

引文格式

闫玉玲, 张敏, 鞠秀琴,等. 自下而上构筑人工细胞及其生物医学应用 [J].集成技术, 2024,(?):??

Citing format

Yan YL, Zhang M, Jiu XQ, et al. Bottom-up construction of artificial cells and their biomedical applications[J]. Journal of Integration Technology,2024,(?):??

自下而上构筑人工细胞及其生物医学应用

闫玉玲¹, 张敏¹, 鞠秀琴¹, 刘剑波^{1,2*}

¹ (湖南大学生物纳米与分子工程湖南省重点实验室, 湖南长沙, 410082)

² (湖南大学化学生物传感与计量学国家重点实验室, 湖南长沙, 410082)

摘要: 构建具有特定细胞模拟功能的人工细胞有助于探索天然生物细胞系统中复杂的生物反应过程和细胞功能, 并为生命起源的深入了解提供便利。人工细胞的构建方法, 无论是基于自上而下还是自下而上原则, 在过去的几十年里都取得了很大的进展和广泛的应用。基于人工细胞构建策略的不同, 人工细胞可分为“自上而下”人工细胞和“自下而上”人工细胞。自下而上的合成生物学是一个新兴的互补分支, 它寻求从天然或合成成分构建人工细胞。自下而上合成生物学的目标之一是构建或模拟天然生物细胞中存在的复杂路径。人工细胞来源于脂质、聚合物、脂质/聚合物杂化体、天然细胞膜、金属-有机框架和凝聚体等。人工细胞可以与真实细胞内各种物质如蛋白质、基因、线粒体等结合在其表面或包裹在内部而被赋予各种功能。并且人工细胞可以作为载药系统以及信息交流载体, 此外, 人工细胞还可以代替功能受损的细胞以恢复机体的正常运转。在这里, 我们首先介绍了基于自下而上策略构建人工细胞的方法和分类; 然后讨论了人工细胞的多种应用; 最后, 对人工细胞未来发展前景进行了展望。

来稿日期: 2023-11-24, 修回日期: 2023-12-29

基金项目: 国家自然科学基金资助(编号 22177032); 自然科学基金湖南省自然科学基金(资助号:2022RC3047 和 2021jj10013)

作者简介: 闫玉玲, 博士生, 研究方向为人工细胞的化学合成; 张敏, 硕士生, 研究方向为类囊体人工细胞的构建; 鞠秀琴, 硕士生, 研究方向人工细胞的化学合成; 刘剑波 (通讯作者), 博士, 教授, 研究方向为人工细胞的化学合成以及化学生物分析与生物医学应用。

关键词 人工细胞；自下而上；磷脂囊泡；生物应用

中图分类号: Q811.2 doi: 10.12146/j.issn.2095-3135.20231124001

Bottom-up construction of artificial cells and their biomedical applications

YAN Yuling¹, ZHANG Min¹, JIU Xiuqin¹, LIU Jianbo^{1,2*}

¹ (Hunan Key Laboratory of Biological Nano and Molecular Engineering, Hunan University)

² (State Key Laboratory of Chemical Biosensing and Metrology, Hunan University)

Corresponding Author: Liu Jianbo. Hunan University, Changsha 410082, P. R. China; orcid.org/0000-0001-8282-4078; Email: liujianbo@hnu.edu.cn.

Abstract: The construction of artificial cells with specific cell mimic functions helps to explore the complex biological reaction processes and cellular functions in natural biological cell systems, and provides convenience for the in-depth understanding of the origin of life. Artificial cell construction method, based on the top-down and bottom-up principle, in the past few decades have made great progress and extensive application. Build strategy based on artificial cells, human cells can be divided into "top-down" artificial cells and "bottom-up" cells. Bottom-up complementary branch of synthetic biology is a new, it sought from natural or synthetic ingredients to build artificial cells. One of the goals of bottom-up synthetic biology is to construct or mimic the complex pathways present in the cells of natural organisms. Artificial cells derived from lipids, polymer, lipid/polymer hybrid body, natural cell membrane, metal - organic frameworks and condensed matter and so on. With the real human cells can be various substances in the cell such as proteins, genes, such as mitochondria in the surface or wrapped in internal and are endowed with various functions. Moreover, artificial cells can be used as a drug delivery system and a carrier of information exchange. In addition, artificial cells can also replace the damaged cells to restore the normal operation of the body. Here, we first introduced the method based on bottom-up strategy to build artificial cells and classification; Then the various applications of artificial cells are discussed. Finally, the future development of artificial cells is prospected.

Keywords: Artificial cells, Liposomes, Bottom-up approach, Construction, Bioapplications

Funding: This work is supported by the National Natural Science Foundation of China (grant numbers 22177032) and the Natural Science Foundation of Hunan Province (grant numbers 2022RC3047 and 2021JJ10013)

1 前言

细胞是一切生命形式的基本组成单位^[1]，细胞结构和复杂的功能一直是分子生命科学领域的研究人员探讨的方向^[2]。但是，现代细胞生物学对细胞的研究并不局限于细胞结构、细胞之间交流以及细胞功能，细胞工程、基因工程、生物技术、生物工厂以及药物等发展使研究人员需要对细胞进行更一步深入的研究^[3]。随着细胞生物学的发展，同时由于机体内受损细胞的不可修复性、细胞离体后容易破损和失活以及细胞结构的复杂性，研究人员通过对活细胞的改造以扩大细胞在生物技术领域的应用。但是仍面临很多问题，比如遗传技术的局限性和基因工程的安全和伦理问题，这些问题促使具有特定应用的系统被设计出来^[4]，一种能替代细胞完成细胞间信息交流、细胞特定功能以及生物大分子的运输的物质，即人工细胞。人工细胞的概念最早由 Thomas Ming Swi Chang^[5]于 1957 年提出，他通过天然生物细胞膜中的磷脂成功创造出囊泡，这是第一个人工细胞。Tian^[6]等人把人工细胞理解成通过接触或非接触相互作用的独立的分隔微结构，作为天然生物细胞的仿生模型，这些细胞仿生模型可以用来模拟细胞形态和功能以及细胞隔室结构，甚至可以模拟真实细胞表面形态^[7]。

基于人工细胞构建策略的不同，人工细胞可分为“自上而下”人工细胞和“自下而上”人工细胞^[8]。自上而下的方法是从全功能的天然生物细胞开始，去除其原有基因组并引入一个或几个使用基因组技术从核苷酸外部合成的新的基因组以获得一个能够维持自身生存和繁殖的更复杂的化学系统^[9-11]。自下而上的方法是从简单分子出发，将无生命物质组装成无生命形式到有生命形式的区室微结构^[12]（图 1）。这两种方法虽然构建形式不同，但它们可以相互补充。新兴的自下而上合成生物学领域旨在通过组合和拼凑基本功能成分来构建“活的”人工细胞。

通过自下而上的方法创造的具有模拟细胞形态和功能、细胞隔室结构，以及真实细胞表面形态的人工细胞，有利于研究人员在分子细胞水平扩展对细胞内以及细胞间的分子作用机制的理解，以及基于研究人员对化学、生物学和物理学的见解来建立生命体系以及非生命体系的联系，为生命起源研究提供相应的理论基础，进一步增加研究人员对天然生物细胞内结构和复杂生化反应的理解。

事实上，由二氧化硅纳米颗粒、微凝胶颗粒、两亲性嵌段共聚物或两亲性蛋白质-聚合物纳米共轭物组成的人工细胞都已经实现。此外，合成聚合物或生物相关分子可以分别通过缔合和解离液-液相分离过程，即凝聚体或双水相体系，形成膜单元的合成模拟物。这样的生物和合成隔间在空间上都起到定位和隔离分子及其反应的作用^[13]。因此，人工细胞的一个额外但重要的特征是能够包含和支持生化或化学反应途径，从而赋予隔室特定的功能。

封闭特定的反应可以避免自然细胞中常见的潜在副反应，从而提高系统的效率和可控性。

截至目前，人工细胞作为一个具有开创性和创新性的研究领域，已经受到越来越多科学家的关注。在过去的几十年中，人工细胞有着广泛的应用^[13-15]，例如作为药物输送载体^[16-19]，产生能量^[20-21]，封装和反应容器^[22-23]以及材料和信息交换的载体^[24-26]。



图 1 通过自上而下和自下而上的方法构建人工细胞的示意图。

Fig 1 Schematic representation of artificial cells constructed by top-down and bottom-up approaches.

2 人工细胞的类型

人工细胞可通过自上而下和自下而上两种方法来构建，其中自下而上的构建方法允许使用无生命物质简单、快速和大量生产人工细胞，所以将重点讨论通过自下而上的方法构建的人工细胞。基于区域化策略的发展，人工细胞包括磷脂囊泡^[27-28]、凝聚体^[29-30]、聚合物^[31-32]、无机胶体^[33]、蛋白小体^[34]，以及基于金属有机框架的人工细胞^[35]等。

2.1 基于脂质形成的人工细胞

在各种人工细胞中，磷脂囊泡是最常见的。磷脂囊泡是自组装形成的磷脂或胆固醇球形小囊泡^[35]。磷脂作为天然生物细胞的细胞膜主要成分，所以磷脂囊泡和天然生物细胞一样具有双层膜结构，这种结构可以促进包裹的内容物与磷脂膜的相互作用^[36]。通常，磷脂囊泡为球形囊泡，粒径 25~1000 nm 不等。磷脂分散在水溶液中时，磷脂分子的疏水尾部聚集在一起，而磷脂分子亲水头部则暴露在水相中，形成具有双层结构的的囊泡。一般来说，亲水分子被包裹在中心的水核内，而疏水分子被包裹在疏水双层膜中^[37]。

磷脂囊泡的性质因脂质组成、表面电荷、制备方法的不同而有很大差异。合成方法决定了所合成的磷脂囊泡的类型，磷脂囊泡可分为具有 2-5 层双层膜的寡层囊泡 (Oligolamellar Vesicles, OLV)和具有五层或更多层膜的多层囊泡 (Multilayered Vesicles, MLV)。具有一层双层膜的囊泡进一步分为巨大单层囊泡 (Giant Unilamellar Vesicles, GUV，直径>1

μm)、大型单层囊泡 (Large Unilamellar Vesicles, LUV, 直径 100 nm~1 μm)和小单层囊泡 (Small Unilamellar Vesicles, SUV, 直径<100 nm), 以及囊泡内可含有多个小囊泡的多泡囊泡 (MVV, Multivesicular Vesicles)。这些囊泡可用于模仿各种生物细胞形态, 由于 GUV 显示出与天然生物细胞相似的大小和形态, 因此最常用作人工细胞来研究细胞膜的性质 (图 2)。

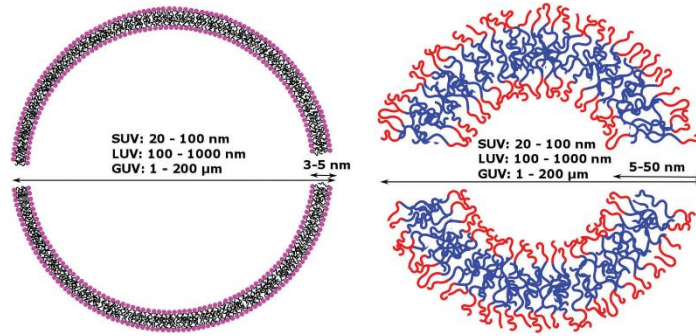


图 2 不同大小磷脂囊泡的脂膜模型体系。SUV, 小单层囊泡; LUV, 多层囊泡; GUV, 巨大单层囊泡^[37]。经许可转载自参考文献 37。版权所有 2018 Royal Society of Chemistry。

Fig 2 Different sizes of phospholipid vesicle lipid membrane model system. SUV, small unilamellar vesicles; LUVs, large unilamellar vesicles; GUV, giant unilamellar vesicle^[37]. Reproduced with permission from ref 37. Copyright 2018 Royal Society of Chemistry.

磷脂囊泡用于药物输送已有 50 多年的历史^[38]。磷脂囊泡制剂已被批准用于治疗包括癌症、真菌感染和疼痛在内的各种疾病^[39]。磷脂囊泡具有生物相容性好、毒性低、载药量大、释放动力学可控等优点, 但是, 传统的磷脂囊泡易于融合和/或相互聚集, 导致磷脂囊泡有效载荷随时间的不成熟释放。此外, 磷脂囊泡容易被单核吞噬细胞系统的细胞摄取而迅速被全身清除。为了克服这些限制, 通过采用表面改性策略, 在磷脂囊泡的表面涂覆惰性的、生物相容性的亲水性聚合物, 如聚乙二醇, 使磷脂囊泡表面形成亲水性聚合物保护层, 进而保持磷脂囊泡表面空间稳定性, 减缓单核吞噬细胞系统对磷脂囊泡的清除^[40]。尽管取得了这一成功, 但磷脂囊泡在封装和控制有效载荷的释放方面仍然存在一些挑战^[41], 特别是在亲水性小分子药物方面^[42]。大量的药物释放可在给药后立即发生, 这可能导致全身或局部毒性。Li^[43]等人通过合成的磷脂的酰基链与末端的芳香族基团共价结合, 产生芳香化磷脂囊泡。延长了释放持续时间, 并减缓注射部位的药物颗粒损失 (图 3A)。现阶段大多数研究都集中在用合成系统来模仿自然界的区隔策略^[44], 开发了各种人工细胞和亚细胞类似物, 以模拟基本细胞结构和反应^[45]。磷脂囊泡作为具有区域化隔间的人工细胞, 可以在其中进行生化或化学反应。Wang^[46]等人开发了基于磷脂囊泡的酶纳米反应器, 将葡萄

糖氧化酶 (Glucose Oxidase, GOx)和辣根过氧化物酶 (Horseradish Peroxidase, HRP)装载在酶纳米反应器中，并在其中发生级联反应。该系统的构建表明基于磷脂囊泡的人工细胞中级联反应的有效进行（图 3B）。

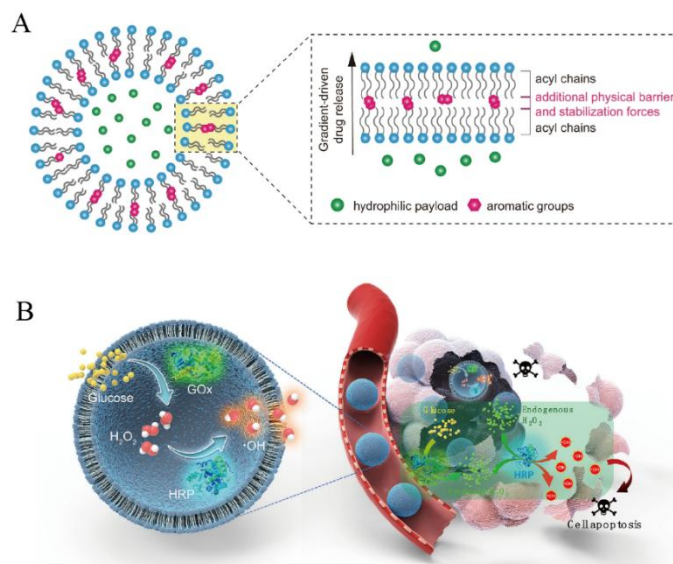


图 3 磷脂囊泡人工细胞示意图。(A)持续给药的芳香化磷脂囊泡示意图^[43]。经许可转载自参考文献 43。

版权所有 2023 Nature Publishing Group。

(B)磷脂囊泡纳米反应器的组成和串联反应方案(左)和基于串联反应的抗肿瘤治疗的机制(右)^[46]。经许可

转载自参考文献 45。版权所有 2017 Nature Publishing Group。

Fig 3 Phospholipid vesicle artificial cell diagram. (A) Schematic representation of persistently administered aromatic phospholipid vesicles^[43]. Reproduced with permission from ref 43. Copyright 2023 Nature Publishing Group. (B) the composition of phospholipid vesicle nano reactor and cascade reaction scheme (left) and based on the cascade reaction mechanism of the anti-tumor treatment (right)^[46].

Reproduced with permission from ref 45. Copyright 2017 Nature Publishing Group.

2.2 基于液液相分离形成的人工细胞

液液相分离 (Liquid-liquid Phase Separation, LLPS)作为水性大分子溶液中的常见现象，可以使用多种生物或非生物聚合物来实现。由于大分子的高浓度，一个或多个生成的相提供了大分子拥挤^[47]。以这种方式形成的相分离的微隔室类似于拥挤的活细胞内部，其中含有高浓度的大分子^[48]，因此相分离溶液可以用作无膜细胞器的模型。通过 LLPS 组装形式形成的人工细胞作为有前途的区室化策略^[49-50]。LLPS 合成人工细胞的组装策略提供了一种形成大分子富集环境的可行方法，从而在无膜细胞器模型中实现了细胞内部拥挤，并确保人工细胞与外界环境得以进行的物质交换和信息交流。通过 LLPS 形成的人工细胞作为无

膜细胞模型，其无膜结构比天然生物细胞更有利于自身与环境进行分子交换。同时它们的液体性质促进了液滴内分子扩散，从而保证局部生化反应的发生。因此它们可以作为能够选择性隔离生物分子和催化活性的“开放”反应器^[50]。

水溶液中大分子之间的相互作用可以导致不同热力学相的形成，这种现象会产生双水相体系 (Aqueous Two-Phase System, ATPS)。“分离相分离”是指两种(或多种)聚合物或一种聚合物和一种盐在超过阈值浓度的水中的混合物在平衡状态下形成两个不相容的水液相^[51]。这些相都是水相，但每一个相都含有不同的聚合物。最常见和最容易理解的例子是聚乙二醇和葡聚糖形成的 ATPS。当含有两个以排斥作用为主的中性聚合物的溶液也会导致 ATPS 中每个聚合物中都富含一个相。图 4 显示了两种不带电聚合物在水中的溶液的相图。在低浓度的聚合物下，溶液以单相存在，在高浓度时发生相分离。

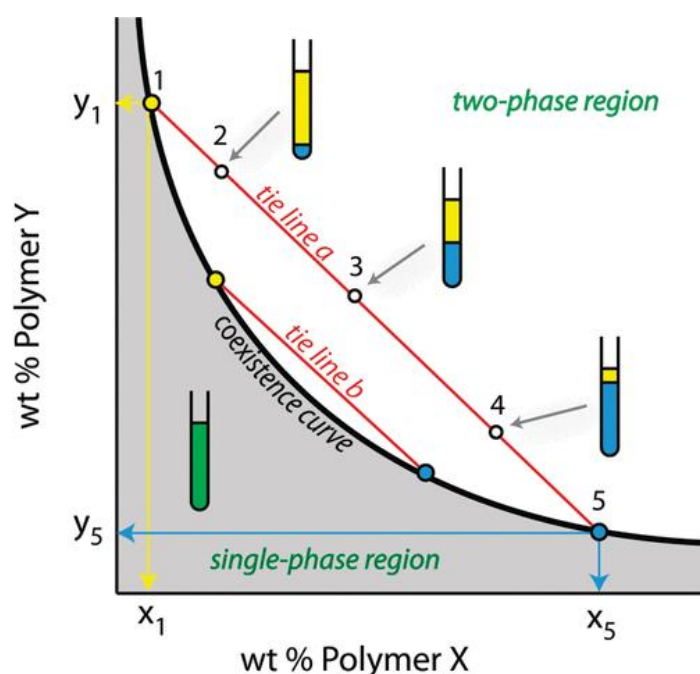


图 4 两种中性聚合物水溶液的通用相图。每种聚合物在顶相和底相中的浓度由组成所在的连接线与共存曲线的交点给出。这里，点 2、点 3 和点 4 位于共存曲线之上，因此以两个相的形式存在。这些点位于同一连接线上，因此它们的顶部和底部阶段分别由点 1(顶部阶段)和 5(底部阶段)指定，但体积不同^[49]。

经许可转载自参考文献 49。版权所有 2012 American Chemical Society。

Fig 4 Universal phase diagrams of aqueous solutions of two neutral polymers. Each of the polymer concentration in the top and bottom phase consists of the cables and the coexistence of intersection are given. Here, points 2, 3, and 4 lie above the coexistence curve and therefore exist as two phases. On these points located on the same line, so they are at the top and bottom phase, respectively, by the point 1 phase (top) and 5 (phase) at the bottom of

the specified, but different size^[49]. Reproduced with permission from ref 49. Copyright 2012 American Chemical Society.

更复杂的相行为是可能的强相互作用的聚合物，如相反电荷的聚电解质^[52]。当含有聚阳离子和聚阴离子的水溶液混合时，形成聚电解质络合物。它们通常不溶于水，因此它们以新的浓缩聚合物相分离出来，称为复杂的凝聚物。简单凝聚是指由于溶剂化程度的降低（例如，通过添加脱水化学剂或温度或 pH 值的变化）而导致仅含有一种胶体组分的体系发生相分离，而复杂凝聚是指水溶液中两个相反带电分子或胶体的吸引静电相互作用导致的自发相分离。具有不同聚合物组成液相的形成取决于液体温度、聚合物浓度和离子强度，还可以通过改变组分的分子量或化学计量比来调节^[53]。

静电介导的相反电荷聚电解质通过液-液相分离形成的无膜分子密集凝聚微滴在细胞模拟工程、合成生物学和生命起源等领域受到广泛关注。Yin^[54]等人构建了一个动态的基于凝聚体的原始细胞模型，该模型可以可逆地自发膜化，并且是通过聚电解质的原位自组织而内源产生的。该系统为具有动态结构属性的人工细胞模型开辟了新的视角（图 5A）。但由于无膜细胞器的适用性受到低水平的膜通透性、低包封效率和高物理化学不稳定性的严重影响，为了解决这一问题，Zhang^[55]等人开发了一种膜结合的大分子拥挤原始细胞模型，磷脂膜在预先形成的聚核苷酸/多糖凝聚液滴表面的自发组装地制备出人工细胞，与普通凝聚体相比，磷脂膜在底层凝聚相上的部分锚定增加了凝聚体坚固性，降低了膜的流动性，增加了渗透性（图 5B）。

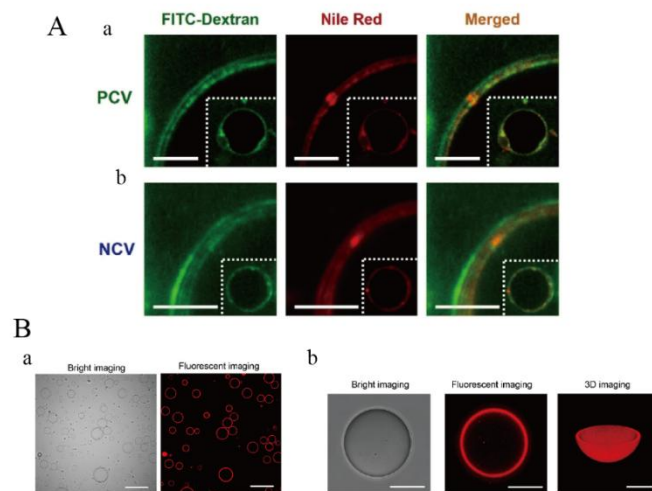


图 5 凝聚型人工细胞构建示意图。(A)海藻酸钠和阳离子丝素蛋白凝聚囊泡的膜结构。用 FITC-葡聚糖(绿色荧光，亲水)和尼罗红(红色荧光，疏水)染色的高倍激光扫描电子显微镜图像显示，正电凝聚囊泡

(a, Positively Charged Vesicles ,PCV)和负电凝聚囊泡 (b, Negatively Charged Vesicles, NCV)外膜的局部区域显示了两组亲水和疏水双纳米层的交替排列^[54]。经许可转载自参考文献 54。版权所有 2022 John Wiley and Sons Inc. (B)含膜凝聚液滴的构建。(a)加入 1,2-二棕榈酰-n-甘油-3-磷脂胆碱 (1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine, DPPC)(5.0wt%)后的 DNA/二乙胺乙基右旋糖酐凝聚液滴的亮场(左)和相应的荧光显微镜图像(右),并用染料 Dil 染色,显示连续的磷脂外膜(红色荧光)。(b)单个凝聚液滴的亮场(左)和相应的 2D(中)和重建的 3D (右) 荧光共聚焦显微镜图像^[55]。经许可转载自参考文献 55。版权所有 2021 American Chemical Society。

Fig 5 Schematic diagram of the construction of condensed artificial cells. (A) sodium alginate and cationic silk fibroin membrane structure of vacuoles. With FITC - glucan (green fluorescence, hydrophilic) and Nile red dye (red fluorescence, hydrophobic) high power laser scanning electron microscope (sem) images showed that positive condensed vesicles (a, Positively Charged Vesicles, PCV) and negatively charged condensing vesicles (b, Negatively Charged Vesicles, NCV) local area shows the two groups in the outer membrane hydrophilic and hydrophobic nano layer arranged alternately^[54]. Reproduced with permission from ref 54. Copyright 2022 John Wiley and Sons Inc. (B) Construction of membrane-containing condensates droplets. (a) Bright field (left) and corresponding fluorescence microscopy image (right) of a DNA/ diethylamino-dextran condensates droplet after addition of 1, 2-dipalmitoyl-N-glycerol-3-phosphatidylcholine (1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine, DPPC)(5.0wt%) and stained with the dye Dil, showing a continuous phospholipid outer membrane (red fluorescence). (b) Bright-field (left) and corresponding 2D(middle) and reconstructed 3D (right) fluorescence confocal microscopy images of a single condensate droplet^[55]. Reproduced with permission from ref 55. Copyright 2021 American Chemical Society.

2.3 基于聚合物形成的人工细胞

聚合体是人工细胞和药物载体体系中的最新成员,与磷脂囊泡相比,高分子量聚合物单元使他们具有更强的机械性和化学结构的稳定性^[56]。聚合体可以通过多种膜化学方法制备,并通过在嵌段共聚物双层中引入孔隙率来实现半渗透^[57-58]。聚合体由两亲二嵌段(亲水-疏水)或三嵌段(亲水-疏水-亲水)共聚物构建块组成的囊泡。可以通过将功能配体连接到预制囊泡上,端基功能化嵌段共聚物的自组装和使用具有生物功能亲水性嵌段的聚合物使聚合体功能化^[59],形成具有可调渗透性的膜,以响应外部刺激,如 pH、

温度、离子强度和电场等。Gonçalves^[60]等人通过将酶原位包裹在水核二氧化硅纳米胶囊中合成了一种人工合成的纳米细胞器。该纳米细胞器可以模拟真核细胞中的分层分隔进行级联反应（图 6A）。细胞膜独特的通透性对于维持细胞内稳态，适应微环境变化具有重要意义。细胞内 pH 振荡有助于离子转运、内吞、增殖、凋亡。Liu^[61]等人报道了含有席夫碱部分的 pH 响应性聚合物通过酶催化产酸在双层膜内同时交联和渗透。双层膜的渗透选择性使单次输入葡萄糖的囊泡内 pH 振荡成为可能，由 pH 梯度调节来实现聚合体的通透性，从而使聚合体能够像天然生物细胞一样控制微囊有效载荷的释放（图 6B）。

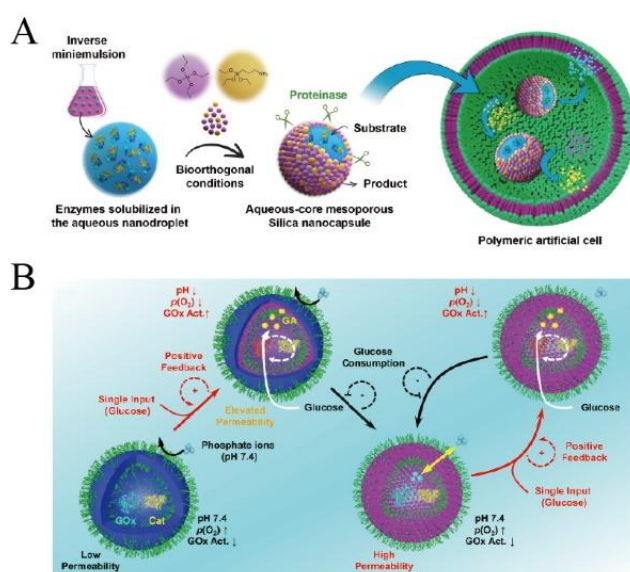


图 6 聚合体模型。(A)反相细乳液中界面受限的二氧化硅共缩合过程示意图^[60]。经许可转载自参考文献 60。版权所有 2023 WILEY-VCH。(B)通过正负反馈环的耦合，模拟瞬时的细胞内酸化，局部 pH 的自我调节内振荡^[61]。经许可转载自参考文献 61。版权所有 2022 Nature Publishing Group。

Fig 6 The polymer model. (A) reverse miniemulsion were limited interface of silica in the condensation process diagram^[60]. Reproduced with permission from ref 60. Copyright 2023 WILEY VCH. (B) through the coupling of positive and negative feedback loop, simulation of the transient intracellular acidification, local pH oscillation in self-regulation^[61]. Reproduced with permission from ref 61. Copyright 2022 Nature Publishing Group.

3. 人工细胞的特性

合成人工细胞对于研究天然生物细胞内结构和复杂生化反应具有重要意义，人工细胞作为天然生物细胞的模拟物，具有与天然生物细胞相似的生物学功能，如生长、新陈代谢、蛋白质和基因的表达、细胞生长、(生物)化学级联反应和细胞间通讯，这些功能是通过在

人工细胞系统中包裹生物活性物质来实现的。

3.1 代谢通路 & 信号网络

人工细胞被广泛作为研究细胞结构、功能和生命起源的最佳模型。它们具有部分细胞功能，包括区隔化、生长和分裂、适应和代谢^[62]。天然生物细胞的新陈代谢和生长所必需的氨基酸、核苷酸、糖类等物质需要细胞不断地从外界环境中获取。其中物质跨细胞膜运输是细胞代谢的一个主要过程。

大多数大分子化合物不容易穿透磷脂囊泡的磷脂双分子层，这是磷脂囊泡作为人工细胞的缺点，而人工细胞的渗透率在跨膜运输能力中具有重要作用。在由纯脂肪酸或磷脂膜制成的人工细胞很难同时实现膜稳定性和对极性溶质的渗透性。脂肪酸膜具有相对较高的通透性，但脂肪酸不像磷脂那样能够获得维持代谢所需的离子和代谢物梯度。Lin^[63]等人合成了一种由脂肪酸/磷脂共同组成的人工细胞，该系统可以同时满足膜稳定性和溶质通透性的需要。结果表明脂肪酸-磷脂系统可以更好地保留被封装的聚合物，允许溶质进入，并保留膜两亲体的能力（图 7A）。然而膜不透性物质的跨膜运输是通过胞吞作用和胞吐作用实现的，其中涉及到膜融合。一般细胞外囊泡 (Extracellular Vesicles, EVs) 将生物分子（如脂类、蛋白质、核酸和代谢物）从宿主细胞包裹并运输到受体细胞，介导膜不透分子的跨膜运输，从而建立细胞间通讯网络。由于其良好的跨膜转运效率，已制备出直径为 40-1000 nm 的 EVs 作为药物载体^[64]。Zhao^[65]等人将分子通过 LUVs 和带相反电荷的 GUVs 之间的膜融合将 LUVs 的物质转运到 GUVs 中。结果表明了可以通过不同体积磷脂囊泡之间的融合实现人工细胞内物质的输送，为研究复杂的细胞代谢奠定了重要的基础（图 7B）。

天然生物细胞利用信号交换信息并感知其环境，同时细胞间通讯对于协调多细胞群落中单个细胞的行为至关重要。为了了解细胞如何通过细胞间通讯协调其行为，在合成生物学领域内已经进行了现有的或全新的合成通讯网络工程。Buddingh^[66]等人构建了两个磷脂囊泡人工细胞群体之间的通信途径，证明了信号放大对分泌化学物质有效信号传导的重要性（图 7C）。两个磷脂囊泡通过与天然生物细胞类似的将弱信号转化为强响应信号的信号放大步骤，这种设计不仅促进了相互关联的人工细胞群的发展，还可以通过交换代谢和位置信息以协调其更高级别的组织。在细胞-细胞间信号通路中膜-蛋白之间的相互作用具有重要意义。通过对天然生物细胞信号转导的深入了解，一些基于天然蛋白质^[67]、多肽^[68]和其他与 DNA 折纸^[69]或人工细胞^[70-72]（如磷脂囊泡、蛋白酶体和凝聚体）结合的大分子构建信号转导的人工模型被设计出来。Yang^[73]等人构建了一个基于 DNA 的模拟细胞间通信的人工信号转导系统，通过激活固定在巨型囊泡 (Giant Membrane Vesicles, GMVs) 上的合成

跨膜通道来控制外部离子的流入，以类似于天然膜蛋白的作用调节细胞间的信号传递和调节膜功能，从而模拟了天然生物细胞之间的通讯（图 7D）。

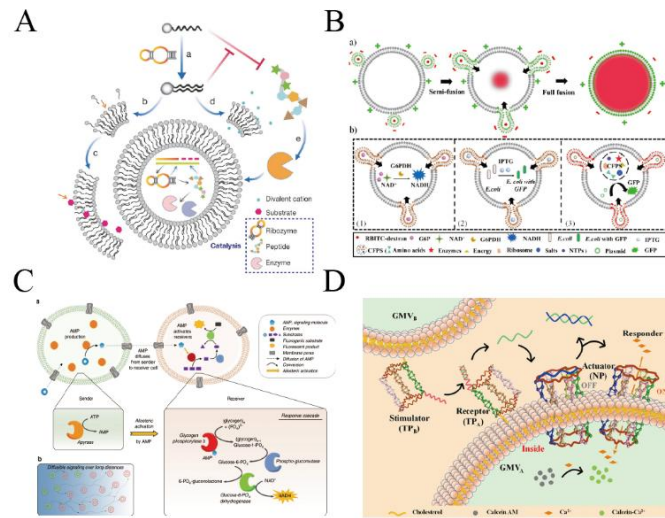


图 7 作为代谢通路与信号网络的人造细胞示意图。(A)脂类和催化协同进化方案。(a)通过核酶催化脂肪酸合成磷脂。(b)磷脂的存在促进了混合膜的竞争性生长。(c)混合膜中的脂肪酸增加了对小代谢构件的通透性。(d)混合膜中的磷脂增加了对二价阳离子和(e)基于蛋白质的酶的稳定性的^[63]。经许可转载自参考文献 63。版权所有 2018 WILEY VCH。(B)囊泡融合分子跨膜运输示意图。(a)罗丹明 B 异硫氰酸酯-葡聚糖跨膜转运的示意图，该跨膜转运是通过葡萄糖苷和葡萄糖胺之间的融合介导的。(b)基于融合及其在人造细胞内的下游代谢模拟的跨膜分子运输示意图^[65]。经许可转载自参考文献 65。版权所有 2020 American Chemical Society。(C)两个人工细胞间信号放大通讯通路的设计。(a)在人工细胞群中，由发送者产生的信号分子扩散到接收者中，在那里信号分子被感知、处理并产生内部反应。(b)接收者人工细胞群体中的信号放大允许远距离通信^[66]。许可转载自参考文献 66。版权所有 2020 Nature Publishing Group。(D)基于 GMVs 设计与构建的人工信号转导系统。人工细胞群(GMV_B)的膜蛋白样刺激物刺激另一个人工细胞群(GMV_A)上的受体释放单链 DNA 信使，激活合成的跨膜通道导致离子内流，从而触发 GMV_A 中的信号反应^[73]。经许可转载自参考文献 73。版权所有 2021 American Chemical Society。

Fig 7 Schematic representation of an artificial cell as a metabolic pathway and signaling network. (A) Lipid and catalytic coevolution scheme. (a) by nuclear enzyme catalytic synthesis of phospholipid fatty acids. (b) the presence of phospholipids promoted the competitive growth of hybrid membranes. (c) Fatty acids in the mixed membrane increase the permeability to small metabolic building blocks. The phospholipids in (d) mixed membranes increase the stability against divalent cations and (e) proteinbased enzymes^[63].

Reproduced with permission from ref 63. Copyright 2018 WILEY VCH. (B) molecules across the membrane transport sketch vesicle fusion. "(a) Schematic representation of rhodamine B isothiocyanate-glucan transmembrane transport, which is mediated by fusion between glucosides and glucosamine." (b) Schematic representation of transmembrane molecular transport based on fusion and its downstream metabolism simulation in artificial cells^[65]. Reproduced with permission from ref 65. Copyright 2020 American Chemical Society. (C) signal amplifying communication pathway between two artificial cell design. (a) In an artificial cell population, signal molecules produced by the sender diffuse into the receiver, where they are sensed, processed, and an internal response is produced. (b) Signal amplification in the artificial cell population of the receiver allows long-distance communication^[66]. Reproduced with permission from ref 66. Copyright 2020 Nature Publishing Group. (D) An artificial signal transduction system based on GMVs. Artificial cells (GMVB) membrane protein sample irritants stimulate another artificial receptors on cells (GMVA) release the single-strand DNA messenger, activate the synthesis of internal flow across the membrane channel cause ions, triggering GMVA signal in the reaction^[73]. Reproduced with permission from ref 73. Copyright 2021 American Chemical Society.

3.2 蛋白质和基因表达

人工细胞实现特定功能的一个关键机制是表达来自基因的蛋白质。为了开发能够进行整个转录和翻译过程的囊泡容器，需要在人工细胞中进行复杂的生化反应。人工细胞内部和外部环境之间的选择性物质交换，取决于人工细胞膜的性质。脂质材料通常用于组装这种具有良好膜通透性的人工细胞，磷脂囊泡双层膜外壳可以促进封装的生物分子和磷脂膜之间的分子相互作用^[74]，以建立蛋白质网络^[75]从而体现其细胞功能，这在其他区室工具中可能无法实现。Hui^[76]等人在生理密度下，磷脂囊泡锚定的淋巴细胞特异性蛋白酪氨酸激酶（Lymphocyte-Specific Protein-Tyrosine Kinase, Lck）和分化簇3（Cluster Of Differentiation, CD3 ζ ）的磷酸化速度比溶液中快数百倍，并且磷酸化速度与蛋白质密度呈正相关（图8A）。通过重新构建T细胞受体（T Cell Receptor, TCR）的近端信号网络，将纯化的酶添加到磷脂囊泡中，在双层膜中重建了适合这些酶相互作用的化学环境。虽然人工细胞可以包裹能量和营养物质，但是由于人工细胞的运动会消耗能量和营养物质，所以构建能够长期表达蛋白质的人工细胞向研究人员发起了挑战。Lai^[77]等人构建了一种可以长期表达和调节蛋白质的新型人工细胞，通过将抗多聚组氨酸标签（Histidine-Tag, His-tag）适配体

接枝到水凝胶颗粒的聚合物骨架上，然后将 His-tag 标记的转录和翻译系统的蛋白因子固定在水凝胶颗粒中（图 8B）。该人工细胞的构建使水凝胶基人工细胞有望成为无细胞合成生物学研究和生物传感器、基因传递等方面应用更具有生物相容性的研究工具。此外，Xu^[78]等人利用活体材料，通过自下而上内源构建具有多功能仿细胞特性的膜结合、分子拥挤的人工细胞。通过两个空间分离的细菌菌落(大肠杆菌和铜绿假单胞菌)的共同捕获和现场处理，捕获的细菌的原位裂解自发产生包裹着广泛的功能生物成分的脂膜包裹的原始细胞。该人工细胞证明了细菌原细胞能够进行复杂的加工，比如通过原代谢活动(糖酵解)内源性产生 ATP (Adenosine Triphosphate ,ATP)，并继承了足够的细菌基因表达机制来实现体外转录和翻译。

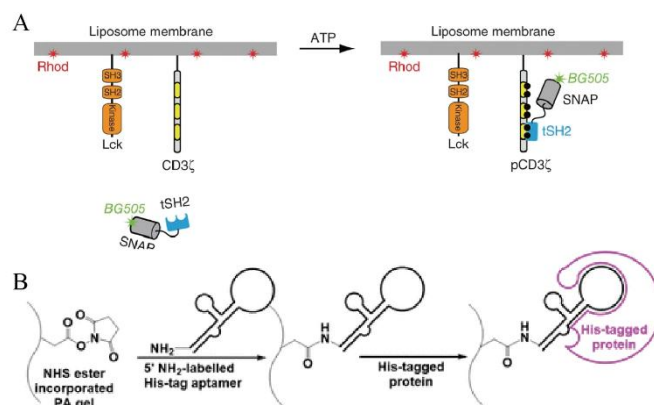


图 8 作为蛋白质和基因表达的人工细胞示意图。(A)描绘了动态的基于荧光共振能量转移的检测方法，用于监测磷脂囊泡上 CD3 ζ 的磷酸化^[76]。经许可转载自参考文献 76。版权所有 2014 Nature Publishing Group。(B)抗 His-tag 适配子接枝聚丙烯酰胺水凝胶的合成原理图^[77]。经许可转载自参考文献 77。版权所有 2020 American Chemical Society。

Fig 8 Sketch as protein and gene expression of human cells. (A) describes the dynamic detection method based on fluorescence resonance energy transfer, used to monitor the phospholipid vesicles on CD3 zeta phosphorylation^[76]. Reproduced with permission from ref 76. Copyright 2014 Nature Publishing Group. (B) Schematic of the synthesis of anti-His-Tag aptamer grafted polyacrylamide hydrogel^[77]. Reproduced with permission from ref 77.

Copyright 2020 American Chemical Society.

3.3 生长、形态改变和分裂

研究人员试图在人工细胞中模拟天然生物细胞的生长、形状变化和分裂能力的过程，从而能够进一步了解基本生命过程及其调控的知识。细胞的生长也是自我复制过程，其中

包括膜复制发生时自我边界层复制和细胞内容物的复制，比如基因组复制^[79]。操纵生长、分裂和形态可能会显著扩大人工细胞在细胞和合成生物学中作为细胞模型系统的用途。

边界层的复制是将人工细胞定义为生命实体一个关键方面。形成不断增长的边界层的一种方法是对其构件进行从头合成，然后再进行自组装。以前的从头合成膜的尝试主要是基于脂肪酸，因为它们能够自发地组装成胶束^[80-81]。但基于脂肪酸的膜本质上是不稳定的，并且不包括足够大的管腔。相比之下，生物膜由较为复杂的分子组成，其中磷脂是主要成分。虽然通过组装和化学合成类磷脂结构来形成囊泡已经取得了一些成功，但大多数研究集中在向预先存在的膜上添加组分^[82-83]，其中磷脂囊泡由于其与细胞膜的结构相似而被认为是最合适的模型。但是与天然生物细胞膜不同的是，由于无法补充合成磷脂的催化剂，这些仿生系统无法维持生长。Eto^[84]等人建立了一个独特的人工细胞系统，来产生磷脂，通过结合脂肪酸合成和无细胞基因表达系统来合成酰基转移酶，合成的脂肪酸通过无细胞合成的酰基转移酶依次转化为磷脂酸。作者又在 GUV 内进行磷脂合成构建了一个自生长人工细胞的平台（图 9A）。

虽然人工细胞模拟天然生物细胞的分裂面临很多困难，但许多研究已经报道了人工细胞分裂的基本方法(比如裂变或萌发)。磷脂囊泡作为自组装的人工细胞，具有与细胞膜相似的磷脂双层边界，操纵它们的物理特性，如生长和分裂，可以显著扩大它们在细胞和合成生物学中作为模型系统的用途。但是通过外部机械剪切^[84]、膜生长或相分离^[85]导致人工细胞分裂的方法存在缺乏控制、效率低下等问题，并且在体积或脂质组成方面产生不对称分裂。Deshpande^[86]等人提出了一种基于微流体的策略来实现细胞大小(约为 6 μm)磷脂囊泡的机械分裂。该微流体分裂技术提供了一种简单的方法来实现细胞大小的磷脂囊泡的对称、高效、快速和无蛋白分裂，以实现磷脂囊泡的快速生产，对于建立人工细胞生长-分裂周期具有重要意义（图 9B）。

天然生物细胞通过动态的细胞骨架系统使磷脂膜变形，从而获得与其生物功能密切相关的形状。细胞的形状变化和运动是由微管和肌动蛋白丝系统驱动的^[87]。然而，细胞并不仅仅是为了响应细胞外信号而重组它们的形状，而是为了将先前的感官体验整合到其响应中，以便在分化过程中形成不同的形状^[88]。Gavriljuk^[89]等人在 GUV 内重组了动态微管，并建立了一个光响应信号系统，以合成形态发生膜系统。该膜系统模拟形态原信号转导到细胞内的细胞骨架，以获取形态因子引导细胞形态发生的基本原理。膜系统的形成标志着人工细胞朝着自组织细胞形态发生的生物启发工程迈出了一步。

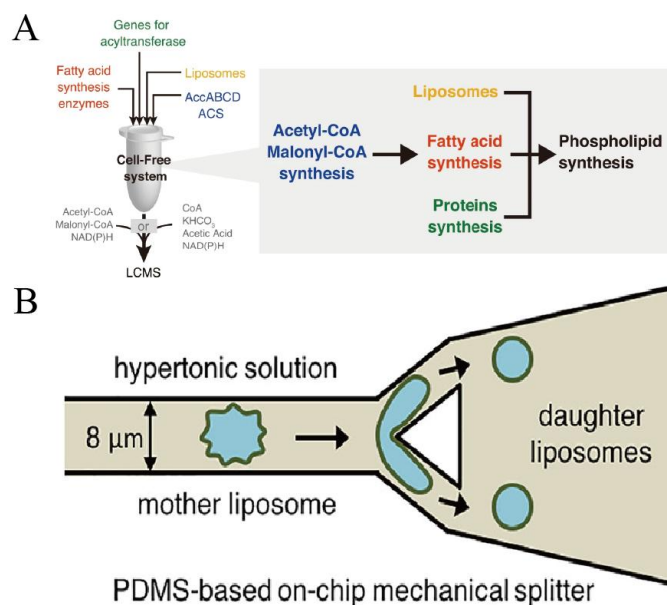


图 9 (A) 无细胞脂质合成系统的示意图概述^[84]。经许可转载自参考文献 84。版权所有 2022 Nature Publishing Group。(B) 磷脂囊泡的机械分离示意图^[86]。经许可转载自参考文献 86。版权所有 2018 American Chemical Society。

Fig 9 (A) Schematic overview of the cell-free lipid synthesis system.^[84] Reproduced with permission from ref 84. Copyright 2022 Nature Publishing Group. (B) Schematic of the mechanical separation of phospholipid vesicles^[86]. Reproduced with permission from ref 86. Copyright 2018 American Chemical Society.

4. 人工细胞的应用

人工细胞作为天然生物细胞模拟物，具有良好的生物相容性和天然材料构建的骨架，旨在代替活细胞实现其特定功能。人工细胞可以发挥天然生物细胞的部分功能，如细胞内的基因和蛋白质表达，细胞间信息交流，细胞与外界环境的物质交换等。此外人工细胞也可以应用在基因治疗、药物靶向递送系统、功能受损细胞替代品等生物学方面。

4.1 信号转导和生化反应容器

具有区域化的隔室结构人工细胞的快速发展为模拟天然生物细胞内复杂的生化反应提供了机会，近几年一些简单的级联反应和细胞内通讯已经在人工细胞中逐步实现^[90]。为了维持生物组织的动态平衡，细胞通过接收、传递分子信号，并根据信号通路做出相应的反应，从而实现细胞与外界环境进行物质交换和信息交流。Peng^[91]等人使用来自活细胞的巨大囊泡的受限微环境设计了一个基于 DNA 的人工分子信号系统。通过在仿生囊泡中封装了一个信号网络，以达到人工细胞与外界环境实现分子信号的接收、转导和响应（图 10A）。

细胞膜在专门的微环境之间提供物理边界，人工磷脂囊泡是研究真核细胞膜功能和区隔化的一种通用工具，其中多层囊泡由于具有多隔室和缓慢释放特性，已被用于开发多药物给药系统，并广泛用作研究细胞区隔化的平台和人工细胞模型的支架。Nuti^[92]等人使用微流控平台来生成多层液滴系统，展示了该多层液滴系统具有进行酶级联反应的生化反应潜力（图 10B）。

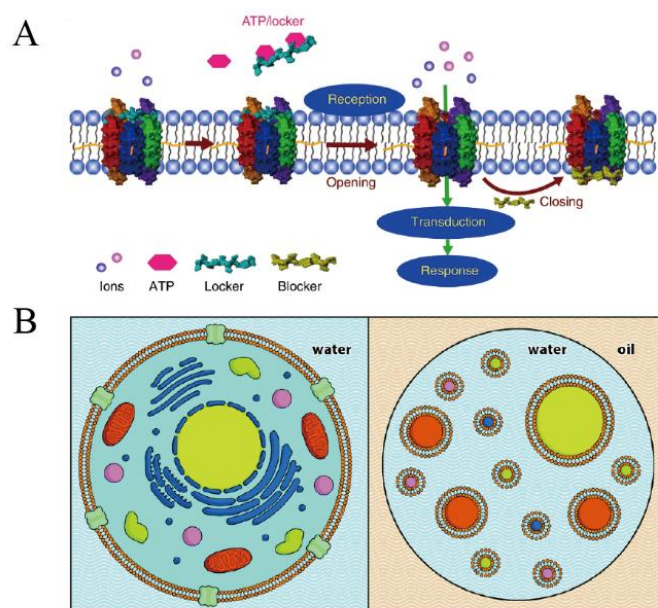


图 10 人工细胞作为信号转导和生化反应容器示意图。(A)构建人工分子信号系统的仿生囊泡^[91]。经许可转载自参考文献 91。版权所有 2020 Nature Publishing Group。(B)多层液滴(右)的示意图，旁边是真核细胞(左)。基于液滴的微流体技术用于将单层脂质囊泡封装在水滴内，产生分层细胞样结构^[92]。经许可转载自参考文献 92。版权所有 2017 The Royal Society of Chemistry。

Fig 10 Schematic representation of artificial cells as vessels for signal transduction and biochemical reactions. (A) build biomimetic vesicles of artificial molecular signaling system^[91]. Reproduced with permission from ref 91. Copyright 2020 Nature Publishing Group. (B) multilayer droplets (right) diagram, is next to eukaryotic cells (left). Based on droplet microfluidics technology is used to single lipid vesicles encapsulated within the water droplets, hierarchical cell structure^[92]. Reproduced with permission from ref 92. Copyright 2017 The Royal Society of Chemistry.

4.2 药物输送系统

可用于构建具有药物传递功能的人工细胞的材料有很多种，如可生物降解的聚合物和磷脂，其中磷脂形成的人工细胞被研究人员广泛应用于给药系统。磷脂囊泡是医学应用中

最常见的纳米级载体，其治疗功能与其脂质组成密切相关，因为它们的功能和治疗效果与构成磷脂囊泡的脂质所赋予的物理化学性质直接相关。纳米医学在吞噬免疫细胞的治疗操作方面具有巨大的潜力，为了增加载药纳米粒与其靶组织和细胞之间的相互作用，传统上纳米药物的设计是将其在单核吞噬细胞系统中的广泛清除降至最低。然而，体外研究往往不能准确地转化为复杂的体内环境，为了解决这一差距，Giambelluca^[93]等人通过改变了磷脂囊泡的大小、聚乙二醇表面密度以及鞘磷脂和神经节苷脂的含量并通过离体人全血测定来评估磷脂囊泡与免疫细胞的相互作用。结果表明磷脂囊泡设计的重要性，并为调节免疫反应的磷脂囊泡设计提供了见解（图 11A）。金属离子-单宁酸材料是一种新型的有机-无机杂化材料，它将治疗性铁和多种治疗机制整合到一个纳米平台上，在治疗性纳米药物的制造中显示出巨大的前景。Qiao^[94]等人将原卟啉 IX 包封的金属离子单宁酸与癌细胞膜碎片包裹在一起，制成靶向同源肿瘤组织的人工细胞。通过来源于天然癌细胞膜的包裹，基于细胞膜的纳米药物作为纳米靶向人工细胞，避免了低 pH 肿瘤微环境中内部物质的降解，同时该人工细胞联合光热疗法和光动力疗法，显示出明显高于光热疗法或光动力疗法单独的杀瘤效率（图 11B）。

4.3 类天然生物细胞功能

生物系统的复杂性和脆弱性使研究人员把增强天然生物细胞的功能的焦点转移到开发能模拟天然生物细胞基本功能的人工细胞上。重建细胞的关键功能红细胞由于缺乏细胞核和大多数细胞内细胞器，具有相对简单的生物学复杂性。对于仿生和重建天然生物细胞功能的人工细胞来说红细胞有着独特的潜在仿生学焦点。Guo^[95]等人基于二氧化硅细胞生物复制方法，提出了一个用于构建多功能人工红细胞模块化的设计概念，以构建出能充分模仿天然红细胞的人工红细胞。该人工细胞模仿天然红细胞的广泛特性，并具有长循环时间所需要的变形性和天然细胞膜表面（图 12A）。人工细胞还可以模仿血小板的凝血特性，Hu^[96]等人合成了一种聚合物人工细胞，其外层来源于天然血小板膜。血小板膜包裹的纳米颗粒减少了巨噬细胞样细胞的细胞摄取，并与受损血管系统和血小板粘附病原体结合。Anselmo^[97]等人建立了具有血小板柔性、中空和圆盘状属性的人工细胞。介导了冯·维勒布兰德(von Willebrand)因子和胶原黏附的配体的异多价呈现，以及对激活的血小板的特定聚集。在体外生理流动条件下，与球形和刚性盘状人工细胞相比，类血小板人工细胞表现出更强的表面结合力、定点选择性的粘附性和血小板聚集性，有效地模拟和优化了天然血小

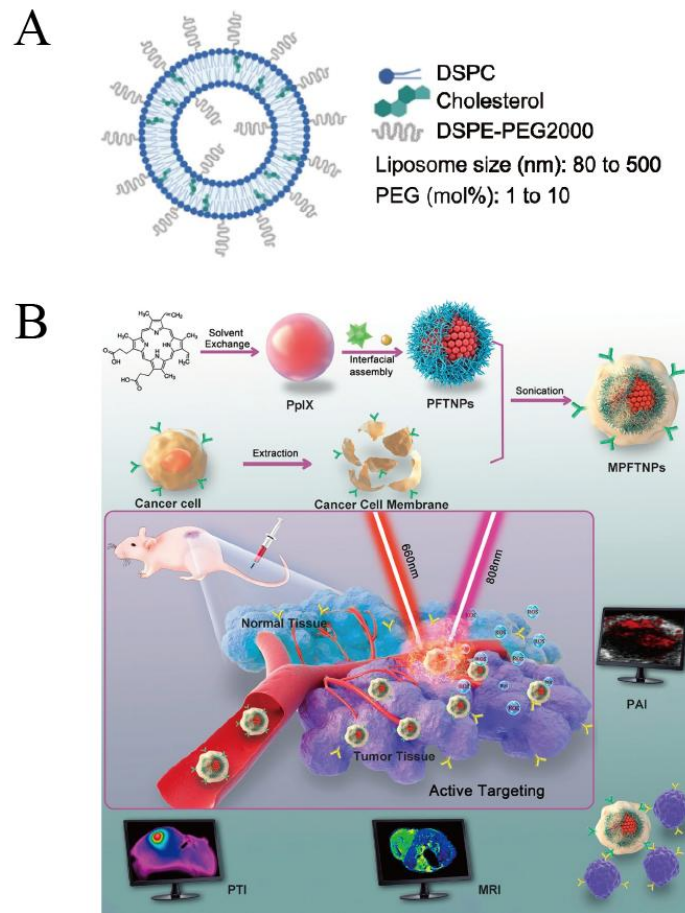


图 11 人工细胞作为给药系统示意图。(A)磷脂囊泡文库示意图^[93]。经许可转载自参考文献 93。版权所有 2023 ELSEVIER INC。(B)癌细胞膜装饰的原卟啉 IX 包封的金属离子单宁酸的合成及光热疗法/光动力疗法联合抗肿瘤作用示意图^[94]。经许可转载自参考文献 94。版权所有 2020 American Chemical Society。

Fig 11 Schematic representation of an artificial cell as a drug delivery system. (A) phospholipid vesicles library^[93]. Reproduced with permission from ref 93. Copyright 2023 ELSEVIER INC.

(B) Schematic Illustration of the Synthesis of protoporphyrin IX -encapsulated FeIIITA NPs followed by decoration with cracked cancer cell membranes and the Combined Effects of PTT/PDT against Tumors^[94]. Reproduced with permission from ref 94. Copyright 2020 American Chemical Society.

板的止血功能（图 12B）。作为替代使用天然生物细胞的治疗目的，各种仿生组件已被提出^[98]。在合成治疗人工细胞的设计中，一关键的挑战是模仿天然细胞的高阶功能，这些功能可以精确地感知外部环境，做出内部决定并触发反馈^[99]。Chen^[100]等人通过使用合成材料模拟葡萄糖反应性胰岛素分泌来生成人工β细胞，该细胞具有多室的“囊泡中囊泡”上层结

构，并具有葡萄糖代谢系统和膜融合结构。该人工 β 细胞，它囊括了 β 细胞的一些关键功能，包括感知血糖水平、内部转导信号和通过囊泡融合动态分泌胰岛素，从而进一步证明了利用人工细胞将血糖浓度控制到接近正常范围内的水平是可行的（图 12C）。

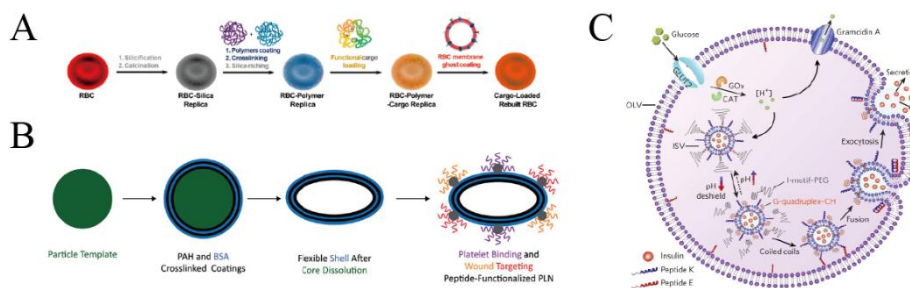


图 12 (A)人工红细胞的设计和构造示意图及其产生的特性^[95]。经许可转载自参考文献 95。版权所有 2020 American Chemical Society。(B)血小板样纳米颗粒(PLNs)的逐层合成^[97]。经许可转载自参考文献 97。版权所有 2015 American Chemical Society。(C)人工 β 细胞内部的生化过程示意图^[100]。经许可转载自参考文献 100。版权所有 2018 Nature Research。

Fig 12 Schematic diagram of the design and construction of artificial red blood cells and their resulting properties^[95]. Reproduced with permission from ref 95. Copyright 2020 American Chemical Society. (B) Synthesis of platelet-like nanoparticles by layer-by-layer synthesis^[97]. Reproduced with permission from ref 97. Copyright 2015 American Chemical Society. (C) Schematic of the biochemical processes inside the artificial beta cells^[100].

Reproduced with permission from ref 100. Copyright 2018 Nature Research.

4.4 酶与基因治疗

人工细胞的内酶和药物的包封、物质跨膜运输和靶向治疗能力使人工细胞在生物医药领域的具有广泛的应用。研究人员在人工细胞模拟天然生物细胞功能方面的研究，如细胞内级联反应、基因和蛋白质表达及细胞间通讯等，促进了人工细胞在医学领域的发展。开发具有生物相容性，同时能够与天然生物细胞建立同源化学通信通道且具有治疗性人工细胞是合成生物学和生物工程的重要挑战。Liu^[101]等人构建一种新的基于生物来源的凝聚囊泡的人工细胞模型，使用隔离的酶介导空间偶联级联反应，向人工细胞介导的一氧化氮诱导的血管舒张迈出了一步，同时该模型还具有高血液相容性和增加血液循环时间（图 13A）。基因治疗高效和选择性强且不良反应少的特点使其成为一种治疗癌症很有前途的方法，开发具有生物相容性和肿瘤细胞靶向性的人工细胞是基因治疗面临的挑战。Zhao^[102]等利用癌细胞衍生的组蛋白和膜制备人工细胞，模拟癌细胞的基因保护和转染功能。该人工细胞具

有类似癌细胞的免疫逃逸和同源靶向能力，在体外和体内均表现出较高的生物相容性和基因转染能力，是一种很有前景的肿瘤基因治疗工具（图 13B）。

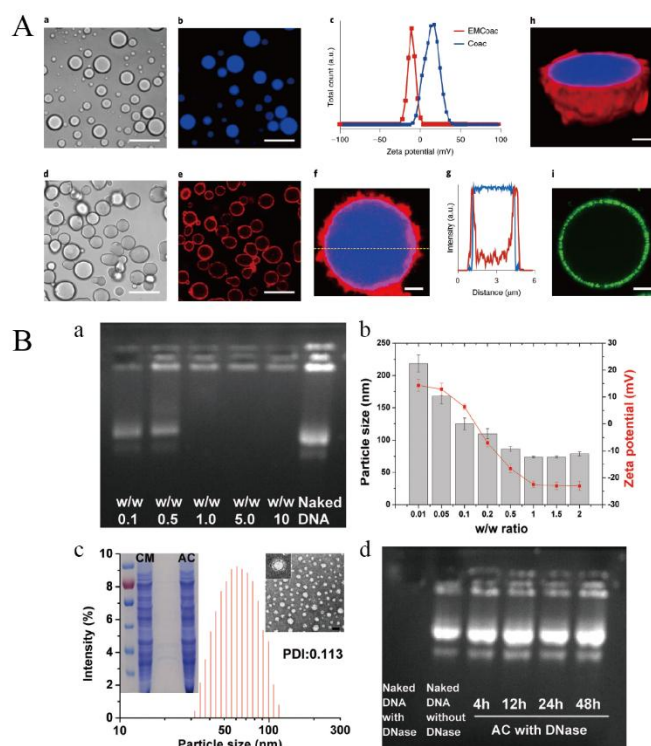


图 13 用于酶和基因治疗的人工细胞示意图。(A)红细胞膜包裹凝聚体人工细胞细胞的构建与鉴定^[101]。经许可转载自参考文献 101。版权所有 2020 Nature Research。(B)利用癌细胞衍生的组蛋白和膜制备人工细胞的制备和表征^[102]。经许可转载自参考文献 102。版权所有 2020 RSC Pub。

Fig 13 Artificial cell diagram for enzyme and gene therapy. (A) Construction and identification of artificial cells of erythrocyte membrane-encapsulated condensates^[101].

Reproduced with permission from ref 101. Copyright 2020 Nature Research. (B) Preparation and characterization of artificial cells using cancer cell-derived histones and membranes^[102]. Reproduced with permission from ref 102. Copyright 2020 RSC Pub.

4.5 作为细胞工厂

细胞生物工程的发展使研究人员向更具挑战性的方向深入，即通过生物化学手段自下而上地在人工细胞中重建生物结构和过程。通过将感兴趣的蛋白质与任何不想要的蛋白质或细胞相互作用分离，以形成具有某种特定蛋白质的人工细胞^[103]。当人工细胞中具有完整信号通路所需的蛋白质时，基于分子细胞和化学、生物学和物理学的见解，研究人员可以操纵人工细胞模拟天然生物细胞系统活动^[104]，为找到部分解决生命起源之谜的方法提供了途径。人工细胞作为细胞工厂的核心是内部能量的可持续性。自我维持的能量系统是功能

化人工细胞的标志，这是人工细胞发展领域的研究人员正在努力尝试的细胞类型^[105]。三磷酸腺苷是几乎所有生命形式中驱动细胞内生化反应最重要的直接能量来源。在人工细胞中建立更复杂的反应需要 ATP，因此一些研究将 ATP 添加到人工细胞中^[106]。Zheng^[107]等人构建了一种高效的细胞内光驱动生命支持系统，通过将菠菜类囊体片段与磷脂胆碱和胆固醇重组，合成类似蛋白脂质体的结构。在红光照射下，光驱动生命支持系统可使不同细胞系的细胞内 ATP 浓度提高 1.38-2.45 倍。该光能人工细胞器使针对细胞内能量供应的光学疗法的发展成为可能（图 14A）。Miller 等人^[108]构建了一个连接自然和合成生物界的人工光合作用系统，通过使用微流控技术将光合膜包裹在细胞大小的液滴中并进行操作来模拟叶绿体的方法。这些液滴样的人工细胞可以通过光来驱动酶或酶的级联反应，并对其催化特性进行多路实时分析（图 14B）。

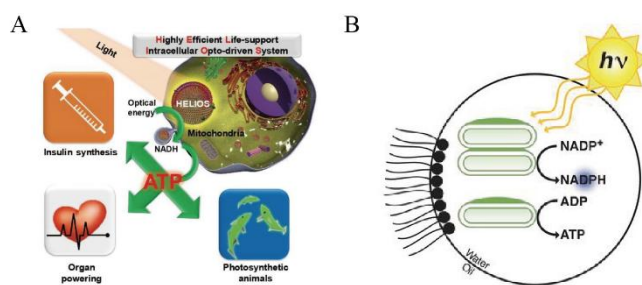


图 14 人工细胞作为细胞工厂示意图。(A)描述了高效生命支持细胞内光驱动系统，从植物光系统的分离和组装成纳米粒子，通过将光能转化为化学能(ATP)来为细胞供电^[107]。经许可转载自参考文献 107。版权所有 2018 WILEY VCH。(B)微滴样人工细胞中功能性基于类囊体膜的能量模块的封装及光驱动酶反应耦合^[108]。经许可转载自参考文献 108。版权所有 2020 AAAS。

Fig 14 (A) Depiction of highly efficient life-support intracellular opto-driven system, proceeding from the isolation of plant photosystem and assembly into nanoparticle, through conversion of optical energy to chemical energy (ATP) to powering cells^[107]. Reproduced with permission from ref 107. Copyright 2018 WILEY VCH. (B) Encapsulation of a functional thylakoid membrane-based energy module in microdroplets and light-driven enzymatic reaction coupled to TEM in microdroplets^[108]. Reproduced with permission from ref 108. Copyright 2020 AAAS.

5. 总结和展望

在过去的几十年中，人工细胞的构建是一个迅速崛起的领域，自下而上构建人工细胞的合成生物学方法成功地重现了生命系统中发生的各种现象。通过自下而上的方法构建具

有天然生物细胞样的结构并显示出天然生物细胞的一些关键特征的人工细胞是研究人员研究的焦点。人工细胞通过结合天然生物细胞的特性获得具有特定功能的类天然细胞使得具有特定应用的人工细胞为生物技术的发展提供了前所未有的机会，因为它们使研究人员能够结合生物系统的特性，如纳米级效率、自组织和治疗/诊断应用的适应性。

利用磷脂和聚合物等材料通过自下而上的方法构建的人工细胞已被证明可以模拟天然生物细胞的一些功能，包括能量生成、物质跨膜运输、细胞对外部环境的感知等。人工细胞具有的类天然生物细胞功能使其在生物医药领域具有更广泛的应用，比如物质和信息交换载体、简单信号处理以及多种治疗用途，如药物输送、替代天然细胞、特定酶与基因的治疗等。然而，研究人员对于人工细胞的研究还局限于此，如何在人工细胞中实现天然生物细胞内复杂的生化反应，不同人工细胞群体间协同合作，人工细胞和外界环境的高效交流等仍是众多研究人员面临的挑战性问题。此外，构建具有完整天然生物细胞所有功能的人工细胞，自动催化细胞内的生化反应以此实现单个细胞、细胞与外界环境之间的简单相互作用也是研究人员亟待解决的问题。通过进一步的优化，这些人工细胞有望会服务于一些天然生物细胞的功能，并在生命科学研究中发挥重要作用。

参考文献

- [1] Wang X, Du H, Wang Z, et al. Versatile phospholipid assemblies for functional synthetic cells and artificial tissues[J]. *Advanced Materials*, 2021, 33(6): 2002635.
- [2] Roodbeen R, Van Hest J C M. Synthetic cells and organelles: compartmentalization strategies[J]. *BioEssays*, 2009, 31(12): 1299-1308.
- [3] Xu C, Hu S, Chen X. Artificial cells: from basic science to applications[J]. *Materials Today*, 2016, 19(9): 516-532.
- [4] Pohorille A, Deamer D. Artificial cells: prospects for biotechnology[J]. *Trends in biotechnology*, 2002, 20(3): 123-128.
- [5] Ding Y, Wu F, Tan C. Synthetic biology: A bridge between artificial and natural cells[J]. *Life*, 2014, 4(4): 1092-1116.
- [6] Tian L, Li M, Patil A J, et al. Artificial morphogen-mediated differentiation in synthetic protocells[J]. *Nature communications*, 2019, 10(1): 3321.
- [7] Yoo J W, Irvine D J, Discher D E, et al. Bio-inspired, bioengineered and biomimetic drug delivery carriers[J]. *Nature reviews Drug discovery*, 2011, 10(7): 521-535.
- [8] Luisi P L, Walde P, Oberholzer T. Lipid vesicles as possible intermediates in the origin of life[J]. *Current opinion in colloid & interface science*, 1999, 4(1): 33-39.
- [9] Hutchison III C A, Peterson S N, Gill S R, et al. Global transposon mutagenesis and a minimal *Mycoplasma* genome[J]. *Science*, 1999, 286(5447): 2165-2169.
- [10] Rasmussen S, Chen L, Nilsson M, et al. Bridging nonliving and living matter[J]. *Artificial life*, 2003, 9(3): 269-316.
- [11] Miller D M, Gulbis J M. Engineering protocells: prospects for self-assembly and nanoscale production-lines[J]. *Life*, 2015, 5(2): 1019-1053.
- [12] Mann S. Systems of creation: the emergence of life from nonliving matter[J]. *Accounts of chemical research*, 2012, 45(12): 2131-2141.
- [13] Ugrinic M, deMello A, Tang T Y D. Microfluidic tools for bottom-up synthetic cellularity[J]. *Chem*, 2019, 5(7): 1727-1742.
- [14] Kobayashi N. Artificial cells for the development of cell therapy[J]. *Cell Transplantation*, 2008, 17(1-2): 3-9.

-
- [15] Lu Y, Allegri G, Huskens J. Vesicle-based artificial cells: materials, construction methods and applications[J]. *Materials horizons*, 2022, 9(3): 892-907.
- [16] Hammer D A, Kamat N P. Towards an artificial cell[J]. *FEBS letters*, 2012, 586(18): 2882-2890.
- [17] Samad A, Sultana Y, Aqil M. Liposomal drug delivery systems: an update review[J]. *Current drug delivery*, 2007, 4(4): 297-305.
- [18] Ganta S, Devalapally H, Shahiwala A, et al. A review of stimuli-responsive nanocarriers for drug and gene delivery[J]. *Journal of controlled release*, 2008, 126(3): 187-204.
- [19] Sou K, Le D L, Sato H. Drug Delivery: Nanocapsules for Programmed Neurotransmitter Release: Toward Artificial Extracellular Synaptic Vesicles (Small 17/2019)[J]. *Small*, 2019, 15(17): 1970088.
- [20] Diltemiz S E, Tavafoghi M, De Barros N R, et al. Use of artificial cells as drug carriers[J]. *Materials Chemistry Frontiers*, 2021, 5(18): 6672-6692.
- [21] Pitard B, Richard P, Duñarach M, et al. ATP synthesis by the F₀F₁ ATP synthase from thermophilic *Bacillus PS3* reconstituted into liposomes with bacteriorhodopsin: 1. Factors defining the optimal reconstitution of ATP synthases with bacteriorhodopsin[J]. *European Journal of Biochemistry*, 1996, 235(3): 769-778.
- [22] Otrin L, Kleineberg C, Caire da Silva L, et al. Artificial organelles for energy regeneration[J]. *Advanced Biosystems*, 2019, 3(6): 1800323.
- [23] Kùchler A, Yoshimoto M, Luginbùhl S, et al. Enzymatic reactions in confined environments[J]. *Nature nanotechnology*, 2016, 11(5): 409-420.
- [24] Yoshimoto M. Stabilization of enzymes through encapsulation in liposomes[J]. *Enzyme Stabilization and Immobilization: Methods and Protocols*, 2017: 9-18.
- [25] Moon K, Hur J, Kim K P, et al. Surface-Functionalizable Plant-Derived Extracellular Vesicles for Targeted Drug Delivery Carrier Using Grapefruit[J]. *Advanced Materials Interfaces*, 2023, 10(22): 2300220.
- [26] Qian X, Westensee I N, Fernandes C C, et al. Enzyme mimic facilitated artificial cell to mammalian cell signal transfer[J]. *Angewandte Chemie*, 2021, 133(34): 18852-18859.
- [27] Seo H, Lee H. Spatiotemporal control of signal-driven enzymatic reaction in artificial cell-like polymersomes[J]. *Nature communications*, 2022, 13(1): 5179.

-
- [28] Albanese P, Mavelli F, Altamura E. Light energy transduction in liposome-based artificial cells[J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2023, 11: 1161730.
- [29] Deng N N, Yelleswarapu M, Huck W T S. Monodisperse uni-and multicompartment liposomes[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2016, 138(24): 7584-7591.
- [30] Zhang Y, Wang Z, Li M, et al. Osmotic-Induced Reconfiguration and Activation in Membranized Coacervate-Based Protocells[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2023, 145(18): 10396-10403.
- [31] Zhang Y, Wang Z, Li M, et al. Osmotic-Induced Reconfiguration and Activation in Membranized Coacervate-Based Protocells[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2023, 145(18): 10396-10403.
- [32] Zhu L, Zhao L, Qu X, et al. pH-sensitive polymeric vesicles from coassembly of amphiphilic cholate grafted poly (L-lysine) and acid-cleavable polymer–drug conjugate[J]. *Langmuir*, 2012, 28(33): 11988-11996.
- [33] Gräfe D, Gaitzsch J, Appelhans D, et al. Cross-linked polymersomes as nanoreactors for controlled and stabilized single and cascade enzymatic reactions[J]. *Nanoscale*, 2014, 6(18): 10752-10761.
- [34] Rodríguez-Arco L, Kumar B P, Li M, et al. Modulation of higher-order behaviour in model protocell communities by artificial phagocytosis[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2019, 58(19): 6333-6337.
- [35] Huang X, Patil A J, Li M, et al. Design and construction of higher-order structure and function in proteinosome-based protocells[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2014, 136(25): 9225-9234.
- [36] Rodríguez-Arco L, Kumar B P, Li M, et al. Modulation of higher-order behaviour in model protocell communities by artificial phagocytosis[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2019, 58(19): 6333-6337.
- [37] Rideau E, Dimova R, Schwille P, et al. Liposomes and polymersomes: a comparative review towards cell mimicking[J]. *Chemical society reviews*, 2018, 47(23): 8572-8610.
- [38] Torchilin V P. Recent advances with liposomes as pharmaceutical carriers[J]. *Nature reviews Drug discovery*, 2005, 4(2): 145-160.
- [39] Bulbake U, Doppalapudi S, Kommineni N, et al. Liposomal formulations in clinical use:

-
- an updated review[J]. *Pharmaceutics*, 2017, 9(2): 12.
- [40] Caliceti P, Veronese F M. Pharmacokinetic and biodistribution properties of poly (ethylene glycol) – protein conjugates[J]. *Advanced drug delivery reviews*, 2003, 55(10): 1261-1277.
- [41] Jensen G M, Hodgson D F. Opportunities and challenges in commercial pharmaceutical liposome applications[J]. *Advanced drug delivery reviews*, 2020, 154: 2-12.
- [42] Allen T M, Cullis P R. Liposomal drug delivery systems: from concept to clinical applications[J]. *Advanced drug delivery reviews*, 2013, 65(1): 36-48.
- [43] Li Y, Ji T, Torre M, et al. Aromatized liposomes for sustained drug delivery[J]. *Nature Communications*, 2023, 14(1): 6659.
- [44] Engelhart A E, Adamala K P, Szostak J W. A simple physical mechanism enables homeostasis in primitive cells[J]. *Nature chemistry*, 2016, 8(5): 448-453.
- [45] Tan H, Guo S, Dinh N D, et al. Heterogeneous multi-compartmental hydrogel particles as synthetic cells for incompatible tandem reactions[J]. *Nature Communications*, 2017, 8(1): 663.
- [46] Wang R, Yu Y, Gai M, et al. Liposomal Enzyme Nanoreactors Based on Nanoconfinement for Efficient Antitumor Therapy[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2023: e202308761.
- [47] Dix J A, Verkman A S. Crowding effects on diffusion in solutions and cells[J]. *Annu. Rev. Biophys.*, 2008, 37: 247-263.
- [48] Luby-Phelps K. The physical chemistry of cytoplasm and its influence on cell function: an update[J]. *Molecular biology of the cell*, 2013, 24(17): 2593-2596.
- [49] Keating C D. Aqueous phase separation as a possible route to compartmentalization of biological molecules[J]. *Accounts of chemical research*, 2012, 45(12): 2114-2124.
- [50] Martin N. Dynamic synthetic cells based on liquid–liquid phase separation[J]. *ChemBioChem*, 2019, 20(20): 2553-2568.
- [51] Albertson P A. Partition of cell particles and macromolecules[J]. Wiley, New York, 1986.
- [52] Van der Gucht J, Spruijt E, Lemmers M, et al. Polyelectrolyte complexes: Bulk phases and colloidal systems[J]. *Journal of colloid and interface science*, 2011, 361(2): 407-422.
- [53] Li M, Huang X, Tang T Y D, et al. Synthetic cellularity based on non-lipid micro-

-
- compartments and protocell models[J]. *Current opinion in chemical biology*, 2014, 22: 1-11.
- [54] Yin Z, Tian L, Patil A J, et al. Spontaneous Membranization in a Silk-Based Coacervate Protocell Model[J]. *Angewandte Chemie*, 2022, 134(17): e202202302.
- [55] Zhang Y, Chen Y, Yang X, et al. Giant coacervate vesicles as an integrated approach to cytomimetic modeling[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2021, 143(7): 2866-2874.
- [56] Gaitzsch J, Appelhans D, Wang L, et al. Synthetic bio-nanoreactor: mechanical and chemical control of polymersome membrane permeability[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2012, 51(18): 4448-4451.
- [57] Broz P, Driamov S, Ziegler J, et al. Toward intelligent nanosize bioreactors: a pH-switchable, channel-equipped, functional polymer nanocontainer[J]. *Nano Letters*, 2006, 6(10): 2349-2353.
- [58] Kumar M, Grzelakowski M, Zilles J, et al. Highly permeable polymeric membranes based on the incorporation of the functional water channel protein Aquaporin Z[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2007, 104(52): 20719-20724.
- [59] Pawar P V, Gohil S V, Jain J P, et al. Functionalized polymersomes for biomedical applications[J]. *Polymer Chemistry*, 2013, 4(11): 3160-3176.
- [60] Gonçalves J P, Promlok D, Ivanov T, et al. Confining the Sol-Gel Reaction at the Water/Oil Interface: Creating Compartmentalized Enzymatic Nano-Organelles for Artificial Cells[J]. *Angewandte Chemie*, 2023, 135(11): e202216966.
- [61] Liu G, Tan J, Cen J, et al. Oscillating the local milieu of polymersome interiors via single input-regulated bilayer crosslinking and permeability tuning[J]. *Nature Communications*, 2022, 13(1): 585.
- [62] Hershewe J M, Warfel K F, Iyer S M, et al. Improving cell-free glycoprotein synthesis by characterizing and enriching native membrane vesicles[J]. *Nature communications*, 2021, 12(1): 2363.
- [63] Lin J, Kamat N P, Jena S, et al. Fatty acid/phospholipid blended membranes: a potential intermediate state in protocellular evolution[J]. *Small*, 2018, 14(15): 1704077.
- [64] Van Niel G, d'Angelo G, Raposo G. Shedding light on the cell biology of extracellular

-
- vesicles[J]. *Nature reviews Molecular cell biology*, 2018, 19(4): 213-228.
- [65] Zhao J, Zhang Y, Zhang X, et al. Mimicking Cellular Metabolism in Artificial Cells: Universal Molecule Transport across the Membrane through Vesicle Fusion[J]. *Analytical Chemistry*, 2022, 94(9): 3811-3818.
- [66] Buddingh' B C, Elzinga J, van Hest J C M. Intercellular communication between artificial cells by allosteric amplification of a molecular signal[J]. *Nature communications*, 2020, 11(1): 1652.
- [67] Meijer L H H, Joesaar A, Steur E, et al. Hierarchical control of enzymatic actuators using DNA-based switchable memories[J]. *Nature communications*, 2017, 8(1): 1117.
- [68] Kumar S, Henning-Knechtel A, Magzoub M, et al. Peptidomimetic-based multidomain targeting offers critical evaluation of A β structure and toxic function[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2018, 140(21): 6562-6574.
- [69] Malwal S R, O'Dowd B, Feng X, et al. Bisphosphonate-generated ATP-analogs inhibit cell signaling pathways[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2018, 140(24): 7568-7578.
- [70] Terrell J L, Wu H C, Tsao C Y, et al. Nano-guided cell networks as conveyors of molecular communication[J]. *Nature communications*, 2015, 6(1): 8500.
- [71] Dora Tang T Y, Rohaida Che Hak C, Thompson A J, et al. Fatty acid membrane assembly on coacervate microdroplets as a step towards a hybrid protocell model[J]. *Nature chemistry*, 2014, 6(6): 527-533.
- [72] Langton M J, Keymeulen F, Ciaccia M, et al. Controlled membrane translocation provides a mechanism for signal transduction and amplification[J]. *Nature chemistry*, 2017, 9(5): 426-430.
- [73] Yang Q, Guo Z, Liu H, et al. A cascade signaling network between artificial cells switching activity of synthetic transmembrane channels[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2020, 143(1): 232-240.
- [74] Herianto S, Rathod J, Shah P, et al. Systematic analysis of phosphatidylinositol-5-phosphate-interacting proteins using yeast proteome microarrays[J]. *Analytical Chemistry*, 2020, 93(2): 868-877.
- [75] Shim J, Zhou C, Gong T, et al. Building protein networks in synthetic systems from the

-
- bottom-up[J]. *Biotechnology advances*, 2021, 49: 107753.
- [76] Hui E, Vale R D. In vitro membrane reconstitution of the T-cell receptor proximal signaling network[J]. *Nature structural & molecular biology*, 2014, 21(2): 133-142.
- [77] Lai S N, Zhou X, Ouyang X, et al. Artificial cells capable of long-lived protein synthesis by using aptamer grafted polymer hydrogel[J]. *ACS Synthetic Biology*, 2019, 9(1): 76-83.
- [78] Xu C, Martin N, Li M, et al. Living material assembly of bacteriogenic protocells[J]. *Nature*, 2022, 609(7929): 1029-1037.
- [79] Murtas G. Internal lipid synthesis and vesicle growth as a step toward self-reproduction of the minimal cell[J]. *Systems and synthetic biology*, 2010, 4(2): 85-93.
- [80] Brea R J, Hardy M D, Devaraj N K. Towards self-assembled hybrid artificial cells: novel bottom-up approaches to functional synthetic membranes[J]. *Chemistry—A European Journal*, 2015, 21(36): 12564-12570.
- [81] Douliez J P, Houssou B H, Fameau A L, et al. Self-assembly of bilayer vesicles made of saturated long chain fatty acids[J]. *Langmuir*, 2016, 32(2): 401-410.
- [82] Takakura K, Yamamoto T, Kurihara K, et al. Spontaneous transformation from micelles to vesicles associated with sequential conversions of comprising amphiphiles within assemblies[J]. *Chemical Communications*, 2014, 50(17): 2190-2192.
- [83] Budin I, Devaraj N K. Membrane assembly driven by a biomimetic coupling reaction[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2012, 134(2): 751-753.
- [84] Eto S, Matsumura R, Shimane Y, et al. Phospholipid synthesis inside phospholipid membrane vesicles[J]. *Communications Biology*, 2022, 5(1): 1016.
- [85] Zhu T F, Szostak J W. Coupled growth and division of model protocell membranes[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2009, 131(15): 5705-5713.
- [86] Deshpande S, Spoelstra W K, Van Doorn M, et al. Mechanical division of cell-sized liposomes[J]. *ACS nano*, 2018, 12(3): 2560-2568.
- [87] Huber F, Boire A, López M P, et al. Cytoskeletal crosstalk: when three different personalities team up[J]. *Current opinion in cell biology*, 2015, 32: 39-47.
- [88] Skoge M, Yue H, Erickstad M, et al. Cellular memory in eukaryotic chemotaxis[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2014, 111(40): 14448-14453.

-
- [89] Gavriljuk K, Scocozza B, Ghasemalizadeh F, et al. A self-organized synthetic morphogenic liposome responds with shape changes to local light cues[J]. *Nature Communications*, 2021, 12(1): 1548.
- [90] Hindley J W , Elani Y , Mcgilvery C M ,et al.Light-triggered enzymatic reactions in nested vesicle reactors[J]. *Nature Communications*, 2018, 9(1):1093
- [91] Peng R, Xu L, Wang H, et al. DNA-based artificial molecular signaling system that mimics basic elements of reception and response[J]. *Nature Communications*, 2020, 11(1): 978.
- [92] Nuti N , Verboket P E , Dittrich P S .Multivesicular droplets: a cell model system to study compartmentalised biochemical reactions[J]. *Lab on A Chip*, 2017, 17(18).
- [93] Giambelluca M, Markova E, Louet C, et al. Liposomes-Human phagocytes interplay in whole blood: effect of liposome design[J]. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 2023: 102712.
- [94] Qiao B, Luo Y, Cheng H B, et al. Artificial nanotargeted cells with stable photothermal performance for multimodal imaging-guided tumor-specific therapy[J]. *ACS nano*, 2020, 14(10): 12652-12667.
- [95] Guo J, Agola J O, Serda R, et al. Biomimetic rebuilding of multifunctional red blood cells: modular design using functional components[J]. *Acs Nano*, 2020, 14(7): 7847-7859.
- [96] Hu C M J, Fang R H, Wang K C, et al. Nanoparticle biointerfacing by platelet membrane cloaking[J]. *Nature*, 2015, 526(7571): 118-121.
- [97] Anselmo A C, Modery-Pawłowski C L, Menegatti S, et al. Platelet-like nanoparticles: mimicking shape, flexibility, and surface biology of platelets to target vascular injuries[J]. *ACS nano*, 2014, 8(11): 11243-11253.
- [98] Szostak J W, Bartel D P, Luisi P L. Synthesizing life[J]. *Nature*, 2001, 409(6818): 387-390.
- [99] Lu Y, Aimetti A A, Langer R, et al. Bioresponsive materials[J]. *Nature Reviews Materials*, 2016, 2(1): 1-17.
- [100] Chen Z, Wang J, Sun W, et al. Synthetic beta cells for fusion-mediated dynamic insulin secretion[J]. *Nature chemical biology*, 2018, 14(1): 86-93.

-
- [101] Liu S, Zhang Y, Li M, et al. Enzyme-mediated nitric oxide production in vasoactive erythrocyte membrane-enclosed coacervate protocells[J]. *Nature Chemistry*, 2020, 12(12): 1165-1173.
- [102] Zhao X, Tang D, Wu Y, et al. An artificial cell system for biocompatible gene delivery in cancer therapy[J]. *Nanoscale*, 2020, 12(18): 10189-10195.
- [103] Roberts M A J, Cranenburgh R M, Stevens M P, et al. Synthetic biology: biology by design[J]. *Microbiology*, 2013, 159(Pt 7): 1219.
- [104] Jia H, Schwille P. Bottom-up synthetic biology: reconstitution in space and time[J]. *Current opinion in biotechnology*, 2019, 60: 179-187.
- [105] Yewdall N A, Mason A F, Van Hest J C M. The hallmarks of living systems: towards creating artificial cells[J]. *Interface Focus*, 2018, 8(5): 20180023.
- [106] Sperl J M, Sieber V. Multienzyme Cascade Reactions Status and Recent Advances[J]. *Acs Catalysis*, 2018, 8(3): 2385-2396.
- [107] Zheng D W, Xu L, Li C X, et al. Photo - powered artificial organelles for ATP generation and life - sustainment[J]. *Advanced Materials*, 2018, 30(52): 1805038.
- [108] Miller T E, Beneyton T, Schwander T, et al. Light-powered CO₂ fixation in a chloroplast mimic with natural and synthetic parts[J]. *Science*, 2020, 368(6491): 649-654.