



# 微生物疗法中工程菌的信号感知及其在生物医学中的应用

刘宝娜<sup>1,2</sup>, 王汉杰<sup>1,2\*</sup>

1 天津大学生命科学学院, 天津 300072

2 天津微纳米生物材料与检测-处理技术工程中心 天津生物大分子结构功能与应用重点实验室, 天津 300072

刘宝娜, 王汉杰. 微生物疗法中工程菌的信号感知及其在生物医学中的应用[J]. 微生物学报, 2023, 63(1): 124-138.

LIU Baona, WANG Hanjie. Signal sensing of engineered bacteria in microbial therapy and its application in biomedicine[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2023, 63(1): 124-138.

**摘要:**近年来, 基于微生物能够提供健康益处的事实而兴起的微生物疗法为多种疾病的诊疗提供了新的契机。研究表明临床上口服乳酸菌、大肠杆菌和双歧杆菌可用于辅助治疗各种疾病。在微生物疗法中, 工程菌因能够发挥特定功能而备受关注, 即可通过感知疾病环境中的特定信号分子实现辅助诊断, 也可实现靶向疾病部位感知特定信号, 通过时空调控启动自身表达系统释放特定分子以实现精准治疗的目的。本文主要对工程菌对不同信号分子的感知系统及其在生物医学领域的应用进行了综述。

**关键词:** 微生物疗法; 工程菌; 信号传感; 疾病诊断; 疾病治疗

资助项目: 国家重点研发计划青年科学家项目(2019YFA0906500); 国家自然科学基金优秀青年基金(32122047)

This work was supported by the National Key Research and Development Program of China for Young Scientists (2019YFA0906500) and the National Natural Science Foundation of China for Outstanding Young Scientists (32122047).

\*Corresponding author. Tel/Fax: +86-22-27401821, E-mail: wanghj@tju.edu.cn

Received: 2022-05-11; Accepted: 2022-07-15; Published online: 2022-07-27

# Signal sensing of engineered bacteria in microbial therapy and its application in biomedicine

LIU Baona<sup>1,2</sup>, WANG Hanjie<sup>1,2\*</sup>

1 School of Life Sciences, Tianjin University, Tianjin 300072, China

2 Tianjin Engineering Center of Micro-Nano Biomaterials and Detection-Treatment Technology, Tianjin Key Laboratory of Function and Application of Biological Macromolecular Structures, Tianjin 300072, China

**Abstract:** In recent years, microbial therapy based on the fact that microorganisms can provide health benefits has created new opportunities for the diagnosis and treatment of diseases. Studies have demonstrated that oral administration of *Lactobacillus lactis*, *Escherichia coli*, and *Bifidobacterium* can assist in the treatment of a variety of diseases. In microbial therapy, engineered bacteria have attracted much attention owing to their specific functions. They can either assist in diagnosis by sensing specific signaling molecules in the disease environment, or target the specific signals of the disease site and initiate their expression systems to release specific molecules for precise treatment. This paper reviewed the sensing systems of engineered bacteria for different signaling molecules and the application of the sensing systems in biomedicine.

**Keywords:** microbial therapy; engineered bacteria; signal sensing; disease diagnosis; disease therapy

人体和微生物的密切联系对人类健康有着深远的影响,主要表现在新陈代谢、免疫以及癌症等方面。近年来基于人体肠道、皮肤和其他组织的微生物菌群突破性研究,科学家们开发了一种诊断和治疗人类疾病的新方法——微生物疗法<sup>[1-3]</sup>。已有临床研究表明口服乳酸杆菌、大肠杆菌和双歧杆菌可治疗多种疾病。此外,还可以利用基因工程的手段对微生物进行改造,为某类疾病量身打造特定的工程菌以提高其疗效及安全性,这均使得微生物群在预防和治疗人类疾病方面成为一种具有吸引力的治疗工具。基于这一理念,研究学者尝试改造肠道微生物,使其通过感知特定分子<sup>[4]</sup>和产生并释放治疗某些疾病(如肠炎<sup>[5]</sup>、肿瘤<sup>[6]</sup>及神经退行性疾病<sup>[7]</sup>等)的蛋白类物质,赋予工程菌更智能化的功能以提高对于疾病的诊断和治疗功效。因此,微生物疗法的提出为人类疾病的防治提供了新的可能,有助于某些疾病的科学研究以及临床试验的开展,同时也进

一步推动了合成生物学和现代生物技术的发展。

工程菌是微生物疗法中最为关键的因素,对其进行基因重编程,设计改造智能化的工程菌已成为微生物疗法的一种趋势。其中,利用合成生物学技术构建工程菌传感系统已成为提高疾病诊断效率和治疗效果的一种有效方法。在疾病诊疗过程中,工程菌通过感知信号进行自身调节,控制报告基因或治疗物质输出时间、持续时间以及靶向位点,达到实时诊断和治疗疾病的目的<sup>[8-9]</sup>。因此,一种智能化的工程菌通常由 2 部分组成:感知信号的信号输入区域和调控目的基因表达的信号输出区域。在智能化工程菌的设计中,传感系统发挥着关键性的作用。随着合成生物学以及智能医学的发展,传感系统的发展以及多种传感信号的发现正在逐步扩大。研究表明,细菌传感系统通常是单组分或双组分系统<sup>[10-11]</sup>(图 1)。单组分系统涉及到同时结合目标配体和调节 DNA 序列的转录因子,与蛋白质的配体结

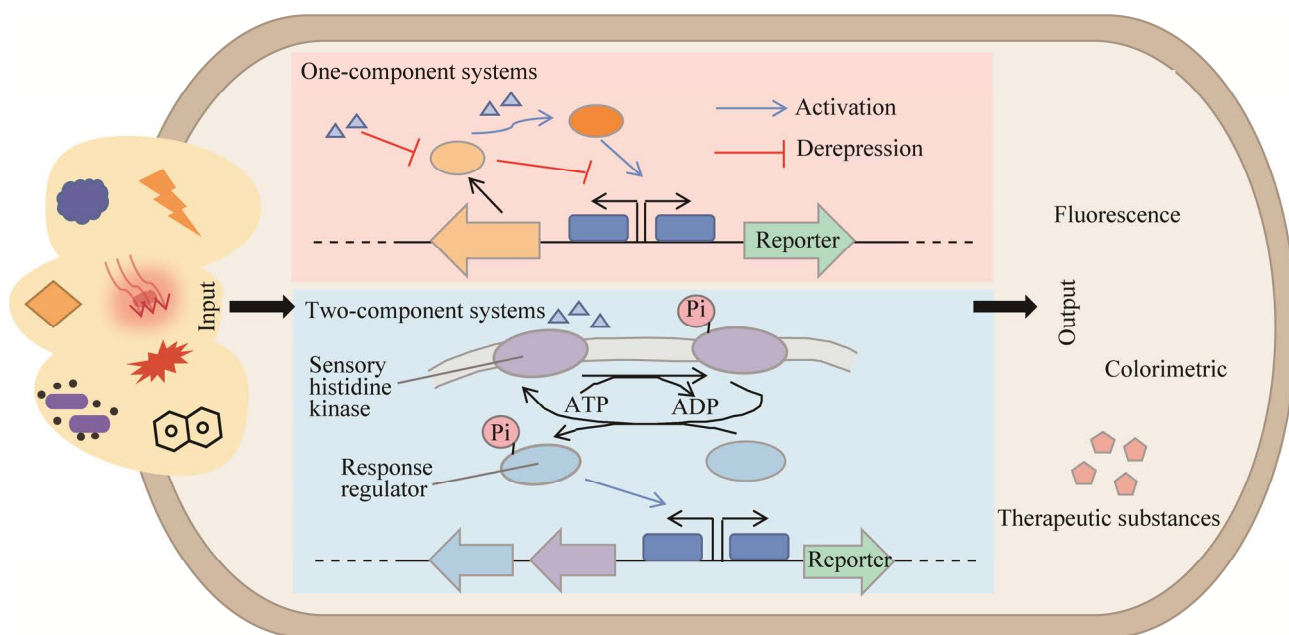


图 1 细菌传感系统

Figure 1 Bacterial sensing system.

合可以抑制或激活下游基因表达。而双组分系统包括组氨酸激酶(通常与膜结合)和反应调节剂。在配体与组氨酸激酶结合后,它使反应调节剂发生磷酸化,进而激活磷酸化状态下的基因表达<sup>[12-14]</sup>。相较于仅有 2 种的传感系统,传感信号则更为丰富。目前,按照物理和化学的分类方式可以将传感信号分为 2 大类:即化学调控的疾病微环境中的分子<sup>[4]</sup>、气体分子<sup>[15]</sup>、群体感应(quorum sensing, QS)分子<sup>[16]</sup>以及诱导剂分子<sup>[17]</sup>等;物理调控的光信号<sup>[18-19]</sup>、温度信号<sup>[20-21]</sup>以及电离辐射信号<sup>[22-23]</sup>等。针对这些已开发的传感信号,本文主要对工程菌对不同信号分子的感知系统及其在生物医学领域的应用进行了综述。

## 1 化学调控传感信号

工程菌通过感知疾病部位或周围环境中特定物质的变化,随之调节传感系统中的目的基因表达来实现对疾病的实时诊断和精准治疗。这类物质通常是一些化学小分子物质,包括疾

病环境中的气体分子、代谢物分子、群感信号分子以及诱导剂分子等。根据先前的研究报道,这类化学物质参与的信号传感系统在代谢工程中的应用是十分广泛的<sup>[24-26]</sup>。即通常利用多个微生物菌株来生产所需的化合物(例如,菌株 A 负责将起始物质转化为中间体并将其释至周围环境,而菌株 B 则负责将中间体转化为所需的产品)。在这一过程中感知环境中化学物质的能力对于协调这些菌株的活动至关重要<sup>[27]</sup>。在微生物疗法中,这些化学物质发挥的功能亦是如此。在特定的疾病环境中,如肿瘤的缺氧环境,氧分子含量较低,具有缺氧信号的传感系统便能在该条件下通过报告基因的表达来实时报告疾病情况,或通过上调治疗因子基因的表达来实现疾病防治,从而发挥工程菌传感系统对疾病部位实时诊断和靶向治疗的目的<sup>[28]</sup>。下面将主要介绍 4 种工程菌可感知的化学调控传感信号:氧气分子、代谢物分子、群感分子以及诱导物分子(图 2)。

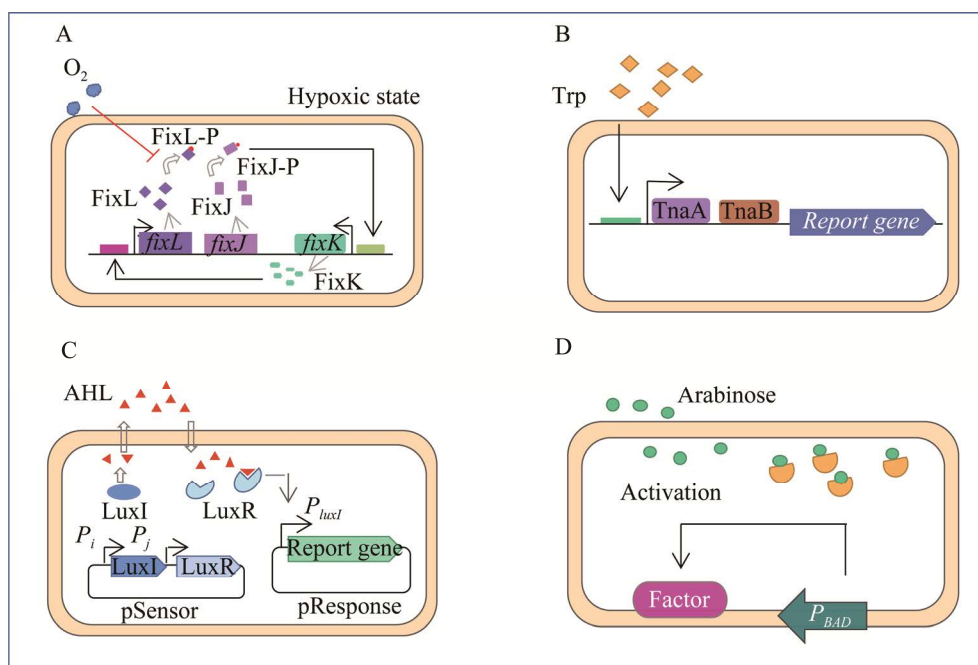


图 2 四种化学调控传感信号

Figure 2 Four chemically regulated sensing signals. A:  $O_2$  molecule-mediated oxygen sensors. B: Tryptophan metabolites affect bacterial expression. C: Quorum sensing signaling molecule AHL up-regulates the expression of reporter genes. D: Inducer molecules (arabinose) to activate or repress expression of target genes.

### 1.1 氧气分子

一直以来研究者们对肿瘤进行了比较深入而全面的研究,其中缺氧作为实体肿瘤的特征之一,已被用于对肿瘤疾病的治疗中。有关研究报告,肿瘤微环境中氧浓度维持在 2% 以下的乏氧水平<sup>[29-30]</sup>。基于这一肿瘤微环境特征,研究人员发现血红素 FixL-FixJ 双组分系统中存在一种氧传感器<sup>[31]</sup>。研究发现细菌内少数基因从有氧生长向无氧生长转变时,会被强烈诱导。FixL 和 FixJ 的活性会受到氧气抑制。在缺氧状态下,FixL 和 FixJ 均发生磷酸化,启动信号级联反应。FixL 和 FixJ 通过直接或间接调节 hemA、hemN 和 cychJKL 启动子,激活 FixK 的转录表达。FixK 是用于调节 4 种呼吸末端氧化酶的启动子,同时也充当正调节因子,作用于 FixL 和 FixJ 表达的启动子区域,上调 FixL 和 FixJ 的表达<sup>[31-33]</sup>。总的说来,以氧气分子为核心的传感信号系统是由

传感器组氨酸激酶 FixL、同源反应调节剂 FixJ 和转录调节剂 FixK 组成。将该传感系统与目的基因结合,利用基因工程技术构建在同一系统中,应用于肿瘤微环境,以氧气分子为信号启动系统,完成实时疾病诊疗功能。该方法能够有效避免传统治疗方法对全身各个细胞产生的不利影响。

### 1.2 代谢物分子

体内细菌对宿主营养物质代谢是不可或缺的,特别是一些氨基酸和碳水化合物<sup>[34-36]</sup>。如色氨酸(tryptophan, Trp)、短链脂肪酸(short-chain fatty acids, SFCAs)和 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HA)等。除来自细菌的代谢物与调控宿主的生理及免疫系统有关之外,最新研究显示,这些代谢物还可能使传感信号反过来影响细菌的行为。其中,最典型的例子是细菌的代谢物——吲哚<sup>[37]</sup>。它通过不同途径影响生

产和未生产吡啶的细菌的活动。吡啶由色氨酸酶(TnaA)通过产生色氨酸的途径降解而得到,其中环境因素为主要影响因素。当细胞外富含色氨酸时,Tna操纵子的表达会升高,并转录生成TnaA和TnaB,它们主要负责生成环境中色氨酸吸收的渗透酶<sup>[37-38]</sup>。这时细胞中的吡啶产量达到最大值,并能维持在静止期。碳源(如葡萄糖)、温度和pH值也直接影响吡啶在细胞外的浓度。吡啶分子不需要与特定的受体结合就能激活琥珀酸相关基因,或作用于具有不同生物功能的调节蛋白,从而介导工程菌传感系统基因的表达<sup>[39-40]</sup>。基于细菌与代谢物分子之间的交流方式,利用合成生物学技术改造工程菌,使其能通过感知代谢物分子的变化,启动下游报告基因或目的基因的表达,达到对疾病的诊断和治疗的目的。

### 1.3 群感信号分子

群体感应是微生物群落内细胞间通讯的一种方式,这种方式使得细菌能够感知周围环境变化并调节其密度和行为<sup>[41-43]</sup>,进而使细菌能够像多细胞生物那样生存。1970年,Hastings等观察到革兰氏阴性海洋细菌——费氏光细菌,它只有在细菌存在的数量达到一定的密度时才有生物发光现象,并猜测发光是基于细菌的“控制机制”。现在已清楚地认识到细菌是以产生并感应小的化学分子的方式相互交流的<sup>[44-45]</sup>。利用QS系统,细菌能够控制多个过程,例如生物发光、毒力因子产生、生物膜形成以及抗生素产生等。其中,参与该过程的化学小分子被称为群感信号分子。以QS系统内环境中的群感信号分子为传感信号的细菌能够通过感知自身密度变化,实现对下游基因的表达调控。目前已发现的群感信号包括革兰氏阴性菌中的N-酰基高丝氨酸内酯(AHL)<sup>[46]</sup>、革兰氏阳性菌中的自诱导肽(auto-induced peptides, AIPs)<sup>[47]</sup>以及在两者中均存在的自诱导物-2(autoinducer-2, AI-2)<sup>[48]</sup>。除此

之外,也发现AI-2类似物<sup>[49]</sup>以及微生物代谢产物可以作为群感信号分子调控细菌基因的表达。N-酰基高丝氨酸内酯(AHL)是目前最为普遍的群感信号分子之一。环境中的AHL发挥作用需要与特定的受体结合。细胞质转录因子LuxR型受体感知到环境中可自由扩散的信号分子AHL,并与AHL结合形成稳定的LuxR-AHL复合物,形成的LuxR-AHL复合物能够与DNA结合,上调/下调工程菌基因表达,从而实现对疾病的实时诊断和治疗。

### 1.4 诱导物分子

以上介绍的3种传感信号均为内源性化学信号,此外也存在外源性化学信号,如诱导剂分子。信号传感系统通过感知外源添加的化学物质,从而达到调控靶基因表达的目的。目前,常见的诱导剂分子包括IPTG<sup>[50]</sup>、阿拉伯糖<sup>[6,51]</sup>和四环素<sup>[52]</sup>等。诱导剂分子作用于传感系统的启动子区域,实现对治疗因子表达起始时间调控的目的。这种传感系统通常包括一个特定的启动子以及调节蛋白和报告蛋白的基因。一种或一类诱导物的存在激活启动子并触发调节蛋白和目的蛋白以特定方式表达。因此传感系统通常存在2种不同状态,一种是在没有诱导物分子的情况下,目标产物表达水平较低;另一种是在有诱导物分子的情况下,目标产物以剂量依赖的方式表达。该机制涉及到诱导物分子与调节蛋白的结合并伴随调节蛋白构象的改变,进而激活或抑制目的基因的表达。目的基因的表达可以上调或下调,当在无诱导物分子存在时,调节蛋白与启动子的激活位点结合,抑制下游基因的表达。而当有诱导物分子存在时,它能够与调节蛋白结合,使得调节蛋白无法与启动子相结合,从而使目的基因得以表达。然而,这类化学调控的诱导物分子在应用时,通常需要一段时间之后才能发挥调控作用,速度较慢,同时其安全性也有待考量。

## 2 物理调控传感信号

工程菌也可通过感知物理信号来启动自身表达系统,这种方法同样适用于体内疾病的诊断和治疗应用。这些物理信号主要包括光、温度和辐射,3种信号均通过外源手段启动传感系统功能发挥,从而在工程菌疗法中实现无侵入式治疗,这在一定程度上也体现出智能化工程菌疗法的优势<sup>[5-6,20]</sup>。相较于化学调控传感信号,此类信号响应速度较快,同时可以通过调节外源信号参数实现对基因的动态调控。因此,可以将此类信号介导的传感系统形象的比喻为“动态开关”,传感系统的动态化将有助于其在生物医学工程领域的发展。下面将介绍3种工程菌感知的物理调控传感信号:光、温度和辐射(图3)。

### 2.1 光

在自然界中,感官和信号光感受器使生物体

能够检测到光,并调整其生理和行为来做出应答。最为突出的例子有高等植物的趋光性、单细胞藻类的趋光性与畏光性反应以及果蝇的昼夜节律的调节等。天然光感受器主要有6种类型,包括黄素、光氧电压蛋白、使用黄素腺嘌呤二核苷酸的蓝光传感器、隐色体、荷尔蒙蛋白和植物色素<sup>[53-55]</sup>,但其光化学特性却各不相同。从分子水平看,对光的吸收引起光感受器的生物活性发生变化。因此,所有的光感受器均为蛋白质开关,控制着光激活与抑制。这一有利性质为光遗传学这一新领域提供了支持。利用异源生物对特定光感受器进行表达,可将目标细胞或者生物体内需要进行的过程(如酶或者转录活动)置于光调控下,其时空精度空前,完全可逆且非侵入。此前,光基因表达系统应用于微生物体内时,必须依赖所提供的非天然发色团或引入合适的辅因子合成基因等,这些都制约了光遗传学在微生物水平

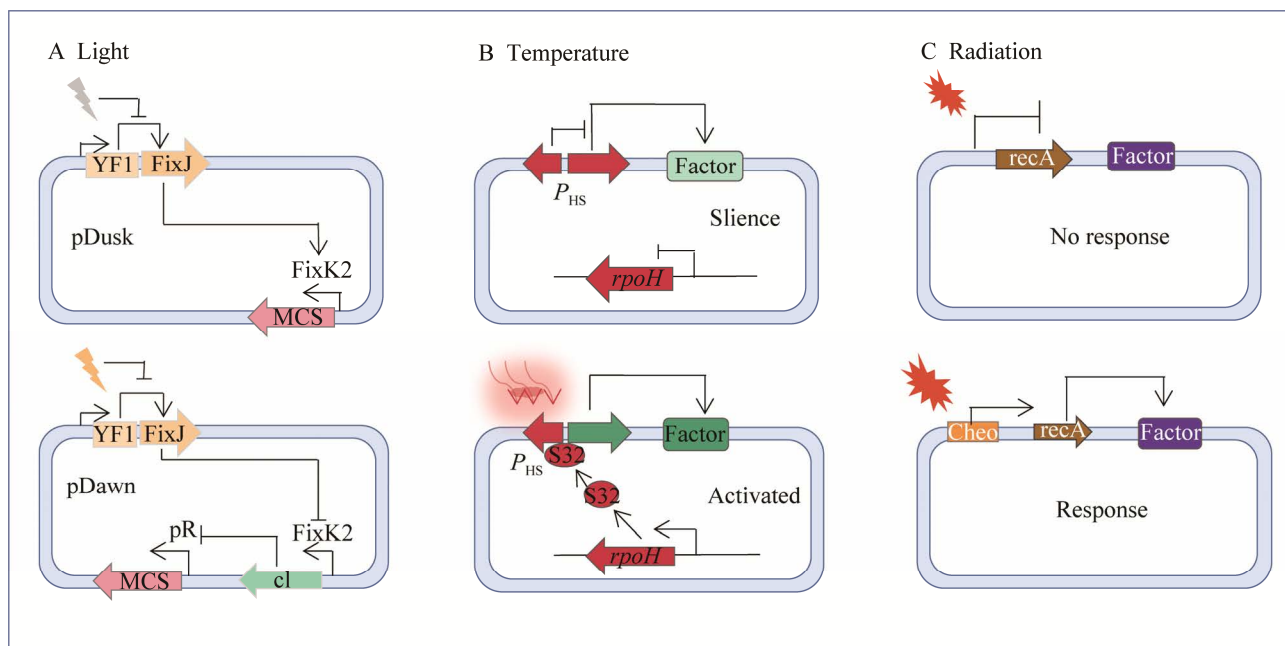


图3 三种物理调控传感信号

Figure 3 Three physical modulation of sensing signals. A: Dusk and pDawn systems for downstream gene expression via photoinhibition or photoactivation. B: Eulation of engineered bacterial expression systems induced by temperature changes. C: Oizing radiation-mediated expression systems for disease therapeutic factors.



的发展。于是, Ohlendor 等<sup>[56]</sup>开发了 *pDusk* 和 *pDawn* 单质粒系统以克服这些限制, *pDusk* 和 *pDawn* 系统是基于 YF1/FixJ 系统发展而成的用于原核生物光控表达的光敏感调控元件, 其中 *pDusk* 启动子系统能在黑暗中持续表达、蓝光终止表达, 反之 *pDawn* 启动子系统是黑暗终止表达、蓝光诱导表达<sup>[56]</sup>。由于 *pDusk* 和 *pDawn* 系统均由多组分系统组成, 在实际应用中, 各组分之间的协同调控至关重要。如果存在其中一个组分故障, 则整个系统将无法运行。因此对于复杂的生物学调控, *pDusk* 和 *pDawn* 系统的使用有一定限制。

## 2.2 温度

温度作为另一常见的物理信号, 也被用于激活或抑制工程菌表达系统的调控。鉴于温度这一传感信号, 大肠杆菌表现出热休克反应(heat shock response, HSR)<sup>[21]</sup>, 这一反应为热休克等多种生长受损压力启动的复杂机制。大肠杆菌 HSR 可用于设计新的生物部件、装置和系统, 应用于多种生产应用或疾病治疗中。HS 启动子之所以日益受到人们的重视, 是由于它能在温度升高或其他压力条件下触发所需基因的表达。大肠杆菌 HSR 在转录水平上受到与 RNA 聚合酶(RNAP)结合的蛋白质的正向调控<sup>[21,57]</sup>, 从而能与 DNA 结合并识别 HS 启动子。该蛋白质由 *rpoH* 基因表达产生, 即转录因子 *s32* 的产物<sup>[58]</sup>, 这种转录因子是诱导 HS 基因表达所必需的。在稳态时(30–37 °C), *s32* 的浓度非常低, 制约 HS 基因的转录; 当温度升高到 42 °C 时, *s32* 蛋白表达水平提高或活性诱导 HSR, 从而促进目标蛋白的表达。然而, 由于其他物理条件(如光、电)也会引起温度的改变, 因此温度作为传感信号在使用过程中不具有严格的限制条件, 在疾病诊断和治疗过程中, 除靶标位置外, 其他温度变化区域可能产生信号响应, 这一不利因素会极大程度影

响其在生物医学领域的应用。

## 2.3 电离辐射

起初, 辐射诱导启动子被用于病毒载体系统, 从而获得基因表达的时空控制。随着生物技术的发展, 辐射诱导的基因表达也可在厌氧无病原性梭状芽孢杆菌的细菌载体系统中获得<sup>[59]</sup>。其中, 调控辐射诱导的基因元件是 *recA* 启动子。研究发现 *recA* 启动子在细菌中属于 SOS 修复系统并由临床上相关剂量 2Gy 放疗引起。一项研究表明, 以小鼠肿瘤坏死因子(mTNF- $\alpha$ )为模式蛋白受小鼠辐射诱导原元件 *recA* 启动子调控, 并在 *recA* 启动子区域添加一个额外的 Cheo 盒, 野生型启动子的分泌从 44%增加到 *recA* 启动子的 412%, 同时也表明在启动子区域的 Cheo 盒的缺失能够消除辐射诱导性。以上结果证明了 *recA* 启动子中的 Cheo 盒确实是辐射响应元件<sup>[60]</sup>。在使用辐射诱导元件时, 研究人员需要自身做好防护等措施, 同时该元件的使用相较于另 2 种物理信号(光、温度)对周围环境等的要求更为严格, 这也在一定程度上制约着其在生物医学领域的应用。

## 3 工程菌传感信号的生物医学应用

近年来, 科学家们对人类微生物组成及代谢的深入已证实了其在人类疾病发生发展中的重要作用。研究数据表明微生物通过对炎症、DNA 损伤和细胞凋亡等多种因素产生影响, 在胃肠道疾病和癌症的发病原因中起重要作用<sup>[61–65]</sup>。因此, 微生物疗法作为治疗手段已应用到人类微生物群的代谢平衡恢复中, 以此来阻止上述疾病的发展。然而, 大多数微生物疗法是靠细菌自然生长来实现的, 在此是指在胃肠道、皮肤及肿瘤等特定宿主组织或其微环境下优先生长。虽然依靠对细菌生长的固有偏好, 有时会对细菌定位进行

调控,但有许多细菌还会在自身自然生态环境外生长并快速向非预期环境扩散,造成非目标效应。合成生物学的一个重点就是对微生物进行工程化设计,以便能够有选择地生长于特定的环境来提高微生物的特异性,从而有效地靶向疾病部位。利用生物技术改造微生物,使其能够感知外源刺激、化学物质或疾病环境分子,对各种疾病做出反应,并产生针对疾病的治疗因子。同时,这些特性与其自然能力(例如趋化性和生物分子分泌等)相结合可能使得以细菌为载体的工程系统在诊疗方面优于常规方法。另外,因不同传感信号各有其优缺点,对不同疾病模型均有适用性。其中化学调控传感信号先前常在代谢发酵工程中应用较为广泛,但随着生物医学的不断发展,该信号同样被设计用于诊治病原体感染、炎

症以及肿瘤等疾病。同时,物理调控的传感信号由于其作为“动态开关”能够转换不同的状态,也被广泛应用于生物医学工程领域(图 4)。总的来说,传感信号的发现以及工程菌传感系统的设计有望改变目前疾病的诊断与治疗模式。

### 3.1 疾病诊断

工程菌生物传感系统能够被设计用于感知与疾病发展有关的细胞因子、激素、生理刺激以及代谢分子等<sup>[66-68]</sup>。基于这一功能,细菌可设计用于反应和报告疾病,或者直接与临床样本在体内、或体外进行暴露诊断。工程菌可检测短寿命分子,因其脱离肠道之前经过降解、改造及吸收等过程,不易被常规非侵入性试验方法捕捉及定量<sup>[69]</sup>。因此,工程菌利用感知信号进行疾病诊断将成为独特生物标志物的一个潜在测量方法

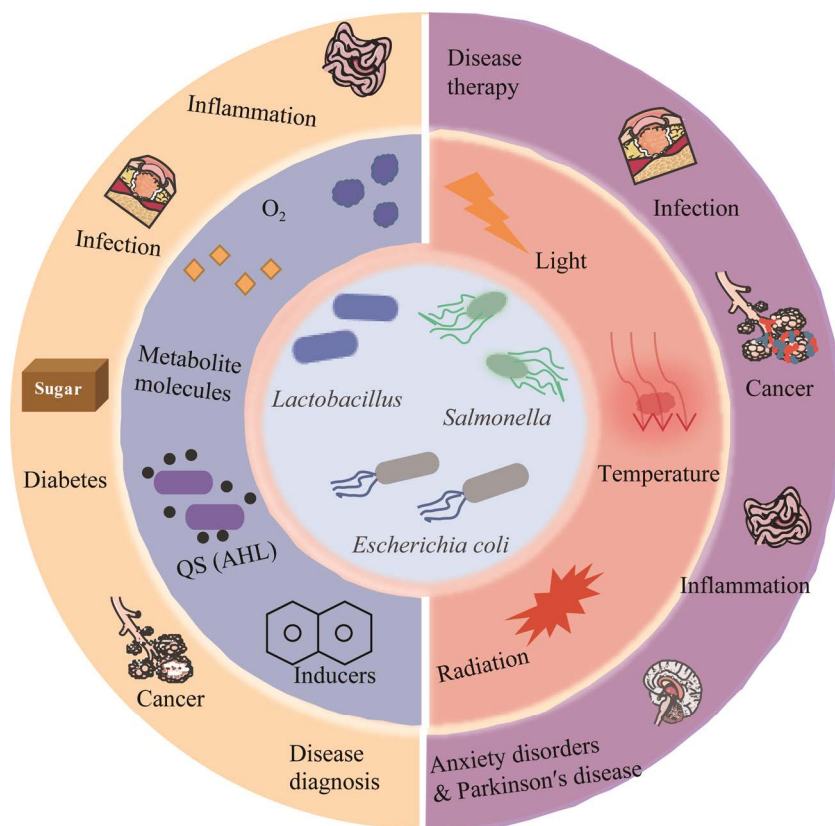


图 4 工程菌信号传感系统的生物医学应用

Figure 4 Biomedical applications of engineered bacterial signal sensing systems.



(表 1)。此外,工程化细菌还能够被编辑和修饰,赋予它们更多的功能,例如记录测量结果和提供治疗药物等,这也表明该策略有巨大的发展潜力。

工程菌生物传感系统在疾病诊断中的应用往往需要借助报告基因(如荧光蛋白、荧光素酶)才能实现对人体内疾病的实时响应。近来,益生菌菌株被设计为通过使用传感系统感知代谢物分子来检测肠道炎症。Riglar 等在大肠杆菌中构建了一个基因线路<sup>[4]</sup>,以感知和记录肠道炎症期间产生的四硫酸盐。他们通过粪便测试证明了这种工程细菌在体内报告短寿命分子的可行性,这使得对小鼠肠道炎症的观察时间超过了 6 个月。这一长时间表现使炎症状况可以在初始四硫酸盐信号被消除之前被连续地监控。Daeffler 等改造大肠杆菌 Nissle 1917,使其能感知周围环境中硫代硫酸盐分子,并将之应用于 DSS 诱导的结肠炎小鼠模型硫代硫酸盐含量升高的检测<sup>[67]</sup>。经口服给药后结肠和粪便的流式细胞分析结果表明,小鼠体内的硫代硫酸盐传感器被结肠炎症激活。另外,在先前的介绍中已经提到肿瘤微环境缺氧的特征,许多研究人员正是利用肿瘤缺氧这一特征改造工程菌。由于细菌能够选择性地定位肿瘤等特定部位,所以被设计成一种敏感的诊断工具来发现并报道癌症的存在。Danino 等开发

了一种合成诊断工具<sup>[70]</sup>。大肠杆菌 Nissle 1917 能够通过胃肠道环境优先定殖于肝转移瘤内,感知病变组织内信号激活 lacZ 基因的表达。随后 lacZ 将与可溶性结合物 LuGal 作用,导致注射于小鼠体内的荧光素颜色发生变化,并在尿液中检测。另一项研究是对鼠伤寒杆菌进行设计<sup>[71]</sup>,使其在肿瘤生长期间分泌荧光报告剂 ZsGreen。根据肿瘤芯片装置上的试验模型显示,它与当前断层扫描技术所能探测的肿瘤相比,探测范围缩小了 2 500 多倍。诸如此类技术能够极大地提升癌症及转移早期检测与治疗水平。这些研究发现均表明工程菌可用于疾病的诊断,而信号传感系统在诊断过程中发挥着关键性作用。

除此之外,科学家们还开发设计传感系统利用群体感应来检测感染。据报道,感知铜绿假单胞菌和粪肠球菌的群感信号的细菌已经在体外进行了测试。迄今为止,对群感信号响应的工程菌株研究最全面的是大肠杆菌 Nissle 1917。该细菌检测铜绿假单胞菌群体信号 N-酰基高丝氨酸内酯(3OC<sub>12</sub>HSL),并通过产生抗菌膜因子扩散素 B、抗菌肽 s5 脓毒杆菌素和溶菌素 E7 在小鼠定殖前或在秀丽隐杆线虫定殖后,用工程细菌降低铜绿假单胞菌的肠道感染。期望今后科学研究中能找到更多的群感信号分子及群体感应系统。

表 1 工程菌信号传感系统在疾病诊断方面的应用

Table 1 Applications of engineered bacterial signal sensing systems for disease diagnosis

Disease	Strains	Sensor input	Sensor output	Application examples
Cancer	<i>S. typhimurium</i>	Hypoxia induction	GFP	[15]
	<i>Escherichia coli</i> Nissle 1917		LacZ report gene	[70]
	<i>Salmonella</i>		ZsGreen	[71]
<i>V. cholerae</i> infection	<i>Lactococcus lactis</i>	Autoinducer	Colorimetric enzymatic reaction	[72]
Inflammation	<i>Escherichia coli</i> DH5aZ1	Nitrogen oxides	Fluorescence	[73]
	<i>Escherichia coli</i> NGF-1; Nissle 1917			Thiosulfate
Fever	<i>Escherichia coli</i> NEB10b		Fluorescence	[74]
Diabetes	<i>Escherichia coli</i> DH5aZ1	Glucose	Fluorescence	[75]

## 3.2 疾病治疗

### 3.2.1 胃肠道疾病

肠道微生物群中内存在着多种微生物,这些微生物可与肠道黏膜相互作用,影响肠道通透性,这对营养物质的吸收、分布、代谢和排泄至关重要。长期以来,肠道微生物群被认为是维持宿主体内稳态的重要因素。破坏这一稳态的宿主微生物之间的相互作用将促使疾病的发展,如炎症性肠病、溃疡性结肠炎等。长期炎症会增加患结直肠癌的风险。因此,恢复肠道微生物群的共生与组成对于预防和治疗胃肠道生态失调相关疾病至关重要。Cui 等开发了一种用于自我诊断和长效缓解结肠炎的光电纳米系统<sup>[5]</sup>。该系统由 2 部分组成:光学传感介导的疾病预筛选模块和由光遗传工程细菌系统介导的疾病治疗模块。重组大肠杆菌 Nissle 1917 分泌的白细胞介素-10 (IL-10)可下调炎症级联反应和基质金属蛋白酶。IL-10 是结肠炎治疗中的候选药物。结果表明,该系统的检测器能够在小于 1 min 的时间内进行分析、报告和共享检测结果。此外,分泌 IL-10 的大肠杆菌能够缓解 DSS 诱导的小鼠的肠道炎症反应,保护肠道黏膜免受损伤。该系统是在光传感系统的基础上,结合纳米材料组织穿透性强等特征以及信号检测系统完成对疾病的检测和治疗,这项研究提出拓宽了光传感系统的应用范围,也表明工程菌生物传感系统用于人类胃肠道疾病治疗中有着重要的意义。

### 3.2.2 肿瘤治疗

尽管人们普遍认为癌症是由于宿主遗传和环境因素所致,但事实证明微生物与癌症关系密切,甚至导致约 20% 的人类恶性肿瘤。一些致病菌对肿瘤有先天的积累能力<sup>[75-76]</sup>。几种非严重致病菌也可以在外力的作用下,实现可控的移动和物质运输。细菌的这些特征表明其在癌症治疗中的发挥着重要作用<sup>[65]</sup>。Fan 等<sup>[81]</sup>在大肠杆菌 MG1655 表面修饰生物矿化金纳米颗粒

(AuNPs), 构建热敏启动子下治疗蛋白 TNF- $\alpha$  表达的热敏治疗系统(TPB@Au)。改造后的大肠杆菌可定殖于肿瘤部位,并将 AuNPs 递送至肿瘤部位。在近红外光(near-infrared, NIR)照射后, AuNPs 产生的热量会触发热敏细菌表达 TNF- $\alpha$ , 从而导致肿瘤细胞凋亡。Ryan 等设计沙门氏菌表达血溶素 HlyE, 以杀死肿瘤细胞。为使细菌能在肿瘤缺氧部位优先定殖, HlyE 被设计携带一个高缺氧诱导启动子<sup>[28]</sup>。工程沙门氏菌在小鼠乳腺肿瘤部位缺氧的条件下迅速迁移、定殖并表达 HlyE, 同时不损害健康的宿主细胞,从而达到安全高效精准肿瘤治疗。除了以上光、热以及氧分子作为传感信号,很多研究将工程菌再设计成感知特定传感信号以启动表达治疗物质,用于肿瘤治疗。与传统的治疗方法相比较,该传感治疗方法是以工程菌作为载体,具有感知特定信号以及表达分泌治疗物质的能力,在肿瘤治疗中更具针对性、疗效确切、副作用小。

### 3.2.3 其他疾病

近年来,越来越多的研究表明肠道微生物是人类许多慢性疾病(如糖尿病、肥胖症)和神经退行性疾病的发生的重要影响因素(表 2)。肠-肾轴、肠-肝轴以及肠-脑轴等的发现对于应用肠道工程菌用于相关疾病治疗提供了理论依据。Pan 等利用合成生物学技术设计了一种光响应的乳酸乳球菌<sup>[7]</sup>。该工程菌能在外源近红外光刺激下分泌  $\gamma$ -氨基丁酸(GABA)和粒细胞集落刺激因子(GCSF)。在焦虑模型中,口服分泌 GABA 工程菌的小鼠,在接受 7 d 近红外光照后,焦虑症状得到缓解。在帕金森模型中,口服钝米 GCSF 工程菌的小鼠,在接受光照后,症状同样得到缓解。该研究利用光这一物理传感信号设计改造工程菌,用于神经退行性疾病的治疗。相对于传统的微生物疗法,这种方法解决了外源工程菌体外靶向难和体内调控难的两大关键问题。

表 2 工程菌信号传感系统在疾病治疗方面的应用

Table 2 Applications of engineered bacterial signal sensing systems for disease therapy

Disease	Strains	Sensor input	Sensor output	Application examples
<i>P. aeruginosa</i> infection	<i>E. coli</i> Nissle 1917	3OC <sub>12</sub> HSL	Lytic protein; anti-biofilm hydrolase	[77]
Cancer	<i>Typhimurium</i>	3OC <sub>12</sub> HSL	Autolytic protein; lytic protein	[78-79]
	<i>E. coli</i> DE3& Nissle 1917	3OC <sub>12</sub> HSL		[80]
	<i>Salmonella</i>		Hlye	[15]
	<i>E. coli</i> Nissle 1917	Hypoxia induction	TNF- $\alpha$	[81]
Inflammation	<i>E. coli</i> Nissle 1917	Thermal induction	TNF- $\alpha$	[6]
		Photoinduction		
		Photoinduction	IL-10	[5]
Hyperammonemia	<i>E. coli</i> Nissle 1917	Hypoxia induction	Ammonium-utilizing enzyme	[82]
Parkinson's disease	<i>E. coli</i> Nissle 1917	Photoinduction	GABA; GCSF	[7]
	<i>L. lactis</i>			

## 4 总结与展望

为了进一步推动微生物疗法的发展与临床应用,利用基因工程技术将工程菌与生物传感系统相结合,使治疗药物的表达限制在精确的位置和时间上越来越普遍。许多现有的生物传感系统通过感知包括各种物理和化学信号,在微生物疗法中有巨大的应用潜力。利用生物传感系统调控治疗药物表达可降低治疗药物可能产生的脱靶效应及微生物代谢负担等,从而提高这些微生物的安全性及遗传稳定性。同时,生物传感技术使微生物作为一种诊断手段得以设计,进一步提高了工程菌在微生物疗法中的发展潜力。

然而,传感系统在生物医学领域的应用中也存在着不足。目前,由于受诸多因素(基因工程技术和微生物遗传物质丢失等)的限制,多数研究仅限于用某一种传感系统对基因表达进行调控,研究中已证实其并无严格特异性。未来微生物疗法可采用多个传感系统进行改良,至少一个传感系统响应疾病特异性信号,多传感系统相互协同实现体内疾病精准靶向诊治。其次,本文所介绍的治疗性微生物几乎全部只依靠单一输入(包括氧气分子、光、热、外源性诱导剂和群感信号分子等)就能实现诊疗功能。在今后的科

学研究中,科学家们可以结合疾病特异性化合物的传感器设计治疗型工程菌,使其同时拥有多个相关生物传感系统,最终达到治疗蛋白表达的目的,这就会降低复杂体内环境中现假阳性表达的概率,进而容许高度特异性调控。此外,尽管生物传感系统(主要指传感信号与感知信号的启动子或转录因子)已被广泛应用于大肠杆菌等常见的模式微生物中,但由于转录机制和生理兼容性等细微差别的存在,使得现有生物传感系统在其他细菌中的应用受到了限制。如外源性诱导物分子用于体内疾病治疗时,不能使细菌处于动态控制中,而只可能处于激活或抑制的静止状态,这就限制了其在生物医学方面的应用。同时,一些物理调控传感信号(如光、热等)组织穿透性差,且在给光的同时也会产生热效应。目前,为了提高光的组织穿透,本课题组已尝试将光刺激与上转换纳米材料相结合应用于工程菌的疾病检测和治疗中。由于上转换纳米材料能够将具有深层组织穿透力的近红外光转换为局部可见光,从而促进下游的光响应表达系统。结果表明,该光响应表达系统的表达量可提高 4-5 倍。除此之外,生物传感系统应用于疾病监测时,往往依赖于指标物质、报告基因等物质,其中一些标志物寿命短、报告基因分辨率低的缺点在一定程度上限制

了生物传感系统在疾病检测领域的研究。

基于此,在未来的科学研究仍需更多的时间来开发多种报告基因或方法、深入探究生物传感的转录机制、适用菌株范围以及引入更多的交叉学科,拓展生物传感系统在疾病检测与治疗、生命调控等领域的应用范围,并进一步推向临床医学,使微生物信号传感系统真正成为一种贴近临床的生物技术,为人类健康事业提供更加强有力的工具。

## 参考文献

- [1] DOIFODE T, GIRIDHARAN VV, GENEROSO JS, BHATTI G, COLLODEL A, SCHULZ PE, FORLENZA OV, BARICHELLO T. The impact of the microbiota-gut-brain axis on Alzheimer's disease pathophysiology[J]. *Pharmacological Research*, 2021, 164: 105314.
- [2] FONG W, LI Q, YU J. Gut microbiota modulation: a novel strategy for prevention and treatment of colorectal cancer[J]. *Oncogene*, 2020, 39(26): 4925-4943.
- [3] CHARBONNEAU MR, ISABELLA VM, LI N, KURTZ CB. Developing a new class of engineered live bacterial therapeutics to treat human diseases[J]. *Nature Communications*, 2020, 11(1): 1738.
- [4] RIGLAR DT, GIESSEN TW, BAYM M, KERNS SJ, NIEDERHUBER MJ, BRONSON RT, KOTULA JW, GERBER GK, WAY JC, SILVER PA. Engineered bacteria can function in the mammalian gut long-term as live diagnostics of inflammation[J]. *Nature Biotechnology*, 2017, 35(7): 653-658.
- [5] CUI M, PANG G, ZHANG T, SUN T, ZHANG L, KANG R, XUE X, PAN H, YANG C, ZHANG X, CHANG J, LIU J, ZHANG S, WANG H. Optotheranostic nanosystem with phone visual diagnosis and optogenetic microbial therapy for ulcerative colitis At-home care[J]. *ACS Nano*, 2021, 15(4): 7040-7052.
- [6] PAN H, LI L, PANG G, HAN C, LIU B, ZHANG Y, SHEN Y, SUN T, LIU J, CHANG J, WANG H. Engineered NIR light-responsive bacteria as anti-tumor agent for targeted and precise cancer therapy[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2021, 426: 130842.
- [7] PAN H, SUN T, CUI M, MA N, YANG C, LIU J, PANG G, LIU B, LI L, ZHANG X, ZHANG W, CHANG J, WANG H. Light-sensitive *Lactococcus lactis* for microbe-gut-brain axis regulating via upconversion optogenetic micro-nano system[J]. *ACS Nano*, 2022, 16(4): 6049-6063.
- [8] MOHANKUMAR P, AJAAN J, MOHANRAJ T, YASODHARAN R. Recent developments in biosensors for healthcare and biomedical applications: a review[J]. *Measurement*, 2021, 167: 108293.
- [9] PARK M, TSAL SL, CHEN W. Microbial biosensors: engineered microorganisms as the sensing machinery[J]. *Sensors: Basel, Switzerland*, 2013, 13(5): 5777-5795.
- [10] 孟娇, 陈晶瑜. Rcs 双组分调节系统对细菌环境应答的分子调控研究进展[J]. *微生物学通报*, 2021(1): 210-222.
- [11] MENG J, CHEN J. Role of Rcs two-component regulatory system in environmental responses of bacteria: a review[J]. *Microbiology China*, 2021(1): 210-222 (in Chinese).
- [12] BLEUL L, FRANCOIS P, WOLZ C. Two-component systems of *S. aureus*: signaling and sensing mechanisms[J]. *Genes*, 2021, 13(1): 34.
- [13] KOWALLIS KA, DUVALL SW, ZHAO W, CHILDERS WS. Manipulation of bacterial signaling using engineered histidine kinases[J]. *Methods in Molecular Biology: Clifton, N J*, 2020, 2077: 141-163.
- [14] LI S, JIANG W, ZHENG C, SHAO D, LIU Y, HUANG S, HAN J, DING J, TAO Y, LI M. Oral delivery of bacteria: basic principles and biomedical applications[J]. *Journal of Controlled Release*, 2020, 327: 801-833.
- [15] GIOIA DA, XU M, WAYMAN WN, WOODWARD JJ. Effects of drugs of abuse on channelrhodopsin-2 function[J]. *Neuropharmacology*, 2018, 135: 316-327.
- [16] JAVAN B, SHAHBAZI M. Hypoxia-inducible tumour-specific promoters as a dual-targeting transcriptional regulation system for cancer gene therapy[J]. *Ecancermedicalsecience*, 2017, 11: 751.
- [17] BALTENNECK J, REVERCHON S, HOMMAIS F. Quorum sensing regulation in phytopathogenic bacteria[J]. *Microorganisms*, 2021, 9(2): 239.
- [18] ROMANO E, BAUMSCHLAGER A, AKMERIC EB, PALANISAMY N, HOUMANI M, SCHMIDT G, Öztürk MA, ERNST L, KHAMMASH M, di VENTURA B. Engineering AraC to make it responsive to light instead of arabinose[J]. *Nature Chemical Biology*, 2021, 17(7): 817-827.
- [19] Córdova C, LOZANO C, Rodríguez B, MARCHANT I, Zúñiga R, OCHOVA P, OLIVER P, González-Arriagada WA. Optogenetic control of cancer cell survival in ChR2-transfected HeLa cells[J]. *International Journal of Experimental Pathology*, 2021, 102(6): 242-248.

- [19] YANG C, CUI M, ZHANG Y, PAN H, LIU J, WANG S, MA N, CHANG J, SUN T, WANG H. Upconversion optogenetic micro-nanosystem optically controls the secretion of light-responsive bacteria for systemic immunity regulation[J]. *Communications Biology*, 2020, 3(1): 561.
- [20] LI L, PAN H, PANG G, LANG H, SHEN Y, SUN T, ZHANG Y, LIU J, Chang J, KANG J, ZHENG H, WANG H. Precise thermal regulation of engineered bacteria secretion for breast cancer treatment *in vivo*[J]. *ACS Synthetic Biology*, 2022, 11(3): 1167-1177.
- [21] RODRIGUES JL, RODRIGUES LR. Potential applications of the *Escherichia coli* heat shock response in synthetic biology[J]. *Trends in Biotechnology*, 2018, 36(2): 186-198.
- [22] PAN P, DONG X, CHEN Y, ZENG X, ZHANG X. Engineered bacteria for enhanced radiotherapy against breast carcinoma[J]. *ACS Nano*, 2022, 16(1): 801-812.
- [23] LIU J, LIU C, YUE J. Radiotherapy and the gut microbiome: facts and fiction[J]. *Radiation Oncology: London, England*, 2021, 16(1): 9.
- [24] HARTLINE CJ, SCHMITZ AC, HAN Y, ZHANG F. Dynamic control in metabolic engineering: theories, tools, and applications[J]. *Metabolic Engineering*, 2021, 63: 126-140.
- [25] ZHANG FZ, KEASLING J. Biosensors and their applications in microbial metabolic engineering[J]. *Trends in Microbiology*, 2011, 19(7): 323-329.
- [26] QIU C, ZHAI H, HOU J. Biosensors design in yeast and applications in metabolic engineering[J]. *FEMS Yeast Research*, 2019, 19(8): foz082.
- [27] 周萍萍, 叶丽丹, 于洪巍. 合成生物学中动态代谢途径调控策略的研究进展[J]. *生物产业技术*, 2019(1): 55-61.  
ZHOU P, YE L, YU H. Advances in dynamic metabolic control strategies for synthetic biology[J]. *Biotechnology & Business*, 2019(1): 55-61 (in Chinese).
- [28] RYAN RM, Green J, WILLIAMS PJ, TAZZYMAN S, HUNT S, HARMEY JH, Kehoe SC, Lewis CE. Bacterial delivery of a novel cytolysin to hypoxic areas of solid tumors[J]. *Gene Therapy*, 2009, 16(3): 329-339.
- [29] ZAFAR S, BEG S, PANDA SK, RAHMAN M, Alharbi KS, JAIN GK, AHMAD FJ. Novel therapeutic interventions in cancer treatment using protein and peptide-based targeted smart systems[J]. *Seminars in Cancer Biology*, 2021, 69: 249-267.
- [30] YAHYA EB, ALQADHI AM. Recent trends in cancer therapy: a review on the current state of gene delivery[J]. *Life Sciences*, 2021, 269: 119087.
- [31] WRIGHT GSA, SAEKI A, HIKIMA T, NISHIZONO Y, HISANO T, KAMAYA M, NUKINA K, NISHITANI H, NAKAMURA H, YAMAMOTO M, ANTONYUK SV, HASNAIN SS, SHIRO Y, SAWAI H. Architecture of the complete oxygen-sensing FixL-FixJ two-component signal transduction system[J]. *Science Signaling*, 2018, 11(525): eaaq0825.
- [32] RUTTEN PJ, POOLE PS. Oxygen regulatory mechanisms of nitrogen fixation in rhizobia[J]. *Advances in Microbial Physiology*, 2019, 75: 325-389.
- [33] STEIN BJ, FIEBIG A, CROSSON S. Feedback control of a two-component signaling system by an Fe-S-binding receiver domain[J]. *mBio*, 2020, 11(2): e03383-e03319.
- [34] LAVELLE A, SOKOL H. Gut microbiota-derived metabolites as key actors in inflammatory bowel disease[J]. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2020, 17(4): 223-237.
- [35] MARTIN-GALLAUSIAUX C, MARINELLI L, Blottière HM, LARRAUFIE P, LAPAQUE N. SCFA: Mechanisms and functional importance in the gut[J]. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 2021, 80(1): 37-49.
- [36] SILVA YP, BERNARDI A, FROZZA RL. The role of short-chain fatty acids from gut microbiota in gut-brain communication[J]. *Frontiers in Endocrinology*, 2020, 11: 25.
- [37] RATTANAPHAN P, MITTRAPARP-ARTHORN P, SRINOUN K, VUDDHAKUL V, TANSILA N. Indole signaling decreases biofilm formation and related virulence of *Listeria monocytogenes*[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2020, 367(14): fnaa116.
- [38] KEMP CA, McCULLOUGH DK, BIALONSKA D, JOHNSON PJT. Effect of bromination on the quorum sensing-inhibiting properties of indole-3-carboxaldehydes in *Chromobacterium violaceum* AHL system[J]. *Microbiology Research*, 2021, 12(2): 376-382.
- [39] SETHUPATHY S, SATHIYAMOORTHY E, KIM YG, LEE JH, LEE J. Antibiofilm and antivirulence properties of indoles against *Serratia marcescens*[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 584812.
- [40] Faleye OS, Sathiyamoorthi E, Lee JH, Lee J. Inhibitory effects of cinnamaldehyde derivatives on biofilm formation and virulence factors in *Vibrio* species[J]. *Pharmaceutics*, 2021, 13(12): 2176.
- [41] BASSLER BL, LOSICK R. Bacterially speaking[J]. *Cell*, 2006, 125(2): 237-246.
- [42] MUKHERJEE S, BASSLER BL. Bacterial quorum sensing in complex and dynamically changing environments[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2019, 17(6): 371-382.



- [43] WHITELEY M, DIGGLE SP, GREENBERG EP. Progress in and promise of bacterial quorum sensing research[J]. *Nature*, 2017, 551(7680): 313-320.
- [44] SHEN G, WU J, YR B, QI N. Gut microbiota-derived metabolites in the development of diseases[J]. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*, 2021, 2021: 6658674.
- [45] COQUANT G, GRILL JP, SEKSIK P. Impact of *N*-acyl-homoserine lactones, quorum sensing molecules, on gut immunity[J]. *Frontiers in Immunology*, 2020, 11: 1827.
- [46] DEFOIRDT T. Quorum-sensing systems as targets for antivirulence therapy[J]. *Trends in Microbiology*, 2018, 26(4): 313-328.
- [47] ALI L, GORAYA MU, ARAFAT Y, AJMAL M, CHEN J, YU D. Molecular mechanism of quorum-sensing in *Enterococcus faecalis*: its role in virulence and therapeutic approaches[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2017, 18(5): E960.
- [48] XIONG Q, LIU D, ZHANG H, DONG X, ZHANG G, LIU Y, ZHANG R. Quorum sensing signal autoinducer-2 promotes root colonization of *Bacillus velezensis* SQR9 by affecting biofilm formation and motility[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2020, 104(16): 7177-7185.
- [49] KIM CS, GATSIOS A, CUESTA S, LAM YC, WEI Z, CHEN H, RUSSELL RM, SHINE EE, WANG R, WYCHE TP, PIZZIZI G, FLAVELL RA, PALM NW, SPERANDIO V, CRAWFORD JM. Characterization of autoinducer-3 structure and biosynthesis in *E. coli*[J]. *ACS Central Science*, 2020, 6(2): 197-206.
- [50] CASTILLO-HAIR S, FUJITA M, IGOSHIN OA, TABOR JJ. An engineered *B. subtilis* inducible promoter system with over 10 000-fold dynamic range[J]. *ACS Synthetic Biology*, 2019, 8(7): 1673-1678.
- [51] WANG Z, DOSHI A, CHOWDHURY R, WANG Y, MARANAS CD, CIRINO PC. Engineering sensitivity and specificity of AraC-based biosensors responsive to triacetic acid lactone and orsellinic acid[J]. *Protein Engineering, Design and Selection*, 2020, 33: gzaa027.
- [52] DONG H, TAO W, ZHANG Y, LI Y. Development of an anhydrotetracycline-inducible gene expression system for solvent-producing *Clostridium acetobutylicum*: a useful tool for strain engineering[J]. *Metabolic Engineering*, 2012, 14(1): 59-67.
- [53] QUDRAT A, MOSABBIR A, TRUONG K. LOV2-controlled photoactivation of protein trans-splicing[J]. *Methods in Molecular Biology*: Clifton, N J, 2017, 1495: 227-237.
- [54] TASLIMI A, ZOLTOWSKI B, MIEANDA JG, PATHAK GP, HUGHES RM, TUCKER CL. Optimized second-generation CRY2-CIB dimerizers and photoactivatable cre recombinase[J]. *Nature Chemical Biology*, 2016, 12(6): 425-430.
- [55] ZHAO EM, ZHANG Y, MEHL J, PARK H, LALWANI MA, TOETTCHER JE, AVALOS JL. Optogenetic regulation of engineered cellular metabolism for microbial chemical production[J]. *Nature*, 2018, 555(7698): 683-687.
- [56] OHLENDORF R, VIDAUSKI RR, ELDAR A, MOFFAT K, Möglich A. From dusk till dawn: one-plasmid systems for light-regulated gene expression[J]. *Journal of Molecular Biology*, 2012, 416(4): 534-542.
- [57] ABEDI MH, LEE J, PIRANER DI, Shapiro MG. Thermal control of engineered T-cells[J]. *ACS Synthetic Biology*, 2020, 9(8): 1941-1950.
- [58] ZHAO K, LIU M, BURGESS RR. The global transcriptional response of *Escherichia coli* to induced sigma 32 protein involves sigma 32 regulon activation followed by inactivation and degradation of sigma 32 *in vivo*[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2005, 280(18): 17758-17768.
- [59] WHITEHOUSE JP, HOWLETT M, FEDERICO A, KOOLL M, ENDERSBY R, GOTTARDO NG. Defining the molecular features of radiation-induced glioma: a systematic review and meta-analysis[J]. *Neuro-Oncology Advances*, 2021, 3(1): vdab109.
- [60] NUYTS S, van MELLAERT L, BARBE S, LAMMERTYN E, THEYS J, LANDUYT W, BOSMANS E, LAMBIN P, ANNE J. Insertion or deletion of the cheo box modifies radiation inducibility of *Clostridium* promoters[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67(10): 4464-4470.
- [61] Le CHATELIER E, NIELSEN T, QIN JJ, PRIFTTI E, HILDEBRAND F, FALONY G, ALMEIDA M, ARUMUGAM M, BATTO JM, KENNEDY S, LEONARD P, LI JH, BURGDORF K, GRARUP N, JORGENSEN T, BRANDSLUND I, NIELSEN HB, JUNCKER AS, BERTALAN M, LEVENE F, et al. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers[J]. *Nature*, 2013, 500(7464): 541-546.
- [62] PICHETH GF, PIRICH CL, SIERAKOWSKI MR, WOEHL MA, SAKAKIBARA CN, de SOUZA CF, MARTIN AA, da SILVA R, de FREITAS RA. Bacterial cellulose in biomedical applications: a review[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2017, 104(pt a): 97-106.
- [63] POORE GD, KOPYLOVA E, ZHU Q, CARPENTER C, FRARACCIO S, WANDRO S, KOSCIOLEK T,

- JANSSEN S, METCALF J, SONG SJ, KANBAR J, MILLER-MONTGOMERY S, HEATON R, MCKAY R, PATEL SP, SWAFFORD AD, KNIGHT R. Microbiome analyses of blood and tissues suggest cancer diagnostic approach[J]. *Nature*, 2020, 579(7800): 567-574.
- [64] SCHIRMER M, GARNER A, VLAMAKIS H, XAVIER RJ. Microbial genes and pathways in inflammatory bowel disease[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2019, 17(8): 497-511.
- [65] SEPICH-POORE GD, ZITVOGEL L, STRAUSSMAN R, HASTY J, WARGO JA, KNIGHT R. The microbiome and human cancer[J]. *Science*, 2021, 371(6536): eabc4552.
- [66] Mejia-PITTA A, BROSET E, de la FUENTE-NUNEZ C. Probiotic engineering strategies for the heterologous production of antimicrobial peptides[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2021, 176: 113863.
- [67] DAEFFLER KN, GALLEY JD, SHETH RU, ORTIZ-VELEZ LC, BIBB CO, SHROYER NF, BRITTON RA, TABOR JJ. Engineering bacterial thiosulfate and tetrathionate sensors for detecting gut inflammation[J]. *Molecular Systems Biology*, 2017, 13(4): 923.
- [68] TANNA T, RAMACHANDERAN R, PLATT RJ. Engineered bacteria to report gut function: technologies and implementation[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2021, 59: 24-33.
- [69] RIGLAR DT, SILVER PA. Engineering bacteria for diagnostic and therapeutic applications[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2018, 16(4): 214-225.
- [70] DANINO T, PRINDLE A, KWONG GA, SKALAK M, LI H, ALLEN K, HASTY J, BHATIA SN. Programmable probiotics for detection of cancer in urine[J]. *Science Translational Medicine*, 2015, 7(289): 289ra84.
- [71] PANTELI JT, FORKUS BA, van DESSEL N, FORBES NS. Genetically modified bacteria as a tool to detect microscopic solid tumor masses with triggered release of a recombinant biomarker[J]. *Integrative Biology*, 2015, 7(4): 423-434.
- [72] MAO N, CUBILLOS-RUIZ A, CAMERON DE, COLLINS JJ. Probiotic strains detect and suppress cholera in mice[J]. *Science Translational Medicine*, 2018, 10(445): eaao2586.
- [73] COURBET A, ENDY D, RENARD E, MOLINA F, BONNET J. Detection of pathological biomarkers in human clinical samples via amplifying genetic switches and logic gates[J]. *Science Translational Medicine*, 2015, 7(289): 289ra83.
- [74] PIRANER DI, ABEDI MH, MOSER BA, LEE-GOSSELIN A, SHAPIRO MG. Tunable thermal bioswitches for *in vivo* control of microbial therapeutics[J]. *Nature Chemical Biology*, 2017, 13(1): 75-80.
- [75] XUAN C, SHAMONKI JM, CHUNG A, DINOME ML, CHUNG M, SIELING PA, LEE DJ. Microbial dysbiosis is associated with human breast cancer[J]. *PLoS One*, 2014, 9(1): e83744.
- [76] McQUADE JL, DANIEL CR, HELMINK BA, WARGO JA. Modulating the microbiome to improve therapeutic response in cancer[J]. *The Lancet Oncology*, 2019, 20(2): e77-e91.
- [77] HWANG IY, KOH E, WONG A, MARCH JC, BENTLEY WE, LEE YS, CHannhang MW. Engineered probiotic *Escherichia coli* can eliminate and prevent *Pseudomonas aeruginosa* gut infection in animal models[J]. *Nature Communications*, 2017, 8: 15028.
- [78] DIN MO, DANINO T, PRINDLE A, SKALAK M, SELIMKHANOV J, ALLEN K, JULIO E, ATOLIA E, TSIMIRING LS, BHATIA SN, HASTY J. Synchronized cycles of bacterial lysis for *in vivo* delivery[J]. *Nature*, 2016, 536(7614): 81-85.
- [79] CHOWDHURY S, CASTRO S, COKER C, HINCHLIFFE TE, ARPAIA N, DANINO T. Programmable bacteria induce durable tumor regression and systemic antitumor immunity[J]. *Environmental Pollution: Barking, Essex*, 2019, 25(7): 1057-1063.
- [80] GURBATRI CR, LIA I, VINCENT R, COKER C, CASTRO S, TREUTING PM, HINCHLIFFE TE, ARPAIA N, DANINO T. Engineered probiotics for local tumor delivery of checkpoint blockade nanobodies[J]. *Science Translational Medicine*, 2020, 12(530): eaax0876.
- [81] FAN J, LI Z, LIU X, ZHENG D, Chen Y, ZHANG X. Bacteria-mediated tumor therapy utilizing photothermally-controlled TNF- $\alpha$  expression via oral administration[J]. *Nano Letters*, 2018, 18(4): 2373-2380.
- [82] KURTZ CB, MILLET YA, PUURUNEN MK, PERREAULT M, CHARBONNEAU MR, ISABELLA VM, Kotula JW, ANTIPOV E, DAGON Y, DENNEY WS, WAGNER DA, WEST KA, DEGAR AJ, BRENNAN AM, MILLE PF. An engineered *E. coli* Nissle improves hyperammonemia and survival in mice and shows dose-dependent exposure in healthy humans[J]. *Science Translational Medicine*, 2019, 11(475): eaau7975.