中国科学: 生命科学 2025 年 第 55 卷 第 10 期: 2105 ~ 2123
SCIENTIA SINICA Vitae lifecn.scichina.com
《中国科学》杂志社 SCIENCE CHINA PRESS
评 述 中国知名大学及研究院所专栏 天津大学合成生物学20周年专辑

微生物电合成系统电活性生物膜的合成生物学强化

汤睿, 张晨烁, 宋奥琪, 闫一畅, 李锋*, 宋浩*

合成生物技术全国重点实验室, 天津大学合成生物与生物制造学院, 天津 300072
* 联系人, E-mail: feng.li@tju.edu.cn; hsong@tju.edu.cn

收稿日期: 2025-06-30; 接受日期: 2025-08-22; 网络版发表日期: 2025-09-25

摘要 微生物电合成作为一种是零或负碳排放生产技术, 利用可再生电能作为还原力, 驱动微生物细胞固定CO_2合成高值化学品, 为解决我国在双碳减排和原位高效存储废弃电能存储方面的急迫需求提供了重要解决方案. 电活性生物膜作为微生物电合成系统的催化核心, 介导电极-微生物界面间高效电子传递. 然而, 天然电活性生物膜内细胞-电极界面作用能力弱、电子传递速率低, 限制了微生物电合成系统产业化应用进程. 针对上述问题, 本综述首先详述电活性生物膜的形成过程及电子传递机制. 随后, 阐述了通过合成生物学策略工程改造生物膜结构组分提升生物膜形成能力, 强化电子传递路径增强生物膜电子传递能力, 调控胞内信号分子促进生物膜形成和导电性. 本综述为开发过程稳定性强及能量转换效率优的高性能微生物电合成系统提供了理论基础.

关键词 微生物电合成, 电活性生物膜, 合成生物学, 电子传递, 胞内信号分子

微生物电合成(microbial electrosynthesis, MES)作为一种是零或负碳排放生产技术, 利用可再生电能(光伏、风电、水电等)作为还原力, 驱动微生物细胞固定CO_2合成淀粉[1]、蛋白[2,3]、有机酸[4~9]、高级醇[10,11]、生物塑料[12~15]、萜类[16]、有机氮肥[17,18]等高值化学品. 作为国际研究前沿的热点和新兴领域, 微生物电合成技术受到了学术界、企业界以及各国政府的广泛关注[19,20], 有望推动零碳甚至负碳排放工业生产的产业化进程, 为解决我国在双碳减排和原位高效存储废弃电能存储方面的急迫需求提供了重要解决方案.

然而, MES当前的生产效率仍难以满足商业化需求, 其高附加值化学品的产率与经济可行性指标存在显著差距[21]. 这一局限性与微生物-电极间生物膜的形成能力和导电性密切相关. 一方面, 天然电活性生物膜(electroactive biofilms, EABs)内细胞-电极界面亲合作用能力弱, 导致其形成与稳定存在能力不足. 另一方面, 细胞-电极界面的电子传递速率低, 限制了电活性微生物直接/间接电子摄取能力. 二者联合制约了界面电子传递效率, 影响了细胞内能量和物质的转化效率. 目前绝大多数MES系统仍局限于实验室规模, 尚未具备实际生产的技术可行性[22]. 突破这些瓶颈的关键在于优化“微生物-电极”相互作用, 增强微生物与电极界面间的电子传递效率.

基于微生物电合成系统的核心科学问题, 尽管已有综述对微生物电合成系统的高性能系统结构设计、高催化活性电极材料开发、高效噬电微生物菌株的筛

引用格式: 汤睿, 张晨烁, 宋奥琪, 等. 微生物电合成系统电活性生物膜的合成生物学强化. 中国科学: 生命科学, 2025, 55: 2105–2123
Tang R, Zhang C S, Song A Q, et al. Synthetic biology approaches to enhancing electroactive biofilm performance in microbial electrosynthesis systems (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2025, 55: 2105–2123, doi: 10.1360/SSV-2025-0205

© 2025《中国科学》杂志社 www.scichina.com
https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2025-0205

选和强化等方面进行了系统总结，但如何通过合成生物学策略强化生物膜形成及导电性的方法与机制，仍缺乏深入讨论. 本综述首先阐述了电活性生物膜的形成过程及电子传递机制. 随后，重点论述了通过工程改造生物膜结构组分提升生物膜形成能力，强化电子传递路径增强生物膜电子传递能力，调控胞内信号分子促进生物膜形成和导电性. 本综述为开发过程稳定性强及能量转换效率优的高性能MES系统提供了理论基础.

1 电活性生物膜的形成过程及电子传递机制

微生物在自然界和工程系统中的定植与生存往往依赖于其形成生物膜的能力. 这种由微生物群落及其分泌的胞外聚合物(extracellular polymeric substances, EPS)构成的复杂结构，不仅是微生物适应环境胁迫的重要策略，更在生物电化学系统中展现出独特的应用潜力. 特别是电活性生物膜的形成与演化过程，因其涉及微生物与电极界面的特殊相互作用，以及在能量转换和环境修复中的关键作用，该过程已成为当前微生物电化学领域的研究重点. 本章节将系统阐述EABs的形成机制及电子传递机制.

1.1 电活性生物膜的形成过程

微生物电合成速率及效率高度依赖于电活性微生物与电极之间的相互作用，这种相互作用主要以电活性生物膜形式存在. 电活性生物膜的形成是一个动态发展的过程，虽然不同微生物物种形成的生物膜在结构和组成上存在差异，但其形成机制与微生物的发育阶段和共性特征密切相关[23,24]. 具体而言，生物膜的形成可划分为可逆附着、不可逆定植、结构成熟、消散再生四个连续的阶段(图1).

(1) 可逆附着阶段. 在初始阶段, 阴极表面通过有机-无机大分子的吸附形成营养富集层, 诱导浮游细胞识别表面特性差异(离子强度、渗透压、pH及营养梯度)并启动附着[25]. 细菌通过非特异性信号转导调控细胞附属结构(鞭毛、菌毛、卷曲纤维等)的接触[26,27], 这一过程不仅降低细胞运动性，还激活环二鸟苷单磷酸(cyclic dimeric guanosine monophosphate, c-di-GMP)等第二信使系统[28]. 在表面力(酸碱力、范德华力、静电力)作用下[29]，细胞发生形变并完成初始附着, 此时细胞仍保持可逆的附着-脱离动态平衡[30].

(2) 不可逆定植阶段. 群体感应信号与第二信使(如c-di-GMP)的积累触发表型转变[31,32]，使鞭毛运动减弱、菌毛收缩下调，同时启动胞外聚合物的大量分泌[33~35]. EPS(含多糖、蛋白、胞外DNA(extracellular DNA, eDNA)等)通过分子交联形成三维网络，使细胞实现不可逆附着[36~38]，并为后续生物膜构建提供结构支架[39]. 此阶段细胞完成从浮游到固着生长模式的转换.

(3) 结构成熟阶段. 在群体感应信号调控下, 定植细胞通过持续招募浮游细胞形成微菌落簇[33]. 电活性生物膜中, 微生物分泌的导电组分(细胞色素、电子穿梭体等)与EPS基质共组装[40]，构建出具有电子传递网络的多孔立体结构. 成熟的生物膜形成分级通道系统(孔径从纳米到微米级)，实现营养物质输运、代谢废物清除和长程电子传递[41]. 这种结构化孔隙网络使生

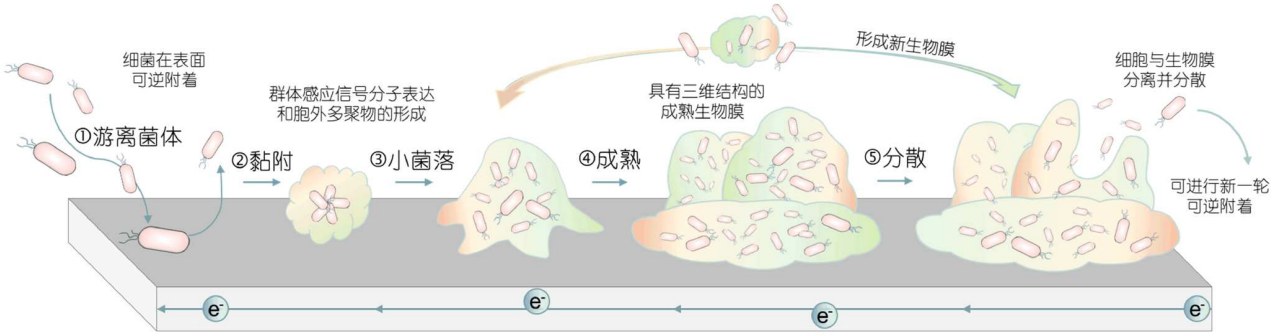


图 1 电活性生物膜的形成机制
Figure 1 Formation mechanism of electroactive biofilms

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2025-0205

物膜内外层细胞呈现代谢异质性，电极近端细胞高表达电活性蛋白但受营养限制，而溶液界面细胞代谢旺盛却面临电子传递瓶颈[42~44].

(4) 动态平衡与分散再生阶段. 当生物膜达到临界厚度时，内部形成营养/代谢产物的空间梯度，导致生长-脱落动态平衡[30]. 外层细胞在剪切力作用下脱落[45]，这些“生物膜种子”兼具浮游细胞运动性和基质合成潜能，可启动新定植周期[39]. 这种程序性分散机制既维持了生物膜的结构稳态，又实现了微生物的空间拓展. 综上，电活性生物膜因其独特的导电网络构建和电子传递需求而表现出特殊的发育模式，特别是在成熟阶段的三维结构形成方面，这与常规生物膜主要受营养扩散和流体剪切力调控的厚度机制形成鲜明对比. 这种差异深刻反映了微生物对电化学微环境与普通界面的适应性分化. 值得注意的是，生物膜厚度存在最优平衡点，过薄会限制催化活性位点数量，而过厚则会导致传质限制和电子传递障碍，进而降低MES系统产物合成效率[46~48]. 目前对MES阴极生物膜发育机制的认知仍主要基于非导电表面生物膜的类比假设，其各阶段形成动力学、结构特征与功能表达的深入研究仍属前沿领域，这为优化生物电化学系统性能提供了重要的研究方向.

1.2　电活性生物膜的电子传递机制

电活性微生物在生物膜中通过跨膜导电元件实现电子从阴极到胞内的电子传递过程，其机制主要分为: 直接电子传递(通过细胞色素或纳米线与电极的直接接触)和间接电子传递(通过黄素、吩嗪、氢气和甲酸等可溶性电子介体)(图2).

1.2.1　细胞色素及导电纳米线介导的直接电子摄取机制

细胞色素是电活性微生物表面的主要导电元件，在电活性微生物直接电子摄取中起关键作用. 多种已鉴定的多血红素*c*型细胞色素含有多个CXXCH血红素结合基序，该特征序列通过半胱氨酸残基与前血红素IX形成共价硫醚键，同时组氨酸残基作为血红素铁的轴向配体[49]. 其中，研究最多的电子摄取机制包括希瓦氏菌(*Shewanella oneidensis*)的MtrCAB途径及硫还原地杆菌(*Geobacter sulfurreducens*)的Pcc途径. *S. oneidensis*中的Mtr电子传递通路由四种*c*型细胞色素(CymA，MtrA，MtrC，OmcA)及外膜蛋白MtrB构成[50,51]. 值得注意的是，在微生物电合成系统中该过程可逆向进行，Mtr通路凭借其宽泛的氧化还原电位，可实现电活性微生物的胞外电子摄取[52,53]. *G. sulfurreducens*因其丰富的细胞色素系统展现出卓越的双向电子传递能力，其特有的多同源细胞色素网络在细胞膜上形成了多条“噬电通道”[54]. 此外，*G. sulfurreducens*细胞外膜表面所具有的导电性Ⅳ型菌毛(e-pili)，作为导电细丝分布于生物膜三维结构中，通过电子离域或电子跳跃/隧穿实现细菌-电极间直接电子传递，这种特性使导电菌毛成为直接电子摄取的优势结构[55].

此外，研究人员在石质铁氧化菌(*Sideroxydans lithotrophicus* ES-1)和沼泽红假单胞菌(*Rhodopseudomonas palustris* TIE-1)中鉴定出与Mtr同源的*c*型细胞色素[56~58]. 基因组分析显示，*S. lithotrophicus* ES-1的*mto*簇含有*cymA*、*mtoA*(MtrA同源)、*mtoB*(MtrB同源)和*mtoD*(单血红素*c*型细胞色素基因)等细胞色素. Fe(II)由外膜MtoA氧化，电子经周质中MtoD跨周质传递至

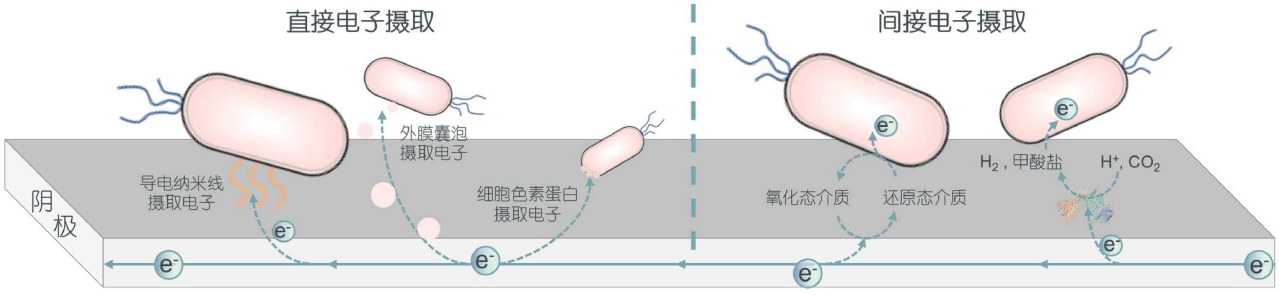


图 2　电活性生物膜的电子摄取机制
Figure 2　Electron uptake mechanism of electroactive biofilms

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2025-0205

内膜CymA. 与之对应, *R. palustris*的*pio*簇由*pioA*(MtrA同源)、*pioB*(MtrB同源)和*pioC*(高电位铁硫蛋白基因)构成. Fe(II)由外膜PioA/PioB氧化, 电子穿越外膜进入周质, 由PioC接收后传递至内膜光反应中心[59]. 此外, 部分无机自养产乙酸菌或产甲烷菌(如*Sporomusa* spp., *Clostridium* spp., *Moorella thermoacetica*和*Methanococcus maripaludis*)也可直接从阴极摄取电子, 为CO_2固定提供还原当量, 但关于直接电子摄取途径的分子机制仍知之甚少[60,61].

1.2.2 可溶性电子传递载体介导的间接电子摄取机制

部分可溶性小分子代谢物(如H_2、甲酸)和电子介体(如黄素类物质、吩嗪类物质、醌类物质及人工氧化还原介体等)可被细胞氧化作为电子传递载体, 并在阴极被还原以实现电化学循环, 从而促进细胞内还原当量(如NADH)的再生[62]. 其中, H_2可通过氢化酶氧化[63], 甲酸可通过甲酸脱氢酶氧化[10], 二者均能介导电子传递, 用于目标产物的生物合成. 可溶性电子介体与生物膜的形成密切相关, 生物膜能够有效地保留介体并减少介体扩散的损失, 并且介体反过来促进细胞生物膜的形成. 目前已被研究发现的电子介体有黄素类物质、吩嗪类物质、醌类物质及人工氧化还原介体等.

*S. oneidensis*可分泌黄素类物质作为电子介体, 包括核黄素(riboflavin, RF)、黄素腺嘌呤二核苷酸(flavin adenine dinucleotide, FAD)和黄素单核苷酸(flavin mononucleotide, FMN)[64]. 吩嗪类电子介体在铜绿假单胞菌在群体感应(quorum sensing, QS)系统的控制下产生, 可以作为电子介体介导微生物与电极之间的电子传递[45,65]. 醌类化合物作为重要的氧化还原介体, 在微生物胞外电子传递过程中表现出独特的电化学特性. 研究表明, 这类物质通过可逆的氧化还原反应参与电子传递链, 在还原态时, 醌分子接受电子转化为氢醌; 当遇到铁氧化物等电子受体时, 氢醌又通过半醌中间体逐步氧化恢复为醌的初始形态, 完成电子传递循环[66]. 这种循环机制在微生物电合成系统中具有显著优势, 不仅能够替代氢气或甲酸等传统电子载体实现电子跨膜传递, 其可重复利用的特性更使其成为理想的生物电化学介体[67]. 醌/氢醌氧化还原对的这种可逆转化特性, 为优化微生物电合成系统的电子传递效率提供了新的思路. 此外, 多种人工合成的氧化还原活性分子, 如甲基紫精、蒽醌-2,6-二磺酸盐、中性红和亮蓝等, 已被广泛用作人工电子介体[68,69]. 然而, 这些化学合成的穿梭体通常对目标电活性微生物具有细胞毒性, 长期使用会抑制微生物活性甚至导致死亡, 且在反应结束后, 这些人工介体难以与目标产物高效分离, 这不仅增加了下游分离纯化的复杂度和成本, 还可能污染最终产品, 影响其纯度和应用价值.

2 合成生物学策略强化生物膜的形成和导电

电活性微生物从浮游态向生物膜的转变, 是一个受细胞间信号分子精确调控的多阶段动态过程. 然而, 自然形成的电活性生物膜形成能力差、电子传递效率低, 严重制约了其在工业生产中的规模应用. 针对该技术瓶颈, 本章节从工程改造生物膜结构组分提升生物膜形成能力, 强化电子传递路径增强生物膜电子传递能力, 调控胞内信号分子促进生物膜形成和导电性三方面, 系统阐述了合成生物学策略在电活性生物膜工程强化中的重要作用, 为开发具有工业应用价值的高性能生物电化学系统提供了创新解决方案.

2.1 工程改造生物膜结构组分提升生物膜形成能力

自然环境中, 电活性微生物与其分泌的EPS共同交联成三维网状生物膜结构, 这种独特的生物膜基质以胞外多糖、蛋白质和eDNA为主要组分, 同时包含少量脂质、腐殖酸及糖醛酸等成分. 研究表明, 生物膜的形成过程受到微生物种类、环境条件和电极表面特性等多因素协同调控, 其功能表现与EPS组分的分子特性密切相关. 因此, 采用合成生物学策略对生物膜结构和EPS组分进行工程改造, 将有效提升电活性生物膜的形成效率与功能稳定性, 为MES系统的实际应用提供关键技术支撑.

2.1.1 胞外多糖调控

胞外多糖作为EPS基质的主要组分之一, 其极高的组成多样性与电活性生物膜的初始形成过程及电子传递性能密切相关. 为探究多糖与生物膜形成及功能的关系, 通过合成生物学方法解析生物膜形成机制、

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2025-0205

构建新型基因调控回路，可以显著增强电活性生物膜在电极表面的形成能力，提高MES系统的产物合成效率[70~73]．甲酰基转移酶通过修饰胞外多糖的结构和功能，显著影响细菌的生物膜形成及其稳定性．研究发现，敲除希瓦氏菌MR-1多糖生物合成簇中编码甲酰基转移酶的*so_3177*基因，增强了细胞膜的表面疏水性，提高了细胞在电极表面的附着能力，从而使电活性生物膜表现出更强的电化学性能[72]．*G. sulfurreducens*中编码ATP依赖性的胞外多糖相关蛋白的基因*GSU1501*，对胞外多糖的分泌起关键作用. 实验证明, 该基因的强化表达可使胞外多糖分泌量提升25.5%，显著促进了电活性生物膜的形成并增强了细胞的电化学活性[73]．目前研究在解析多糖功能及调控生物膜形成方面已取得显著进展，但仍难以实现MES系统中电活性生物膜的可控调节．为了实现生物膜形成的精确调控，Zhang和Poh[74]开发了基于CRISPRi/dCas9的基因回路，利用光遗传开关实现了对大肠杆菌胞外多糖合成基因*wcaF*表达的空间特异性抑制，从而实现了生物膜三维结构的可控合成．尽管模式微生物菌株适用于实验室条件下的合成生物学验证，但其在自然环境中的应用仍存在显著局限性．未来研究需将合成生物学工具拓展至非模式微生物, 以提升MES系统的实际应用潜力.

2.1.2　胞外蛋白合成

胞外蛋白作为细胞外基质的重要组分，主要由促进生物膜形成的黏性蛋白和起稳定作用的结构蛋白构成，在维持生物膜结构稳定性和介导物质/能量传递中发挥关键作用．其含量及构象的差异性直接影响生物膜的组装效率与电子传递性能，是调控生物膜功能的核心因素之一．近期研究通过合成生物学策略调控胞外蛋白基因簇表达，显著增强了细胞生物膜的形成能力并提高了其稳定性[75]．为进一步实现生物膜形成的精准调控，研究人员系统探究了多种电活性微生物中胞外蛋白调控生物膜形成的分子机制[67,68]．对希瓦氏菌生物膜形成的蛋白质组学研究发现，细胞表面黏附蛋白AggA, BpfA, BpfG和BpfD显著上调, 这些凝集蛋白作为细胞外的“胶水”，与增强细胞聚集和生物膜形成能力密切相关[76,77]．在此基础上，生物膜的稳定形成还需要基质中的结构蛋白起支撑作用．Curli作为大肠杆菌分泌的类菌毛结构，在生物膜形成的结构支撑中发挥重要作用．为了提高电极表面的生物膜附着，Yong团队[78]通过将金属结合域与Curli蛋白融合表达，成功实现了细菌细胞与不锈钢电极的高效结合，使该系统的电子传递能力提升了约420倍(图3A)，显著提升了MES系统的CO_2还原能力．Hou等人[79]通过将生物膜形成缺陷的*G. sulfurreducens*突变体DvH与野生型菌株进行蛋白组学比对分析，进一步证实了胞外蛋白在生物膜形成中的重要地位．此外，胞外蛋白还可以与其他胞外成分结合，促进生物膜整体的形成与结构稳定性[80]．Reichhardt等人[81]发现，*Pseudomonas aeruginosa*的生物膜基质蛋白CdrA可以与胞外多糖分子(如Psl、Pel和海藻酸盐)交联提高胞外基质强度. 因此，深入理解胞外蛋白与其他胞外组分间的相互作用机制，对增强电活性生物膜稳定性、提升MES系统的生产效率至关重要.

2.1.3　胞外DNA调控

胞外DNA被称为细胞间“导电胶水”，主要来源于细菌细胞裂解释放的遗传物质，对维持生物膜结构、空间构型和稳定性具有关键作用[82,83]．然而，eDNA在生物膜动态形成过程中的调控机制仍不明确．针对这一问题，研究人员通过基因编辑和环境调控等手段进行了深入探究. 自Whitchurch等人[84]首次发现eDNA是*P. aeruginosa*生物膜的重要组分以来, Ren等人[85]通过敲除*Corynebacterium glutamicum*中胞外核酸酶基因*exeM*, 有效增加了eDNA含量和细胞黏附能力, 再次证实了eDNA对生物膜形成的重要作用．进一步对eDNA和生物膜关系的探究中，研究人员发现，外部添加DNA或DNase 1能够显著促进或抑制生物膜的形成，这表明eDNA不是生物膜的附属成分，而是在生物膜形成中起到关键作用．Han等人[86]在金黄色葡萄球菌中表征了细胞壁抑制响应蛋白CwrA，CwrA通过影响*ica*操纵子活性, 增大细胞流动性, 提高了eDNA胞外释放量，同样促进了生物膜的形成(图3B)．然而，在对类鼻疽伯克霍尔德菌(*Burkholderia pseudomallei*)生物膜的研究中发现，eDNA含量与生物膜厚度呈正相关，且这种相关性不受膜内活/死菌比例影响，表明eDNA的释放并非仅通过细胞死亡/裂解途径实现[87]．此外，大量研究表明, eDNA与其他EPS成分间复杂的相互作用是维持生物膜结构完整性的又一重要机制．当带负电的eDNA与带正电的蛋白质通过静电相互作用时，可以构建有利于生物膜稳定的三维网络结构[88]．在铜绿

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2025-0205

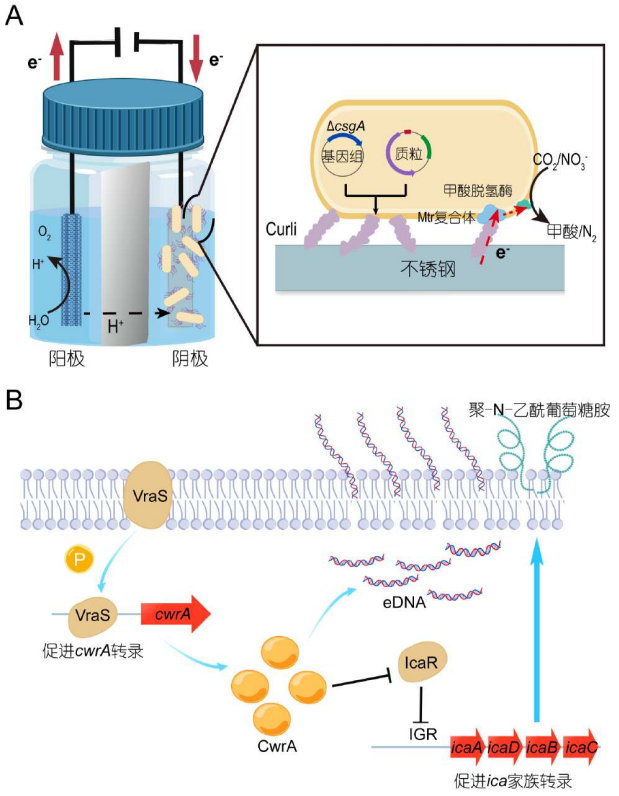


图 3 合成生物学强化生物膜的形成. A: 工程改造Curli蛋白实现不锈钢电极的高效微生物电催化; B: 细胞壁抑制响应蛋白CwrA对生物膜形成的促进作用

Figure 3 Synthetic biology enhances the formation of biofilms. A: Engineered curli fibers enhance microbial electrocatalysis on stainless-steel electrodes; B: the promoting effect of cell wall inhibition response protein CwrA on biofilm formation

假单胞菌生物膜中，胞外多糖Psl与eDNA间连接形成骨架，直接促进细菌的附着及生物膜的形成[89]. 这些研究表明, eDNA与其他EPS成分间相互作用在电活性生物膜的聚集、黏附和生长过程中具有普适性作用, 但其分子机制存在物种特异性差异. 未来研究需着重解析这些差异的分子基础, 以全面阐明eDNA在生物膜形成中的调控网络.

2.2 强化电子传递路径增强生物膜电子传递能力

MES效率在很大程度上取决于电活性生物膜的生长以及电活性微生物从阴极获取还原当量的能力. 然而, 目前关于微生物自阴极获取电子的机制认知仍然有限. 电活性生物膜的电子传递主要包括纳米导线及细胞色素蛋白介导的直接电子传递和电子介体介导的间接电子传递. 尽管合成生物学策略可通过改造胞外基质组分来增强生物膜厚度与结构稳定性, 但过度增厚生物膜会导致传质受限, 反而抑制生物膜内部电子传递与营养扩散. 为进一步增强生物膜的电子传递能力, 本节将从纳米导线的生物合成调控、细胞色素蛋白的表达优化、电子介体的合成和传递三方面, 系统阐述基于合成生物学的导电元件强化策略, 旨在实现生物膜结构稳定性与电化学活性的协同提升.

2.2.1 纳米导线的生物合成调控

导电纳米线通过自身导电特性对生物膜整体电子传递效率的影响已得到广泛关注. 然而, 菌株差异和生长条件变化导致细胞色素纳米线表达水平不稳定, 加之其天然形成的精密排列结构难以人工调控, 这些因素严重制约了MES系统的工程化应用[90,91]. 针对这一问题, 研究人员通过合成生物学手段开发了多种精准调控策略, 通过基因工程手段稳定纳米线表达水平, 采用蛋白骨架技术实现有序排列, 并引入外源导电材料构建杂化网络, 从而显著提升生物膜的电子传递效率[92~94]. 研究表明, 导电性菌毛的核心结构单元为PilA肽单体, 其导电性能可通过合成生物学手段显著增强[95]. 其中, *P. aeruginosa*天然PilA组装体导电性较差, 但通过嵌合表达*G. sulfurreducens*的N端61氨基酸保守片段, 并在关键位点(E32Y/L51F/G57Y)引入芳香族氨基酸, 使菌毛导电性较天然PaPili提升了140倍[96]. 除工程强化菌毛单体电导率外, 促进菌毛的有序组装, 也是提高菌毛导电性又一重要因素. Liu等人[97]在*G. sulfurreducens*中发现了一种新型菌毛合成伴侣蛋白(short pilin chaperone, Spc), 该蛋白通过静电相互作用与PilA蛋白特异性结合, 形成稳定的Spc-pilA复合物, 从而显著促进菌毛蛋白的组装效率并提升其导电性能. 在构建杂化导电网络的策略中, 引入外源导电材料与生物组分协同增效是提升电活性生物膜导电性能的有效途径. 通过在基因组中重新编码设计, 对非标准氨基酸炔丙基氧基苯丙氨酸进行基因编码修饰, 可与金纳米颗粒发生精确、特异的结合, 并自组装形成高度有序的有机-无机杂化材料, 该杂化策略使导电性能获得170倍的显著提升, 为生物-非生物界面电子传递提供了新型高效载体[98]. 综上, 通过基因工程优化、蛋白组装调控和杂化材料构建等多维度策略, 可系统提升导电纳米线的表达稳定性、结

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2025-0205

构有序性和电子传递效率, 为MES系统的性能优化提供了重要技术支撑.

2.2.2 细胞色素蛋白的表达优化

电活性微生物(如*Shewanella*和*Geobacter* spp.)的特征性多血红素*c*型细胞色素(*c*-type cytochrome, *c*-Cyts)系统在跨膜直接电子传递过程中发挥核心作用, 这些蛋白通过在内膜、周质空间及外膜的特异性分布, 形成完整的电子传递链. 已有研究通过在非电活性微生物中异源表达*c*-Cyts蛋白构建跨膜电子传递途径, 实现了MES效率的提升[99,100]. 然而, 仅通过色素蛋白过表达策略仍难以突破电子传递速率的固有瓶颈. 针对这一问题, 研究人员通过重构细胞色素成熟系统, 优化细胞色素蛋白表达网络, 建立细胞色素蛋白与结构分子、电子介体耦合体系, 以实现电子传递速率的进一步提升[101~104]. 细胞色素的高效表达依赖于细胞色素成熟系统(Ccm系统)的精确调控. 为提升电子通量, Su等人采用合成生物学策略对Ccm系统进行优化, 获得的功能突变体显著提升了电子传递链中Mtr复合体的表达丰度, 从而提高了大肠杆菌电子传递效率[101], 并在此基础上设计重构了杂合Ccm系统, 使CymA的丰度显著提升, 电子传递效率较野生型提高121%[102]. 该研究不仅证实了人工重构电子传递链对提升MES系统性能的潜能, 更为突破微生物电子传递能力限制提供了有效策略. 周质空间中的*c*型细胞色素网络是调控电子传递效率的关键因素. Gescher团队[105]在*S. oneidensis*中通过基因工程简化网络结构(敲除*nrfA*, *ccpA*, *napB*和*napA*)并过表达CctA细胞色素, 使电子传递速率提升23%. 研究发现, CctA过表达促进CymA-MtrCAB电子传递, 而NapB/FccA/TsdB过量则降低胞外电子传递(extracellular electron transfer, EET)效率50%以上, 通过同步敲除*napB*/*fccA*/*tsdB*和过表达*cctA*, 构建的工程菌株电子传递效率达野生型的3.62倍, 为高效电子传递网络设计提供了新思路[106](图4A). Zhao等人[107]在希瓦氏菌中通过引入定向合成核黄素的质粒, 成功将菌株的电子传递效率提升了22倍. 然而不同启动子强度下的电子传递效率差异并不显著, 研究发现过量合成的核黄素并未被充分有效利用. 基于此, 该团队通过过表达*mtrC*基因优化电子传递链, 使电子传递效率得到进一步提升. 该研究不仅证实了核黄素作为电子传递介体的重要作用, 更揭示了其与MtrC蛋白的特异性结合可协同促进胞外电子传递过程, 为理性设计高效电子传递体系提供了新的理论依据和实践指导. 上述研究为MES系统性能优化奠定了重要基础, 未来研究可着力于探索跨物种电子传递网络的通用性设计原则, 从而突破现有电子传递速率的理论极限, 推动MES系统在实际应用领域的规模化应用.

2.2.3 电子介体的合成和传递

在微生物电合成系统中, 除直接电子传递外, 以黄素类[108,109]、吩嗪类[110,111]和醌类[112,113]化合物为代表的电子穿梭体, 可介导间接电子传递, 将阴极电子传递至细胞外膜, 随后通过*c*型细胞色素、醌池和NADH脱氢酶最终将电子传递给胞内NAD^+, 为CO_2还原提供还原当量[114~118]. 然而, 天然菌株的电子穿梭体合成与分泌能力不足, 这严重制约了间接电子传递效率的提升. 虽然外源添加人工电子穿梭体(如中性红、甲基紫精等)可实现电子的跨膜摄取, 但这些人工电子穿梭体在体系中易降解, 且普遍对细胞存在毒性作用. 为克服外源添加电子穿梭体的稳定性和毒性问题, 研究人员着力开发合成生物学策略, 通过强化电子穿梭体的生物合成途径, 优化其跨膜分泌系统, 以构建高效的电子传递体系, 提升MES系统的整体性能[119~121]. 核黄素作为一种生物相容性好的电子穿梭体, 通过特异性结合外膜*c*-Cyts有效促进电子摄取过程[116,122]. Yang等人[60]通过在*S. oneidensis* MR-1中重构枯草芽孢杆菌的黄素合成途径, 实现了内源性核黄素的可持续供给(图4B). 进一步研究发现, 通过将蛋白视紫红质光驱动质子泵与核黄素介导的电子传递网络相耦合, 不仅能够克服*S. oneidensis*电子摄取的热力学障碍, 还成功驱动了卡尔文循环的CO_2固定过程[122]. 这些研究表明, 通过整合Mtr途径的直接电子传递、核黄素介导的间接电子传递以及视紫红质的光能转化功能, 可有效突破电极-细胞界面电子传递的热力学限制, 为MES系统实现高效高值化学品合成开辟了新的技术路径. 非那嗪类药物, 包括绿脓菌素(pyocyanin, PYO)、吩嗪-1-羧酸(phenazine-1-carboxylic acid, PCA)和吩嗪-1-酰胺(phenazine-1-carboxamide, PCN), 是另一类可溶性氧化还原活性电子介体. Li等人[123]开发了一种基于PCA的合成生物学策略, 显著提升了*S. oneidensis* MR-1的胞外电子传递效率(图4B). 研究人员通过挖掘并优化

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2025-0205

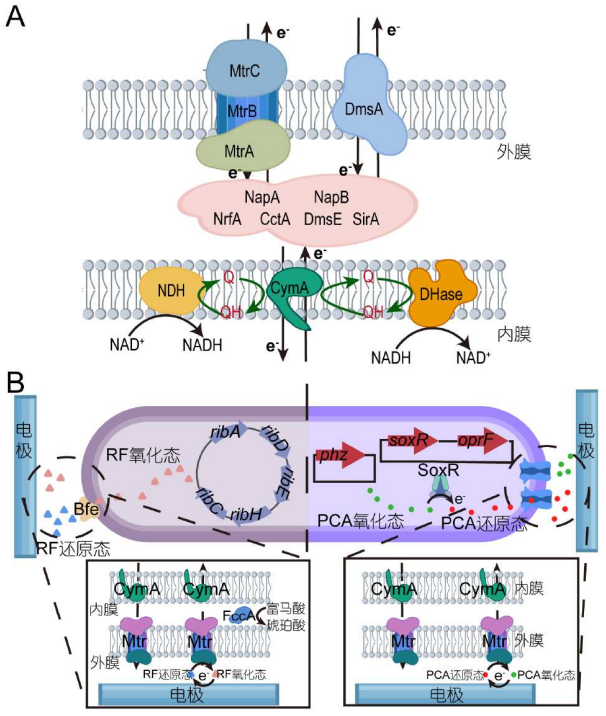


图 4 合成生物学强化生物膜的导电性. A: 通过优化周质细胞色素网络促进希瓦氏菌胞外电子传递; B: 通过强化电子介体的合成途径增强希瓦氏菌胞外电子传递

Figure 4 Synthetic biology enhances the conductivity of biofilms. A: Optimizing the periplasmic cytochrome network to enhance extracellular electron transfer in *S. oneidensis*; B: strengthening electron mediator biosynthesis to enhance extracellular electron transfer in *S. oneidensis*

PCA生物合成操纵子, 成功构建了PCA的从头合成途径; 同时设计开发了具有灵敏响应特性的P_{soxR}-*soxR*-P_{soxS}生物传感器系统, 动态调控孔蛋白OprF的表达, 在避免过早表达导致的细胞毒性的同时有效提高了PCA的跨膜转运效率. 该策略使工程菌的电子传递速率较野生型提升达33.75倍. 这项研究不仅证实了PCA动态合成与传递策略的有效性, 也为MES系统的性能优化提供了新思路. 除黄素类与吩嗪类物质外, 醌类化合物主要定位于细胞内膜系统, 在厌氧环境中参与促进细胞呼吸与胞外电子传递过程. Wu等人[124]敲低了希瓦氏菌MR-1中外膜细胞色素基因*mtrCAB*和*omcA*, 显著降低了电流的生成, 降至野生型的1%~12%. 上述研究系统揭示了电子介体在MES系统中的关键作用, 通过合成生物学策略优化其生物合成与转运过程, 可有效突破电极-细胞界面电子传递瓶颈. 未来研究进一步解析电子介体与细胞色素蛋白的协同作用机制, 设计更高效的电子传递通道, 为实现高效、稳定的微生物电合成系统提供重要支撑.

2.3 调控胞内信号分子促进生物膜形成和导电性

生物膜形成与导电性强弱是一个复杂的动态调控过程, 这一过程不仅与生物膜本身物质生物合成通路相关, 还受到多种化学信号的调控, 如QS、c-di-GMP和全局调控因子等[61,125]. 这些信号分子可从生物膜形成模式、生物膜基质组成、生物膜厚度稳定性及细胞代谢效率等维度对生物膜形成和导电性进行调控, 基于此使用合成生物学手段定向调控这些信号分子的释放, 对实现促进生物膜形成, 提高生物膜导电性至关重要. 本章节从群体感应系统介导的生物膜发育、c-di-GMP系统调控生物膜形成、全局转录因子调控生物膜的形成和导电三方面系统阐述影响电活性生物膜形成和导电的关键调控机制.

2.3.1 群体感应系统介导的生物膜发育

群体感应是细菌细胞间的一种通讯系统, 通过感知自诱导剂来调控细菌群体行为. 典型的群体感应系统是革兰氏阴性菌中的LuxI/R群体感应N-酰基高丝氨酸内酯(N-acyl-homoserine lactones, AHLs)信号传导[126](图5A). 研究表明, 工程改造电活性微生物的QS系统可同时调控电活性生物膜的形成及导电性能. 然而, 信号分子在胞内合成量不足且易失活等问题, 限制了其在MES系统中的实际应用. 针对该问题, 通过增大内源性群体感应信号分子的合成及释放、调整群体淬灭效应, 是利用群体感应系统调控生物膜形成的重要手段之一. 为阐明QS对生物膜形成的作用机制, 研究人员通过增加*Geobacter soli*胞内内源性和外源性AHLs含量, 证实AHLs可以通过调控胞外蛋白合成酶的转录来提高菌体生物膜的形成[127]. 当AHLs含量提高时, 生物膜的EPS浓度与氧化还原活性增加, 生物膜密度与活/死细胞比提高[128,129]. 当信号浓度超过阈值时, LuxR-AHL复合物会结合P_{lux}启动子调控靶基因表达, 进而影响生物膜发育[61]. 研究发现, 通过改造电活性微生物的QS系统, 还可动态调控内源电子介体的生物合成与分泌. 通过过表达铜绿假单胞菌QS系统相关*rhl*基因可使电子穿梭体类型转变为吩嗪类(PYO和PCA), 使电子传递效率提升1.6倍[130]. 在此基础上, Li等人[131]利用*S. oneidensis*的QS元件构建了动态调控系

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2025-0205

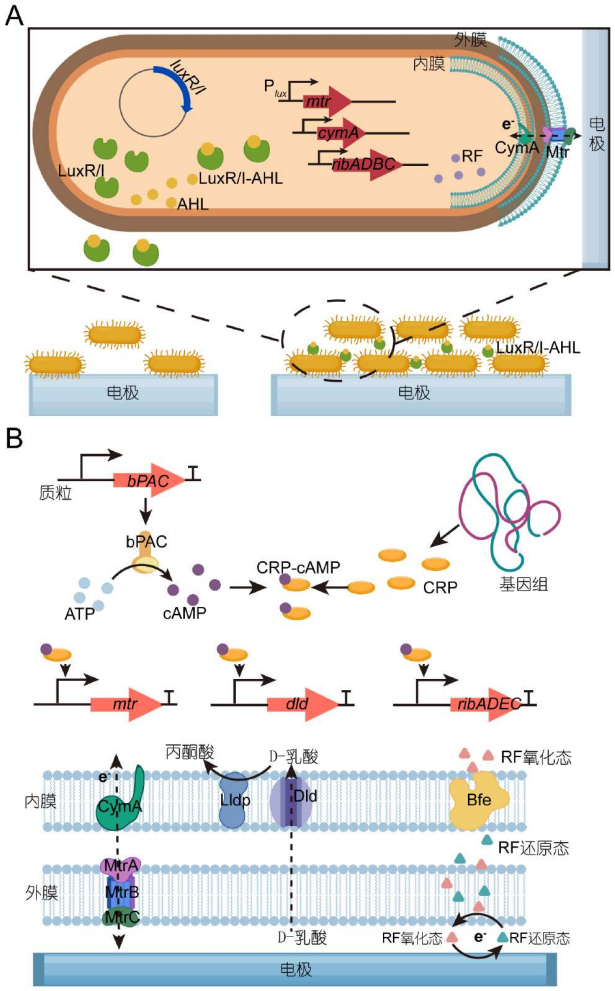


图 5　胞内信号分子调控生物膜形成及导电性. 群体感应系统(A)和cAMP-CRP复合体(B)调控生物膜的形成及导电性

Figure 5　Intracellular signaling molecules regulate the formation and conductivity of biofilms. The quorum sensing system (A) and the cAMP-CRP complex (B) regulate the formation and conductivity of biofilms

统, 将代谢流从生长期转向EET增强期, 使电子传递效率提高4.8倍. 此外, 群体淬灭效应通过终止群体感应系统信号传播从而控制细菌表面生物膜厚度与导电性. Zhu等人[132]的研究也进一步证明了群体感应系统对电化学生物膜合成影响, 通过向几种常见的电化学微生物培养体系中添加酰基酶, 使其QS系统产生猝灭, 培养后经宏基因组测序, 发现QS系统抑制基因*aiiA*和*pvdQ*丰度明显增加, 生物膜形成滞后. 以上研究表明, QS系统通过精确调控信号分子合成与淬灭的动态平衡, 不仅影响电活性生物膜的结构发育, 还能优化其电子传递性能, 为微生物电合成系统的性能提升提供了多层次的调控靶点. 未来研究可进一步解析多菌群通讯机制, 为调控天然菌群提供理论依据.

2.3.2　胞内第二信使系统调控生物膜形成

C-di-GMP是调节电活性微生物生物膜形成的关键成分, 被称为生物膜的“厚度调节器”, 不仅促进细胞附着在固体表面上和三维生物膜结构的成熟, 还能够提高与电子传递相关基因的表达, 从而提高了电活性生物膜的形成与导电性[133]. 研究发现, c-di-GMP通过浓度变化动态调控生物膜发育, 高浓度时抑制鞭毛运动性同时促进胞外基质分泌和菌毛表达, 而低浓度时则激活细胞运动能力并上调基质降解酶的产生[134,135]. 然而, 细胞内c-di-GMP浓度低导致电活性生物膜形成不足, 从而限制了胞外电子的获取及MES效率. 因此, 过表达c-di-GMP通路基因、抑制c-di-GMP分解、添加c-di-GMP调控因子成为合成生物调控c-di-GMP生产的重要策略. 为了提高胞内c-di-GMP浓度, Liu等人[37]在希瓦氏菌MR-1中异源表达了来自*E. coli*的c-di-GMP通路基因*ydeH*, 提高了胞内c-di-GMP浓度, 经24小时培养, 改造菌株生物膜形成量是同条件希瓦氏菌MR-1形成量的5.3倍. 研究表明, c-di-GMP在胞内会受到c-di-GMP水解酶分解, 无法持续累积激活下游信号表达. Chao等人[136]在希瓦氏菌MR-1中发现了一个c-di-GMP水解磷酸二酯酶基因*pdeB*, 敲除该基因使突变菌株胞内c-di-GMP含量显著提高, 从而降低了菌株运动性, 增加了生物膜厚度. 此外, 研究人员发现c-di-GMP本身也受到一些转录调节因子的调控, BolA是目前常见的调节因子之一,可通过平衡c-di-GMP浓度促进生物膜形成, 即使在高浓度c-di-GMP条件下, BolA的缺失仍会导致生物膜结构脆弱, 这证实了BolA在控制生物膜形成与运动模式中的关键作用[137]. da Silva等人[138]通过敲除和过表达*bolA*基因, 发现c-di-GMP会随着BolA蛋白含量的变化而浮动, 从而影响希瓦氏菌的生物膜形成与产电性能, 进一步证实了c-di-GMP影响生物膜形成与导电性. 上述研究系统揭示了c-di-GMP通过浓度梯度动态调控生物膜形成与导电性的分子机制, 为优化电活性生物膜性能提供了精准的干预靶点. 未来可开发智能响应型c-di-GMP基因回路, 通过环境信号(如电极电位、底物浓度)自动调节电活性生物膜的合成与降解平衡, 以推动MES系统在能源回收与生物制造领域的实际应用.

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2025-0205

2.3.3 全局转录因子调控生物膜的形成和导电

微生物的转录调控是细菌快速增殖以适应复杂环境的主要机制之一. 全局调控因子通过靶向细胞内多个调控网络, 调控细菌代谢活动, 影响细菌生理形态[139,140]. 尽管全局调控因子在细菌环境适应中发挥核心作用, 但其在电活性生物膜形成与电子传递中的精准调控机制仍不明确. 针对这一关键问题, 近年来研究人员将目光聚焦于全局调控因子的系统解析与工程改造, 通过揭示其对代谢网络与基因表达的重编程作用, 开发了一系列提升生物膜形成与导电性能的创新策略. 为了探究全局调控因子的调控机制, Luo等人[141]向*P. aeruginosa* PAO1中引入了外源全局调控因子IrrE, 大幅提高了胞内吩嗪合成能力, 进一步RT-PCR分析表明, IrrE与生物膜合成、葡萄糖代谢群体感应系统等通路基因过表达, 从而增强铜绿假单胞菌的环境适应性与生物膜形成能力. σ因子作为重要的信号分子, 参与调控特定条件下成熟生物膜的生长与扩散. 其中RpoS和RpoN是铜绿假单胞菌中调控多基因表达的典型全局调节因子, 影响生物膜形成、绿脓菌素等多条代谢通路[72]. 为了探究σ因子对生物膜形成及导电性的影响, Luo等人[142]通过敲除*P. aeruginosa* PAO1菌株中的*rpoS*基因, 增强了其生物膜形成能力及绿脓菌素合成效率, 从而增强了菌株电子传递效率. Feng等人[143]通过分别敲除*Shewanella baltica*中RpoS和RpoN构建突变菌株, 证实RpoN突变会导致胞外多糖、生物膜生物量及鞭毛形成显著减少, 而RpoS敲除则使生物膜结构更松散.

此外. 环磷酸腺苷(cyclic adenosine 3′,5′-monophosphate, cAMP)及其受体蛋白(cyclic adenosine 3′,5′-monophosphate receptor protein, CRP)是调控分解代谢与胞外电子传递相关基因表达的重要系统, CRP作为全局转录因子, 能响应细胞内cAMP水平变化调控多个基因的转录. 研究者通过过表达编码膜结合Ⅲ型腺苷酸环化酶的*cyaC*基因构建了工程化希瓦氏菌, 使细胞内cAMP水平提升5倍, 电子传递速率大幅提高[144]. 这一结果证实cAMP合成的激活能刺激分解代谢与电化学活性, 提升希瓦氏菌的产电能力. 然而, cAMP水平升高增强希瓦氏菌胞外电子传递效率的具体机制仍有待阐明. 为评估cAMP水平升高对双向胞外电子传递效率的影响, Cheng等人[145]在希瓦氏菌中表达了来自*Beggiatoa* sp.的编码腺苷酸环化酶基因, 该酶的表达显著提高了细胞内cAMP水平, 促进cAMP-CRP复合物形成(图5B). cAMP-CRP通过正向调控*c*型细胞色素和黄素生物合成相关基因的表达, 证明提高细胞内cAMP水平可以作为一种有效的策略来增强希瓦氏菌株生物膜导电性. 上述研究揭示了全局调控因子通过重编程代谢网络和基因表达, 在电活性生物膜形成与电子传递过程中发挥的核心调控作用. 未来可开发基于多组学整合的智能调控系统, 通过机器学习预测最优调控靶点组合, 实现代谢流与电子传递的协同优化, 为开发高性能微生物电合成生物膜提供创新的分子设计工具和理论指导.

3 结论与展望

微生物电合成技术通过电活性生物膜介导的EET过程, 将CO_2等底物高效转化为高附加值化学品与燃料, 为碳中和与可再生能源存储提供了极具潜力的解决方案. 本综述系统总结了合成生物学与界面工程策略在编程EABs以强化MES性能方面的研究进展(表1). 通过基因工程改造生物膜结构组分, 优化电子传递路径及整合动态调控系统, 显著提升了生物膜的黏附能力、EET效率及功能可控性. 这些策略的协同应用为构建高效、稳定且产物特异性的MES系统奠定了重要基础. 尽管工程化电活性生物膜在MES中展现出广阔前景, 其实际应用仍面临以下挑战与机遇:

(1) 多尺度电子传递机制解析与调控. 尽管EAMs在微生物燃料电池中的电子传递机制研究已取得重要突破, 但在MES系统中的电子传递网络仍存在认知空白. 未来研究需整合多组学分析(基因组学、蛋白质组学、代谢组学)与原位表征技术(如单细胞拉曼、纳米级电化学显微镜), 系统揭示从分子水平到群体水平的多尺度电子传递机制, 阐明胞外电子传递与胞内碳代谢网络的能量耦合机制, 解析阴极界面电子转移的分子途径与限速步骤及生物膜空间异质性对电子传递的影响. 这些基础认知将为开发电活性生物膜的靶向强化策略提供理论支撑.

(2) 合成生物学工具拓展. 开发普适性基因编辑平台, 特别是针对难以培养的非模式电活性微生物的CRISPR-Cas适配系统; 构建环境响应型智能生物膜, 整合光/电敏感启动子与群体感应回路, 实现产物合成的时空精准调控. 通过精准编辑电子传递相关基因簇

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2025-0205

表 1 工程强化电化学微生物生物膜的合成生物学策略

Table 1 Synthetic biology strategies for engineering enhanced electrochemical microbial biofilms

机制	菌种	工程策略	结果	参考文献
工程改造生物膜结构组分提升生物膜形成能力	*S. oneidensis* MR-1	抑制编码分裂蛋白的基因*ftsA*, *ftsN*, *ftsQ*和*ftsZ*	胞外多糖含量减少, 生物膜疏水性增加, 厚度增大, 促进了生物膜形成初期的附着	[146]
	P. aeruginosa	敲除Ser/Thr蛋白激酶基因*stk1*	胞外多糖分泌增加, 生物膜总量提高1.5倍	[147]
	G. sulfurreducens	敲除外膜蛋白编码基因*ompA*	胞外多糖、eDNA分泌增加, 生物膜厚度增加至22 μm, 较野生型提高1.8倍	[148]
	G. sulfurreducens	敲除鞭毛基因操纵子基因*csrA*	导电菌毛含量提高40%, 生物膜形成增加2倍	[149]
	P. aeruginosa	敲除外膜孔蛋白基因*oprF*	生物膜形成增加2.5倍	[150]
	P. aeruginosa PA14	敲除RecA重组蛋白基因*recA*	生物膜形成增加	[151]
	L. monocytogenes	敲除细胞外蛋白DNase基因*tatD*	eDNA含量增加, 促进生物膜扩散, 增加了生物膜的形成	[152]
强化电子传递路径增强生物膜电子传递能力	*S. oneidensis* MR-1	抑制多糖合成基因*so_3171*, *so_3172*, *so_3177*和*so_3178*	增加了*c*-型细胞色素的生物合成, 输出功率密度达到了380.98 mW/m^2, 比野生型菌株高11.1倍	[153]
	G. sulfurreducens	异源表达*G. metallireducens*中的*pilA*基因	E-pili导电性提高5000倍	[154]
	P. aeruginosa	对自身*pilA*基因改造使蛋白C端截断, N端增加*G. sulfurreducens*同源α螺旋和芳香族氨基酸	PilA蛋白导电性提高140倍	[96]
	E. coli	利用酵母凝集筛选系统, 建立FimA蛋白芳香族氨基酸突变库	FimA A80W A109W双色氨酸突变体导电性提高84倍	[98]
	S. oneidensis MR-1	异源表达*B. subtilis*的黄素合成基因簇*ribADEHC*	外排/内流电子传递速率分别提升13.2倍和15.5倍	[60]
	S. oneidensis MR-1	异源整合*P. aeruginosa*的吩嗪羧酸合成基因簇*phzA1-G1*与*G. sulfurreducens*的PCA直接电子传递通道*ombB-omaB-omcB-omcS*	电流密度达310.2 mA/m^2, 较野生型提高1.84倍	[155]
调控胞内信号分子促进生物膜形成和导电性	*X. oryzae pv. oryzicola*	敲除LuxR家族应答调节基因*vmsR*	EPS编码基因*gumB*表达提高, EPS含量提高2倍, 生物膜形成增强	[156]
	P. aeruginosa	敲除氨基肽酶基因*paap*	促进了C12-HSL群体感应系统表达, 胞外多糖Psl含量增加1.4倍, 生物膜形成增加	[157]
	Aeromonas sp. NJAU223	过表达*luxI*/*R*基因	色氨酸/精氨酸代谢、同化型硫酸盐还原代谢增加, 胞外多聚物合成增加	[158]
	L. plantarum	敲除LuxS/AI-2群体感应基因*luxS*	细胞外蛋白和eDNA显著增加, 生物膜形成增加	[159]
	G. metallireducens	转入含c-di-GMP合成基因的pYedQ表达质粒	*c*-型细胞色素蛋白基因和导电菌毛基因*PilA-N*转录水平增加, 生物膜形成增加1.6倍	[160]
	G. sulfurreducens	敲除全局调控因子*GSU1771*基因	细胞色素蛋白、导电菌毛和胞外多糖含量均增加, 电子传递效率提高20%	[161]
	S. typhimurium	过表达调控因子*bolA*基因	细胞外多糖、细胞外蛋白和eDNA含量增加, 生物膜形成增加2.56倍	[162]

和代谢途径关键节点, 可同步优化微生物的胞外电子摄取效率与胞内碳流定向转化能力, 从而推动MES系统从静态优化向动态智能调控的转变.

(3) 基于生物催化剂特性的理性阴极设计. 当前阴极研究主要集中于电极表面改性和纯菌生物膜培养, 但不足的界面电子传递效率仍会阻碍胞外电子的获取. 未来阴极电极的设计需突破传统材料组合模式, 实现从物化特性到生物界面的多维度协同优化. 基于生

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2025-0205

物催化剂的生理特性(表面电荷、黏附因子、细胞形貌等), 通过三维(three-dimensional, 3D)打印/静电纺丝技术构建具有梯度孔隙和纳米导电网络的仿生结构, 可同步满足高比表面积与低电子转移阻抗需求, 为定制化阴极设计提供技术支撑.

尽管在微生物电合成生物膜形成、导电、及规模放大经济性等方面仍存在挑战, 随着3D打印电极、基因编辑工具和机器学习算法的创新发展, 未来通过深度整合材料工程、合成生物学与人工智能等跨学科技术, 工程化微生物电合成生物膜将发展成新一代绿色生物制造平台, 为构建碳中和能源体系提供革命性解决方案.

参考文献

1 Cai T, Sun H, Qiao J, et al. Cell-free chemoenzymatic starch synthesis from carbon dioxide. Science, 2021, 373: 1523–1527

2 Mishra A, Ntihuga J N, Molitor B, et al. Power-to-protein: carbon fixation with renewable electric power to feed the world. Joule, 2020, 4: 1142–1147

3 Xu J, Wang J, Ma C, et al. Embracing a low-carbon future by the production and marketing of C1 gas protein. Biotechnol Adv, 2023, 63: 108096

4 Hann E C, Overa S, Harland-Dunaway M, et al. A hybrid inorganic-biological artificial photosynthesis system for energy-efficient food production. Nat Food, 2022, 3: 461–471

5 Zheng T, Zhang M, Wu L, et al. Upcycling CO_2 into energy-rich long-chain compounds via electrochemical and metabolic engineering. Nat Catal, 2022, 5: 388–396

6 Sheng H, Liu C. Spatial decoupling boosts CO_2 electro-biofixation. Nat Catal, 2022, 5: 357–358

7 Hu G, Li Z, Ma D, et al. Light-driven CO_2 sequestration in Escherichia coli to achieve theoretical yield of chemicals. Nat Catal, 2021, 4: 395–406

8 Wu R, Li F, Cui X, et al. Enzymatic electrosynthesis of glycine from CO_2 and NH_3. Angew Chem Int Ed, 2023, 62: e202218387

9 Yu W, Bai H, Zeng Y, et al. Solar-driven producing of value-added chemicals with organic semiconductor-bacteria biohybrid system. Research, 2022, 2022: 2022/9834093

10 Li H, Opgenorth P H, Wernick D G, et al. Integrated electromicrobial conversion of CO_2 to higher alcohols. Science, 2012, 335: 1596

11 Liew F E, Nogle R, Abdalla T, et al. Carbon-negative production of acetone and isopropanol by gas fermentation at industrial pilot scale. Nat Biotechnol, 2022, 40: 335–344

12 Chen X, Cao Y, Li F, et al. Enzyme-assisted microbial electrosynthesis of poly(3-hydroxybutyrate) via CO_2 bioreduction by engineered *Ralstonia eutropha*. ACS Catal, 2018, 8: 4429–4437

13 Pepè Sciarria T, Batlle-Vilanova P, Colombo B, et al. Bio-electrorecycling of carbon dioxide into bioplastics. Green Chem, 2018, 20: 4058–4066

14 Zhang P, Chen K, Xu B, et al. Chem-bio interface design for rapid conversion of CO_2 to bioplastics in an integrated system. Chem, 2022, 8: 3363–3381

15 Lim J, Choi S Y, Lee J W, et al. Biohybrid CO_2 electrolysis for the direct synthesis of polyesters from CO_2. Proc Natl Acad Sci USA, 2023, 120: e2221438120

16 Krieg T, Sydow A, Faust S, et al. CO_2 to terpenes: autotrophic and electroautotrophic α-humulene production with *Cupriavidus necator*. Angew Chem Int Ed, 2018, 57: 1879–1882

17 Lu S, Guan X, Liu C. Electricity-powered artificial root nodule. Nat Commun, 2020, 11: 1505

18 Liu C, Sakimoto K K, Colón B C, et al. Ambient nitrogen reduction cycle using a hybrid inorganic-biological system. Proc Natl Acad Sci USA, 2017, 114: 6450–6455

19 Liu Z, Wang K, Chen Y, et al. Third-generation biorefineries as the means to produce fuels and chemicals from CO_2. Nat Catal, 2020, 3: 274–288

20 Dessì P, Rovira-Alsina L, Sánchez C, et al. Microbial electrosynthesis: towards sustainable biorefineries for production of green chemicals from CO_2 emissions. Biotechnol Adv, 2021, 46: 107675

21 Jourdin L, Burdyny T. Microbial electrosynthesis: where do we go from here? Trends Biotechnol, 2021, 39: 359–369

22 Bajracharya S, Krige A, Matsakas L, et al. Advances in cathode designs and reactor configurations of microbial electrosynthesis systems to

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2025-0205

facilitate gas electro-fermentation. Bioresour Technol, 2022, 354: 127178
23 Flemming H C, van Hullebusch E D, Neu T R, et al. The biofilm matrix: multitasking in a shared space. Nat Rev Microbiol, 2022, 21: 70–86
24 Sauer K, Stoodley P, Goeres D M, et al. The biofilm life cycle: expanding the conceptual model of biofilm formation. Nat Rev Microbiol, 2022, 20: 608–620
25 Berne C, Ellison C K, Ducret A, et al. Bacterial adhesion at the single-cell level. Nat Rev Microbiol, 2018, 16: 616–627
26 Kimkes T E P, Heinemann M. How bacteria recognise and respond to surface contact. FEMS Microbiol Rev, 2020, 44: 106–122
27 Friedlander R S, Vogel N, Aizenberg J. Role of flagella in adhesion of *Escherichia coli* to abiotic surfaces. Langmuir, 2015, 31: 6137–6144
28 Bose A, Gardel E J, Vidoudez C, et al. Electron uptake by iron-oxidizing phototrophic bacteria. Nat Commun, 2014, 5: 3391
29 Rengasamy K, Ranaivoarisoa T, Singh R, et al. An insoluble iron complex coated cathode enhances direct electron uptake by *Rhodopseudomonas palustris* TIE-1. Bioelectrochemistry, 2018, 122: 164–173
30 Berlanga M, Guerrero R. Living together in biofilms: the microbial cell factory and its biotechnological implications. Microb Cell Fact, 2016, 15: 165
31 Kuchma S L, Brothers K M, Merritt J H, et al. BifA, a cyclic-Di-GMP phosphodiesterase, inversely regulates biofilm formation and swarming motility by *Pseudomonas aeruginosa* PA14. J Bacteriol, 2007, 189: 8165–8178
32 Peng X, Zhang Y, Bai G, et al. Cyclic di-AMP mediates biofilm formation. Mol Microbiol, 2016, 99: 945–959
33 Sun J, Yang P, Huang S, et al. Enhanced removal of veterinary antibiotic from wastewater by photoelectroactive biofilm of purple anoxygenic phototroph through photosynthetic electron uptake. Sci Total Environ, 2020, 713: 136605
34 Peng N, Cai P, Mortimer M, et al. The exopolysaccharide-eDNA interaction modulates 3D architecture of *Bacillus subtilis* biofilm. BMC Microbiol, 2020, 20: 115
35 Leonov P S, Flores-Alsina X, Gernaey K V, et al. Microbial biofilms in biorefinery—towards a sustainable production of low-value bulk chemicals and fuels. Biotechnol Adv, 2021, 50: 107766
36 Li F, Li Y X, Cao Y X, et al. Modular engineering to increase intracellular NAD($H^{/+}$) promotes rate of extracellular electron transfer of *Shewanella oneidensis*. Nat Commun, 2018, 9: 3637
37 Liu T, Yu Y, Deng X, et al. Enhanced *Shewanella* biofilm promotes bioelectricity generation. Biotech Bioeng, 2015, 112: 2051–2059
38 Lin T, Ding W, Sun L, et al. Engineered *Shewanella oneidensis*-reduced graphene oxide biohybrid with enhanced biosynthesis and transport of flavins enabled a highest bioelectricity output in microbial fuel cells. Nano Energy, 2018, 50: 639–648
39 Halan B, Buehler K, Schmid A. Biofilms as living catalysts in continuous chemical syntheses. Trends Biotechnol, 2012, 30: 453–465
40 Yong Y, Yu Y, Zhang X, et al. Highly active bidirectional electron transfer by a self-assembled electroactive reduced-graphene-oxide-hybridized biofilm. Angew Chem Int Ed, 2014, 53: 4480–4483
41 Moß C, Behrens A, Schröder U. The limits of three-dimensionality: systematic assessment of effective anode macrostructure dimensions for mixed-culture electroactive biofilms. ChemSusChem, 2020, 13: 582–589
42 Luo S, Fu B, Liu F, et al. Construction of innovative 3D-weaved carbon mesh anode network to boost electron transfer and microbial activity in bioelectrochemical system. Water Res, 2020, 172: 115493
43 Min D, Cheng L, Zhang F, et al. Enhancing extracellular electron transfer of *Shewanella oneidensis* MR-1 through coupling improved flavin synthesis and metal-reducing conduit for pollutant degradation. Environ Sci Technol, 2017, 51: 5082–5089
44 Li F, Yin C, Sun L, et al. Synthetic *Klebsiella pneumoniae*-*Shewanella oneidensis* consortium enables glycerol-fed high-performance microbial fuel cells. Biotechnol J, 2018, 13: e1700491
45 Rumbaugh K P, Sauer K. Biofilm dispersion. Nat Rev Microbiol, 2020, 18: 571–586
46 Babauta J T, Beyenal H. Mass transfer studies of *Geobacter sulfurreducens* biofilms on rotating disk electrodes. Biotech Bioeng, 2014, 111: 285–294
47 Sun D, Chen J, Huang H, et al. The effect of biofilm thickness on electrochemical activity of *Geobacter sulfurreducens*. Int J Hydrogen Energy, 2016, 41: 16523–16528
48 Sun D, Cheng S, Wang A, et al. Temporal-spatial changes in viabilities and electrochemical properties of anode biofilms. Environ Sci Technol, 2015, 49: 5227–5235
49 Zacharoff L A, El-Naggar M Y. Redox conduction in biofilms: from respiration to living electronics. Curr Opin Electrochem, 2017, 4: 182–189
50 Shi L, Rosso K M, Zachara J M, et al. Mtr extracellular electron-transfer pathways in Fe(III)-reducing or Fe(II)-oxidizing bacteria: a genomic

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2025-0205

perspective. Biochem Soc Trans, 2012, 40: 1261–1267
51 Coursolle D, Baron D B, Bond D R, et al. The Mtr respiratory pathway is essential for reducing flavins and electrodes in *Shewanella oneidensis*. J Bacteriol, 2010, 192: 467–474
52 Ross D E, Flynn J M, Baron D B, et al. Towards electrosynthesis in *Shewanella*: energetics of reversing the Mtr pathway for reductive metabolism. PLoS One, 2011, 6: e16649
53 Choi O, Sang B I. Extracellular electron transfer from cathode to microbes: application for biofuel production. Biotechnol Biofuels, 2016, 9: 11
54 Mehta T, Coppi M V, Childers S E, et al. Outer membrane *c*-type cytochromes required for Fe(III) and Mn(IV) oxide reduction in *Geobacter sulfurreducens*. Appl Environ Microbiol, 2005, 71: 8634–8641
55 Reguera G, Pollina R B, Nicoll J S, et al. Possible nonconductive role of *Geobacter sulfurreducens* pilus nanowires in biofilm formation. J Bacteriol, 2007, 189: 2125–2127
56 Li F, Li Y, Sun L, et al. Engineering *Shewanella oneidensis* enables xylose-fed microbial fuel cell. Biotechnol Biofuels, 2017, 10: 196
57 Li F, Li Y, Sun L, et al. Modular engineering intracellular NADH regeneration boosts extracellular electron transfer of *Shewanella oneidensis* MR-1. ACS Synth Biol, 2018, 7: 885–895
58 Costa N L, Clarke T A, Philipp L A, et al. Electron transfer process in microbial electrochemical technologies: the role of cell-surface exposed conductive proteins. Bioresour Technol, 2018, 255: 308–317
59 Xu S, Barrozo A, Tender L M, et al. Multiheme cytochrome mediated redox conduction through *Shewanella oneidensis* MR-1 cells. J Am Chem Soc, 2018, 140: 10085–10089
60 Yang Y, Ding Y, Hu Y, et al. Enhancing bidirectional electron transfer of *Shewanella oneidensis* by a synthetic flavin pathway. ACS Synth Biol, 2015, 4: 815–823
61 Mukherjee M, Zaiden N, Teng A, et al. *Shewanella* biofilm development and engineering for environmental and bioenergy applications. Curr Opin Chem Biol, 2020, 59: 84–92
62 Tajima N, Kouzuma A, Hashimoto K, et al. Selection of *Shewanella oneidensis* MR-1 gene-knockout mutants that adapt to an electrode-respiring condition. Biosci Biotechnol Biochem, 2011, 75: 2229–2233
63 Rodrigues R M, Guan X, Iñiguez J A, et al. Perfluorocarbon nanoemulsion promotes the delivery of reducing equivalents for electricity-driven microbial CO_2 reduction. Nat Catal, 2019, 2: 407–414
64 Okamoto A, Hashimoto K, Nealson K H, et al. Rate enhancement of bacterial extracellular electron transport involves bound flavin semiquinones. Proc Natl Acad Sci USA, 2013, 110: 7856–7861
65 Li Y, Liu J, Chen X, et al. Enhanced electricity generation and extracellular electron transfer by polydopamine-reduced graphene oxide (PDA-rGO) modification for high-performance anode in microbial fuel cell. Chem Eng J, 2020, 387: 123408
66 Li X, Liu L, Liu T, et al. Electron transfer capacity dependence of quinone-mediated Fe(III) reduction and current generation by *Klebsiella pneumoniae* L17. Chemosphere, 2013, 92: 218–224
67 Smith J A, Nevin K P, Lovley D R. Syntrophic growth via quinone-mediated interspecies electron transfer. Front Microbiol, 2015, 6
68 Ackermann M. Microbial individuality in the natural environment. ISME J, 2013, 7: 465–467
69 D'Alvise P W, Sjøholm O R, Yankelevich T, et al. TOL plasmid carriage enhances biofilm formation and increases extracellular DNA content in *Pseudomonas putida* KT2440. FEMS Microbiol Lett, 2010, 312: 84–92
70 Zhuang Z, Yang G, Zhuang L. Exopolysaccharides matrix affects the process of extracellular electron transfer in electroactive biofilm. Sci Total Environ, 2022, 806: 150713
71 Luo D, Zhang K, Song T, et al. Enhancing microbial electrosynthesis by releasing extracellular polymeric substances: novel strategy through extracellular electron transfer improvement. Biochem Eng J, 2022, 184: 108496
72 Zhang J, Li F, Liu D, et al. Engineering extracellular electron transfer pathways of electroactive microorganisms by synthetic biology for energy and chemicals production. Chem Soc Rev, 2024, 53: 1375–1446
73 Zhuang Z, Yang G, Mai Q, et al. Physiological potential of extracellular polysaccharide in promoting *Geobacter* biofilm formation and extracellular electron transfer. Sci Total Environ, 2020, 741: 140365
74 Zhang J, Poh C L. Regulating exopolysaccharide gene *wcaF* allows control of *Escherichia coli* biofilm formation. Sci Rep, 2018, 8: 13127
75 Akram J, Song C, El Mashad H M, et al. Advances in microbial community, mechanisms and stimulation effects of direct interspecies electron transfer in anaerobic digestion. Biotechnol Adv, 2024, 76: 108398

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2025-0205

76 De Windt W, Gao H, Krömer W, et al. AggA is required for aggregation and increased biofilm formation of a hyper-aggregating mutant of *Shewanella oneidensis* MR-1. Microbiology, 2006, 152: 721–729

77 Zhou G, Yuan J, Gao H. Regulation of biofilm formation by BpfA, BpfD, and BpfG in *Shewanella oneidensis*. Front Microbiol, 2015, 6: 790

78 Suo D, Fang Z, Yu Y, et al. Synthetic curli enables efficient microbial electrocatalysis with stainless-steel electrode. AIChE J, 2019, 66: e16897

79 Hou L, Cortez R, Hagerman M, et al. Co-occurrence of direct and indirect extracellular electron transfer mechanisms during electroactive respiration in a dissimilatory sulfate reducing bacterium. Microbiol Spectr, 2025, 13: e01226–01224

80 Colvin K M, Irie Y, Tart C S, et al. The Pel and Psl polysaccharides provide *Pseudomonas aeruginosa* structural redundancy within the biofilm matrix. Environ Microbiol, 2012, 14: 1913–1928

81 Reichhardt C, Matwichuk M L, Lewerke L T, et al. Non-disruptive matrix turnover is a conserved feature of biofilm aggregate growth in paradigm pathogenic species. mBio, 2025, 16: e0393524

82 Okshevsky M, Meyer R L. The role of extracellular DNA in the establishment, maintenance and perpetuation of bacterial biofilms. Crit Rev Microbiol, 2015, 41: 341–352

83 You Z, Li J, Wang Y, et al. Advances in mechanisms and engineering of electroactive biofilms. Biotechnol Adv, 2023, 66: 108170

84 Whitchurch C B, Tolker-Nielsen T, Ragas P C, et al. Extracellular DNA required for bacterial biofilm formation. Science, 2002, 295: 1487

85 Ren P, Chen T, Liu N, et al. Efficient biofilm-based fermentation strategies by eDNA formation for l-proline production with *Corynebacterium glutamicum*. ACS Omega, 2020, 5: 33314–33322

86 Han W, Xiao Y, Shen L, et al. The roles of cell wall inhibition responsive protein CwrA in the pathogenicity of *Staphylococcus aureus*. Virulence, 2024, 15: 2411540

87 Pakkulnan R, Anutrakunchai C, Kanthawong S, et al. Extracellular DNA facilitates bacterial adhesion during *Burkholderia pseudomallei* biofilm formation. PLoS One, 2019, 14: e0213288

88 Kavanaugh J S, Flack C E, Lister J, et al. Identification of extracellular DNA-binding proteins in the biofilm matrix. mBio, 2019, 10: e01137–19

89 Wang S, Liu X, Liu H, et al. The exopolysaccharide Psl-eDNA interaction enables the formation of a biofilm skeleton in *Pseudomonas aeruginosa*. Environ Microbiol Rep, 2015, 7: 330–340

90 Lovley D R, Yao J. Intrinsically conductive microbial nanowires for 'green' electronics with novel functions. Trends Biotechnol, 2021, 39: 940–952

91 Wang F, Gu Y, O'Brien J P, et al. Structure of microbial nanowires reveals stacked hemes that transport electrons over micrometers. Cell, 2019, 177: 361–369.e10

92 Bird L J, Kundu B B, Tschirhart T, et al. Engineering wired life: synthetic biology for electroactive bacteria. ACS Synth Biol, 2021, 10: 2808–2823

93 Adhikari R Y, Malvankar N S, Tuominen M T, et al. Conductivity of individual *Geobacter* pili. RSC Adv, 2016, 6: 8354–8357

94 Zou L, Qiao Y, Li C M. Boosting microbial electrocatalytic kinetics for high power density: insights into synthetic biology and advanced nanoscience. Electrochem Energ Rev, 2018, 1: 567–598

95 Liu X, Walker D J F, Nonnenmann S S, et al. Direct observation of electrically conductive pili emanating from *Geobacter sulfurreducens*. mBio, 2021, 12: e02209-21

96 Liu X, Wang S, Xu A, et al. Biological synthesis of high-conductive pili in aerobic bacterium *Pseudomonas aeruginosa*. Appl Microbiol Biotechnol, 2019, 103: 1535–1544

97 Liu X, Zhan J, Jing X, et al. A pilin chaperone required for the expression of electrically conductive *Geobacter sulfurreducens* pili. Environ Microbiol, 2019, 21: 2511–2522

98 Shapiro D M, Mandava G, Yalcin S E, et al. Protein nanowires with tunable functionality and programmable self-assembly using sequence-controlled synthesis. Nat Commun, 2022, 13: 829

99 Dong F, Lee Y S, Gaffney E M, et al. Engineering cyanobacterium with transmembrane electron transfer ability for bioelectrochemical nitrogen fixation. ACS Catal, 2021, 11: 13169–13179

100 Wu Z, Wang J, Liu J, et al. Engineering an electroactive *Escherichia coli* for the microbial electrosynthesis of succinate from glucose and CO_2. Microb Cell Fact, 2019, 18: 15

101 Su L, Fukushima T, Prior A, et al. Modifying cytochrome *c* maturation can increase the bioelectronic performance of engineered *Escherichia coli*. ACS Synth Biol, 2020, 9: 115–124

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2025-0205

102 Su L, Fukushima T, Ajo-Franklin C M. A hybrid cyt c maturation system enhances the bioelectrical performance of engineered *Escherichia coli* by improving the rate-limiting step. Biosens Bioelectron, 2020, 165: 112312

103 Philipp L, Edel M, Gescher J. Genetic engineering for enhanced productivity in bioelectrochemical systems. Adv Appl Microbiol, 2020, 111: 1–31

104 Zhai X, Liu X, Dong H, et al. Implementation of cytochrome c proteins and carbon nanotubes hybrids in bioelectrodes towards bioelectrochemical systems applications. Bioprocess Biosyst Eng, 2024, 47: 159–168

105 Delgado V P, Paquete C M, Sturm G, et al. Improvement of the electron transfer rate in *Shewanella oneidensis* MR-1 using a tailored periplasmic protein composition. Bioelectrochemistry, 2019, 129: 18–25

106 Sun W, Lin Z, Yu Q, et al. Promoting extracellular electron transfer of *Shewanella oneidensis* MR-1 by optimizing the periplasmic cytochrome *c* network. Front Microbiol, 2021, 12: 727709

107 Zhao J, Li F, Kong S, et al. Elongated riboflavin-producing *Shewanella oneidensis* in a hybrid biofilm boosts extracellular electron transfer. Adv Sci, 2023, 10: e2206622

108 von Canstein H, Ogawa J, Shimizu S, et al. Secretion of flavins by *Shewanella* species and their role in extracellular electron transfer. Appl Environ Microbiol, 2008, 74: 615–623

109 Brutinel E D, Gralnick J A. Shuttling happens: soluble flavin mediators of extracellular electron transfer in *Shewanella*. Appl Microbiol Biotechnol, 2012, 93: 41–48

110 Shi Y M, Brachmann A O, Westphalen M A, et al. Dual phenazine gene clusters enable diversification during biosynthesis. Nat Chem Biol, 2019, 15: 331–339

111 Clifford E R, Bradley R W, Wey L T, et al. Phenazines as model low-midpoint potential electron shuttles for photosynthetic bioelectrochemical systems. Chem Sci, 2021, 12: 3328–3338

112 Cui S, Xia H, Chen T, et al. Cell membrane and electron transfer engineering for improved synthesis of menaquinone-7 in *Bacillus subtilis*. iScience, 2020, 23: 100918

113 Chen L, Cao C, Wang S, et al. Electron communication of *Bacillus subtilis* in harsh environments. iScience, 2019, 12: 260–269

114 Rowe A R, Rajeev P, Jain A, et al. Tracking electron uptake from a cathode into *Shewanella* cells: implications for energy acquisition from solid-substrate electron donors. mBio, 2018, 9: e02203–17

115 Le Q A T, Kim H G, Kim Y H. Electrochemical synthesis of formic acid from CO_2 catalyzed by *Shewanella oneidensis* MR-1 whole-cell biocatalyst. Enzyme Microb Tech, 2018, 116: 1–5

116 La Cava E, Guionet A, Saito J, et al. Involvement of proton transfer for carbon dioxide reduction coupled with extracellular electron uptake in *Shewanella oneidensis* MR-1. Electroanalysis, 2020, 32: 1659–1663

117 Hwang H, Yeon Y J, Lee S, et al. Electro-biocatalytic production of formate from carbon dioxide using an oxygen-stable whole cell biocatalyst. Bioresour Technol, 2015, 185: 35–39

118 Rowe S F, Le Gall G, Ainsworth E V, et al. Light-driven H_2 evolution and C=C or C=O bond hydrogenation by *Shewanella oneidensis*: a versatile strategy for photocatalysis by nonphotosynthetic microorganisms. ACS Catal, 2017, 7: 7558–7566

119 TerAvest M A, Ajo-Franklin C M. Transforming exoelectrogens for biotechnology using synthetic biology. Biotech Bioeng, 2016, 113: 687–697

120 Hu Y, Han X, Shi L, et al. Electrochemically active biofilm-enabled biosensors: current status and opportunities for biofilm engineering. Electrochim Acta, 2022, 428: 140917

121 Conners E M, Rengasamy K, Bose A. Electroactive biofilms: how microbial electron transfer enables bioelectrochemical applications. J Ind Microbiol Biotechnol, 2022, 49: kuac012

122 Zhang J, Liu H, Zhang Y, et al. Enhanced CO_2 reduction by electron shuttle molecules via coupling different electron transport processes in microbial electrosynthesis. Fermentation, 2023, 9: 679

123 Li F, Zhang B, Long X, et al. Dynamic synthesis and transport of phenazine-1-carboxylic acid to boost extracellular electron transfer rate. Nat Commun, 2025, 16: 2882

124 Wu Y, Zhu X, Wang X, et al. A new electron shuttling pathway mediated by lipophilic phenoxazine via the interaction with periplasmic and inner membrane proteins of *Shewanella oneidensis* MR-1. Environ Sci Technol, 2023, 57: 2636–2646

125 Hu Y, Wang Y, Han X, et al. Biofilm biology and engineering of *Geobacter* and *Shewanella* spp. for energy applications. Front Bioeng Biotechnol, 2021, 9: 786416

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2025-0205

126 Monnet V, Juillard V, Gardan R. Peptide conversations in Gram-positive bacteria. Crit Rev Microbiol, 2016, 52: 339–351
127 Toyofuku M, Inaba T, Kiyokawa T, et al. Environmental factors that shape biofilm formation. Biosci Biotechnol Biochem, 2016, 80: 7–12
128 Jing X, Liu X, Deng C, et al. Chemical signals stimulate *Geobacter soli* biofilm formation and electroactivity. Biosens Bioelectron, 2019, 127: 1–9
129 Chen S, Jing X, Tang J, et al. Quorum sensing signals enhance the electrochemical activity and energy recovery of mixed-culture electroactive biofilms. Biosens Bioelectron, 2017, 97: 369–376
130 Yong Y C, Yu Y Y, Li C M, et al. Bioelectricity enhancement via overexpression of quorum sensing system in *Pseudomonas aeruginosa*-inoculated microbial fuel cells. Biosens Bioelectron, 2011, 30: 87–92
131 Li F H, Tang Q, Fan Y Y, et al. Developing a population-state decision system for intelligently reprogramming extracellular electron transfer in *Shewanella oneidensis*. Proc Natl Acad Sci USA, 2020, 117: 23001–23010
132 Zhu Q, Du Y, Zheng Y, et al. Quorum quenching inhibits the formation and electroactivity of electrogenic biofilm by weakening intracellular c-di-GMP and extracellular AHL-mediated signal communication. Environ Res, 2025, 266: 120604
133 Matsumoto A, Koga R, Kanaly R A, et al. Identification of a diguanylate cyclase that facilitates biofilm formation on electrodes by *Shewanella oneidensis* MR-1. Appl Environ Microbiol, 2021, 87: e00201–21
134 Baraquet C, Harwood C S. Cyclic diguanosine monophosphate represses bacterial flagella synthesis by interacting with the Walker A motif of the enhancer-binding protein FleQ. Proc Natl Acad Sci USA, 2013, 110: 18478–18483
135 Irie Y, Borlee B R, O'Connor J R, et al. Self-produced exopolysaccharide is a signal that stimulates biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa*. Proc Natl Acad Sci USA, 2012, 109: 20632–20636
136 Chao L, Rakshe S, Leff M, et al. *PdeB*, a cyclic Di-GMP-specific phosphodiesterase that regulates *Shewanella oneidensis* MR-1 motility and biofilm formation. J Bacteriol, 2013, 195: 3827–3833
137 Moreira R N, Dressaire C, Barahona S, et al. BolA is required for the accurate regulation of c-di-GMP, a central player in biofilm formation. mBio, 2017, 8: e00443–17
138 da Silva A A, Galego L, Arraiano C M. New perspectives on BolA: a still mysterious protein connecting morphogenesis, biofilm production, virulence, iron metabolism, and stress survival. Microorganisms, 2023, 11: 632
139 Liu C, Yu H, Zhang B, et al. Engineering whole-cell microbial biosensors: design principles and applications in monitoring and treatment of heavy metals and organic pollutants. Biotechnol Adv, 2022, 60: 108019
140 Liu C, Sun D, Zhu J, et al. The regulation of bacterial biofilm formation by cAMP-CRP: a mini-review. Front Microbiol, 2020, 11: 802
141 Luo J, Wang T, Li X, et al. Enhancement of bioelectricity generation via heterologous expression of IrrE in *Pseudomonas aeruginosa*-inoculated MFCs. Biosens Bioelectron, 2018, 117: 23–31
142 Luo J, Jin H, Tian W, et al. The enhanced effect and mechanism of endogenous sigma factor RpoF on bioelectricity generation in *Pseudomonas aeruginosa*-inoculated Microbial fuel cells (MFCs). Biosens Bioelectron, 2025, 278: 117380
143 Feng L, Bi W, Chen S, et al. Regulatory function of sigma factors RpoS/RpoN in adaptation and spoilage potential of *Shewanella baltica*. Food Microbiol, 2021, 97: 103755
144 Kasai T, Tomioka Y, Kouzuma A, et al. Overexpression of the adenylate cyclase gene *cyaC* facilitates current generation by *Shewanella oneidensis* in bioelectrochemical systems. Bioelectrochemistry, 2019, 129: 100–105
145 Cheng Z, Xiong J, Min D, et al. Promoting bidirectional extracellular electron transfer of *Shewanella oneidensis* MR-1 for hexavalent chromium reduction via elevating intracellular cAMP level. Biotech Bioeng, 2020, 117: 1294–1303
146 Li F, Yu H, Zhang B, et al. Engineered cell elongation promotes extracellular electron transfer of *Shewanella Oneidensis*. Adv Sci, 2024, 11: e2403067
147 Li R, Zhu X, Zhang P, et al. Ser/Thr protein kinase Stk1 phosphorylates the key transcriptional regulator AlgR to modulate virulence and resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. Virulence, 2024, 15: 2367649
148 Fang Y, Yang G, Wu X, et al. A genetic engineering strategy to enhance outer membrane vesicle-mediated extracellular electron transfer of *Geobacter sulfurreducens*. Biosens Bioelectron, 2024, 250: 116068
149 Hernández-Eligio A, Vega-Alvarado L, Liu X, et al. The role of CsrA in controls the extracellular electron transfer and biofilm production in *Geobacter sulfurreducens*. Front Microbiol, 2025, 16: 1534446
150 Yaeger L N, Ranieri M R M, Chee J, et al. A genetic screen identifies a role for *oprF* in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm stimulation by

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2025-0205

subinhibitory antibiotics. npj Biofilms Microbiomes, 2024, 10: 30

151 Yahya A H, Harston S R, Colton W L, et al. Distinct screening approaches uncover PA14_36820 and RecA as negative regulators of biofilm phenotypes in *Pseudomonas aeruginosa* PA14. Microbiol Spectr, 2023, 11: e0377422

152 Liao C, Hu J, Mao F, et al. Extracellular TatD from *Listeria* monocytogenes displays DNase activity and contributes to biofilm dispersion. Microb Pathog, 2025, 202: 107445

153 You Z, Yu H, Zhang B, et al. Engineering exopolysaccharide biosynthesis of *Shewanella oneidensis* to promote electroactive biofilm formation for liquor wastewater treatment. ACS Synth Biol, 2025, 14: 373–383

154 Tan Y, Adhikari R Y, Malvankar N S, et al. Expressing the *Geobacter metallireducens* PilA in *Geobacter sulfurreducens* yields pili with exceptional conductivity. mBio, 2017, 8: e02203–16

155 Fan Y, Tang Q, Li Y, et al. Rapid and highly efficient genomic engineering with a novel iEditing device for programming versatile extracellular electron transfer of electroactive bacteria. Environ Microbiol, 2021, 23: 1238–1255

156 Zhang Y, Zhao X, Wang J, et al. VmsR, a LuxR-type regulator, contributes to virulence, cell motility, extracellular polysaccharide production and biofilm formation in *Xanthomonas oryzae pv.oryzicola*. Int J Mol Sci, 2024, 25: 7595

157 Zhao T, Lei F, Zhang Z, et al. Extracellular aminopeptidase regulates exopolysaccharide production of *Pseudomonas aeruginosa* via quorum sensing. ISME J, 2025, 19: wraf038

158 Chen J, Yu Q, Zhang T, et al. Quorum sensing *luxI*/*R* genes enhances cadmium detoxification in *Aeromonas* by up-regulating EPS production and cadmium resistance genes. J Hazard Mater, 2025, 491: 137959

159 Chen Y, Fan X, Zhu X, et al. Effects of *luxS* gene on biofilm formation and fermentation property in *Lactobacillus plantarum R*. Food Res Int, 2025, 203: 115862

160 Jiang Y, Sun L, Hou L, et al. Crucial roles of intracellular cyclic di-GMP in impacting the genes important for extracellular electron transfer by *Geobacter metallireducens*. Appl Environ Microbiol, 2025, 91: e0072725

161 Jaramillo-Rodríguez J B, Vega-Alvarado L, Rodríguez-Torres L M, et al. Global transcriptional analysis of *Geobacter sulfurreducens gsu1771* mutant biofilm grown on two different support structures. PLoS One, 2023, 18: e0293359

162 Chen K, Li L, Zhou Z, et al. BolA promotes the generation of multicellular behavior in *S.Typhimurium* by regulating the c-di-GMP pathway genes *yeaJ* and *yhjH*. Int J Food Microbiol, 2024, 411: 110518

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2025-0205

Synthetic biology approaches to enhancing electroactive biofilm performance in microbial electrosynthesis systems

TANG Rui, ZHANG ChenShuo, SONG AoQi, YAN YiChang, LI Feng* & SONG Hao*

State Key Laboratory of Synthetic Biology, School of Synthetic Biology and Biomanufacturing, Tianjin University, Tianjin 300072, China
** Corresponding authors, E-mail: feng.li@tju.edu.cn; hsong@tju.edu.cn*

As a production technology with zero or even negative carbon emissions, microbial electrosynthesis (MES) could fix CO_2 to synthesize high-value chemicals where renewable electrical energy serves as reducing power. It provides a solution to meet the urgent needs of dual carbon emission reduction and *in situ* efficient storage of waste electric energy storage in our country. Electroactive biofilm is the catalytic core of the microbial electrosynthesis system, which mediates efficient electron transport between electrode and biofilm. However, the weak interface interaction ability of cells-electrodes, as well as the low electron transfer rate in natural electroactive biofilm, has restricted the industrial application process of microbial electrochemical synthesis systems. Focusing on the above issues, this review first elaborates on the formation process and electron transfer mechanism of electroactive biofilms. Subsequently, it discusses the engineering modification of biofilm structural components to enhance the formation ability of biofilms, the modification of electron transfer pathways to strengthen the electron transfer ability of biofilms, and the regulation of intracellular signaling molecules to promote the formation and conductivity of biofilms through synthetic biology strategies. This review provides a theoretical foundation for developing a high-performance MES system with strong process stability and high energy conversion efficiency.

microbial electrosynthesis, electroactive biofilm, synthetic biology, electron transfer, intracellular signaling molecules

doi: 10.1360/SSV-2025-0205

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2025-0205