

A mechanism for robust
circadian timekeeping via
stoichiometric balance

摘要

- 昼夜节律控制对于生物体的各个器官和组织都是必要的
- 用数学模型尝试去理解昼夜节律控制中的生物化学机制
- 在这个具有普适性的节律控制模型中发现，抑制因子与激活因子结合，而不是与DNA结合，控制昼夜节律。

昼夜节律的基本特点

- 节律是自主的
- 节律能够根据外界信号进行调节
- 节律可以在一个较为广泛的温度条件下保持稳定

TTFLS

- TTFLS: transcription-translation feedback loops
翻译-转录反馈调节循环
- 这种反馈调节现象在很多高等器官中都很常见，但是其中的机制并不清楚。
- 两个负向反馈调节循环在TTFLS模式被发现控制昼夜节律。

两个负向调节循环

- 两个负向反馈调节循环在TTFLS模式被发现控制昼夜节律。
- 一个核心的负向反馈调节循环中，包含有PERIOD-3和CRYPTOCHROME1-2，这两个基因，它们可以使激活自己转录的激活因子失活
- 一个附加的负向反馈调节循环控制激活因子的表达，他们通过Vrille和Reverbs使转录失活。

此外还有其他两个反馈调节循环，但在本实验使用的是这两个反馈调节循环

- 通过基因敲除获得的控制生物钟突变基因的杂合突变体。
- 对这些突变体研究发现，敲除基因后，与野生型相比，表型能够变化不大。
- 这些实验结果表明，基因的剂量效应对于昼夜节律可能不是很重要。

- 但是，被突变的基因参与的代谢活动和反应会存在代偿的途径，它们的功能可以有一些同源的部分替代行使。可以恢复基因剂量，基因的剂量是被紧密调控的

实验结果

- 哺乳动物昼夜节律的数学模型
- 模型包含的关键基因：PER1, PER2, CRY1, CRY2, BMAL1/2, NPAS2, CLOCK, CK1 α /d, GSK3 β , Rev-erba/b

这些基因被证明控制昼夜节律

在实验中实用适合时间段的mRNA和蛋白质反应速率常数

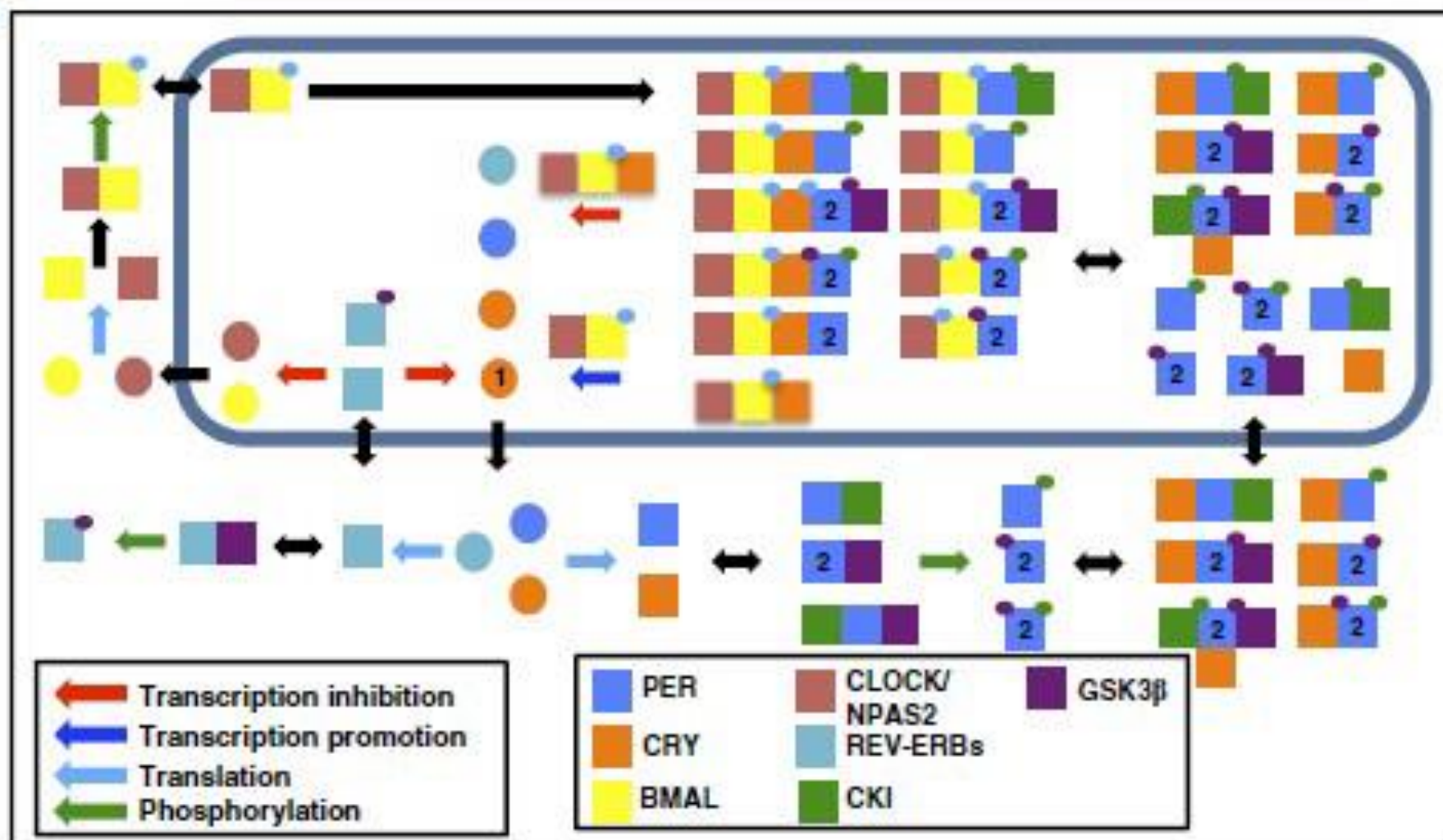
- 在实验中发现，模型显示一对相反的表型符合实验数据。
- 在实验中，Cry1的延迟转录被Rev-erba 和 Rev-erbb调控
- Cry1的mRNA和翻译出的蛋白质比Cry2的都要稳定。
- 较长的半衰期导致了节律的延迟，移除Cry1缩短时期，移除Cry2延长这一时期

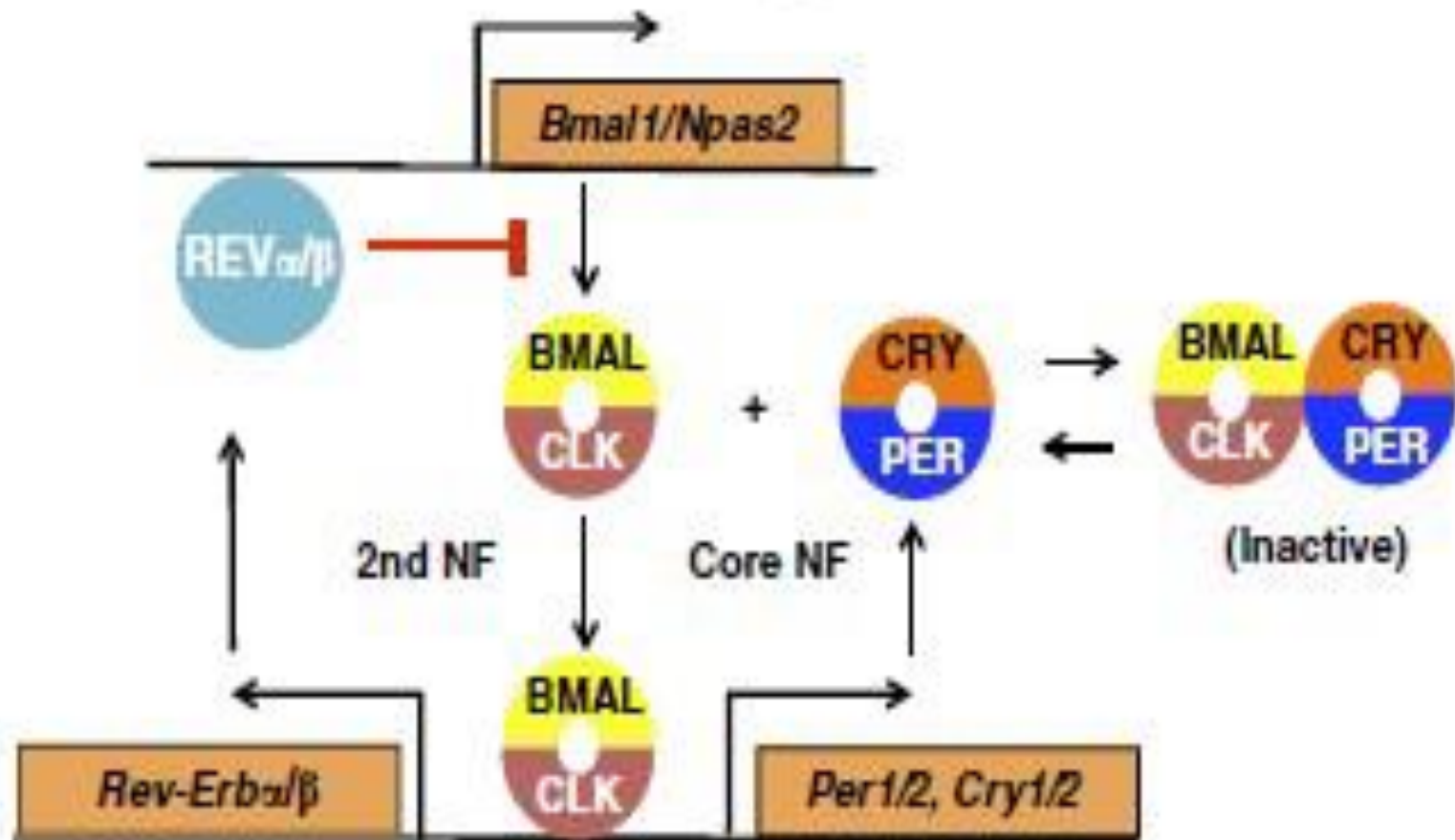
- SCN slices 通过CREB/CE途径有较高的per1和per2基因表达量
- 当我们将per1和per2的基因表达量降低60%，我们的模型可以准确的预测被分离的体外视交叉上核神经的表型。

激活因子和抑制因子的平衡

- Stoichiometric (化学计量数)
抑制因子的浓度和激活因子浓度比值

A





化学计量如何控制节律

- 转录速率正比于激活因子的剂量
- 抑制因子的mRNA被翻译成蛋白质计入细胞核中，抑制激活因子的作用。这是一个单一的负向反馈调节循环

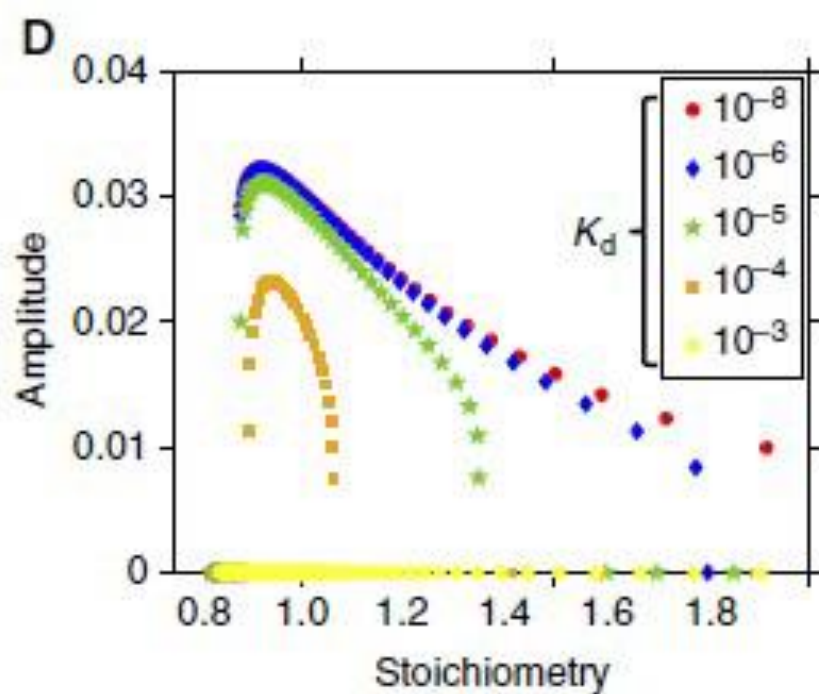
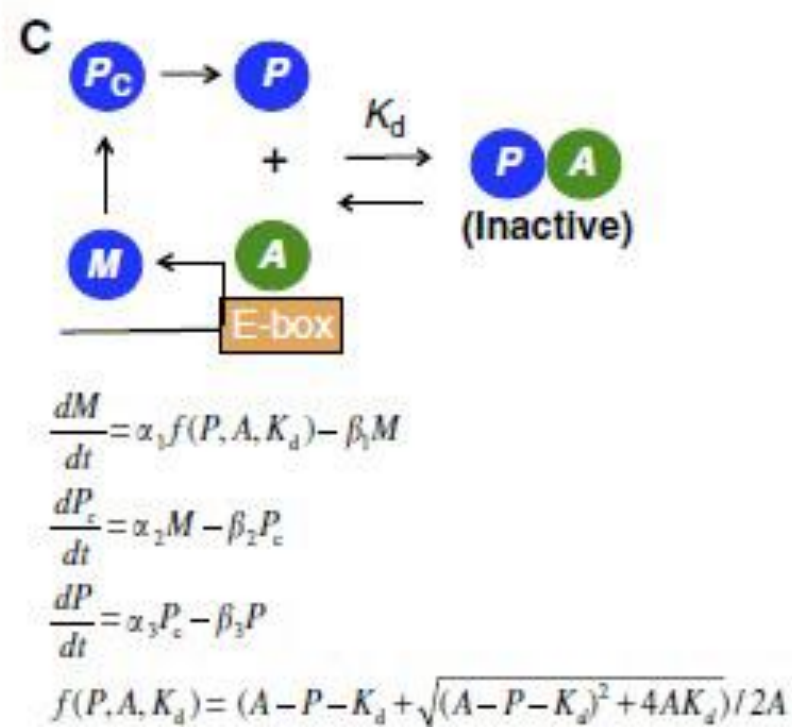
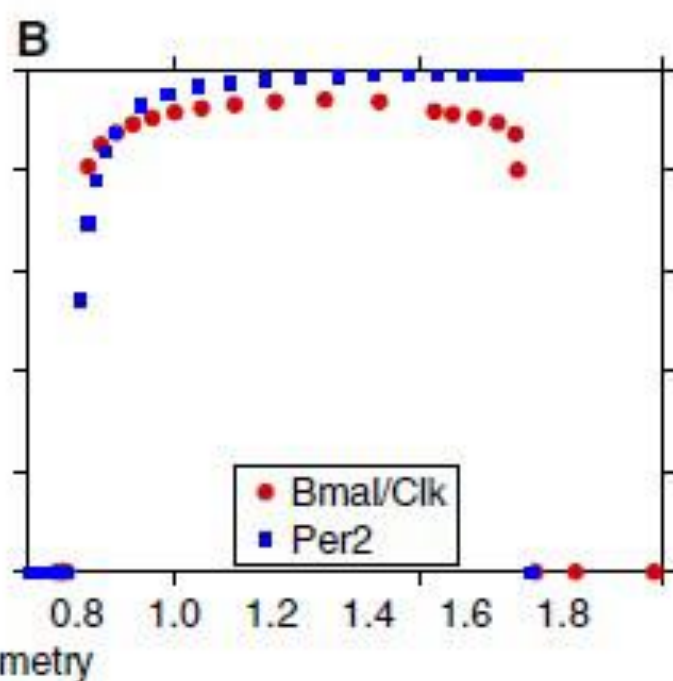
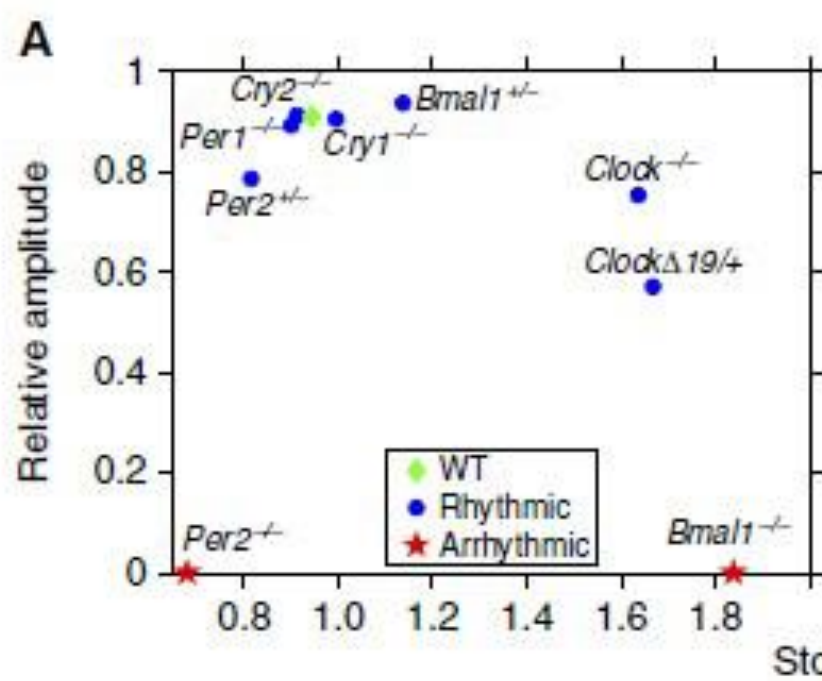
- 但是对于理解化学计量数，这并不充分，考虑到结合，也应该将分解考虑进去
- 进行无量纲化处理之后，留下了两个参数：
 1. 激活因子的浓度
 2. 解离常数

- 如果提高抑制因子含量，转录将会停止
- 如果降低甚至消除抑制因子，转录因子将会大量激活转录。
- 合适范围：

$$\frac{8}{9} < \langle S \rangle < \frac{2}{7 \sqrt{7 \sqrt{K_d/2}}}$$

对公式的解释

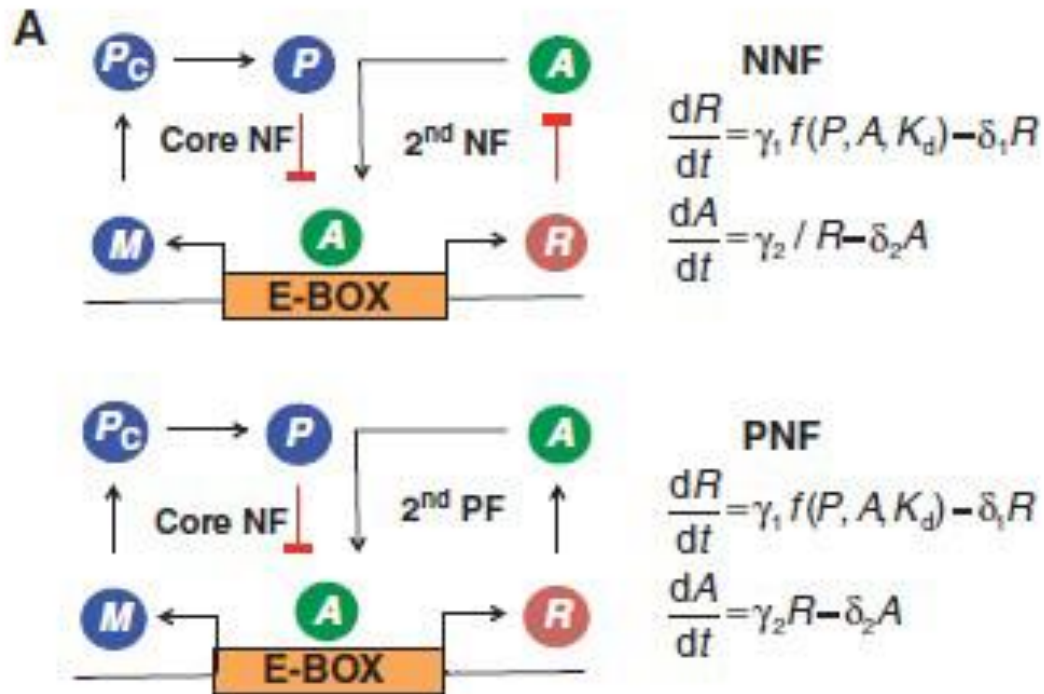
- 振荡在1-1发生的在1-1附近
- 化学计量比需要大于 $8/9$ 以维持持续的振荡
- 激活因子和抑制因子的结合变得紧密，化学计量比的上限上升
- 如果结合很松散，不会出现持续的振荡

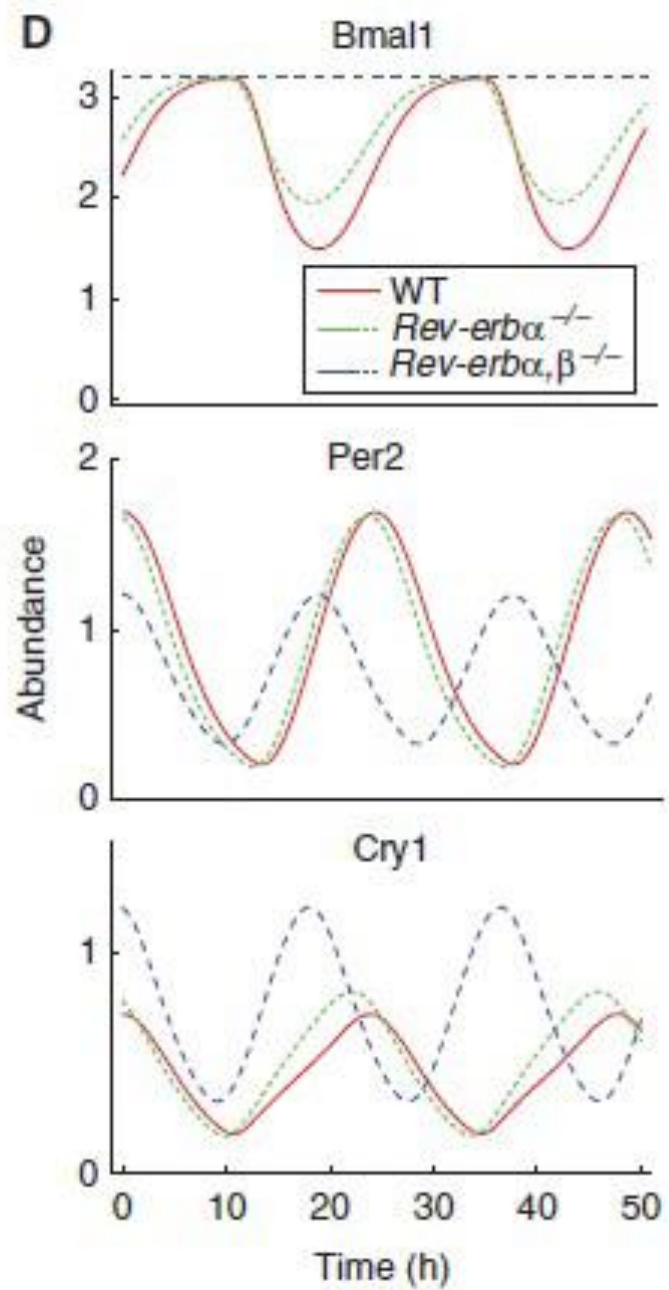
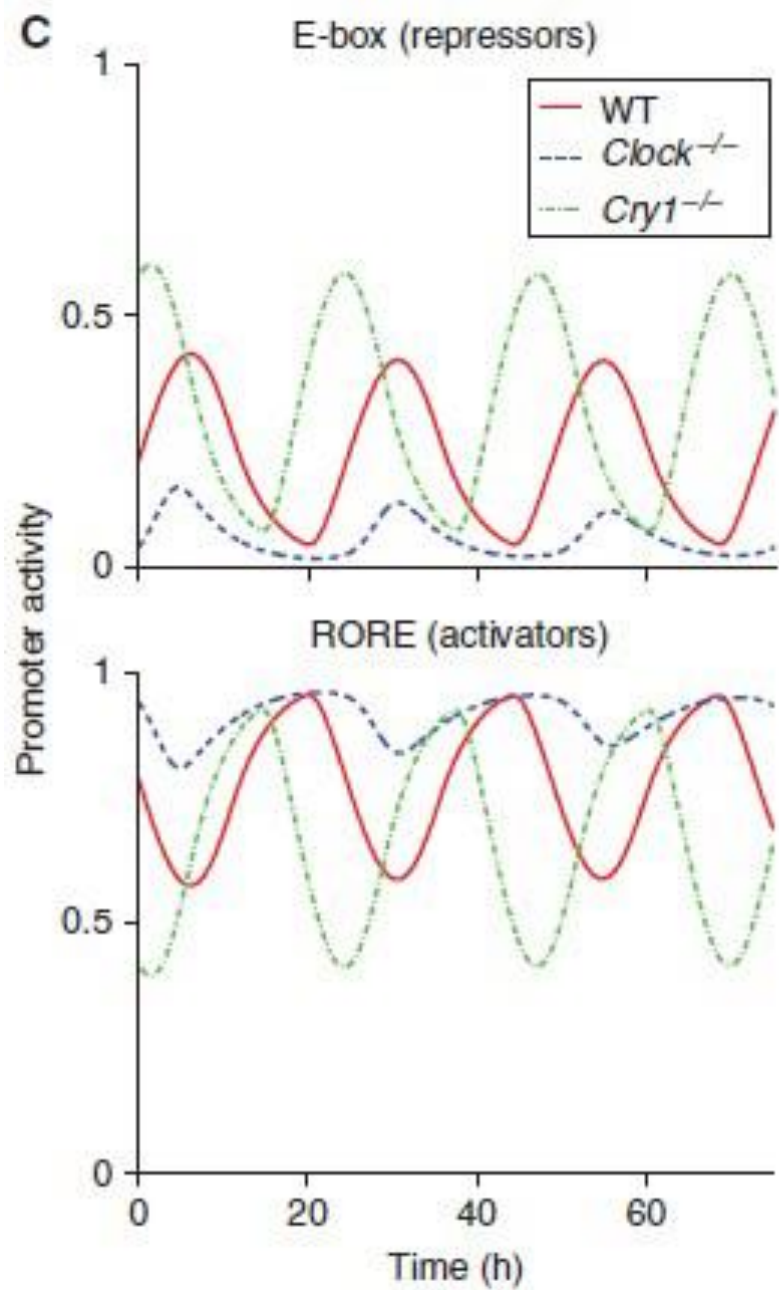


- 通过上图可以看出，改变激活因子的浓度会改变化学计量数
- 持续的振动只出现在1-1这样的比率附近
- 如果激活因子和抑制因子结合松散，将不会出现节律，在哺乳动物的昼夜节律中，激活因子和抑制因子的结合是紧密的
- 持续的昼夜节律要求紧密的结合和化学计量数的平衡。

额外的负向反馈调节

- 额外的负向反馈调节也可以调控化学计量数的平衡





- 图C

E-BOX在代偿途径中的作用。

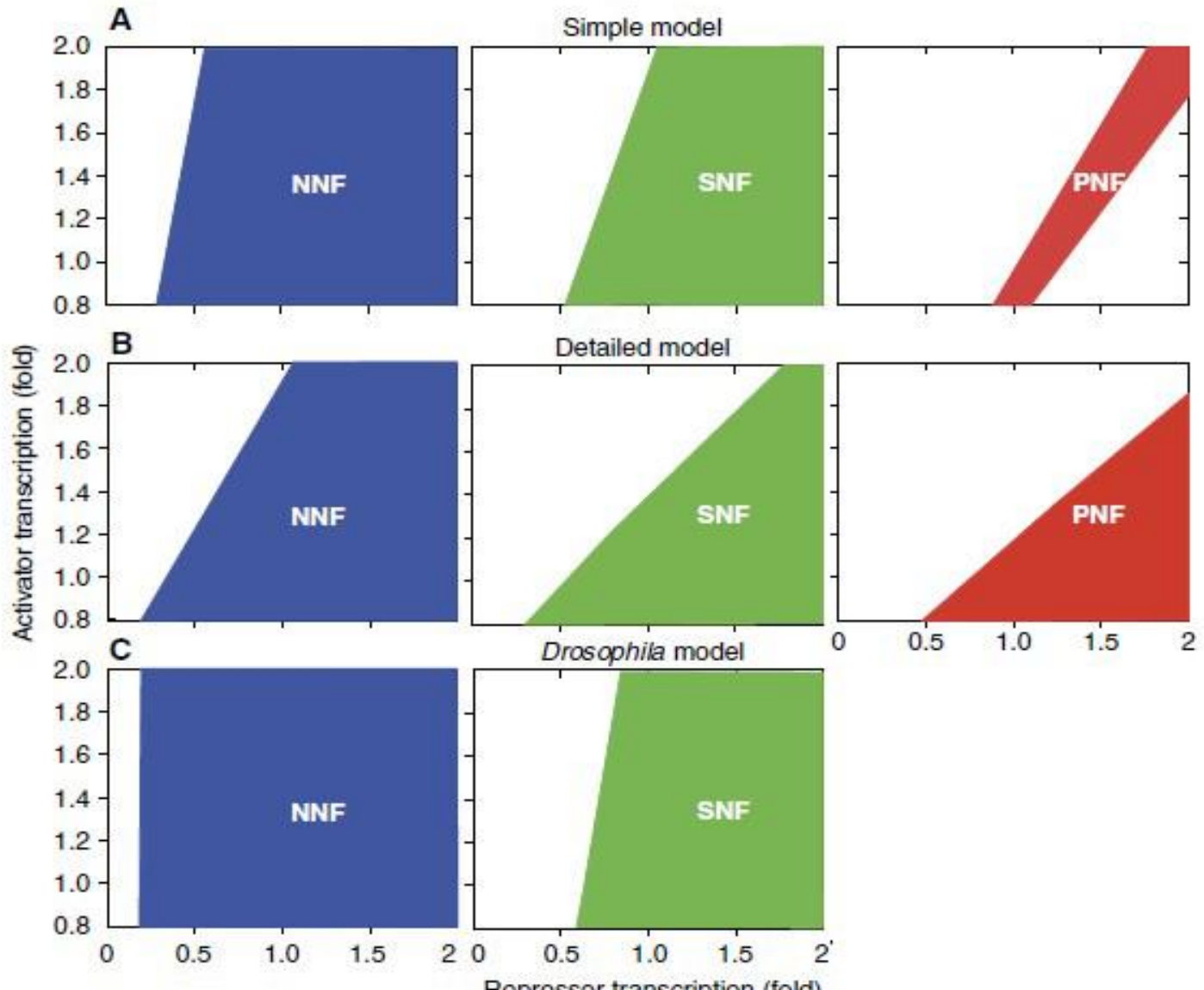
在基因敲除的个体中，E-BOX表达量随时间的变化

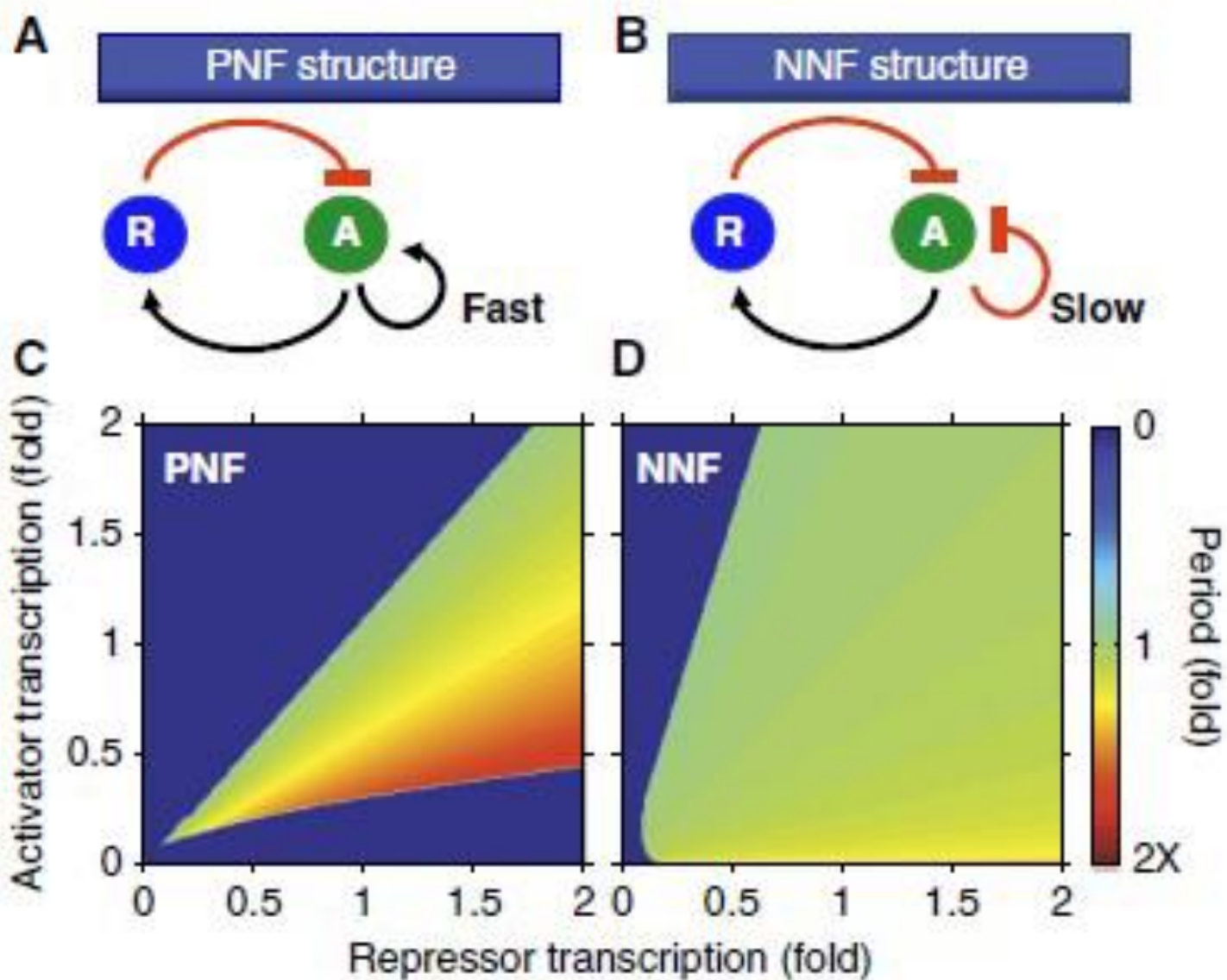
图D

在三种类型的个体中

三类基因的表达量随时间的变化

模型的预测





谢谢