

文献综述

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.003229

微生物矿化启发的仿生功能材料研究进展

卢子倩, 任 倩, 韩思理, 丁隆江, 张凌琳
(四川大学华西口腔医院牙体牙髓病科, 成都 610041)

【摘 要】微生物矿化现象在自然界中普遍存在,能够生成结构多样、成分各异、性能优越的天然微生物矿物,如生物磷灰石、钙镁碳酸盐、磁铁矿、硅矿物等,其矿物形成的主要机制分为微生物诱导矿化和微生物控制矿化。在微生物矿化过程中,微生物的组织结构及代谢功能活动等均发挥了重要作用,为制备特定成分和功能的仿生矿物材料提供了理论依据。与传统物理或化学方法合成的矿物材料相比,通过模拟微生物矿化发生过程仿生合成的矿化材料不仅结构高度可控,并且生物相容性更高,在生物医学领域有着潜在的应用前景,但精确地模拟微生物矿化仍是一个挑战。本文介绍了微生物矿化过程及其调控因素,并进一步综述了近年来受微生物矿化启发仿生合成的功能材料研究进展。

【关键词】微生物矿化;仿生矿化;功能材料;生物医学

【中图分类号】R783.1;R318.08

【文献标志码】A

【收稿日期】2023-04-17

Advances in microbial mineralization-inspired biomimetic functional materials

Lu Ziqian, Ren Qian, Han Sili, Ding Longjiang, Zhang Linglin

(Department of Conservative Dentistry and Endodontics, West China Hospital of Stomatology, Sichuan University)

【Abstract】Microbial mineralization is widespread in nature, and can generate natural microbial minerals with diverse structures, different compositions, and superior performance, such as biological apatite, calcium magnesium carbonate, magnetite, silica minerals, etc. The main mechanism is divided into microbial induced mineralization and microbial controlled mineralization. In the process of microbial mineralization, the organization and metabolic functions of microorganisms play an important role, providing a theoretical basis for the preparation of biomimetic mineral materials with specific components and functions. Compared with mineral materials synthesized by traditional physical or chemical methods, biomimetic synthesis of mineralized materials by simulating the formation process of microbial mineralization not only has a highly controllable structure, but also has higher biocompatibility, which has potential applications in the field of biomedicine. However, it is still a challenge to accurately simulate the mineralization process of microorganisms. This article introduces the process of microbial mineralization and its regulatory factors, and further reviews the research progress of biomimetic synthesis of functional materials inspired by microbial mineralization in recent years.

【Key words】microbial mineralization; biomimetic mineralization; functional material; biomedicine

微生物矿化是指微生物(如细菌、真菌、病毒)参与的矿化形成过程。与一般矿化不同之处是此过程中有微生物细胞、自身活动及其代谢产物参与,并在诱导矿物形成及影响矿化产物物相、形貌、结构及其元素组成方面发挥重要作用

用^[1]。迄今为止,已知的天然生物矿物有60余种,主要包括碳酸钙、磷酸钙、二氧化硅、氧化铁体系等,在微生物体内扮演着各种各样的角色,例如氧化铁体系中的磁小体可作为趋磁细菌的磁场感受器^[1]。与化学合成矿物相比,微生物合成矿物具有绿色、经济、环保、操作方便等优点,而且微生物矿物通常为纳米级结构,不仅具备极佳的力学性能,也呈现出优越的生物相容性^[2-3]。因此,通过对微生物矿化过程和控制因素的研究,设计并制备结构和性能优越的仿生矿化材料成为目前的研究热点,合成的仿生功能材料在生物医学等领

作者简介:卢子倩, Email: luziqian2021@163.com,

研究方向:牙体硬组织仿生矿化。

通信作者:张凌琳, Email: zhll_sc@163.com。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号:81970931)。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms2/detail/50.1046.R.20230602.1414.016.html>

(2023-06-04)

域有着广泛的应用前景^[4-5]。本文将介绍自然界中微生物矿化现象及其矿化过程,以及对受微生物矿化启发人工诱导合成的仿生功能材料的相关研究进行综述,以期启发新型仿生矿化功能材料的研发。

1 自然界中的微生物矿化

自然界中微生物发生着各种各样的矿化,以钙、硅和铁为基础的无机矿物是最常见的矿化产物。自然界中微生物矿化的多样性有助于它们在不同的物理化学条件和极端环境下存活^[2]。例如颗石藻是海洋中最丰富的钙化微生物之一,能选择性地从外界环境中获取所需元素(如钙、镁等),以形成结构复杂的碳酸钙颗石层,帮助颗石藻适应环境变化^[6]。海绵的细胞中能够检测到潜在的共生细菌,是缺乏细胞壁的钙化细菌,通过黏附相关蛋白与海绵保持共生关系,并产生方解石小球覆盖海绵表面以抵御外界环境的威胁^[7]。

除此之外,微生物还参与自然界中硅矿物、铁矿物的沉积,并且能够随着外部矿化条件的变化对矿物形态进行精细控制。低等生物如硅藻利用细菌的硅矿化形成具有排列巧妙呈针状体结构的二氧化硅外壳,这个精致的二氧化硅外壳不仅可以为硅藻提供机械保护作用,还能提高硅藻的光合效率。在此过程中,生物分子如蛋白(硅蛋白-1)、多胺和糖类(6-磷酸甘露糖)均与生物二氧化硅的形成有关^[8]。微生物形成的含铁矿物主要为磁铁矿(Fe_3O_4),广泛存在于原核生物趋磁细菌中,这些细菌能够形成低毒性、大小均一、结晶度高、具有独特晶体形貌的磁性纳米颗粒——磁小体。当细菌死亡裂解后,磁小体能稳定地存在于沉积物中,生成具有高硬度和刚度的磁铁矿,在地质铁元素循环中发挥重要作用^[9]。

微生物矿物与脊椎动物体内的矿物也有相关性。自然界中产量最大的磷酸盐矿物是碳酸羟基磷灰石,晶体通常呈板状,体积非常小(2~4 nm 厚,长和宽为几十纳米),与脊椎动物生理学条件下合成的碳酸羟基磷灰石沉淀类似,如假单胞菌和不动杆菌等在细胞内沉积的自生磷灰石^[10]。人类机体的病理性矿化如牙结石、尿路结石(主要成分为磷酸钙)的形成也被证明与微生物(如血链球菌等)密切相关^[11-12]。

2 微生物矿化过程

2.1 微生物矿化机制

依照微生物对矿化过程的调控程度,可将微生物矿化过程分为微生物控制矿化(microbially controlled mineralization, MICP)和微生物诱导矿化(microbially induced mineralization, MIIP)。大多数情况下, MICP 发生在细胞内。在此过程中,矿物形成由专门的细胞活动控制,而脂质、蛋白质、多糖等为

离子的凝聚和矿物质在有限的空间中成核和生长提供了稳定的基质模板。这种矿化类型生成的矿物结晶大小均匀、高度有序^[13]。MICP 则是微生物与外部环境相互作用的结果,微生物通过代谢活动并分泌代谢产物改变周围环境来调控矿物生成,这种方式形成的矿物会因发生时周围环境条件的改变而发生较大的变化,结晶度普遍较低。

根据矿化发生的位置,可将微生物矿化分为细胞外矿化、细胞内矿化和细胞间矿化。例如,微生物诱导的碳酸钙沉淀多为细胞外矿化,主要涉及 2 种调控机制:一是微生物碱度引擎,即微生物先通过自身代谢活动改变周围微环境,如通过尿素水解、光合作用、氨化作用、硫酸盐或硝酸盐异化还原等,提高溶液 pH,使碳酸氢根与碳酸根的溶解平衡向着生成碳酸根的方向移动,使矿物达到过饱和,从而促进碳酸钙沉淀;二是微生物细胞表面的成核作用,细胞表面富含能够吸附钙离子的带负电有机质,如磷脂双分子层和糖蛋白,富含羧基、磷酸盐、胺和羟基等,可以提供成核位点,有利于碳酸钙沉淀的发生^[14-15]。趋磁细菌控制的磁铁矿物矿化是微生物介导的细胞内矿化的典型例子^[16]。细胞内矿化受到分子拥挤的影响,分子拥挤改变了小分子的热力学活性,并限制了分子扩散,从而增强或抑制矿物前体的形成。矿化所需的离子可以直接在矿化部位进入细胞,也可以进入细胞后释放出囊泡,由囊泡运输到矿化发生的确切部位。其中,无定形的矿物前体以高度无序的固相形式聚集在囊泡中^[17]。

2.2 微生物矿化的调控

微生物矿化的发生较为复杂,往往是多种因素协同作用的结果,一个因素的改变可能会使所形成的矿物种类以及形态发生明显的变化,主要包括微生物因素和环境因素。

2.2.1 微生物因素 微生物细胞表面结构在矿化过程中起着至关重要的作用。微生物细胞表面结构和胞内有机质等通过多种途径在矿物沉淀过程中扮演重要角色(图 1):①作为矿物的异相成核模板,提高矿物沉淀速率^[20]。②稳定亚稳态相或晶体初核^[21]。尤其是细胞壁及与矿化相关的一些表面特殊结构,如 S 层蛋白(surface layer protein, SLP)、荚膜(capsule)和菌毛(pilus),这些结构带有负电性羧基和磷酸基等,能够吸附金属阳离子,都曾被报道与微生物矿化相关^[18,22]。微生物表面的细胞外聚合物(extracellular polymeric substance, EPS)也与细胞外矿物的形成密切相关,带电的细胞壁以及 EPS 为溶解的水性金属物质的吸附和络合提供了活性界面位点,并通过降低活化能诱导矿物的成核和沉淀,生成的矿物还可占据细胞间的空隙,形成一种特殊的矿物外壳^[23-26]。除了微生物表面结构,细胞内的有机组分也在矿化过程中发挥重要作用。例如,细胞内囊泡内生成的矿物受有机质调控程度最大,离子通过跨膜运输至囊泡,以囊泡内的有机基质作为成核模板,形成高度有序、具有特殊形貌的矿物,生成的矿物可以被转运到细胞外。

除此之外,微生物的功能活动对微生物矿化的作用也不

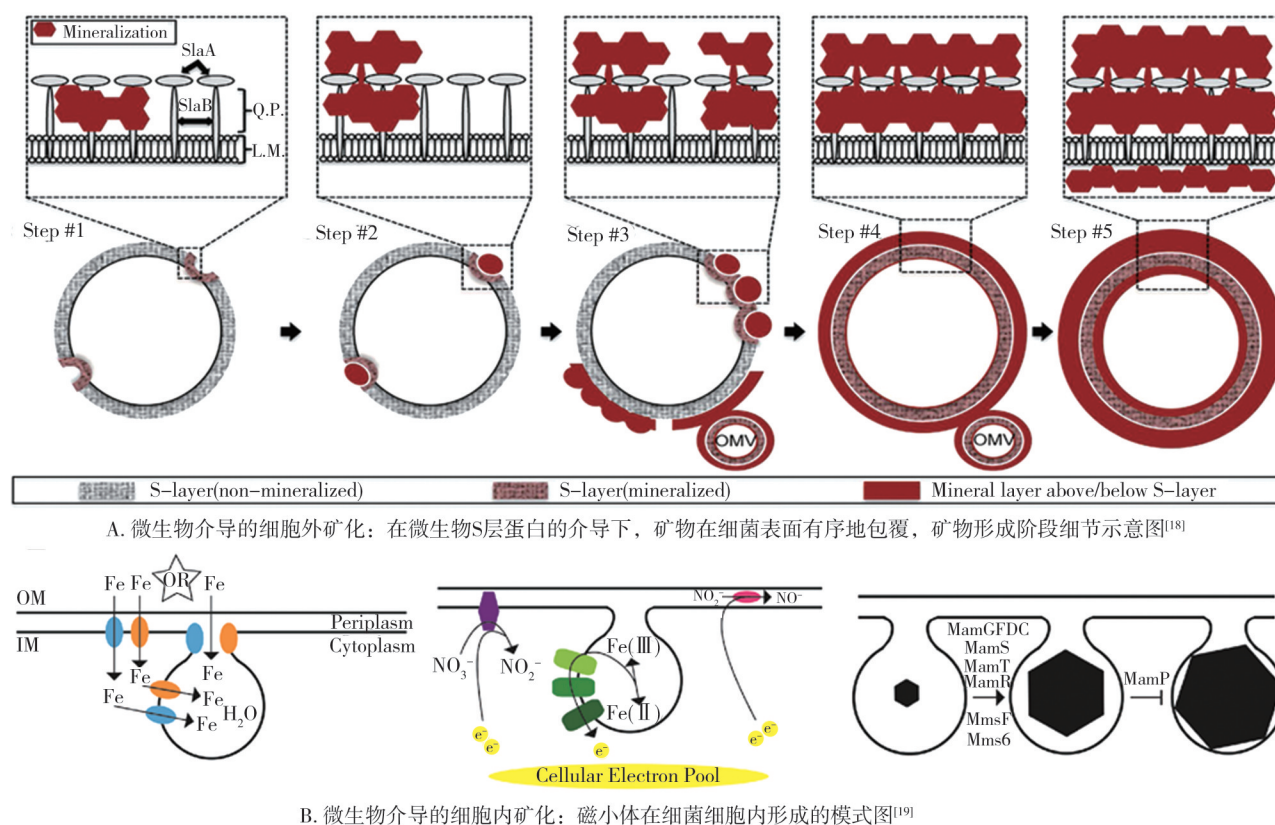


图1 微生物介导的矿化的例子

容小觑。例如,溶磷微生物(腐生细菌、真菌等)能通过分泌磷酸酶、有机酸和无机酸来溶解不溶性磷酸盐,以获得足够的可溶性正磷酸盐用于微生物矿化^[27-29]。以酶为首的活性物质还能对矿化速率进行调节^[30]。另外,微生物也可通过代谢活动调控微环境 pH,促进细胞外矿物生成,或者控制细胞内矿物组成和形态,例如蓝藻的光合作用、芽孢杆菌的尿素分解、硫酸盐还原菌的硫还原反应等^[31-33]。

2.2.2 环境因素 微环境因素 pH、温度等均会影响微生物的矿化性能^[34]。由于不同微生物生长的最适 pH 和温度不同,因此 pH 和温度会强烈影响微生物酶活性和代谢活动,从而影响矿物形成。例如, Ca^{2+} 和 CO_3^{2-} 只有在碱性条件下才能够形成碳酸钙沉淀,微生物如尿素水解、氨化作用、硫酸盐或硝酸盐异化还原等自身代谢活动改变周围微环境,提高溶液 pH,使碳酸氢根与碳酸根的溶解平衡向着生成碳酸根的方向移动,促进碳酸钙沉淀^[15]。Qian CX 和 Zhan QW^[35]发现磷酸盐矿化细菌在 30 °C 生长最快,碱性磷酸酶活性最高,能有效催化有机磷酸盐水解。pH 和温度还可以控制碳酸钙颗粒形成各种晶体形态,例如板状、菱面体、椭圆柱、立方体等。另外,有特定形态的球霏石在低温下形成,而针状文石晶体在高温下形成^[36]。

环境中共存的阴、阳离子同样也会影响微生物矿化。例如,碳酸盐矿化细菌生长环境中 Ca^{2+} 浓度会影响碳酸钙的种类和形态,当 Ca^{2+} 浓度较低时碳酸盐易形成方解石,而当

Ca^{2+} 浓度增大时,产物中除了方解石外还存在球霏石。随着 Ca^{2+} 浓度降低,碳酸钙形态经历了从不规则状转变成菱面体、球形的变化。此外 Wei YQ 等^[37]还发现 Fe^{3+} 和 Ca^{2+} 的存在降低了细菌胞内和胞外对 UO_2 的矿化,而 K^+ 、 Na^+ 和 Mg^{2+} 的存在则略微增加了 UO_2 的矿化。

3 基于微生物矿化的功能材料研究进展

基于对微生物矿化过程及其控制因素的研究深入,目前,越来越多的学者通过模拟微生物的矿化过程,仿生合成了多种层次结构的有机-无机复合材料,并赋予矿物各种各样的功能特性,例如高力学性能、光学特性等,为生物医学材料制备提供了新思路(表 1)。如可以利用微生物的矿化相关表面结构或者微生物代谢产物来调控矿物的生成;也可在微生物体内引入功能性分子来调控矿物形成;还可在微生物界面修饰特异性矿化位点;或通过基因工程增强生物体诱导矿物生成的能力^[38-39]。

3.1 胞外矿化策略

微生物进行细胞外矿化活动时,微生物矿化过程中细胞的表面组织结构能够控制矿物的晶体空间取向、生长速率、晶体的类型以及形貌尺寸等,从而赋予矿物不同的性能,因此,许多研究者利用微生物表面特殊结构生产功能材料^[38]。例如, Göbel C 等^[40]从球形乳杆菌 CCM 2177 分离出的 S 层蛋

表 1 基于微生物的仿生功能复合材料的制备及应用

矿物类型	有机复合成分/制备方法	微生物来源	特性	应用	参考文献
二氧化硅	S 层蛋白 SbpA	球形乳杆菌 CCM 2177	易于控制;更强的机械稳定性和光学特性	纳米生物技术领域	[40]
纳米羟基磷灰石	CS	鼠李糖乳杆菌 GG	生物相容性好;排列有序、尺寸均一	骨组织工程	[41]
羟基磷灰石	BC	细菌	介孔结构;生物相容性和生物降解性;良好骨传导性	骨组织工程	[42]
纳米羟基磷灰石	磷酸酶	沙雷细菌	生物相容性高;高强度;对环境友好	骨组织工程	[43]
碳酸钙	代谢产物	GRAS	高机械强度;自修复牙科材料微缝隙	牙科领域	[45]
羟基磷灰石	代谢产物	荧光假单胞菌	快速、简单且反应条件温和;高生物相容性	植入物涂层	[46]
碳酸钙	脲酶	大肠杆菌等产脲酶菌	晶体尺寸可控;高纳米压痕模量	骨缺损修复	[47-48]
纳米碳酸钙、纳米磷灰石、纳米二氧化硅	酵母细胞内腔	酵母菌	高载药率;靶向递送和释药;	药物载体	[50,52]
磷灰石	将 Mfp3S-pep 融合蛋白与大肠杆菌生物膜相结合	大肠杆菌	光敏性;具有代谢活性;适应性;自我修复性	支架材料	[53]
磷酸钙	逐层组装技术和原位矿化技术,诱导酵母细胞壳化	酵母菌	良好的支架材料;保护细胞	细胞的储存、保护、运输和修饰	[54-55]
磷酸钙	细胞壳化	大肠杆菌 BL21	克服抗体依赖性清除和高毒性障碍	肿瘤治疗	[56-57]
磷酸钙	通过基因工程在鞭毛蛋白修饰胶原样肽 GPP8	细菌	诱导成骨分化	骨组织工程	[60]

白 SbpA 能作为有机模板,在固体支撑或悬浮中重结晶,重新组装成具有方形(p4)晶格对称性的单分子晶格,有效控制沉积的二氧化硅材料的排列结构。实验结果证明,生成的二氧化硅材料具有更强的机械稳定性和光学特性,在纳米生物技术领域有着潜在的应用。最近,Mullick P 等^[41]提出一种通过矿化人益生菌乳酸菌鼠李糖乳杆菌 GG 的细胞表面相关蛋白(cell surface-associated protein, CSP)合成生物相容性纳米羟基磷灰石的简便途径(图 2A)。研究结果证明,CSP 不仅能控制排列有序、尺寸均一的纳米羟基磷灰石的生成,并且合成的 CSP-nHAP 支架材料还具有良好的生物相容性,有助于成骨细胞样细胞的生长和分化,可进一步开发用于骨组织工程的功能支架。

此外,微生物还能够通过代谢功能活动以及释放代谢产物有效控制矿化过程。有研究者利用微生物代谢过程中生成的有机质(如蛋白质、有机酸等)对材料的制备进行高效调控。细菌纤维素(bacterial cellulose, BC)是一种由细菌代谢产生的纤维素,具有高纯度、高结晶度、纳米纤维网状结构、软弹性体性质、高持水性和良好的生物相容性等优越的物理化学性能。Cheng Z 等^[42]证明了细菌纤维素能够诱导 HAP 矿物晶体的生成,并在此基础上设计了有机 BC 气凝胶材料。实验结果显示,定向矿化的羟基磷灰石能与有序排列的细菌纤维素均匀结合,表现出优异的机械强度、高弹性模量和硬度,而且有机 BC 纳米纤维由于其纳米纤维的有序排列、介孔结构、生物相容性和生物降解性,使得这种复合材料具有潜

在的良好骨传导性,以及出色的生物降解性,有望成为骨组织工程中理想的仿生矿化生物材料。另外,Thackray AC 等^[43]利用一种沙雷细菌代谢产生的磷酸酶生产纳米晶羟基磷灰石晶体,能有效提高材料的强度,且该方法制备的支架材料可以作为骨填充材料或种植体涂层。有研究者利用微生物代谢分泌的有机酸生产尺寸均一的纳米羟基磷灰石材料,生物相容性高且合成方法对环境友好^[44]。

另一种仿生矿化方法则是直接或间接利用微生物的代谢功能活性进行材料设计与合成。例如,Seifan M 等^[45]提出由公认的安全细菌(generally recognized as safe, GRAS)沉淀碳酸钙矿物来解决牙科复合材料微裂缝的方法。研究者将由细菌和必要的钙源等嵌入固体基质中,当牙科材料出现裂缝,水分和空气的渗透就会激活细菌生成碳酸钙,具有高机械强度,可用于设计牙科自修复复合材料。此外,Turner RJ 等^[46]提供了一种快速、简单且反应条件温和的方法以促进羟基磷灰石在材料上原位矿化。研究通过荧光假单胞菌的代谢调节微环境中的 pH,并结合代谢过程中产生的氨,能在相对温和的化学条件下形成羟基磷灰石的前体,有望用于提高陶瓷植入材料羟基磷灰石涂层的生物相容性。Heveran CM 等^[47]首次报道了一种通过调节大肠细菌的脲酶活性对其生成碳酸钙的形态和材料特性进行定制的方法。研究显示,脲酶活性较低的细菌生成的方解石晶体尺寸和纳米压痕模量也显著增高,因此有助于根据应用模量设计新型矿物材料。同时,微生物催化合成的活性材料用于骨组织工程是一种微

生物与组织工程相结合的骨组织缺损修复新策略。Li MM 等^[48]利用黏附在基底陶瓷表面的产脲菌的代谢作用来调节 pH 和 CO_3^{2-} , 同时利用其细胞壁表面的负电性基团吸附 Ca^{2+} , 在陶瓷材料表面诱导出均匀的生物矿化层。结果显示, 在陶瓷表面构建的纳米碳酸钙矿物明显抑制了硅酸钙陶瓷的降解, 更好地促进了骨髓间充质干细胞的生物活性, 并在骨缺损修复动物实验中表现出良好的生物相容性和显著的促骨组织再生能力。

尽管目前基于微生物的组织结构仿生合成功能材料的研究较多, 但合成的仿生功能材料不能完全模拟生物矿物的结构和功能, 并且相关的体内实验研究尚少, 还需进一步探索。

3.2 胞内矿化策略

除了利用微生物的有机组分或代谢产物制备矿化产物, 研究者们还将拥有特殊物理化学特性的无机矿物引入微生物细胞, 相当于在胞内引入功能支架, 形成一种“人工细胞器”。这种方法不仅能够帮助微生物细胞应对外部环境变化, 也将赋予细胞更好的生物功能(如更高的机械性能)。研究者提出在酵母细胞内构建生物相容性高的纳米羟基磷灰石支架, 这种复合材料不仅拥有较强的药物负载能力, 而且可以作为药物载体在肿瘤中靶向递送和释放负载的药物^[49]。例如, Ma XM 等^[50]利用酵母细胞内腔, 在胞内合成了仅有 5 nm 的碳酸钙纳米颗粒, 这种含碳酸钙纳米粒子的功能化细胞具有较大的表面积, 能够成为良好的药物载体(图 2B)。此外, 该课题组通过表面修饰叶酸制备了胞内矿化酵母细胞, 实验结果证明, 矿化细胞拥有原有细胞的功能, 在表现出低毒性的同时还兼具较大的载药能力, 基于肿瘤细胞的叶酸依赖性和矿物的 pH 敏感性能进行靶向药物输送与释放, 显著抑制了肿瘤生长, 为纳米物质的药物载体应用提供了一种生物安全的胞内合成策略^[51]。除此之外, Chang Y 等^[52]提出在细胞内原位仿生矿化合成无机纳米支架来改造细胞, 构建了具有细胞内二氧化硅纳米支架的工程酵母细胞。结果表明, 矿物支架的引入不仅保护了细胞, 防止了负载药物阿霉素在到达肿瘤之前泄漏, 而且赋予细胞无机纳米粒子的理化性质和特殊功能, 仿生纳米二氧化硅的细胞可以与抗癌药物分子协同作用, 增加癌细胞对药物的敏感性。

与胞外矿化策略相比, 直接在微生物胞内进行改性存在难度更大、未知影响更多等挑战, 但不可否认的是, 此种策略制备的材料受到更精细的调控作用, 也许在生物医学领域将发挥更大的效果, 这需要研究人员进一步探索。

3.3 界面修饰矿化策略

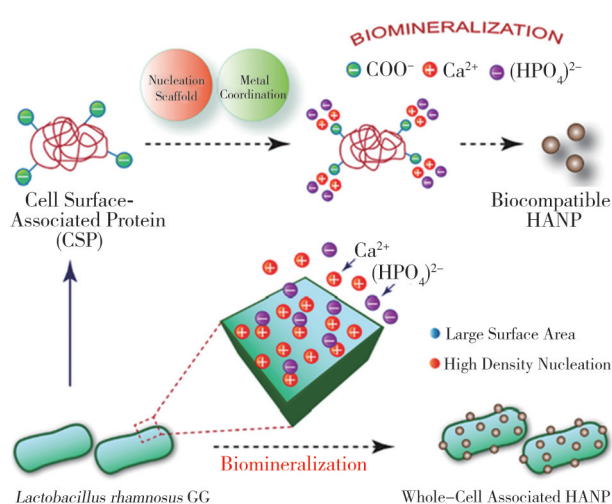
除了以上 2 种方法, 还可人为引入外来活性物质, 通过合理的生物或化学等手段直接对微生物表面进行修饰, 以模拟蛋白质膜的结构, 增强矿化能力, 最终定向制造出多功能的人造矿物外壳。研究人员将 Mfp3S-pep 融合蛋白与大肠杆菌生物膜相结合, 合成了一种能梯度矿化且能形成不同图

案的复合材料(图 2C)。实验结果证明, 这种复合材料中的 Mfp3S-pep 融合蛋白具有促 HAP 生成的能力, 其中构建的细菌仍具有代谢活力, 并且在矿化后仍能感知外界环境刺激, 可在蓝光照射下产生功能性生物膜材料, 适应外界环境变化^[53]。这种新型材料的合成为实现具有适应性、自我修复的“活的”材料打开了大门。

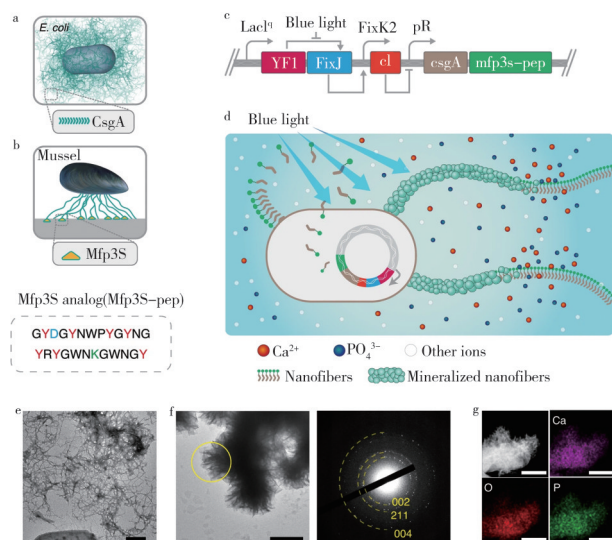
除此之外, 唐睿康课题组首次提出了“细胞壳化”的概念。Wang B 等^[54]使用逐层组装技术和原位矿化技术, 在酵母细胞表面诱导钙矿物质沉淀, 人工构筑了酵母细胞外磷酸钙外壳, 包封后细胞得以维持完整性, 矿物外壳在恶劣条件下保护细胞, 被包裹的酵母细胞甚至能在酵解酶的攻击下存活, 可作为化学和生物功能化的支架, 在细胞的储存、保护、运输和修饰方面具有巨大的潜力。随后, 该课题组发现含羧基或硫酸盐基团的聚电解质在酵母上的有效吸附可以很容易地增强酵母细胞的矿化能力, 提示通过调节细胞表面的界面能可以有效控制细胞矿化^[55]。除了利用酵母菌制备矿物壳结构, Qing S 等^[56]还利用大肠杆菌 BL21 细胞制备细菌外膜囊泡(bacterial outer membrane vesicles, OMV), 并采用磷酸钙壳覆盖 OMV 表面, 克服了肿瘤治疗中静脉注射 OMV 诱导的抗体依赖性清除和高毒性障碍。另外, Liu YH 等^[57]受生物矿化启发, 提出一种由 iRGD 修饰的透明质酸-脱氧胆酸有机核和磷酸钙矿物壳构成达沙替尼纳米药物, 实验结果显示其可以克服肿瘤临床治疗中纳米药物的“递送和渗透受损”问题。总体而言, 细胞表面修饰策略是一种可控度高、可行性强、快捷的仿生矿化手段, 且对微生物生物体本身的功能影响较小, 还可显著提高微生物在极端环境中的生存能力, 在保护生物体、疾病治疗、环境工程、生物传感器等领域有着广泛的应用^[58-59]。

3.4 基因工程策略

受微生物矿化和蛋白质之间关系等研究的启发, 研究人员提出通过基因工程技术引入编码矿化相关蛋白的基因, 使不能矿化的微生物获得具有遗传效应的矿化能力, 以获得满足各种功能的复合矿物材料。例如, Li D 等^[60]通过基因工程在鞭毛表面基因展示了一种胶原样肽 GPP8(图 2D), 研究者将其作为仿生矿化模板, 实验结果表明表达的鞭毛蛋白能够自组装和诱导矿化形成具有有序结构的无机-有机超分子纳米复合材料, 并能模仿骨细胞外基质, 具有显著诱导骨髓源性干细胞的成骨分化能力。受生物体内储铁蛋白的启发, Zhang Y 等^[61]通过基因工程技术与仿生矿化相结合, 仿生制备了新型蛋白纳米笼。实验结果显示, 这种全新的方法合成的材料不仅具备高灵敏度肿瘤靶向效应, 其生物毒性也明显下降, 为生物纳米医学领域指明了新的方向。基因工程策略是一种目的性高、有效性强的策略, 打破了不同生物体之间的壁垒, 带来了定向改造生物的可能性, 这是基因工程的最大优势。同时, 由于存在基因突变的风险, 其安全性有待进一步探究。

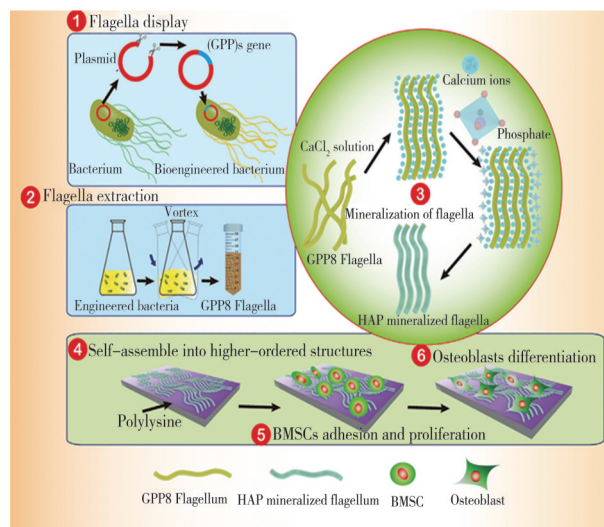


A. 使用鼠李糖乳杆菌 GG 细胞表面相关蛋白 (CSP) 和全细胞生物矿化合成矿物的示意图^[41]



B. 功能化酵母细胞与内源性 CaCO_3 纳米颗粒支架的制备^[50]

C. 工程光敏大肠杆菌生物膜作为 HA 矿化支架的研究^[53]



D. HAP-矿化鞭毛的生产和自组装成基质的示意图^[60]

图2 基于微生物矿化的功能材料

4 总结

综上所述,通过向自然界中的微生物矿化学习,制备新型仿生功能材料,可以最大限度地模拟天然矿物优越的机械性能和生物相容性,极大地拓宽了生物材料在生物医学领域的应用前景。但该领域目前还存在一些局限与挑战。

首先,微生物本身是具有活性的物质,能够感知和适应体外(体内)环境变化,因此,充分利用微生物自我修复能力、响应外界环境变化的适应能力,并进一步开发具有结构和生命特征的智能微生物矿化仿生功能材料。其次,对于仿生合成的矿物材料,仍有大部分停留在基础研究阶段,尚未转化为临床应用,因此对其应用安全性、有效性还需要进一步的

实验探究。最后,微生物矿化是一类多因素作用的生物体活动,受到多方面的调控,目前对于其具体的机制仍处于模糊的认知。为了更高层次的仿生应用,研究者们还需要更深层次地挖掘其矿化机制。

总体而言,基于微生物矿化启发的各类仿生矿化策略在疾病诊断、药物递送、疫苗合成等生物医学领域均取得了重大的进展,充分证明仿生矿化策略的可行性和有效性。随着研究的不断深入,基于微生物矿化的仿生矿化材料将不断优化,其应用也将越来越广泛。

参考文献

- [1] 崔福斋. 生物矿化[M]. 2版. 北京:清华大学出版社,2012.

- Cui FZ. Biomineralization[M]. 2nd ed. Beijing: Tsinghua University Press, 2012.
- [2] Weiner S. An overview of biomineralization processes and the problem of the vital effect[J]. Rev Mineral Geochem, 2003, 54(1): 1–29.
- [3] Hulkoti, NI, Taranath TC. Biosynthesis of nanoparticles using microbes— a review[J]. Colloids Surf B Biointerfaces, 2014, 121: 474–83.
- [4] Mirabello G, Lenders JJ, Sommerdijk NA. Bioinspired synthesis of magnetite nanoparticles[J]. Chem Soc Rev, 2016, 45(18): 5085–5106.
- [5] Coelho F, Cavicchioli M, Specian SS, et al. Bacterial cellulose membrane functionalized with hydroxiapatite and anti-bone morphogenetic protein 2: a promising material for bone regeneration[J]. PLoS One, 2019, 14(8): e0221286.
- [6] Brownlee C, Langer G, Wheeler GL. Coccolithophore calcification: changing paradigms in changing oceans[J]. Acta Biomater, 2021, 120: 4–11.
- [7] Garate L, Sureda J, Agell G, et al. Endosymbiotic calcifying bacteria across sponge species and oceans[J]. Sci Rep, 2017, 7: 43674.
- [8] Sauro F, Cappelletti M, Ghezzi D, et al. Microbial diversity and bio-signatures of amorphous silica deposits in orthoquartzite caves[J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 17569.
- [9] Lin W, Pan YX, Bazylnski DA. Diversity and ecology of and biomineralization by magnetotactic bacteria[J]. Environ Microbiol Rep, 2017, 9(4): 345–356.
- [10] Nathan Y, Bremner JM, Loewenthal RE, et al. Role of bacteria in phosphorite genesis[J]. Geomicrobiol J, 1993, 11(2): 69–76.
- [11] Lie T, Selvig KA. Calcification of oral bacteria: an ultra structural study of two strains of *Bacterionema matruchotii*[J]. Eur J Oral Sci, 1974, 82(1): 8–18.
- [12] Schwaderer AL, Wolfe AJ. The association between bacteria and urinary stones[J]. Ann Transl Med, 2017, 5(2): 32.
- [13] Bazylnski DA. Biologically controlled mineralization in prokaryotes[J]. Rev Mineral Geochem, 2003, 54(1): 217–247.
- [14] Frankel RB. Biologically induced mineralization by bacteria[J]. Rev Mineral Geochem, 2003, 54(1): 95–114.
- [15] Seifan M, Berenjian A. Microbially induced calcium carbonate precipitation: a widespread phenomenon in the biological world[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2019, 103(12): 4693–4708.
- [16] Lin W, Bazylnski DA, Xiao T, et al. Life with compass: diversity and biogeography of magnetotactic bacteria[J]. Environ Microbiol, 2014, 16(9): 2646–2658.
- [17] Bommanavar S, Hosmani J, Ahmad Togoo R, et al. Role of matrix vesicles and crystal ghosts in bio-mineralization[J]. J Bone Miner Metab, 2020, 38(6): 759–764.
- [18] Kish A, Miot J, Lombard C, et al. Preservation of archaeal surface layer structure during mineralization[J]. Sci Rep, 2016, 6: 26152.
- [19] Rahn-Lee L, Komeili A. The magnetosome model: insights into the mechanisms of bacterial biomineralization[J]. Front Microbiol, 2013, 4: 352.
- [20] Xu QL, Zhang CH, Li FC, et al. *Arthrobacter* sp. strain MF-2 induces high-Mg calcite formation: mechanism and implications for carbon fixation[J]. Geomicrobiol J, 2017, 34(2): 157–165.
- [21] Ercole C, Cacchio P, Botta AL, et al. Bacterially induced mineralization of calcium carbonate: the role of exopolysaccharides and capsular polysaccharides[J]. Microsc Microanal, 2007, 13(1): 42–50.
- [22] Zu Y, Hong SJ, Xu CX, et al. Cell wall surface layer (S-layer) promotes colony formation in *Microcystis*: comparison of S-layer characteristics between colonial and unicellular forms of *Microcystis* and function conformation[J]. Environ Sci Pollut Res Int, 2020, 27(34): 42254–42263.
- [23] Yang GG, Li L, Li FC, et al. Mechanism of carbonate mineralization induced by microbes: taking *Curvibacter lanceolatus* strain HJ-1 as an example[J]. Micron, 2021, 140: 102980.
- [24] Zhang CH, Li XL, Lyu JJ, et al. Comparison of carbonate precipitation induced by *Curvibacter* sp. HJ-1 and *Arthrobacter* sp. MF-2: further insight into the biomineralization process[J]. J Struct Biol, 2020, 212(2): 107609.
- [25] 王旭辉, 董发勤, 李琼芳, 等. 多组分有机质作用下碳酸钙的矿化现象[J]. 岩石矿物学杂志, 2020, 39(3): 291–297.
- Wang XH, Dong FQ, Li QF, et al. Mineralization of calcium carbonate under the action of multi-component organic matter[J]. Acta Petrol Mineral, 2020, 39(3): 291–297.
- [26] Zhang CH, Lv JJ, Li FC, et al. Nucleation and growth of Mg-calcite spherulites induced by the bacterium *Curvibacter lanceolatus* strain HJ-1[J]. Microsc Microanal, 2017, 23(6): 1189–1196.
- [27] Li CK, Li QS, Wang ZP, et al. Environmental fungi and bacteria facilitate lecithin decomposition and the transformation of phosphorus to apatite[J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 15291.
- [28] Mardad I, Serrano A, Soukri A, et al. Solubilization of inorganic phosphate and production of organic acids by bacteria isolated from a Moroccan mineral phosphate deposit[J]. 2013, 7: 626–635.
- [29] Fishman MR, Giglio K, Fay D, et al. Physiological and genetic characterization of calcium phosphate precipitation by *Pseudomonas* species[J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 10156.
- [30] Mora D, Arioli S. Microbial urease in health and disease[J]. PLoS Pathog, 2014, 10(12): e1004472.
- [31] Jansson C, Northen T. Calcifying cyanobacteria: the potential of biomineralization for carbon capture and storage[J]. Curr Opin Biotechnol, 2010, 21(3): 365–371.
- [32] Schulz HN, Schulz HD. Large sulfur bacteria and the formation of phosphorite[J]. Science, 2005, 307(5708): 416–418.
- [33] Mercedes-Martín R, Rogerson MR, Brasier AT, et al. Growing spherulitic calcite grains in saline, hyperalkaline lakes: experimental evaluation of the effects of Mg-clays and organic acids[J]. Sediment Geol, 2016, 335: 93–102.
- [34] Li P, Liu WH, Gao KS. Effects of temperature, pH, and UV radiation on alkaline phosphatase activity in the terrestrial *Cyanobacterium*

Nostoc flagelliforme[J]. J Appl Phycol, 2013, 25(4): 1031–1038.

[35] Qian CX, Zhan QW. Bioremediation of heavy metal ions by phosphate-mineralization bacteria and its mechanism[J]. Jnl Chin Chemical Soc, 2016, 63(7): 635–639.

[36] Yu JG, Lei M, Cheng B, et al. Effects of PAA additive and temperature on morphology of calcium carbonate particles[J]. J Solid State Chem, 2004, 177(3): 681–689.

[37] Wei YQ, Zhao Y, Shi MZ, et al. Effect of organic acids production and bacterial community on the possible mechanism of phosphorus solubilization during composting with enriched phosphate-solubilizing bacteria inoculation[J]. Bioresour Technol, 2018, 247: 190–199.

[38] Jiang LH, Liu XD, Yin HQ, et al. The utilization of biomineralization technique based on microbial induced phosphate precipitation in remediation of potentially toxic ions contaminated soil: a mini review[J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2020, 191: 110009.

[39] Guo ZY, Richardson JJ, Kong B, et al. Nanobiohybrids: materials approaches for bioaugmentation[J]. Sci Adv, 2020, 6(12): eaaz0330.

[40] Göbel C, Schuster B, Baurecht D, et al. S-layer templated bioinspired synthesis of silica[J]. Colloids Surf B Biointerfaces, 2010, 75(2): 565–572.

[41] Mullick P, Das G, Aiyagari R. Probiotic bacteria cell surface-associated protein mineralized hydroxyapatite incorporated in porous scaffold: *in vitro* evaluation for bone cell growth and differentiation[J]. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2021, 126: 112101.

[42] Cheng Z, Ye Z, Natan A, et al. Bone-inspired mineralization with highly aligned cellulose nanofibers as template[J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2019, 11(45): 42486–42495.

[43] Thackray AC, Sammons RL, MacAskie LE, et al. Bacterial biosynthesis of a calcium phosphate bone-substitute material[J]. J Mater Sci Mater Med, 2004, 15(4): 403–406.

[44] Priyam A, Das RK, Schultz A, et al. A new method for biological synthesis of agriculturally relevant nanohydroxyapatite with elucidated effects on soil bacteria[J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 15083.

[45] Seifan M, Sarabadani Z, Berenjian A. Microbially induced calcium carbonate precipitation to design a new type of bio self-healing dental composite[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2020, 104(5): 2029–2037.

[46] Turner RJ, Renshaw JC, Hamilton A. Biogenic hydroxyapatite: a new material for the preservation and restoration of the built environment [J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2017, 9(37): 31401–31410.

[47] Heveran CM, Liang LY, Nagarajan A, et al. Engineered ureolytic microorganisms can tailor the morphology and nanomechanical properties of microbial-precipitated calcium carbonate[J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 14721.

[48] Li MM, Ma HS, Han F, et al. Microbially catalyzed biomaterials for bone regeneration[J]. Adv Mater, 2021, 33(49): e2104829.

[49] He W, Li ZM, Wang YJ, et al. Synthesis of mesoporous structured hydroxyapatite particles using yeast cells as the template[J]. J Mater Sci Mater Med, 2010, 21(1): 155–159.

[50] Ma XM, Chen HF, Yang L, et al. Construction and potential applications of a functionalized cell with an intracellular mineral scaffold[J]. Angew Chem Int Ed, 2011, 50(32): 7414–7417.

[51] Ma XM, Liu P, Tian YY, et al. A mineralized cell-based functional platform: construction of yeast cells with biogenetic intracellular hydroxyapatite nanoscaffolds[J]. Nanoscale, 2018, 10(7): 3489–3496.

[52] Chang Y, Liu TT, Liu P, et al. Biomineralized nanosilica-based organelles endow living yeast cells with non-inherent biological functions[J]. Chem Commun, 2020, 56(42): 5693–5696.

[53] Wang YY, An BL, Xue B, et al. Living materials fabricated via gradient mineralization of light-inducible biofilms[J]. Nat Chem Biol, 2021, 17(3): 351–359.

[54] Wang B, Liu P, Jiang WG, et al. Yeast cells with an artificial mineral shell: protection and modification of living cells by biomimetic mineralization[J]. Angew Chem Int Ed, 2008, 47(19): 3560–3564.

[55] Wang B, Liu P, Liu ZM, et al. Biomimetic construction of cellular shell by adjusting the interfacial energy[J]. Biotechnol Bioeng, 2014, 111(2): 386–395.

[56] Qing S, Lyu CL, Zhu L, et al. Biomineralized bacterial outer membrane vesicles potentiate safe and efficient tumor microenvironment reprogramming for anticancer therapy[J]. Adv Mater, 2020, 32(47): e2002085.

[57] Liu YH, Li LC, Liu JY, et al. Biomineralization-inspired dasatinib nanodrug with sequential infiltration for effective solid tumor treatment[J]. Biomaterials, 2021, 267: 120481.

[58] Zhu W, Guo JM, Amini S, et al. SupraCells: living mammalian cells protected within functional modular nanoparticle-based exoskeletons[J]. Adv Mater, 2019, 31(25): e1900545.

[59] McBee RM, Lucht M, Mukhitov N, et al. Engineering living and regenerative fungal – bacterial biocomposite structures[J]. Nat Mater, 2022, 21(4): 471–478.

[60] Li D, Zhu Y, Yang T, et al. Genetically engineered flagella form collagen-like ordered structures for inducing stem cell differentiation[J]. iScience, 2019, 17: 277–287.

[61] Zhang Y, Wang XY, Chu CC, et al. Genetically engineered magnetic nanocages for cancer magneto-catalytic theranostics[J]. Nat Commun, 2020, 11(1): 5421.

(责任编辑:唐秋姗)