

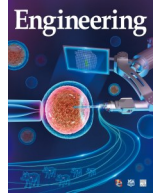


ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Engineering

journal homepage: www.elsevier.com/locate/eng



Research
Material Science and Engineering—Review

用于生物医学的基于微藻的生物杂化材料的设计和开发

张忠阳^{a,#}, 陈雨萌^{b,#}, Lasse Hyldgaard Klausen^a, Sebastian Amland Skaanvik^a, 王丹^c, 陈建峰^c, 董明东^{a,*}

^a Interdisciplinary Nanoscience Center, Aarhus University, Aarhus DK-8000, Denmark

^b College of Biological Science and Agriculture, Qiannan Normal University for Nationalities, Tuyun 558000, China

^c State Key Laboratory of Organic-Inorganic Composites, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China

ARTICLE INFO

Article history:

Received 29 October 2021

Revised 20 May 2022

Accepted 30 September 2022

Available online 14 April 2023

关键词

生物界面

微藻

生物杂化材料

微型机器人

摘要

微藻是一种体积微小的真核生物,可通过叶绿素a的光合作用将二氧化碳转化为多种生物活性物质。在过去的10年中,有关活体微藻和由其他生物相容性成分组成的生物杂化材料在解决许多医学难题,如肿瘤治疗、组织重建和药物输送方面显示出巨大的潜力。固定在常规生物材料中的微藻可以长时间维持其光合活性,从而在局部提供氧气,同时也可作为调节细胞活性的生物相容性界面材料。微藻的运动性还激发了生物杂化机器人的发展,其中药物分子可通过非共价键吸附结合至微藻表面,并通过精确控制其运动轨迹将药物输送到目标区域。此外,微藻的自发荧光、趋光性和生物物质生产特性可以被整合到具有多种功能的新型生物杂化材料的设计中;通过基因工程改造的微藻可以赋予生物杂化材料新的特性,如特异性细胞靶向能力和从藻类细胞中局部释放重组蛋白。这些技术有望促进微藻基生物杂化材料(MBBM)在多个生物医学领域的临床应用。本文总结了MBBM的制造、生理学和运动能力;然后,回顾了MBBM近年来在生物医学领域的典型应用报道;最后,对MBBM的挑战和未来前景进行了讨论。

© 2023 THE AUTHORS. Published by Elsevier LTD on behalf of Chinese Academy of Engineering and Higher Education Press Limited Company. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

1. 引言

微藻通常被定义为一组生活在水生(海洋和淡水)和陆地环境中的单细胞光合微生物[1]。迄今为止,已经报道了3000多种微藻。微藻可以利用叶绿素a,通过光合作用将二氧化碳转化为多种生物活性化合物,且微藻固定二氧化碳的效率比陆生植物高约10倍。它们的天然生物活性化合物包括氨基酸、蛋白质、脂质、多糖和类胡萝卜素[2–3]。在海洋中,微藻因生长繁殖快、能量需求低,对植物生物量的贡献最大[4]。

微藻基生物制品已广泛用于辅助各种人类活动[5–10]。它们的代谢活动和产物在食品生产、生物燃料、污水处理、生物制药工业和生物医学治疗等各个领域具有广泛的应用[1,11–19]。然而,它们作为活性生物有机体在生物医学领域的应用直到最近几年才引起人们的重视。

随着生物材料的快速发展,纳米生物界面对生物材料的性能起着至关重要的作用,对含有生物组分的生物杂化材料的研究日益增加。与传统材料相比,含有活性生物体的生物杂化材料在许多方面具有明显的优势,特别是在生物医学应用方面。这些优势包括:①显著提高生物相容性

* Corresponding author.

E-mail address: dong@inano.au.dk (M. Dong).

These authors contributed equally to this work.

2095-8099/© 2023 THE AUTHORS. Published by Elsevier LTD on behalf of Chinese Academy of Engineering and Higher Education Press Limited Company. This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

英文原文: *Engineering* 2023, 24(5): 102–113

引用本文: Zhongyang Zhang, Yumeng Chen, Lasse Hyldgaard Klausen, Sebastian Amland Skaanvik, Dan Wang, Jianfeng Chen, Mingdong Dong. The Rational Design and Development of Microalgae-Based Biohybrid Materials for Biomedical Applications. *Engineering*, <https://doi.org/10.1016/j.eng.2022.09.016>

和生物降解性[20–23]；②在外部环境中形成自然有效的功能性再生产系统，这些系统迄今为止是基本的人工合成元素所无法模仿的。此外，这些基于活性生物体的材料可以通过操纵生物体的空间位移和优化其结构来促进生物功能的应用。据报道，包括心肌细胞、骨骼肌和微生物（如细菌）在内的活细胞有望被整合到生物混合材料中[20, 22, 24]。此外，将微藻巧妙地整合到天然或人工生物材料中，用于各种生物医学应用的报道也在逐渐增加。在过去的10年中，由微藻和生物材料组成的微藻基生物杂化材料（MBBM）在解决肿瘤治疗、组织重建、药物输送等一系列医学挑战方面显示出巨大的潜力。

微藻是能够产生氧气、多种代谢物和自发荧光的多功能活体单细胞生物工厂。这些自然活动可以被整合到MBBM的设计中，参与各种生物医学应用。此外，鞭毛藻的自驱动能力可以使精心设计的MBBM作为优秀的药物分子运输载体，如用于癌症治疗[25–26]。在此，本文回顾了MBBM的发展背景，并总结了它们的制造、生物生理学和动力，以及在生物医学领域的几个实际应用（图1）。最后，对该领域的挑战和前景进行了讨论，描绘了MBBM的未来发展方向。

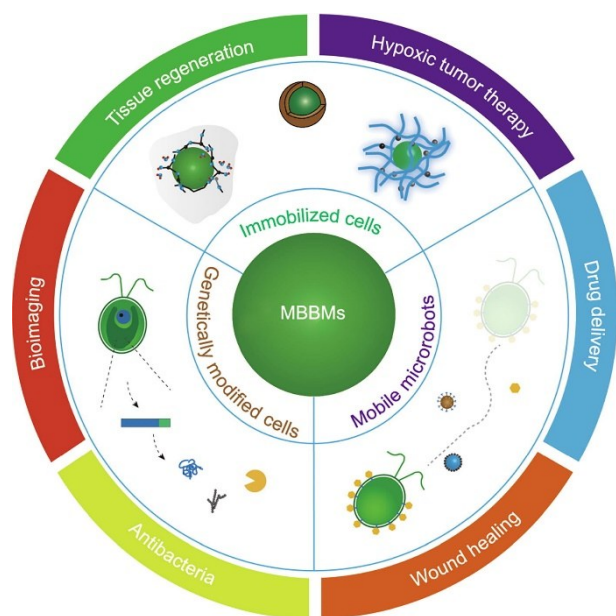


图1. MBBM的设计及其多种生物医学应用。

2. 微藻物质在生物医学中的常规应用

生物物质是来源于植物（包括藻类）和动物的有机物质[27]。微藻生物物质因种类繁多、生长迅速、工业生产成本低等特点，已广泛应用于人类的多种生产活动中。但迄今

为止，在生物医学应用中，关于微藻物质在生物杂化材料中整合的报道还较少。例如，小球藻（*Chlorella vulgaris*, *C. vulgaris*）提取物CVE-A是一组水溶性和高分子量的蛋白质、碳水化合物和核酸组分。有报道称，通过腹腔、静脉或皮下给药CVE-A预处理后，腹腔感染大肠杆菌的小鼠的存活率显著提高，这可以从小鼠脾脏中消除的细菌数量的增加得到证明[28]。预给药CVE-A可增强中性粒细胞的活性，促进超氧化物的产生，从而更有效地杀死感染部位的细菌。肠屏障损害是梗阻性黄疸内毒素血症发病的重要机制。研究发现小球藻提取物可降低胆管结扎后大鼠肠道氧化应激反应引发的细菌易位和丙二醛活性，从而揭示了小球藻对肠黏膜脂质过氧化和绒毛萎缩的正向调节作用[29]。

近年来，微藻物质作为一种生物活性填料被广泛应用于再生医学的生物支架中。通过静电纺丝制备的纳米纤维支架具有类似于细胞外基质（ECM）的力学和结构特征，从而可以实现对其自然功能的模仿。因此，它们已被广泛用于各种生物医学应用的研究[30–34]。螺旋藻（*Spirulina* sp.）是一种蓝绿色微藻，由于其生物活性化合物具有抗氧化、抗炎等治疗功能，已被开发为潜在的药物来源[35–36]。通过静电纺丝将螺旋藻物质与聚合物结合到生物相容性纳米纤维中，可以构建出高孔隙率、亲水性、大表面积的多功能支架，具有更优异的支持细胞黏附和增殖的能力。de Morais等[37]通过静电纺丝技术开发了一种高多孔纤维无纺布支架，其中螺旋藻LEB 18物质被用作聚乙烯氧化物内的生物填料。通过优化生物杂化溶液的黏度和导电性，制备了纳米纤维支架（直径约110 nm），生物物质浓度高达67%（质量分数）。这些生物杂化纤维支架具有高生物物质含量的ECM仿生结构，具有良好的组织工程应用前景。

利用静电纺丝法将螺旋藻提取物制备成丝素基纳米纤维时，发现螺旋藻提取物的浓度对纳米纤维的形态有很大的影响。由此获得的复合纤维材料具有更低的细胞毒性，支持成纤维细胞和人脐静脉内皮细胞的黏附和生长，并显著抑制凝血或抗血栓性，表明这些支架在血管再生治疗中具有潜在的应用前景[38]。同样，由聚-D,L-乳酸（PDL-LA）和螺旋藻（*Arthrospira*）提取物组成的生物杂化纳米纤维被发现对干细胞没有毒性，甚至比其本身更能促进细胞活力和黏附，这可能归因于生物物质中的几种生物活性成分[39]。在培养基中添加螺旋藻提取物可促进大鼠初代星形胶质细胞的生长和代谢；然而，当它们在静电纺聚己内酯（PCL）纳米纤维内结合时，星形胶质细胞的生物活性降低，但没有引起明显的毒性[40]。因此有理由推测，这

可能是由于在培养过程中，包埋的提取液并没有有效地从PCL纳米纤维中释放出来。

综上所述，尽管需要对某些特定应用中的实施策略进行进一步研究，但微藻生物质的几种应用的治疗效果已经得到证实，并显示出其生物医学相关的前景。对这方面感兴趣的读者可以查看之前发表的关于微藻生物活性化合物在生物医学应用方面的综述[15,41]，而本文将继续讨论活体微藻细胞在MBBM中的整合。

3. MBBM中活体微藻的整合

在过去的10年中，越来越多的研究强调了含有活体微藻的生物杂化材料在生物医学领域的多种应用的优越性。与传统生物材料相比，MBBM可以有效地利用微藻的生理特性而表现出独特的优势，如光合活性、自身荧光和自动力学活性。例如，在基于活性微藻的光合组织支架材料中，藻类细胞可以提供局部氧气以支持哺乳动物细胞的生长。从这个意义上说，微藻光合作用提供的氧气可以改变肿瘤血管化不良引起的缺氧状况。大多数微藻可以通过叶绿体或通过营养细胞、囊泡和细胞棘的积累表现出绿色的自发荧光，此类微藻包括鞭毛藻、硅藻、蓝藻和绿藻[42]。此外，微藻中的叶绿素也可以表现出红色自发荧光[43-44]。这些形式的自发荧光可以作为细胞活力和生物相容性的指标，或者可以通过光谱监测光合色素的变化为大多数微藻生物杂化系统的追踪提供足够的信号。此外，鞭毛藻的自发运动可以赋予MBBM复杂的能动性，用于如药物输送等方面的应用。本文根据其运动性（即固定化细胞或移动微型机器人）进行分类，总结了活体微藻是如何被纳入MBBM的，并总结了这两类复合材料在生物医学中的应用。

3.1. 固定化细胞

由于大多数微藻是悬浮型微生物，因此将微藻细胞适当固定在固体表面可以减少对生长空间和培养基的占用，并使细胞能够被重复使用，从而进行可持续的产品收集。此外，与游离细胞相比，固定化微藻可以避免不可逆的畸变。将活体微藻包封在三维（3D）基质（如聚合物材料或无机球体）中是细胞固定的主要方法[45]。值得一提的是，为了保证固定化微藻的光合活性，基质一般应具有一定的透明度，以创造一个照明环境。通过这种方式，固定化微藻细胞可以保持其天然的生物活性。本节总结了用于进行MBBM杂化的各种封装方法，以及它们在生物医学领域的用途。

3.1.1. 微藻细胞包封的溶胶-凝胶法

溶胶-凝胶法是制备二氧化硅基质最常用的技术之一，也被用于将微藻细胞包裹在基质中（图2）[46-48]。微藻细胞在多孔二氧化硅基质中的固定化有助于保持微藻细胞的结构稳定性；然而，对溶胶-凝胶过程的进一步优化对提高MBBM系统中的细胞活力仍然是必要的。目前已经开发了几种可行的方法来优化包封过程，包括：①保持部分水化环境；②选择特定的前体（如水玻璃/胶体二氧化硅）来促进基质的生物相容性[49-53]；③添加甘油，通过调节MBBM的孔隙度和孔连通性来降低嵌入细胞的渗透应力[46,54]。到目前为止，多孔且透光的二氧化硅基质已被成功地用于包封普通小球藻、聚球藻（*Synechococcus*）、氰化钙藻（*Caldarium cyanidium*）、集胞藻（*Synechocystis*）、紫球藻（*Porphyridium purpureum*）和莱茵衣藻（*C. reinhardtii*）细胞，并在数天至数周的时间内保持了良好的细胞活力。简单来说，将收集的微藻与制备好的硅酸盐溶液混合，然后进行缩聚，这是这类方法的一般制备过程。该技术已被进一步应用于开发光氧生物反应器，用于去除CO₂、释放O₂/H₂O₂或荧光成像[46,49-51,53-58]。

另外，由以微藻细胞为核心的二氧化硅基杂化壳组成的核壳结构提供了另一种实现封装的途径。例如，通过改进的层层（LbL）自组装方法，在集胞藻属*Synechocystis* sp. 菌株PCC 6803细胞表面涂覆由生物相容性多胺、聚二烯基二甲基氯化铵（PDADMAC）和聚苯乙烯磺酸盐组成的多层膜。这种原位硅化似乎促进了蓝藻在强光条件下的光合作用和生物质生产[59]。在另一项研究中，使用海藻酸盐和矿化多孔二氧化硅的混合物，通过带电二氧化硅表面聚合阳离子的冷凝，包裹蓝藻菌株*Dunaliella tertiolecta*。这一过程产生了一种半渗透性的壳，其中丰富的PDADMAC作为催化剂和絮凝剂，用于硅溶胶的冷凝。藻酸盐-二氧化硅混合基质中包裹的蓝藻表现出极佳的生存能力（超过13个月）和高生物活性，表明未来可利用蓝藻制备固定的生物质光生物反应器[47]。

最近，一种微藻凝胶贴片被开发出来，以解决糖尿病皮肤伤口的慢性愈合。在这个贴片中，长聚球菌PCC 7942细胞被包裹在毫米级海藻酸盐水凝胶中，通过光合作用和呼吸作用在伤口区域提供O₂和CO₂[图2（f）]。由于微藻溶解氧的渗透能力更强，微藻凝胶贴片提供的供氧量比局部气态氧气高100倍以上。因此，与未处理的对照组相比，含微藻的贴片更有效地促进了成纤维细胞增殖和血管生成，促使糖尿病小鼠模型的伤口愈合更快和皮肤移植存活率更高[图2（g）][48]。这些结果证明了在凝胶基质中封装活体微藻细胞的可能性，这为构建生物医学应用

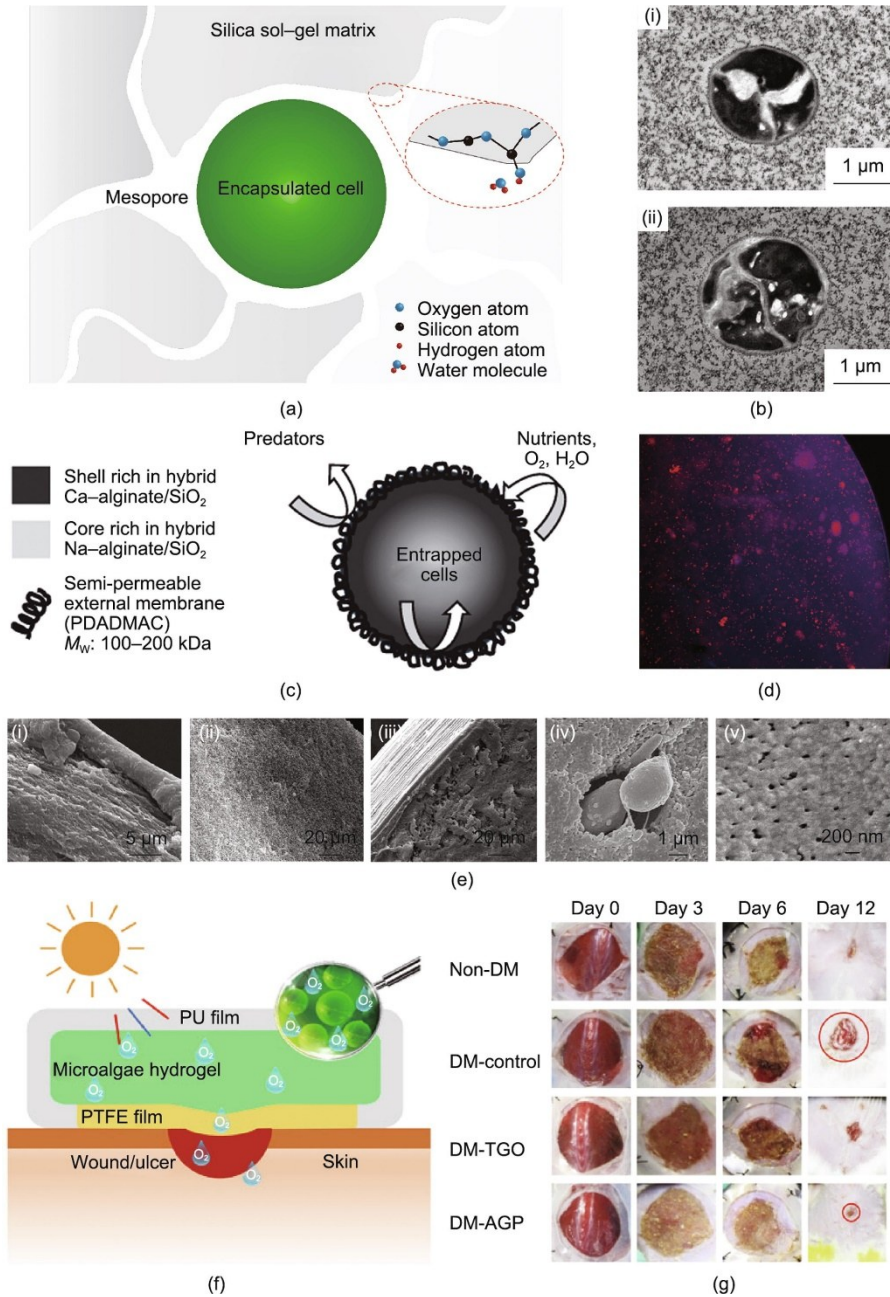


图2. 微藻细胞在溶胶-凝胶材料中的包埋。(a) 微藻细胞被硅胶包埋示意图。(b) 硅胶固定微藻细胞的透射电镜图像。(c) 包覆微藻藻酸盐-二氧化硅复合微球结构示意图。(d) 生物杂化微球的荧光图像：红色荧光表示活体微藻叶绿素中的自身荧光，紫色荧光探针2-(4-吡啶基)-5-[4-(2-二甲氨基乙基-氨基氨基甲酰基)甲氧基]苯基]恶唑 (PDMPPO) 标记二氧化硅。(e) 有 (i) 和没有 (ii) 聚二烯基二甲基氯化铵 (PDADMAC) 的海藻酸盐-硅杂化珠扫描电子显微镜 (SEM) 图像。含有微藻细胞复合珠的远端层 [(iii)、(v)] 和核心 (iv)。(f) 微藻凝胶贴片的结构示意图和慢性伤口愈合时溶解氧的释放。(g) 术后不同时间点不同处理下创面代表性照片。PU：聚氨酯；PTFE：聚四氟乙烯；DM：糖尿病小鼠；TGO：局部气态氧；AGP：海藻凝胶贴片。(b) 经许可转载自参考文献[46]；(c) ~ (e) 经许可转载自参考文献[47]；(f)、(g) 经许可转载自参考文献[48]。

的光合生物杂化材料带来了希望。

3.1.1.2. 在多孔支架上浸涂微藻细胞

另一种固定微藻细胞的策略是在微藻悬浮培养液中直接浸入多孔支架作为底物[57–58,60]。通过这种方法，活体微藻已被成功固定在基于多种生物相容性聚合物制成的静电纺丝纤维上，这些聚合物包括壳聚糖、聚砜 (PSU)、

聚酰胺、聚丙烯腈和聚丙烯[61–63]。例如，通过带正电荷的壳聚糖链与带负电荷的壳聚糖表面之间的静电相互作用，将普通小球藻细胞成功地固定多孔壳聚糖纳米纤维膜上[64]。在另一种情况下，*C. reinhardtii* 细胞通过物理吸收被成功包裹，并在 PSU 纳米纤维网 (PSU-NFW) [图3 (a) ~ (e)] [61] 中生长良好。电纺纤维膜与微藻的结合可以充分利用纤维网络的高孔隙度和 ECM 模拟结构，

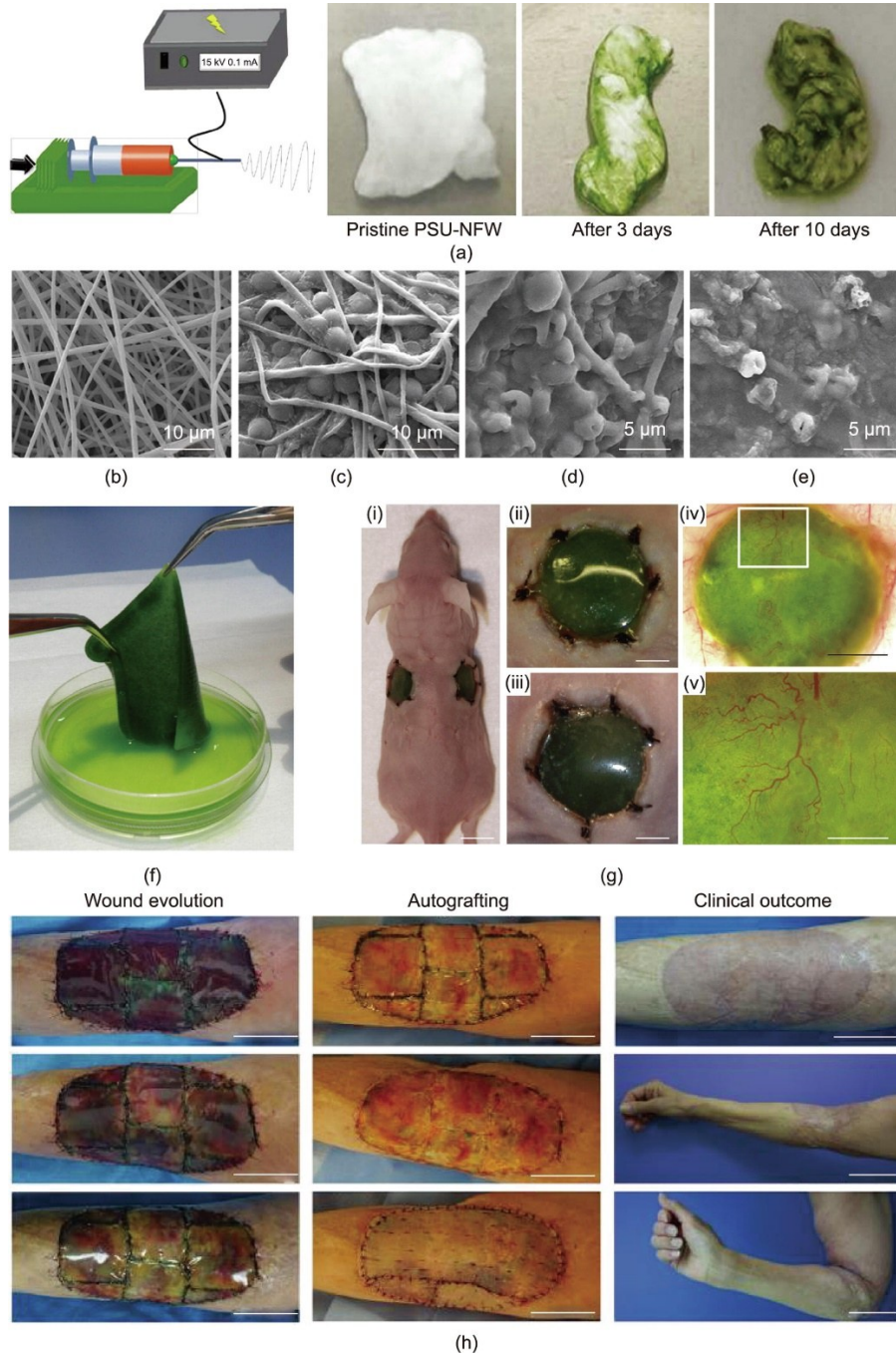


图3. 微藻在多孔生物材料中的捕获。(a) 静电纺丝制备的 PSU-NFW。PSU-NFW 在微藻溶液中孵育数天后，观察到显著的颜色变化，以允许足够的黏附。(b) ~ (e) 在活性黑 5 (d) 和活性蓝 221 (e) 脱色 14 天后，PSU-NFW 不含微藻 (b) 和附着微藻 (c)，以及带有微藻的生物杂化 PSU-NFW 的 SEM 图像。(f) 微藻光合支架的代表性照片。(g) 含微藻支架在小鼠体内植入的照片：(i) 光合支架植入小鼠双侧全皮肤缺损后 5 天仍保持绿色；(ii)、(iii) 两侧创面无明显感染或炎症；(iv)、(v) 支架明显促进缺损区域的血管化。比例尺：(i) 1 cm；(ii) ~ (iv) 4 mm；(v) 1 mm。(h) 患者在植入后第 1 天、7 天和 13 天（从上到下）的伤口演变情况；第 21 天行自体厚皮移植；第 90 天的临床结果。比例尺：创面演变、自体移植、临床结果顶部照片的比例尺为 5 cm；临床结果中间和底部照片的比例尺为 10 cm。(a) ~ (e) 经许可转载自参考文献[61]；(f)、(g) 经许可转载自参考文献[56]；(c) ~ (e) 经许可转载自参考文献[47]；(f)、(g) 经许可转载自参考文献[48]。

这些特点有利于对微藻的捕获和固定。将微藻 *C. reinhardtii* 悬浮液与纤维蛋白原混合，可用于微藻在商业生物支架（即综合基质单层支架）中的培养；添加纤维蛋白保证了移植后 *C. reinhardtii* 细胞在目标位置的固定。因此，获得了一种名为“HULK”的新型微藻光合生物材料，用

于实现局部供氧[图 3 (f) 和 (g)] [56–57]。在此之后，可移植 MBBM 用于修复小鼠全皮肤缺损，这种材料在微藻细胞存活的 5 天内，未引起明显的炎症反应；更重要的是，它们在体内促进了小鼠细胞嵌合组织的产生[56]。这些结果表明，具有特定设计的 MBBM 可用于开发自养组

织工程（如伤口愈合、组织修复）的光合生物支架，其目的是通过微藻光合作用提供氧气，以抵消工程组织中血管化不良引起的缺氧状况。基于此，一项评估这种基于 *C. reinhardtii* 的支架在全层皮肤伤口愈合中的安全性和治疗效果的早期一期临床试验[图3 (h)] [65]表明，在术后90天的跟踪观察中，这种光合作用植入物可以促进创面全皮肤组织再生，而且无明显的免疫反应。

3.1.3. 微藻细胞包封的生物打印技术

3D打印是近几十年来发展起来的一项新技术，通过一层一层精确地沉积生物相容性材料来制备产品。该技术已被证明在组织工程中具有巨大的潜力[66–68]。通过优化混合生物墨水（如海藻酸盐凝胶）的配方，3D生物打印可以实现生物混合材料的空间定向放置，同时使被封装的细胞保持活性。例如，一种由海藻酸盐、明胶前体和羟基磷灰石组成的墨水被开发用于生物打印，并使嵌入的人间充质干细胞在制备后三天的存活率高达85% [62]。同样，将活的微藻（*C. vulgaris*）细胞混合在海藻酸盐水凝胶中，并通过非接触式微剂量系统以黏性纳米级钠滴的形式印刷在玻璃基板上；随后是与Ca²⁺离子或氨基功能化硅溶胶的凝胶化过程[69]。固定的细胞在8周内保持良好的生物光活性。也有报道称，海藻酸盐基支架内包埋的 *C. reinhardtii* 在3D生物打印后可以存活并维持12天的正常生长。此外，人类骨肉瘤细胞系（SaOS-2）被添加到生物3D打印中，通过使用多通道打印的方式，创建人源细胞与藻类细胞共培养的组织结构。其中微藻细胞被放置在接近人类SaOS-2细胞的位置，该技术证明了微藻可以参与提供氧气，以及运输生物医学治疗的代谢物[图4 (a) ~ (c)] [70]。Trampe等[71]进一步扩展了这种共培养支架的功能，将发光光学传感器纳米颗粒添加到生物墨水中，使O₂浓度可视化，实现对构建模块中的O₂积累的时空监测[图4 (d) ~ (g)]。

3.1.4. 纳米层包裹微藻细胞

用纳米层包裹微藻细胞可以稳定细胞，并可持续利用这些细胞的生物活性，同时通过定制涂层赋予复合结构额外的功能。例如，Wahid等[72]通过涡流流体装置（VFD）分两步（多层石墨烯片的剥离，与水中微藻细胞的复合）成功地实现了生物杂化。与游离小球藻细胞和单独石墨烯相比，制备的MBBM对初始硝酸盐含量的去除率更高。此外，利用相同的VFD系统，通过在聚乙烯吡咯烷酮（PVP）基体中添加磁性纳米颗粒，开发了一种类似的生物杂化材料。该功能性MBBM被用于外磁场下硝酸盐的

去除和分离[图5 (a)] [72–74]。

在生物医学领域，一种巧妙的设计是将哺乳动物细胞膜作为一层隐身层来包裹微藻细胞，使功能化的微藻可以有效靶向肿瘤细胞[图5 (b) ~ (e)]。该研究利用红细胞膜（RBCM）包裹的小球藻细胞靶向肿瘤组织，在红光照射下，通过原位光合作用缓解其缺氧环境。结果，缺氧肿瘤细胞对放射治疗的抵抗力明显降低。此外，经过X射线处理的死亡微藻细胞释放的叶绿素在650 nm激光照射下产生活性氧，通过光动力治疗进一步促进细胞凋亡[25]。

3.2. 微型移动机器人

近几十年来，生物杂化材料逐渐引起人们对微型机器人设计的关注，其中嵌入的生物成分有望作为生物活性填料，可以通过生物能量而不是通过磁场或光等外部刺激来驱动微型机器人的运动[24,75–78]。特别是基于微藻的生物杂化机器人（MBBR）在设计可运输的光合作用工厂和定向负载传递方面表现出独特的优势。首先，微藻细胞（如 *C. reinhardtii*）的表面可以实现功能化，例如，通过非共价相互作用加载纳米颗粒或刺激响应的聚电解质（PE）[24,26,79–81]。其次，MBBR良好的生物相容性和生物降解性使其能够高效地将货物运输到细胞质中，并在生物医学应用的生理环境中得到进一步降解[76,80]。人们普遍认为，微藻（如 *C. reinhardtii*）细胞的细胞壁结构是由多种糖蛋白通过共价或非共价相互作用构建而成，在外表面留下丰富的4-羟基脯氨酸（4-HP）残基。因此，首先用仿生4-HP多肽装饰货物，通过非共价相互作用与微藻细胞表面结合[79]。进一步的研究表明，由于微藻富含4-HP的表面带负电荷的特性，因此微藻可能倾向于通过静电相互作用吸引带正电荷的分子或纳米/微材料。这种非共价相互作用可用于避免在生物杂化过程中对微生物的天然生物活性和运动性造成损害。带有磁性聚苯乙烯（PS）微粒的带正电荷的PE [80]、含有抗生素万古霉素（一种高活性糖肽）的杂化微珠[81]、由LbL组装的磁性氧化铁纳米粒子修饰的PS/阳离子PDADMAC微珠[24]和壳聚糖包覆的氧化铁微珠[26]分别通过这种生物界面相互作用与 *C. reinhardtii* 细胞进行生物杂化（图6）[24,26,79–80]。通过可光裂解连接基团可以将化疗药物偶联到生物杂化载体上，从而将光降解介导的负载药物释放，这种方式被证明是一种有效的按需药物递送方式[26,79]。

理论上，微藻细胞的所有趋化性、趋光性、地向性和鞭毛摆动行为都可以用于设计微型机器人驱动[82]。2005年，Weibel等[79]首次验证并实现了由具有可控运动模式

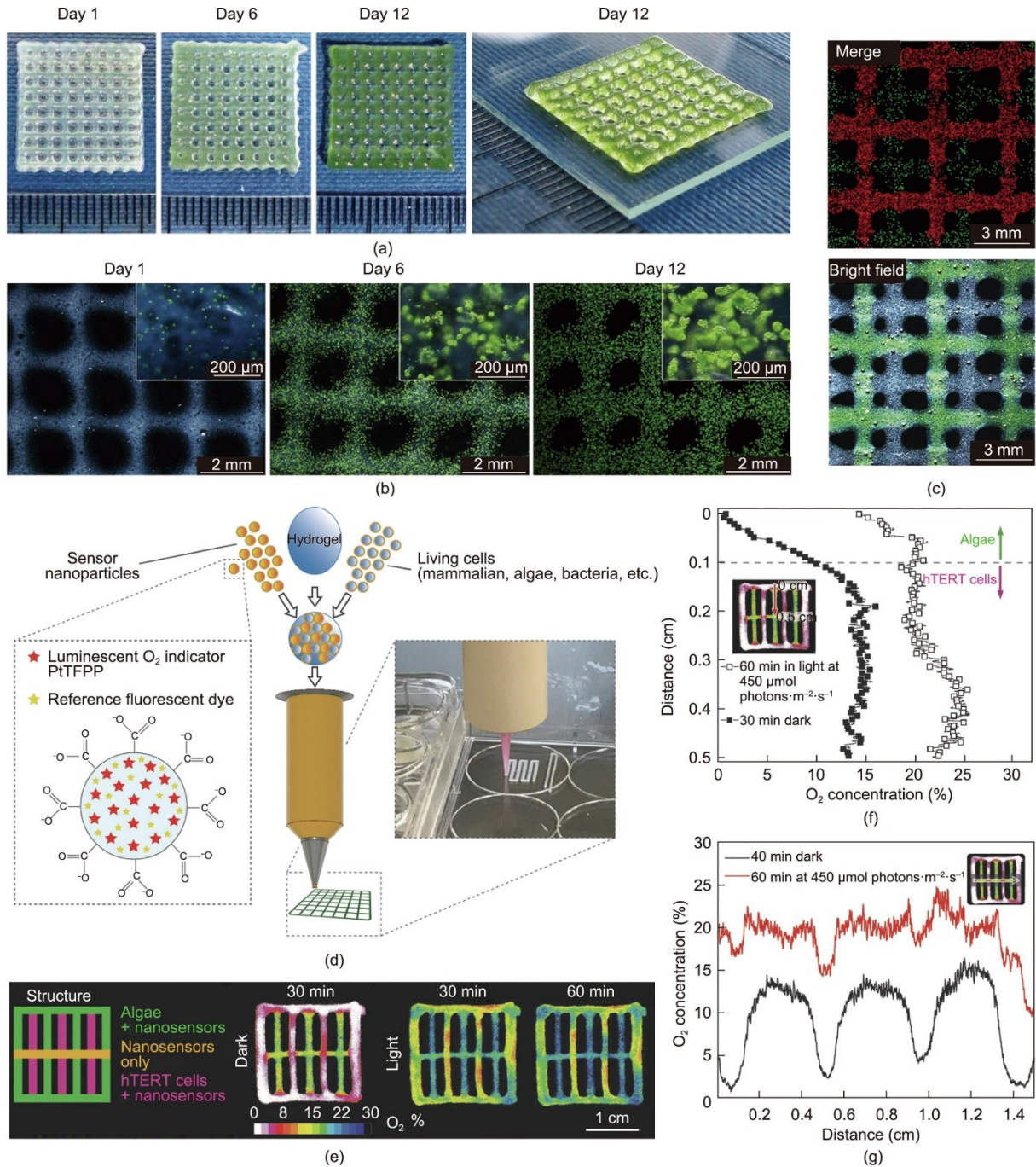


图 4. 通过 3D 生物打印工艺固定化微藻生产氧气。(a) 利用海藻酸盐生物链通过 3D 生物打印制备的四层构建体；(b) 培养 12 d 时相应的显微图像。(c) 活体微藻与人 SaOS-2 细胞共培养的 3D 生物打印构建体的荧光和亮场图像；微藻细胞由叶绿素的红色自身荧光表示，SaOS-2 被钙黄蛋白染为绿色。(d) 3D 生物打印的多组分示意图。例如，含有生物墨水的活细胞，补充了对 O₂ 敏感的纳米颗粒和参考荧光染料。(e) 多层结构示意图，每层由各种成分组成：有/没有微藻或哺乳动物细胞的传感纳米颗粒。时空动态图像显示了在光照或黑暗条件下 O₂ 在不同结构链中的分布。(f)、(g) 在黑暗或光照后多层结构中哺乳动物细胞+纳米颗粒链 (f) 和仅纳米颗粒链 (g) 的 O₂ 浓度分布图。PtTFPP：铂(II)中位(2,3,4,5,6-五氟)苯基卟啉；hTERT：人类端粒酶逆转录酶。(a) ~ (c) 经许可转载自参考文献[70]；(d) ~ (g) 经许可转载自参考文献[71]。

的整个活体微生物组成的 MBBR。从那时起，研究者一直在努力研究 MBBR 的各种运动介导或装载货物方式以促进其发展。

3.2.1. 外部磁场驱动的 MBBR

含有磁性物质的 MBBR 被认为是靶向递送治疗和显

像剂的有效工具，原因在于它们的自发荧光特性、包含超顺磁性的磁性成分，以及可在外部磁场的远程控制下高度精确的运动能力[24]。例如，利用磁性 (Fe₃O₄) 纳米颗粒修饰的螺旋形螺旋藻微游泳体被开发为可生物降解的药物载体和显像剂，对癌细胞具有选择性的细胞毒性[75-76]。

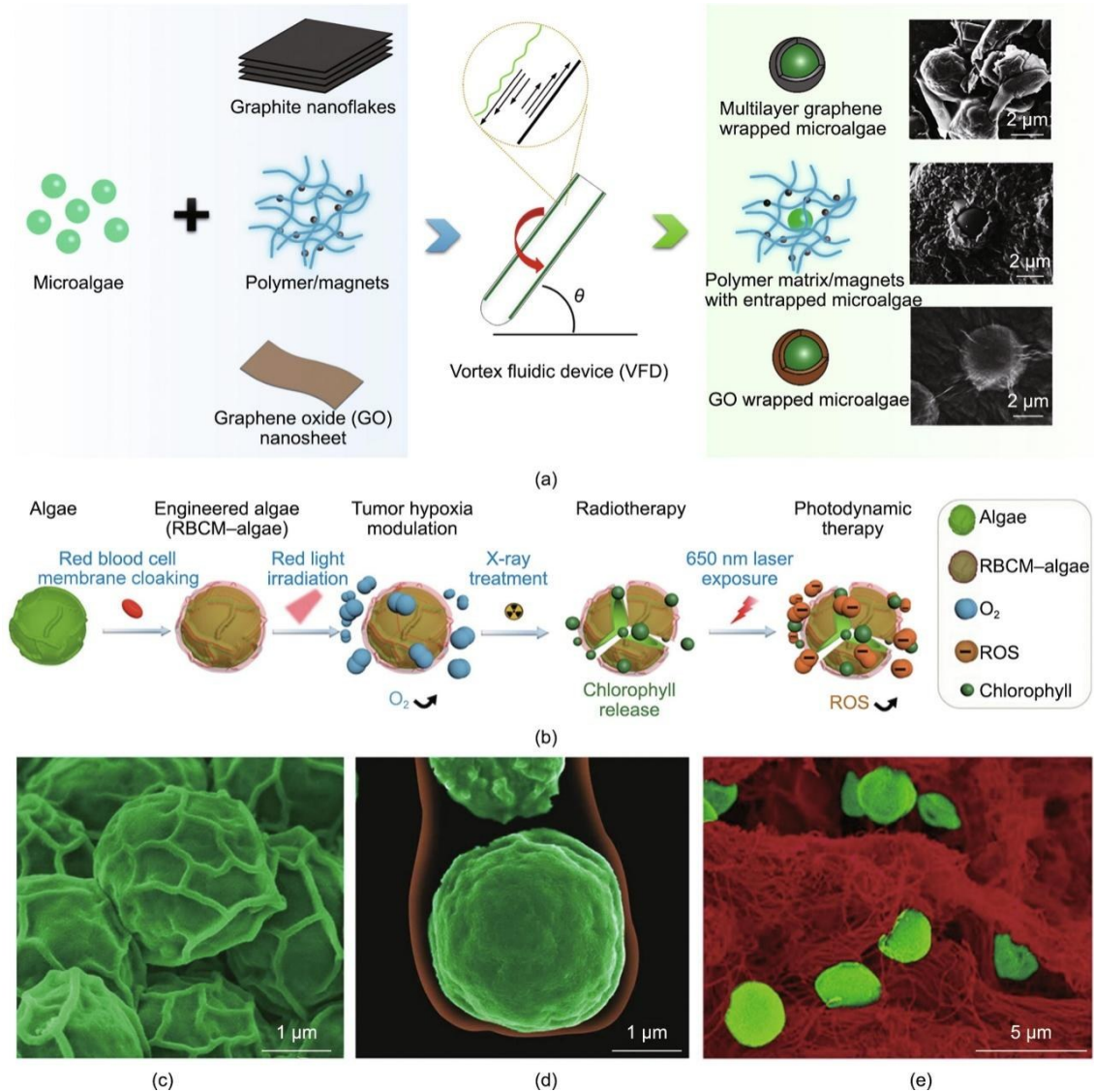


图5. 用纳米层包裹微藻细胞。(a) 利用VFD平台将小球藻细胞与石墨烯/氧化石墨烯/PVP磁性材料进行生物杂化的制备示意图和相应的SEM图像。(b) 红细胞膜包膜工程微藻的制备过程, 以及通过在外部光调制下产生氧气来消除肿瘤微环境中缺氧条件的策略。(c)、(d) 原始藻类和被RBCM包裹的藻类的SEM图像, 其中藻类细胞和RBCM分别为假绿色和假红色。(e) 扫描电镜图像显示, 静脉注射后2 h, RBCM-藻类(假绿色)被运送到肿瘤组织(假红色)。ROS: 活性氧。(a) 经许可转载自参考文献[72-74]; (b) ~ (e) 经许可转载自参考文献[25]。

螺旋藻的自发荧光使微型机器人能够在浅表组织中进行无创跟踪, 而其外磁层则允许通过磁共振成像进行高效的定位[76]。重要的是, 通过保留螺旋藻的手性和螺旋形态, 螺旋藻可以作为进一步磁化的模板, 这对于实现旋转耦合推进(最有潜力的磁驱动方式)非常重要。此外, 这种微游泳体的降解和对癌细胞的细胞毒性依赖于Fe₃O₄外壳的厚度, 可以通过控制浸涂工艺来定制。这种一步磁化策略也在球形的*C. reinhardtii*和椭球状的亚心形四片藻(*Tetraselmis subcorformis*)中得到进一步实现。同样, 可将铽(Tb)作为磁性成分加入基于微藻的微游泳体设计中。Tb³⁺不是被用于形成磁性外壳, 而是被添加到*C. reinhardtii*培养物中并被藻类细胞吸收。结果显示, 制备的

*C. reinhardtii*细胞在响应外部磁场时表现出定向运动。由于藻类细胞固有的自发荧光和内化Tb³⁺的光致发光, 它们也有望用作生物显像剂[77]。

3.2.2. 微藻自主运动驱动的MBBR

鞭毛藻的自主运动通常是通过将液体从头部拉到外表面来实现的。利用这些微藻对光、化学物质或重力的趋向性, 可以触发其运动, 引导MBBR在特定环境中的运动轨迹, 赋予它们潜在的运载药物能力。例如, 当改变微流控芯片中的光信号时, 可以观察到*C. reinhardtii*细胞的定向游动[78]。在无光和有光条件下, 藻类细胞分别表现出明显的随机运动轨迹和光平行运动轨迹; 采用一种新型的藻类制导系统(AGS), 在精确控制的光学制导下, 诱导

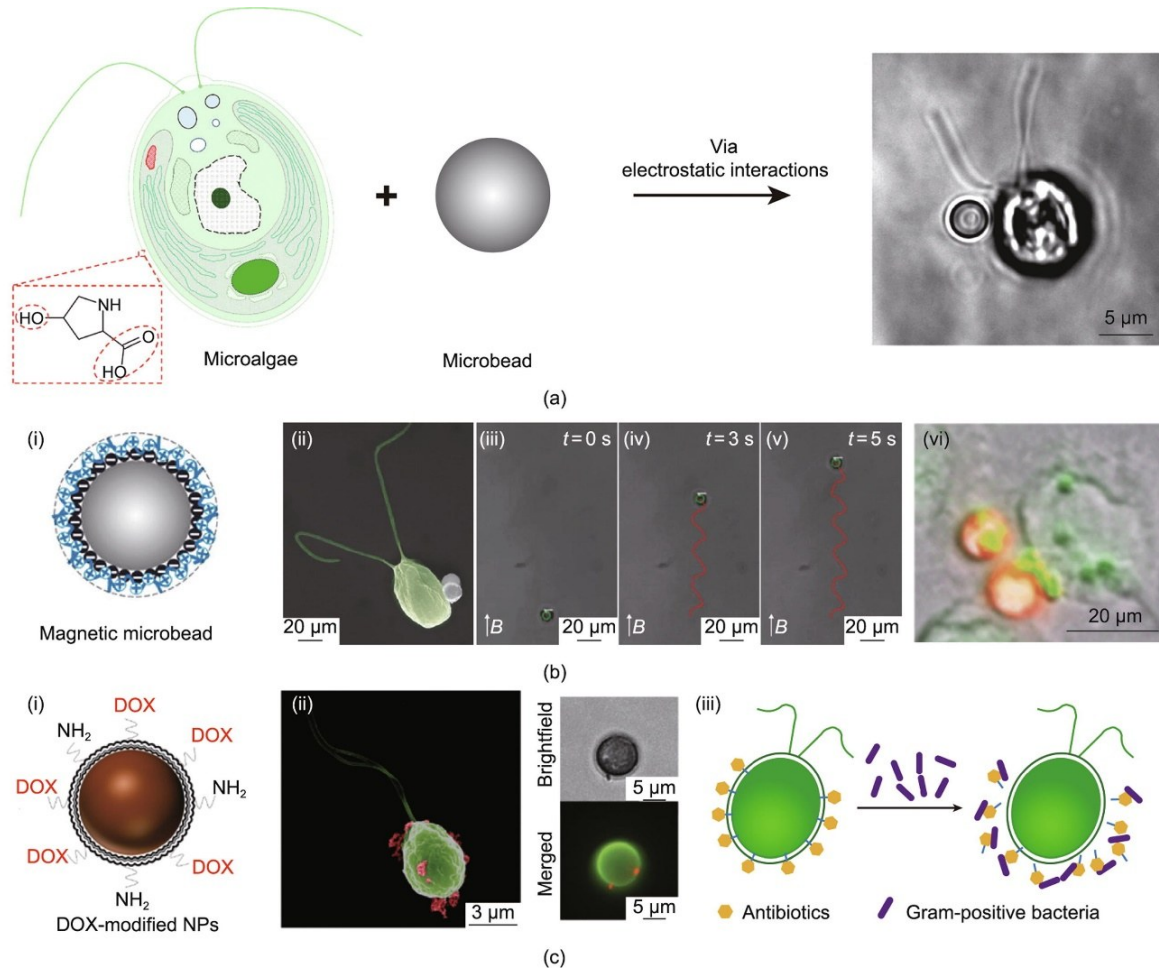


图6. 鞭毛或磁力驱动MBBR原理图。(a) MBBR生成过程示意图。(b) 装载磁性大分子的MBBR可以在超顺磁场中移动 (i) ~ (v), 在24 h内将模型药物[荧光异硫氰酸酯 (FITC)-葡聚糖]运输到HeLa细胞 (vi)。(c) 装载微分子的MBBR, 如壳聚糖包覆的氧化铁纳米颗粒 (i)、(ii), 以及抗生素修饰的微藻杀死革兰氏阳性细菌 (iii) 的过程示意图。DOX: 阿霉素; NP: 纳米颗粒。(a) 经许可转载自参考文献[24,79]; (b) 经许可转载自参考文献[24,80]; (c) 经许可转载自参考文献[26]。

了一个“之”字形/三角形运动。类似地, Yasa等[80]报道了一种由 *C. reinhardtii* 作为驱动器的生物杂化微游泳体。带正电荷的PE壳的磁性PS微粒子通过无创静电相互作用被加载到微藻细胞表面。微游泳体在光照和黑暗条件下均表现出游动能力, 在三维空间的游动速度为 $(135.92 \pm 4.82) \mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$, 而在生物流体中的运动受到高黏度的显著阻碍。尽管超顺磁性PS粒子的存在使微藻的运动速度达到了 $(156.13 \pm 9.66) \mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$, 并在外加磁场的作用下引导了微藻的推进轨迹, 但由于表面结合了微珠, 微藻的运动速度也比自由微藻慢。对加载微珠后 *C. reinhardtii* 游动行为的深入研究发现, 由于附着的货物抑制鞭毛运动, 游动速度下降, 运动模式从线性向前运动转变为螺旋运动[83]。水溶性多糖荧光异硫氰酸酯 (FITC) 右旋糖酐分子作为可见的药物模型, 通过这种微游泳体被成功地转运到宫颈癌细胞 (HeLa) 中[图6 (b) 中的 (vi)] [80]。

尽管通过非共价静电相互作用将微尺度货物装载到微

藻表面的策略很简单[24,80–81], 但这些策略的实际效率远不能令人满意。携带有效载荷的微藻细胞数量有限, 可能是由于细胞与有效载荷的微米级颗粒之间的随机碰撞效率较低。为了克服这一缺点, 研究人员提出了一种分子组装方法, 首先在藻类细胞表面涂上一层薄薄的天然生物活性聚合物 (如壳聚糖) 来增加颗粒或治疗分子的附着[26]。壳聚糖薄层对微藻的生存力和趋光能力具有良好的保护作用。这种生物杂化微游泳体通过可光裂解的连接剂与化疗药物阿霉素结合, 用于按需向肿瘤输送药物[图6 (c) 中的 (i) 和 (ii)]。除了通过静电黏附结合外, 抗生素万古霉素等物质还可以通过低聚羟基脯氨酸锚定物结合到 *C. reinhardtii* 的细胞表面[图6 (c) 中的 (iii)] [81]。然而, 应该注意的是, 可能的内化和细胞毒性会随着货物尺寸的减少或特定功能化而出现, 这可能取决于浓度、孵育时间、微藻细胞密度等。

4. 基因工程编辑微藻

在过去几十年里, 因微藻易于培养和生长迅速, 所以微藻在生物技术研究中的潜力已经得到证明。由于许多微藻物种的全基因组序列已经被揭示, 分子生物学和转化方法, 如类转录活化因子 (TALE) 和有规则间隔的短回文重复序列 (CRISPR) /CRISPR 相关蛋白9 (Cas9) 逐渐被用于微藻的遗传操作, 以提高其收获性、稳定性和营养成分等[84]。基因工程微藻菌株, 如具有截短触角的微藻菌株等已被广泛研究, 主要是为了提高其光合效率和生物燃料产能[85]。此外, 转基因微藻在生物医学应用方面的潜力也得到了探索。从硅藻中提取的纳米多孔生物二氧化硅具有高度多孔结构, 被认为是一种很有前途的治疗药物载体。为了使这种天然的纳米多孔载体具有细胞靶向能力, 采用了一种称为活体硅藻二氧化硅固定化 (LiDSI) 的基因工程方法, 通过在生物二氧化硅表面放置免疫球蛋白 G (IgG) 结合域来修饰假微型海链藻 (*Thalassiosira pseudonana*)。因此, 一种特异性抗体 p75 神经生长因子受体 (p75NTR) 被结合到生物二氧化硅载体上, 并在体外和体内证明了载体装载化疗药物的靶向能力和治疗效果[86]。许多重组蛋白, 如生长因子、细胞因子和其他生物活性分子, 现在可以通过成熟的方法在微藻中生产。因此, 除了有效地提供氧气供应外, 基因工程活体微藻细胞液可以表达某些重组生长因子或治疗性分子, 且已被证明在多种生物医学应用中为促进 MBBM 的治疗效果提供化合物补充。例如, 通过加入表达血管生成重组蛋白 (即血管内皮生长因子, VEGF) 的转基因 *C. reinhardtii*, 构建了能够加速血管生成的功能化 MBBM, 并显示出增强皮肤组织再生的希望[55]。同样, 在缝合线表面负载转基因 *C. reinhardtii* 微藻细胞, 产生了新型多功能光合缝合线, 可以在伤口部位局部释放氧气和人类生长因子[87]。

考虑宿主对微藻细胞可能产生的免疫反应, 通过适当设计 MBBM, 将这些异源细胞很好地包裹在生物相容性生物材料中, 可以形成成功的免疫逃逸。这种将基因工程微藻结合到生物材料或医疗材料中的创新方法, 为更有效的治疗开辟了一条新途径。微藻基因工程在对部分菌株进行基因组测序及基因操作方面仍存在局限性[88], 在通过细胞壁传递遗传物质方面仍面临困难[89]。转基因藻类的稳定性 (尤其是当它们被嵌入生物材料中时) 是另一个值得关注的问题。此外, 对这类微藻的体内安全性必须仔细评估, 这需要深入了解和详细表征外源基因的表达, 以便在临床使用中进行精确调节。虽然这些基因工程藻类细胞的 MBBM 概念在被转化为临床之前仍有待证实, 但正在

进行的研究表明, 这种组合可能会促进基因工程藻类在多种生物医学领域的临床应用, 包括先进的药物/疫苗输送系统、组织工程和肿瘤治疗。

5. 结论与展望

从微藻生物质中提取的细胞毒素、抗生素、抗氧化剂、抗真菌剂、抗炎剂、抗寄生虫剂等天然活性化合物, 在生物医学的初始探索阶段就被用作预防和治疗性营养物质[90-91]。然而, 近几十年来, 越来越多的注意力逐渐集中在探索拓展由活体微藻细胞和生物相容性纳米材料组成的生物杂化材料在生物医学中的应用。这些应用包括离子吸附、氧气生产、按需药物输送、组织修复、体内示踪元素等。根据是否具有运动能力, 这些已开发的 MBBM 可以分为两大类, 即针对各种应用的固定化或可运动材料。许多生物相容性和可生物降解材料[如溶胶-凝胶、PS、PVP、四甲基氧基硅烷 (TMOS) /四 (2-羟乙基) 正硅酸盐 (THEOS)、丝素蛋白和石墨烯]都可以作为微藻黏附和固定化的支撑底物, 并且可以通过各种制造技术实现整合。基于 MBBM 的微型机器人的运动受到趋化、趋光、地向、鞭毛行为或外部磁场的驱动, 具有良好的货物运输运动性。因此, 它们为未来生物医学治疗方法的制定提供了希望。

尽管微藻越来越多地用于开发具有生物医学应用前景的功能性生物杂化材料, 但必须充分研究活体微藻在人体复杂生理环境中可能产生的毒素或代谢物。光合作用能力被认为是基于活体微藻的 MBBM 的独特特性之一, 并且可以在一些应用中引入更多的功能性, 如逆转肿瘤中的缺氧环境。然而, 这种能力在深层组织情况下可能会受到阻碍, 因为光在各种生物组织中的穿透深度是有限的。因此, 未来的设计, 可以考虑结合可以提供启动光合作用所需光源的转换发光材料或与无线发光装置集成。此外, 微藻的微米尺度难以穿透生物屏障, 限制了其作为药物载体的应用。此外, 必须深入了解疾病发病机制和微藻生物活性之间的相关性, 才能实现治疗策略的生物杂化设计。为了改进 MBBM 的功能设计和探索其生物医学应用, 广泛的体外和体内研究亦不可或缺。

致谢

本工作得到了欧盟地平线 2020 研究、创新和科学专家组计划 (MNR4SCell project, 734174), 以及欧盟地平线

2020 研究与创新计划 (SENTINEL project, 12398) 的资助。

Compliance with ethics guidelines

Zhongyang Zhang, Yumeng Chen, Lasse Hyldgaard Klausen, Sebastian Amland Skaanvik, Dan Wang, Jianfeng Chen, and Mingdong Dong declare that they have no conflict of interest or financial conflicts to disclose.

References

- [1] Chisti Y. Microalgae as sustainable cell factories. *Environ Eng Manag J* 2006; 5(3):261–74.
- [2] Asha V, Bhajantri NU, Nagabhushan P. GLCM-based chi-square histogram distance for automatic detection of defects on patterned textures. *Int J Comput Vis Robot* 2011;2(4):302–13.
- [3] Mulbry W, Kondrad S, Pizarro C, Kebede-Westhead E. Treatment of dairy manure effluent using freshwater algae: algal productivity and recovery of manure nutrients using pilot-scale algal turf scrubbers. *Bioresour Technol* 2008; 99(17):8137–42.
- [4] Kathiresan K, Duraisamy A. Current issue of marine microbiology. *ENVIS Newsl* 2006;4:3–5.
- [5] García JL, de Vicente M, Galán B. Microalgae, old sustainable food and fashion nutraceuticals. *Microb Biotechnol* 2017;10(5):1017–24.
- [6] Leng L, Wei L, Xiong Q, Xu S, Li W, Lv S, et al. Use of microalgae based technology for the removal of antibiotics from wastewater: a review. *Chemosphere* 2020;238:124680.
- [7] Kiki C, Rashid A, Wang Y, Li Y, Zeng Q, Yu CP, et al. Dissipation of antibiotics by microalgae: kinetics, identification of transformation products and pathways. *J Hazard Mater* 2020;387:121985.
- [8] Xiong Q, Hu LX, Liu YS, Zhao JL, He LY, Ying GG. Microalgae-based technology for antibiotics removal: from mechanisms to application of innovational hybrid systems. *Environ Int* 2021;155:106594.
- [9] Saw CLL. Science against microbial pathogens: photodynamic therapy approaches. In: Mendez-Vilas A, editor. *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances*. Badajoz: Formatex Research Center; 2011. p. 668–74.
- [10] Alsenani F, Tupally KR, Chua ET, Eltanahy E, Alsufyani H, Parekh HS, et al. Evaluation of microalgae and cyanobacteria as potential sources of antimicrobial compounds. *Saudi Pharm J* 2020;28(12):1834–41.
- [11] de Jesus Raposo MF, De Morais RMSC, de Morais AMMB. Health applications of bioactive compounds from marine microalgae. *Life Sci* 2013; 93(15):479–86.
- [12] Sithranga Boopathy N, Kathiresan K. Anticancer drugs from marine flora: an overview. *J Oncol* 2010;2010:214186.
- [13] de-Bashan LE, Bashan Y. Immobilized microalgae for removing pollutants: review of practical aspects. *Bioresour Technol* 2010;101(6):1611–27.
- [14] Brayner R, Couté A, Livage J, Perrette C, Sicard C. Micro-algal biosensors. *Anal Bioanal Chem* 2011;401(2):581–97.
- [15] Abd El-Hack ME, Abdelnour S, Alagawany M, Abdo M, Sakr MA, Khafaga AF, et al. Microalgae in modern cancer therapy: current knowledge. *Biomed Pharmacother* 2019;111:42–50.
- [16] Prakash JW, Antonisamy JM, Jeeva S. Antimicrobial activity of certain fresh water microalgae from Thamirabarani River, Tamil Nadu, South India. *Asian Pac J Trop Biomed* 2011;1(2 Suppl):S170–3.
- [17] Ragni R, Cicco SR, Vona D, Farinola GM. Multiple routes to smart nanostructured materials from diatom microalgae: a chemical perspective. *Adv Mater* 2018;30(19):1704289.
- [18] de Jesus Raposo MF, De Morais RMSC, de Morais AMMB. Bioactivity and applications of sulphated polysaccharides from marine microalgae. *Mar Drugs* 2013;11(1):233–52.
- [19] Khavari F, Saidijam M, Taheri M, Nouri F. Microalgae: therapeutic potentials and applications. *Mol Biol Rep* 2021;48(5):4757–65.
- [20] Sun L, Yu Y, Chen Z, Bian F, Ye F, Sun L, et al. Biohybrid robotics with living cell actuation. *Chem Soc Rev* 2020;49(12):4043–69.
- [21] Xu D, Wang Y, Liang C, You Y, Sanchez S, Ma X. Self-propelled micro/nanomotors for on-demand biomedical cargo transportation. *Small* 2020;16(27):1902464.
- [22] Halder A, Sun Y. Biocompatible propulsion for biomedical micro/nano robotics. *Biosens Bioelectron* 2019;139:111334.
- [23] Dahoumane SA, Mechouet M, Wijesekera K, Filipe CDM, Sicard C, Bazylnski DA, et al. Algae-mediated biosynthesis of inorganic nanomaterials as a promising route in nanobiotechnology—a review. *Green Chem* 2017;19(3):552–87.
- [24] Ng WM, Che HX, Guo C, Liu C, Low SC, Chan DJC, et al. Artificial magnetotaxis of microbot: magnetophoresis versus self-swimming. *Langmuir* 2018;34(27):7971–80.
- [25] Qiao Y, Yang F, Xie T, Du Z, Zhong D, Qi Y, et al. Engineered algae: a novel oxygen-generating system for effective treatment of hypoxic cancer. *Sci Adv* 2020;6(21):eaba5996.
- [26] Akolpoglu MB, Dogan NO, Bozuyuk U, Ceylan H, Kizilel S, Sitti M. High-yield production of biohybrid microalgae for on-demand cargo delivery. *Adv Sci* 2020;7(16):2001256.
- [27] McKendry P. Energy production from biomass (part 1): overview of biomass. *Bioresour Technol* 2002;83(1):37–46.
- [28] Tanaka K, Koga T, Konishi F, Nakamura M, Mitsuyama M, Himeno K, et al. Augmentation of host defense by a unicellular green alga, *Chlorella vulgaris*, to *Escherichia coli* infection. *Infect Immun* 1986;53(2):267–71.
- [29] Bedirli A, Kerem M, Ofluoglu E, Salman B, Katircioglu H, Bedirli N, et al. Administration of *Chlorella* sp. microalgae reduces endotoxemia, intestinal oxidative stress and bacterial translocation in experimental biliary obstruction. *Clin Nutr* 2009;28(6):674–8.
- [30] Zhang Z, Xu R, Wang Z, Dong M, Cui B, Chen M. Visible-light neural stimulation on graphitic-carbon nitride/graphene photocatalytic fibers. *ACS Appl Mater Interfaces* 2017;9(40):34736–43.
- [31] Chen Y, Taskin MB, Zhang Z, Su Y, Han X, Chen M. Bioadhesive anisotropic nanogrooved microfibers directing three-dimensional neurite extension. *Biomater Sci* 2019;7(5):2165–73.
- [32] Xu R, Zhang Z, Toftdal MS, Møller AC, Dagnaes-Hansen F, Dong M, et al. Synchronous delivery of hydroxyapatite and connective tissue growth factor derived osteoinductive peptide enhanced osteogenesis. *J Control Release* 2019; 301:129–39.
- [33] Zhang Y, Zhang Z, Wang Y, Su Y, Chen M. 3D myotube guidance on hierarchically organized anisotropic and conductive fibers for skeletal muscle tissue engineering. *Mater Sci Eng C* 2020;116:111070.
- [34] Majidi SS, Slemming-Adamsen P, Hanif M, Zhang Z, Wang Z, Chen M. Wet electrospun alginate/gelatin hydrogel nanofibers for 3D cell culture. *Int J Biol Macromol* 2018;118(Pt B):1648–54.
- [35] Märgäoan R, Topal E, Balkanska R, Yücel B, Oravec T, Cornea-Cipcigan M, et al. Monofloral honeys as a potential source of natural antioxidants, minerals and medicine. *Antioxidants* 2021;10(7):1023.
- [36] Shanab SMM, Mostafa SSM, Shalaby EA, Mahmoud GI. Aqueous extracts of microalgae exhibit antioxidant and anticancer activities. *Asian Pac J Trop Biomed* 2012;2(8):608–15.
- [37] de Morais MG, Stillings C, Dersch R, Rudisile M, Pranke P, Costa JAV, et al. Preparation of nanofibers containing the microalga *Spirulina* (*Arthrospira*). *Bioresour Technol* 2010;101(8):2872–6.
- [38] Cha BG, Kwak HW, Park AR, Kim SH, Park SY, Kim HJ, et al. Structural characteristics and biological performance of silk fibroin nanofiber containing microalgae *Spirulina* extract. *Biopolymers* 2014;101(4):307–18.
- [39] Steffens D, Lersch M, Rosa A, Scher C, Crestani T, Morais MG, et al. A new biomaterial of nanofibers with the microalga *Spirulina* as scaffolds to cultivate with stem cells for use in tissue engineering. *J Biomed Nanotechnol* 2013;9(4): 710–8.
- [40] Kim SH, Shin C, Min SK, Jung SM, Shin HS. In vitro evaluation of the effects of electrospun PCL nanofiber mats containing the microalgae *Spirulina* (*Arthrospira*) extract on primary astrocytes. *Colloids Surf B* 2012;90:113–8.
- [41] Miguel SP, Ribeiro MP, Otero A, Coutinho P. Application of microalgae and microalgal bioactive compounds in skin regeneration. *Algal Res* 2021; 58: 102395.
- [42] Tang YZ, Dobbs FC. Green autofluorescence in dinoflagellates, diatoms, and other microalgae and its implications for vital staining and morphological studies. *Appl Environ Microbiol* 2007;73(7):2306–13.
- [43] Carpenter EJ, Chang J, Shapiro LP. Green and blue fluorescing dinoflagellates in Bahamian waters. *Mar Biol* 1991;108(1):145–9.
- [44] Elbrächter M. Green autofluorescence—a new taxonomic feature for living dinoflagellate cysts and vegetative cells. *Rev Palaeobot Palynol* 1994;84(1–2):

- 101–5.
- [45] Liu Y, Rafailovich MH, Malal R, Cohn D, Chidambaram D. Engineering of bio-hybrid materials by electrospinning polymer-microbe fibers. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106(34):14201–6.
- [46] Rooke JC, Léonard A, Meunier CF, Sarmento H, Descy JP, Su BL. Hybrid photosynthetic materials derived from microalgae *Cyanidium caldarium* encapsulated within silica gel. *J Colloid Interface Sci* 2010;344(2):348–52.
- [47] Desmet J, Meunier CF, Danloy EP, Duprez ME, Hantson AL, Thomas D, et al. Green and sustainable production of high value compounds via a microalgae encapsulation technology that relies on CO₂ as a principle reactant. *J Mater Chem A* 2014;2(48):20560–9.
- [48] Chen H, Cheng Y, Tian J, Yang P, Zhang X, Chen Y, et al. Dissolved oxygen from microalgae-gel patch promotes chronic wound healing in diabetes. *Sci Adv* 2020;6(20):eaba4311.
- [49] Nguyen-Ngoc H, Tran-Minh C. Sol–gel process for vegetal cell encapsulation. *Mater Sci Eng C* 2007;27(4):607–11.
- [50] Rooke JC, Léonard A, Su BL. Targeting photobioreactors: immobilisation of cyanobacteria within porous silica gel using biocompatible methods. *J Mater Chem* 2008;18(12):1333–41.
- [51] Léonard A, Rooke JC, Meunier CF, Sarmento H, Descy JP, Su BL. Cyanobacteria immobilised in porous silica gels: exploring biocompatible synthesis routes for the development of photobioreactors. *Energy Environ Sci* 2010;3(3):370–7.
- [52] Darder M, Aranda P, Burgos-Asperilla L, Llobera A, Cadarso VJ, Fernández-Sánchez C, et al. Algae–silica systems as functional hybrid materials. *J Mater Chem* 2010;20(42):9362–9.
- [53] Voznesenskiy SS, Popik AY, Gamayunov EL, Orlova TY, Markina ZV, Postnova IV, et al. One-stage immobilization of the microalga *Porphyridium purpureum* using a biocompatible silica precursor and study of the fluorescence of its pigments. *Eur Biophys J* 2018;47(1):75–85. Erratum in: *Eur Biophys J* 2018;47(1):87.
- [54] Dickson DJ, Page CJ, Ely RL. Photobiological hydrogen production from *Synechocystis* sp. PCC 6803 encapsulated in silica sol–gel. *Int J Hydrogen Energy* 2009;34(1):204–15.
- [55] Nguyen-Ngoc H, Tran-Minh C. Fluorescent biosensor using whole cells in an inorganic translucent matrix. *Anal Chim Acta* 2007;583(1):161–5.
- [56] Schenck TL, Hopfner U, Chávez MN, Machens HG, Somlai-Schweiger I, Giunta RE, et al. Photosynthetic biomaterials: a pathway towards autotrophic tissue engineering. *Acta Biomater* 2015;15:39–47.
- [57] Chávez MN, Schenck TL, Hopfner U, Centeno-Cerdas C, Somlai-Schweiger I, Schwarz C, et al. Towards autotrophic tissue engineering: photosynthetic gene therapy for regeneration. *Biomaterials* 2016;75:25–36.
- [58] Homburg SV, Kruse O, Patel AV. Growth and photosynthetic activity of *Chlamydomonas reinhardtii* entrapped in lens-shaped silica hydrogels. *J Biotechnol* 2019;302:58–66.
- [59] Xiong W, Yang Z, Zhai H, Wang G, Xu X, Ma W, et al. Alleviation of high light-induced photoinhibition in cyanobacteria by artificially conferred biosilica shells. *Chem Commun* 2013;49(68):7525–7.
- [60] Hopfner U, Schenck TL, Chávez MN, Machens HG, Bohne AV, Nickelsen J, et al. Development of photosynthetic biomaterials for *in vitro* tissue engineering. *Acta Biomater* 2014;10(6):2712–7.
- [61] San Keskin NO, Celebioglu A, Uyar T, Tekinay T. Microalgae immobilized by nanofibrous web for removal of reactive dyes from wastewater. *Ind Eng Chem Res* 2015;54(21):5802–9.
- [62] Wüst S, Godla ME, Müller R, Hofmann S. Tunable hydrogel composite with two-step processing in combination with innovative hardware upgrade for cell-based three-dimensional bioprinting. *Acta Biomater* 2014;10(2):630–40.
- [63] Großhede C, Wehlage D, Grothe T, Grimmelsmann N, Fuchs S, Hartmann J, et al. Investigation of microalgae growth on electrospun nanofiber mats. *AIMS Bioeng* 2017;4(3):376–85.
- [64] Eroglu E, Agarwal V, Bradshaw M, Chen X, Smith SM, Raston CL, et al. Nitrate removal from liquid effluents using microalgae immobilized on chitosan nanofiber mats. *Green Chem* 2012;14(10):2682–5.
- [65] Obaid ML, Camacho JP, Brennet M, Corrales-Orovio R, Carvajal F, Martorell X, et al. A first in human trial implanting microalgae shows safety of photosynthetic therapy for the effective treatment of full thickness skin wounds. *Front Med* 2021;8:2088.
- [66] Zhang Z, Jørgensen ML, Wang Z, Amagat J, Wang Y, Li Q, et al. 3D anisotropic photocatalytic architectures as bioactive nerve guidance conduits for peripheral neural regeneration. *Biomaterials* 2020;253:120108.
- [67] Wang Y, Zhang Y, Zhang Z, Su Y, Wang Z, Dong M, et al. An injectable high-conductive bimaterial scaffold for neural stimulation. *Colloids Surf B* 2020;195:111210.
- [68] Su Y, Zhang Z, Wan Y, Zhang Y, Wang Z, Klausen LH, et al. A hierarchically ordered compacted coil scaffold for tissue regeneration. *NPG Asia Mater* 2020;12(1):55.
- [69] Pannier A, Soltmann U, Soltmann B, Altenburger R, Schmitt-Jansen M. Alginate/silica hybrid materials for immobilization of green microalgae *Chlorella vulgaris* for cell-based sensor arrays. *J Mater Chem B* 2014;2(45):7896–909.
- [70] Lode A, Krutzat F, Brüggemeier S, Quade M, Schütz K, Knaack S, et al. Green bioprinting: fabrication of photosynthetic algae-laden hydrogel scaffolds for biotechnological and medical applications. *Eng Life Sci* 2015;15(2):177–83.
- [71] Trampe E, Koren K, Akkineni AR, Senwitz C, Krutzat F, Lode A, et al. Functionalized bioink with optical sensor nanoparticles for O₂ imaging in 3D-bioprinted constructs. *Adv Funct Mater* 2018;28(45):1804411.
- [72] Wahid MH, Eroglu E, Chen X, Smith SM, Raston CL. Functional multi-layer graphene–algae hybrid material formed using vortex fluidics. *Green Chem* 2013;15(3):650–5.
- [73] Eroglu E, D'Alonzo NJ, Smith SM, Raston CL. Vortex fluidic entrapment of functional microalgal cells in a magnetic polymer matrix. *Nanoscale* 2013;5(7):2627–31.
- [74] Wahid MH, Eroglu E, Chen X, Smith SM, Raston CL. Entrapment of *Chlorella vulgaris* cells within graphene oxide layers. *RSC Adv* 2013;3(22):8180–3.
- [75] Yan X, Zhou Q, Yu J, Xu T, Deng Y, Tang T, et al. Magnetite nanostructured porous hollow helical microswimmers for targeted delivery. *Adv Funct Mater* 2015;25(33):5333–42.
- [76] Yan X, Zhou Q, Vincent M, Deng Y, Yu J, Xu J, et al. Multifunctional biohybrid magnetite microrobots for imaging-guided therapy. *Sci Robot* 2017; 2(12): eaaq1155.
- [77] Santomauro G, Singh AV, Park BW, Mohammadrahimi M, Erkoç P, Goering E, et al. Incorporation of terbium into a microalga leads to magnetotactic swimmers. *Adv Biosyst* 2018;2(12):1800039.
- [78] Xie S, Jiao N, Tung S, Liu L. Controlled regular locomotion of algae cell microrobots. *Biomed Microdevices* 2016;18(3):47.
- [79] Weibel DB, Garstecki P, Ryan D, DiLuzio WR, Mayer M, Seto JE, et al. Microoxen: microorganisms to move microscale loads. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102(34):11963–7.
- [80] Yasa O, Erkoç P, Alapan Y, Sitti M. Microalga-powered microswimmers toward active cargo delivery. *Adv Mater* 2018;30(45):1804130.
- [81] Kerschgens IP, Gademann K. Antibiotic algae by chemical surface engineering. *ChemBiochem* 2018;19(5):439–43.
- [82] Harris EH. *The Chlamydomonas sourcebook: a comprehensive guide to biology and laboratory use*. San Diego: Academic Press; 1989.
- [83] Teng XJ, Ng WM, Chong WH, Chan DJC, Mohamad R, Ooi BS, et al. The transport behavior of a biflagellated microswimmer before and after cargo loading. *Langmuir* 2021;37(30):9192–201.
- [84] Chia WY, Kok H, Chew KW, Low SS, Show PL. Can algae contribute to the war with Covid-19? 2021;12(1):1226–37.
- [85] Kumar V, Sharma N, Jaiswal KK, Vlaskin MS, Nanda M, Tripathi MK, et al. Microalgae with a truncated light-harvesting antenna to maximize photosynthetic efficiency and biomass productivity: recent advances and current challenges. *Process Biochem* 2021;104:83–91.
- [86] Delalat B, Sheppard VC, Rasi Ghaemi S, Rao S, Prestidge CA, McPhee G, et al. Targeted drug delivery using genetically engineered diatom biosilica. *Nat Commun* 2015;6(1):8791.
- [87] Centeno-Cerdas C, Jarquín-Cordero M, Chávez MN, Hopfner U, Holmes C, Schmauss D, et al. Development of photosynthetic sutures for the local delivery of oxygen and recombinant growth factors in wounds. *Acta Biomater* 2018;81:184–94.
- [88] Alishah Aratboni H, Raffei N, Garcia-Granados R, Alemzadeh A, Morones-Ramírez JR. Biomass and lipid induction strategies in microalgae for biofuel production and other applications. *Microb Cell Fact* 2019;18:178.
- [89] Jeon S, Lim JM, Lee HG, Shin SE, Kang NK, Park YI, et al. Current status and perspectives of genome editing technology for microalgae. *Biotechnol Biofuels* 2017;10:267.
- [90] Najdenski HM, Gigova LG, Iliev II, Pilarski PS, Lukavský J, Tsvetkova IV, et al. Antibacterial and antifungal activities of selected microalgae and cyanobacteria. *Int J Food Sci Technol* 2013;48(7):1533–40.
- [91] Jacob RH, Shanab SM, Shalaby EA. Algal biomass nanoparticles: chemical characteristics, biological actions, and applications. *Biomass Convers Biorefin*. In press.