *Science*, 2003, 299: 1061–1064
- 34 Bashor C J, Helman N C, Yan S, et al. Using engineered scaffold interactions to reshape map kinase pathway signaling dynamics. *Science*, 2008, 319: 1539–1543
- 35 Zhang H, Sheng Y, Wu Q, et al. Rational design of a biosensor circuit with semi-log dose-response function in *Escherichia coli*. *Quant Biol*, 2013, 1: 209–220
- 36 Daniel R, Rubens J R, Sarpeshkar R, et al. Synthetic analog computation in living cells. *Nature*, 2013, 497: 619–623
- 37 Arrenberg A B, Stainier D Y, Baier H, et al. Optogenetic control of cardiac function. *Science*, 2010, 330: 971–974
- 38 Witten I B, Lin S C, Brodsky M, et al. Cholinergic interneurons control local circuit activity and cocaine conditioning. *Science*, 2010, 330: 1677–1681
- 39 Llewellyn M E, Thompson K R, Deisseroth K, et al. Orderly recruitment of motor units under optical control *in vivo*. *Nat Med*, 2010, 16: 1161–1165
- 40 Levskaya A, Weiner O D, Lim W A, et al. Spatiotemporal control of cell signalling using a light-switchable protein interaction. *Nature*, 2009, 461: 997–1001
- 41 Airan R D, Thompson K R, Fenno L E, et al. Temporally precise *in vivo* control of intracellular signalling. *Nature*, 2009, 458: 1025–1029

- 42 Wu Y I, Frey D, Lungu O I, et al. A genetically encoded photoactivatable Rac controls the motility of living cells. *Nature*, 2009, 461: 104–108
- 43 Tyszkiewicz A B, Muir T W. Activation of protein splicing with light in yeast. *Nat Methods*, 2008, 5: 303–305
- 44 Editorial N M. Method of the year 2010. *Nat Methods*, 2011, 8: 1
- 45 Motta-Mena L B, Reade A, Mallory M J, et al. An optogenetic gene expression system with rapid activation and deactivation kinetics. *Nat Chem Biol*, 2014, 10: 196–202
- 46 Imayoshi I, Isomura A, Harima Y, et al. Oscillatory control of factors determining multipotency and fate in mouse neural progenitors. *Science*, 2013, 342: 1203–1208
- 47 Choi M, Choi J, Kim S, et al. Light-guiding hydrogels for cell-based sensing and optogenetic synthesis *in vivo*. *Nat Photonics*, 2013, 7: 987–994
- 48 Milias-Argeitis A, Summers S, Stewart-Ornstein J, et al. *In silico* feedback for *in vivo* regulation of a gene expression circuit. *Nat Biotechnol*, 2011, 29: 1114–1116
- 49 Toettcher J E, Gong D, Lim W A, et al. Light-based feedback for controlling intracellular signaling dynamics. *Nat Methods*, 2011, 8: 837–839
- 50 Folcher M, Oesterle S, Zwicky K, et al. Mind-controlled transgene expression by a wireless-powered optogenetic designer cell implant. *Nat Commun*, 2014, 5: 5392
- 51 Kemmer C, Gitzinger M, Daoud-El Baba M, et al. Self-sufficient control of urate homeostasis in mice by a synthetic circuit. *Nat Biotechnol*, 2010, 28: 355–360
- 52 Bacchus W, Lang M, El-Baba M D, et al. Synthetic two-way communication between mammalian cells. *Nat Biotechnol*, 2012, 30: 991–996
- 53 Grunberg R, Serrano L. Strategies for protein synthetic biology. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38: 2663–2675
- 54 Wang B, Barahona M, Buck M, et al. Rewiring cell signalling through chimaeric regulatory protein engineering. *Biochem Soc Trans*, 2013, 41: 1195–1200
- 55 Ha J H, Loh S N. Protein conformational switches: from nature to design. *Chemistry*, 2012, 18: 7984–7999
- 56 Ha J H, Karchin J M, Walker-Kopp N, et al. Engineering domain-swapped binding interfaces by mutually exclusive folding. *J Mol Biol*, 2012, 416: 495–502
- 57 Saven J G. Computational protein design: engineering molecular diversity, nonnatural enzymes, nonbiological cofactor complexes, and membrane proteins. *Curr Opin Chem Biol*, 2011, 15: 452–457
- 58 Win M N, Smolke C D. Higher-order cellular information processing with synthetic RNA devices. *Science*, 2008, 322: 456–460

Recent Progress in Dynamic Responding Synthetic Biological Systems

YANG Yi¹, LOU ChunBo², LIU HaiYan³, MA XiaoJun⁴, LI YiMing⁵ & OUYANG QI⁶

1 Synthetic Biology and Biotechnology Laboratory, State Key Laboratory of Bioreactor Engineering, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China;

2 CAS Key Laboratory of Microbial Physiological and Metabolic Engineering, The Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China;

3 Hefei National Laboratory for Physical Sciences at the Microscale, University of Science and Technology of China, Hefei 230026, China;

4 Laboratory of Biomedical Material Engineering, Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Dalian 116023, China;

5 Department of Endocrinology, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China;

6 Centre for Quantitative Biology, Tsinghua-Peking Joint Centre for Life Sciences, Peking University, Beijing 100871, China

Metabolism and responses are fundamental features of life. Such responses of living organisms are extremely dynamic and are regulated with spatiotemporal precision. Sophisticated synthetic biological systems should also possess corresponding response control characteristics. Building of dynamically controllable synthetic modules, devices, and artificial biological systems enables the regulation of the information stream and of dynamic responses to changes in the environment *in vivo* and *in vitro*, which will greatly help us understand and manipulate biological behaviors. Development of synthetic biological systems that interact with and dynamically respond to the organism provides new possibilities for disease intervention. This article briefly reviews the recent research progress of synthetic biological devices and artificial biological systems capable of dynamic response.

synthetic biological systems, response regulation, dynamic, quantitative, inducer, ontogenetic, gene therapy, diabetes

doi: 10.1360/N052015-00051