

一个人工合成的转录抑制振荡网络



报告人：高秋玲

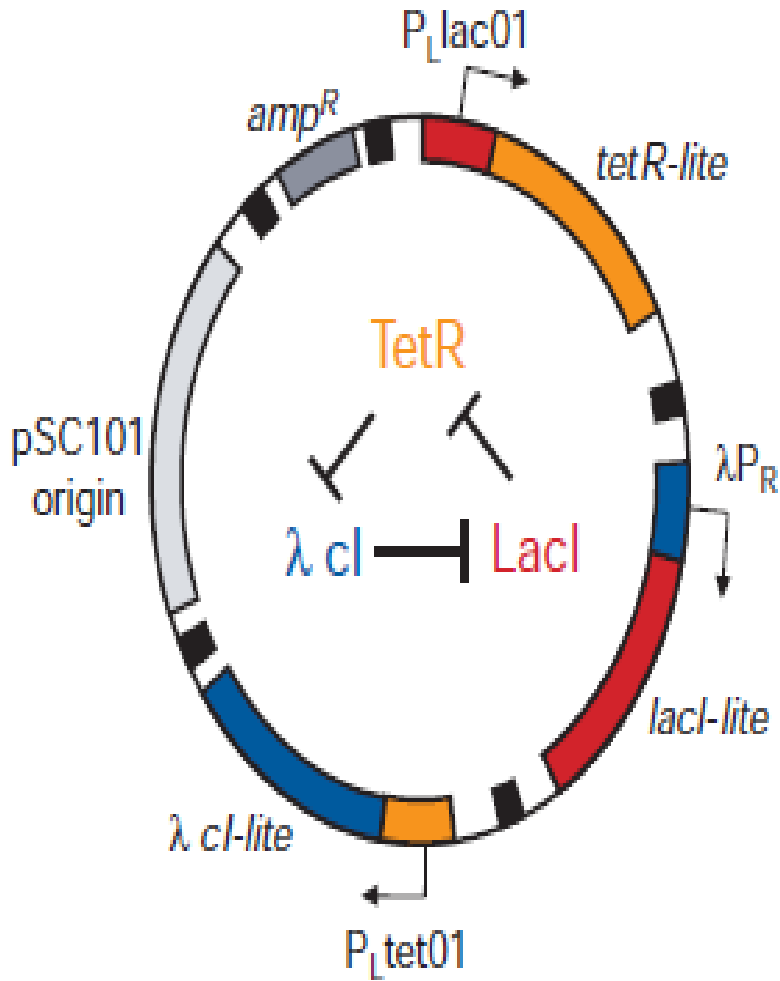
组员：陈文玲

课程：系统生物学

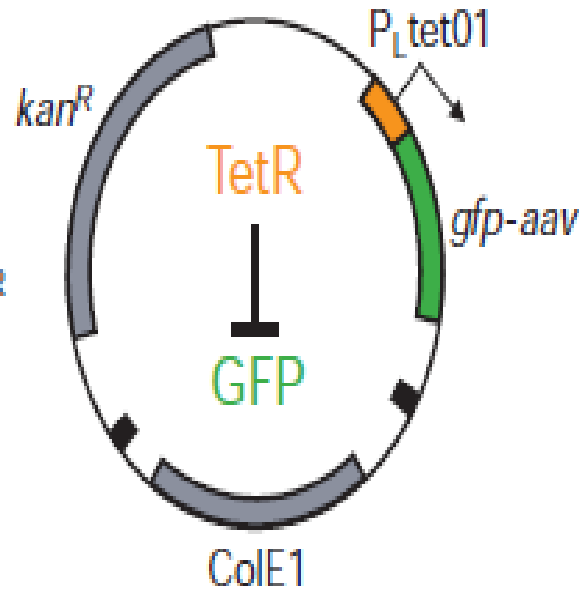
日期：**2012-11-12**

- **pSC101质粒载体**是低拷贝数的大肠杆菌质粒载体，大小为**9.09 kb**，编码有一个四环素抗性基因(**tetr**)。pSC101质粒具有可插入外源DNA的多个限制性核酸内切酶的单克隆位点，还具有四环素抗性的强选择记号，便于筛选。
- **腺相关病毒 Adeno-associated virus(AAV)**是一个常见的人细小病毒，AAV基因组是一个线性、单链(**ssDNA**)分子，**4680**个核苷酸，在每个末端含有一个**145**个碱基末端重复序列(**TR**)。

a Repressilator



Reporter



在大肠杆菌中，引入了一个由三个抑制基因构成的元件。在这三个基因中，**A**基因抑制**B**基因表达，**B**基因将**C**基因关闭，**C**基因则将**A**基因关闭；此外，**C**基因可以诱导一个绿色荧光蛋白基因的表达。

这样一个装置是一个有限回路的振荡器，通过外界环境对其中某一个基因的干扰，控制细胞内绿色荧光蛋白的合成，从而可以使大肠杆菌像灯塔一样闪烁。

$$\frac{dm_i}{dt} = -m_i + \frac{\alpha}{(1 + p_j^n)} + \alpha_0 \quad \left(\begin{array}{l} i = lacI, tetR, cl \\ j = cl, lacI, tetR \end{array} \right)$$

$$\frac{dp_i}{dt} = -\beta(p_i - m_i)$$

p_i :各种抑制蛋白的浓度。

m_i :各自mRNA的浓度。

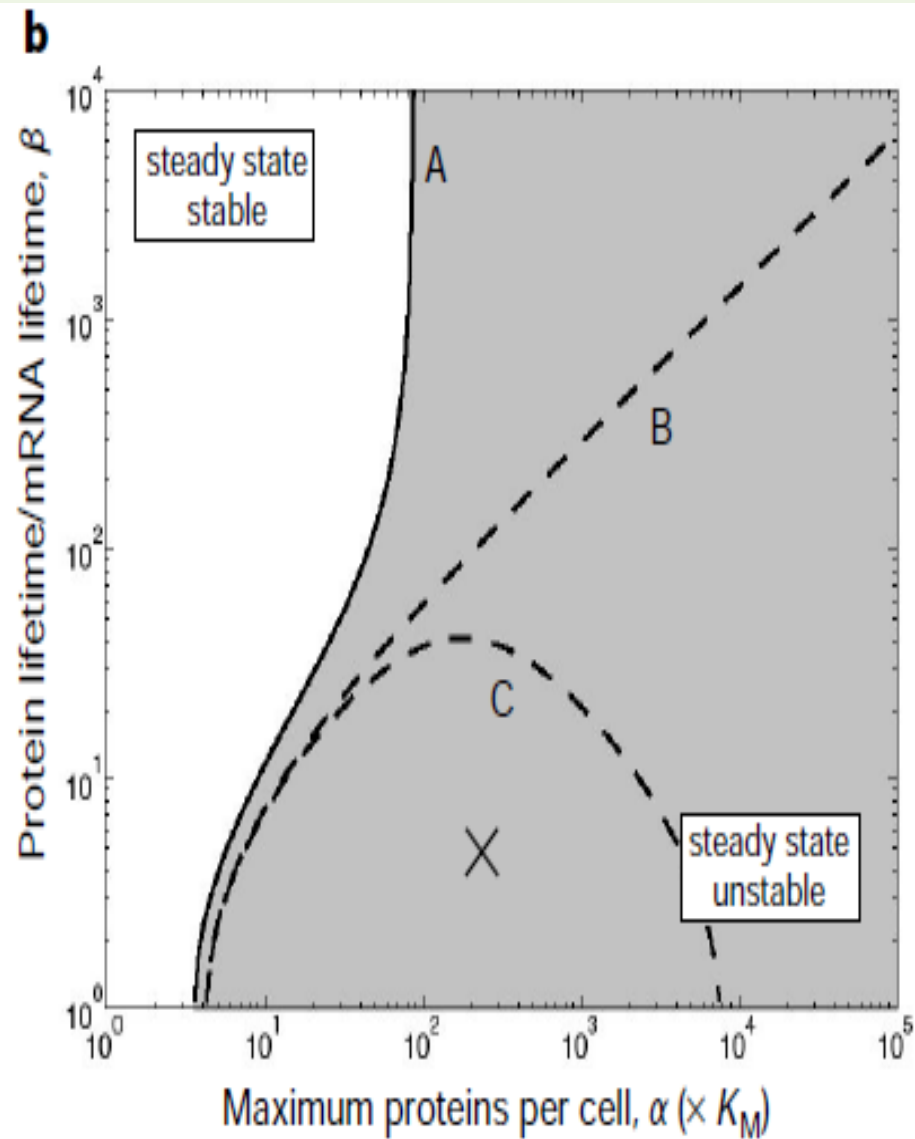
i 代表*lacI*,*tetR*或者*cl*。

β 表示蛋白质和mRNA寿命的比值（反退率）。

α 表示每个细胞产生的抑制蛋白量。

α_0 表示无抑制关系时基因的转录率。

n 代表希尔因数。



曲线A, B and C代表不同参量下两个区域的界线。

A: $n = 2.1, \alpha_0 = 0$;

B: $n = 2, \alpha_0 = 0$;

C: $n = 2, \alpha_0/\alpha = 10^{-3}$ 。

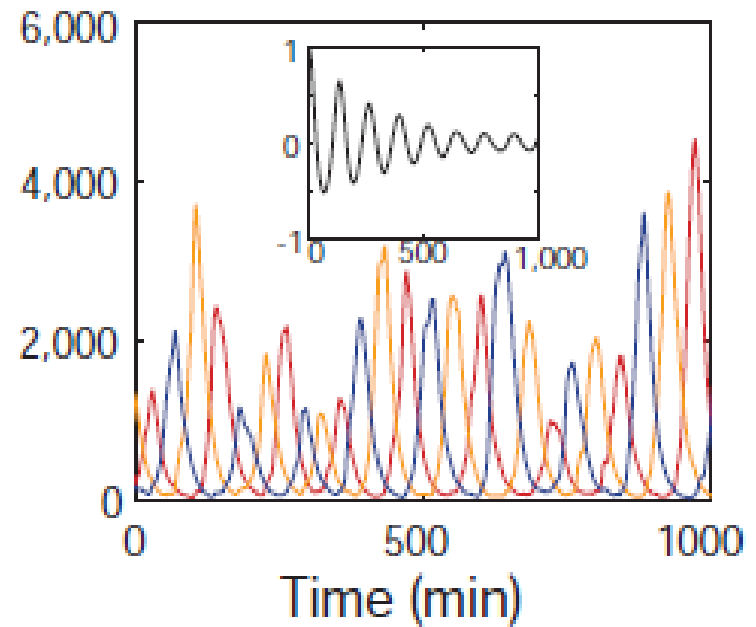
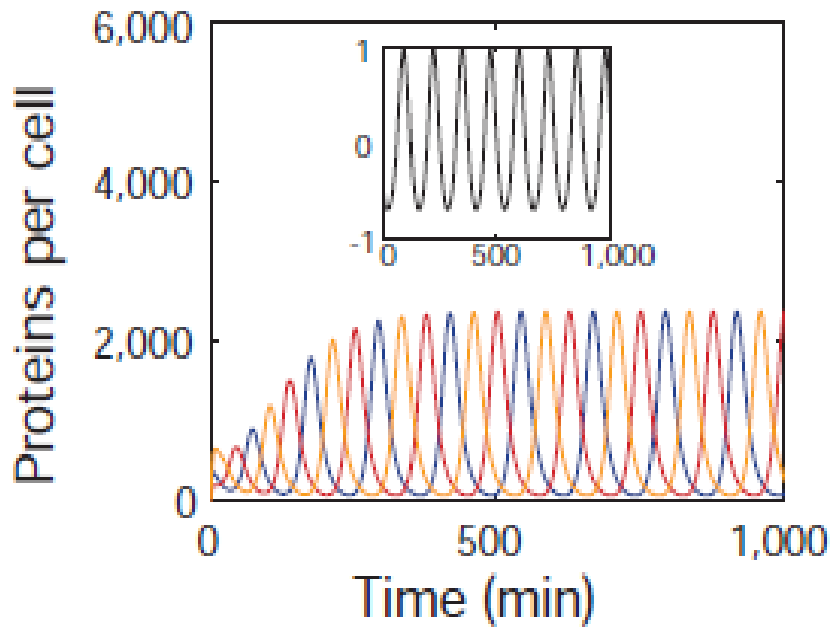
A的不稳定区域包括了B和C的相应区域，即阴影部分。

$$\frac{(\beta + 1)^2}{\beta} < \frac{3X^2}{4 + 2X}$$

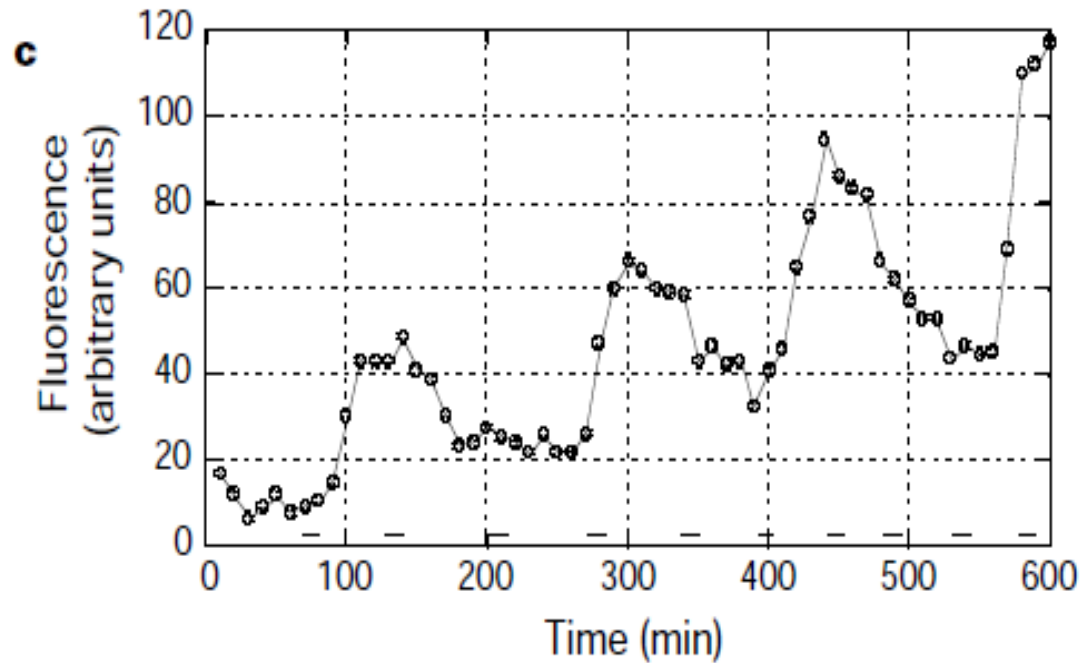
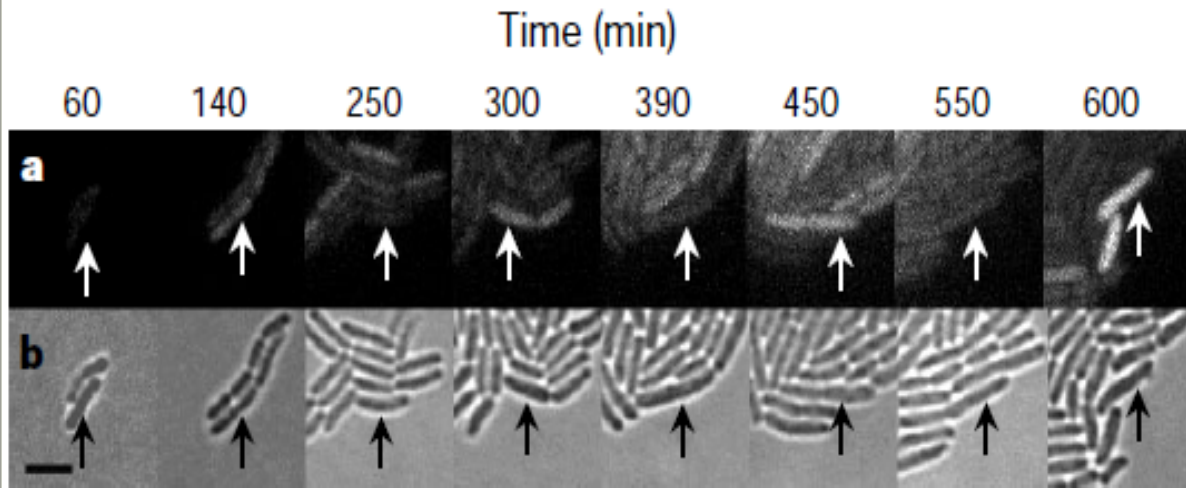
$$X \equiv - \frac{\alpha n \rho^{n-1}}{(1 + \rho^n)^2}$$

$$\rho = \frac{\alpha}{1 + \rho^n} + \alpha_0$$

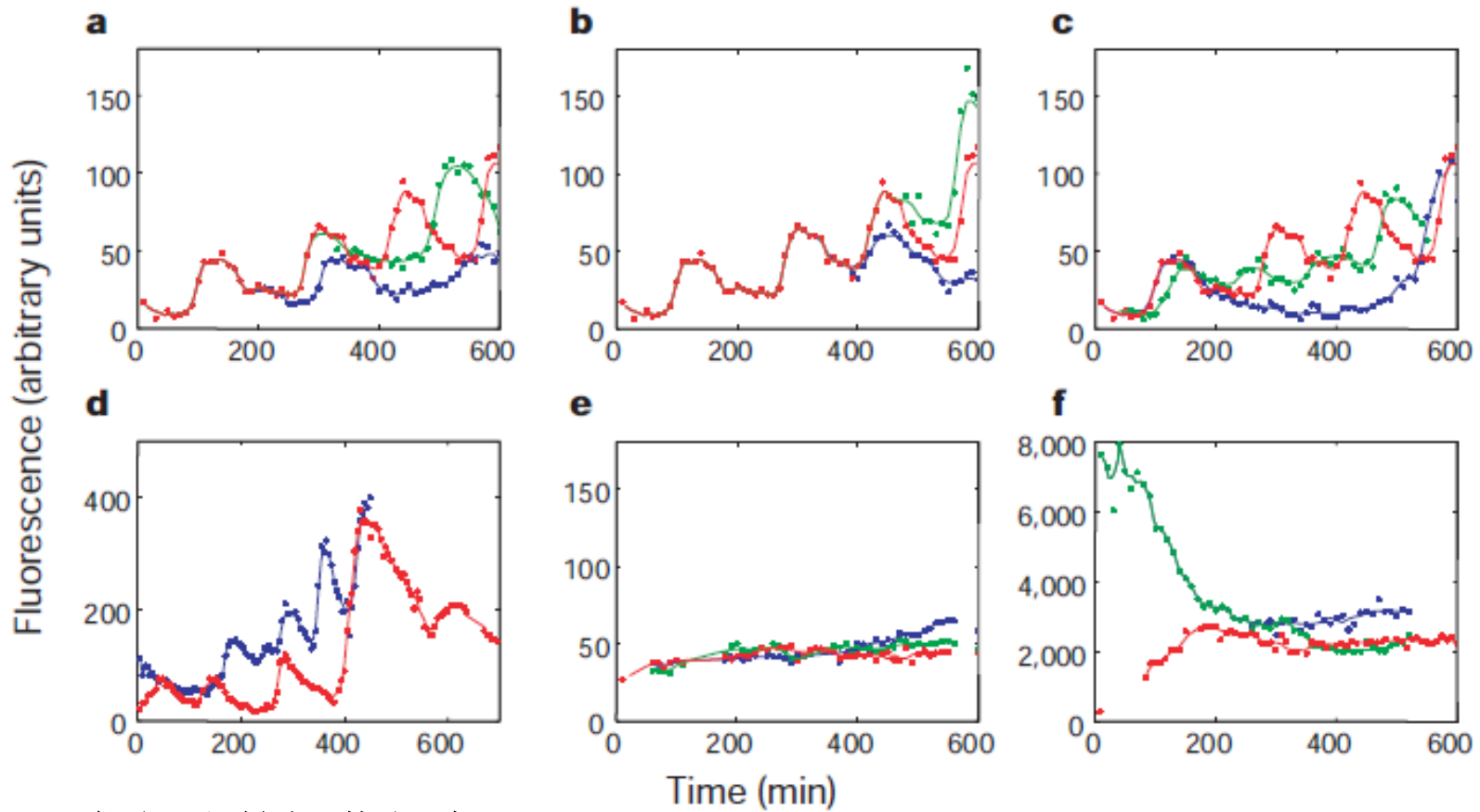
c



三个抑制蛋白的振荡曲线。左边，典型的参量下，连续模型。右边，相似的参量（启动子强度， $5 \cdot 10^{-4}$ （受抑制）到0.5（全诱导）每秒钟翻译值。翻译效率是20，希尔系数， $n=2$ ；蛋白质的半衰期为10分钟；mRNA半衰期为2分钟； k_m 每个细胞40摩尔），随机模型。



大肠杆菌MC4100单个细胞的生长和GFP表达曲线。
可以预测周期的大小，是 160 ± 40 分钟。



a-c: 同代细胞的振荡行为。

a, 相位推迟, b, 分离后振幅改变, c, 周期减小 (绿色), 振荡推迟 (蓝色)。

d, 其他同等条件下获得的振荡细胞数据。周期、振幅有很大不同。

e, f, 阴性对照实验数据。

e, 细胞生活在50mM IPTG的介质里。f, 细胞只含报告质粒。

结论

本论文从理论上讨论了细胞内相位抑制的人工基因网络中，蛋白质在基因调控下所表现出的丰富动力学特性，对人工基因调控的研究具有指导意义。而进一步调整参量，以及加入扰动可以使我们的网络更加贴近真实的基因网络。这些问题对稳态结果的影响有待更进一步的讨论。对这些问题的研究不仅有益于生物领域，也对非线性理论具有启发意义。

谢谢！

