

Genomically encoded analog memory with precise in vivo DNA writing in living cell populations



报告人：杨伶俐
小组成员：罗正宗
2014.12.03

目录

- 一、背景
- 二、基本原理
- 三、流程
- 四、结论
- 五、讨论



一、背景

- ※ 1、（1）麻省理工学院的工程师们将大肠杆菌的基因组改造成了长期的记忆储存设备。他们预想，这一稳定的、可擦除且易于检索的记忆，将会特别适合于诸如环境和医学监测传感器等应用。
- ※ （2）领导这项研究的是麻省理工学院生物工程、电子工程及计算机科学系副教授卢冠达(Timothy Lu)，这位青年科学家曾入选美国麻省理工学院百年期刊《技术评论》评选的世界青年科技创新家（卢冠达说：“你可以储存长期的信息。你可以想象一下在你的肠道细菌或环境细菌中获得这一系统。将其取出数天或数月，然后再把它放回去，看看在定量水平上会发生什么。”



✿ 2. (1) 研究人员在11月13日的《科学》(Science) 杂志上详细地描述了这一新的策略。卢冠达说，其克服了在细菌基因组中存储记忆的现有方法的一些局限。当前的方法需要大量的遗传调控元件，这限制了可以存储的信息量。

(2) 过去，研究人员以开启或关闭特定蛋白的表达来作为细胞对某种刺激的回应，以此把细胞变成简单的传感器。但是每一次开关都只能记录一条简单的信息——细胞是否曾经受到过刺激——而无法记录接受刺激的时长或者规模。而且如果细胞死亡，隐藏在蛋白质中的信息就会丢失。“我们想要更容易规模化的系统，好采集到更多的信息。”麻省理工学院的合成生物学家卢冠达 (Timothy Lu) 说，“作为工程师，我们开始思考一个理想的记忆系统会是什么样子的。”。

✿ (3) 卢冠达和论文的主要作者、研究生Fahim Farzadfard，打算构建一个可存储模拟记忆的系统，这可以揭示出暴露的程度，以及持续的时间。为此，他们设计出了一种“基因组录音机”，使得研究人员可以将早期的信息写入到所有的细菌DNA序列中。

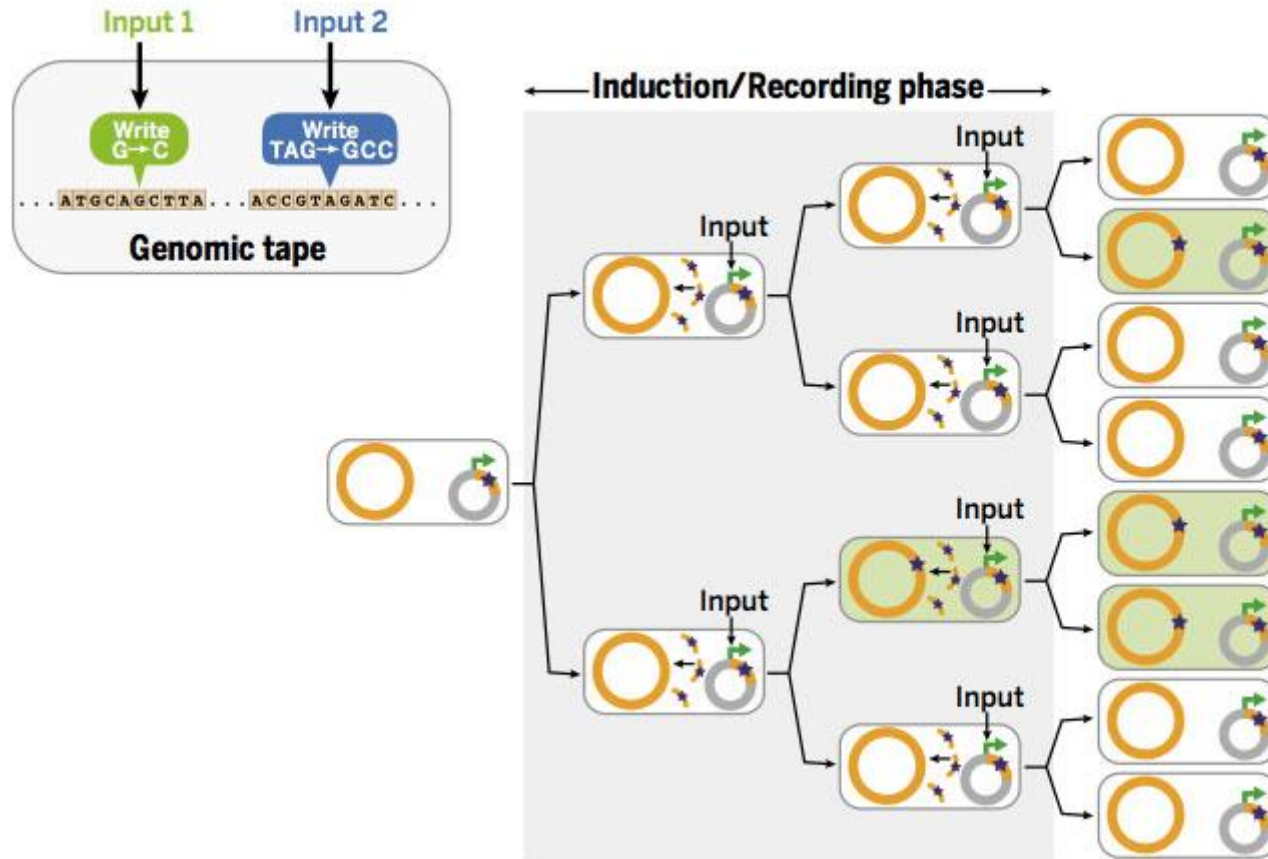


二、基本原理

- ✿ 1. 在活细胞中把基因组DNA当成录音机来书写记忆信息。
- ✿ 2. 这一过程通过一套生物程序，能让活细胞在接触到信号的时候——无论是收到闪光刺激还是暴露在某种化学物质中——重写自己的DNA。一旦DNA被改写，哪怕细胞死亡，信息也仍然被封存在DNA中。所以，通过对携带这一程序的细胞群体进行基因测序，研究人员就可以确定特定信号的规模和持续时间：拥有基因突变的细胞越多，就意味着细胞接触的信号越强或者历时越长。



SCRIBE (Synthetic Cellular Recorders Integrating Biological Events)



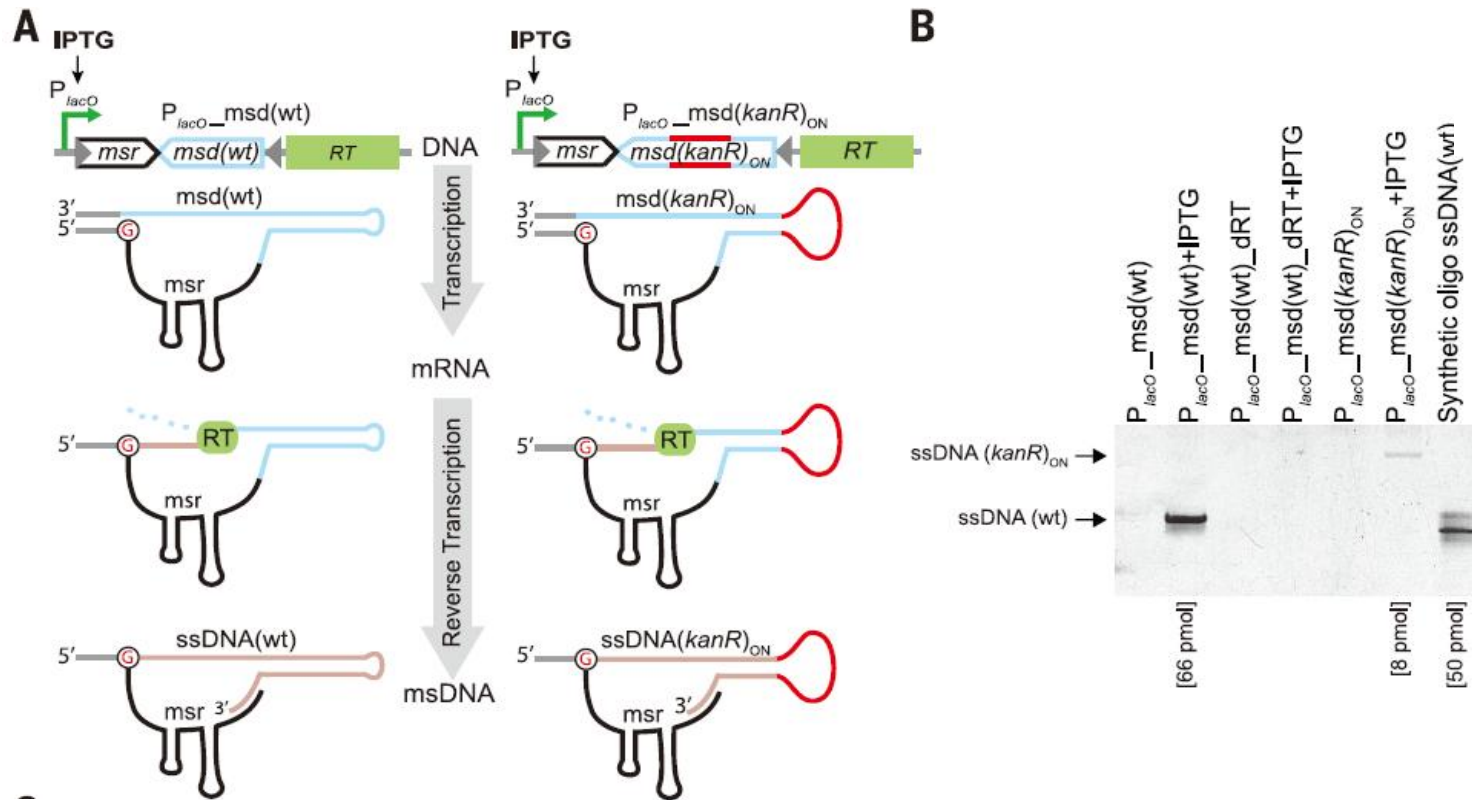
在目标刺激（例如化学诱导剂或光）存在时，质粒（灰色）会产生单链DNA（橙色曲线）。这些DNA被整合到特定的基因组座位（橙色圆圈）上。通过这种途径，精确突变（绿色细胞中的星号）的累积得以用来衡量细胞所接受的目标刺激的强度与时长。这个记忆设备通过改变ssDNA的模板，很容易被重新编程，从而指向不同的靶基因组。



三、流程

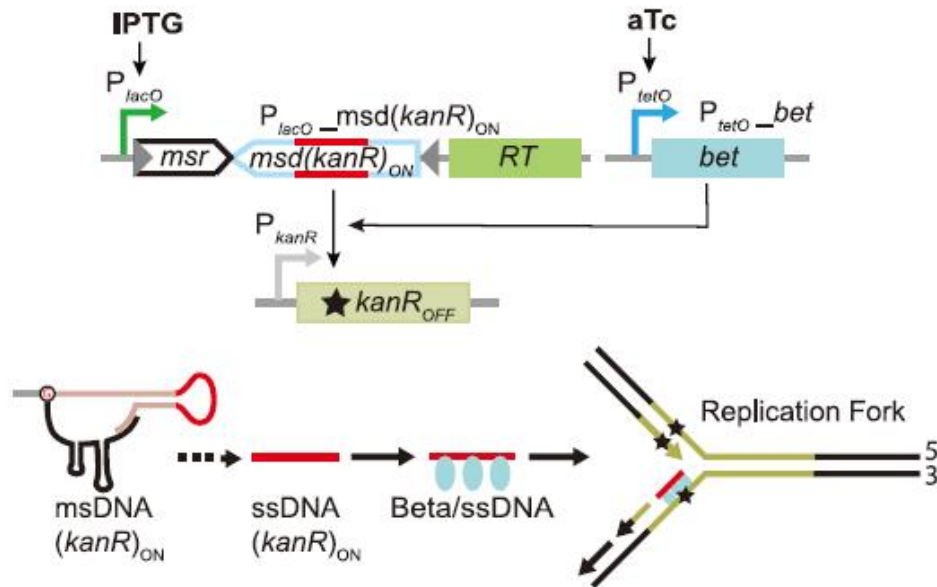
1. SCRIBE system for recording inputs in the distributed genomic DNA of bacterial populations. (用基因组记录输入信号)

(1) Single-stranded DNA expression in living cells (活细胞内单链DNA的表达)

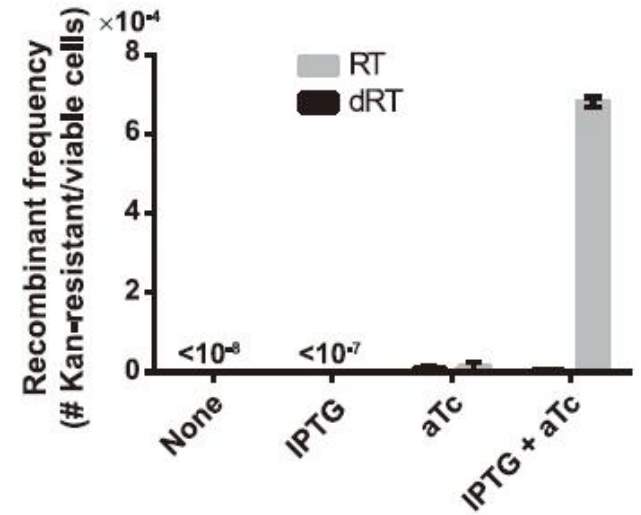


(2) Regulated genome editing with in vivo ssDNAs (用体内产生的ssDNA编辑基因)

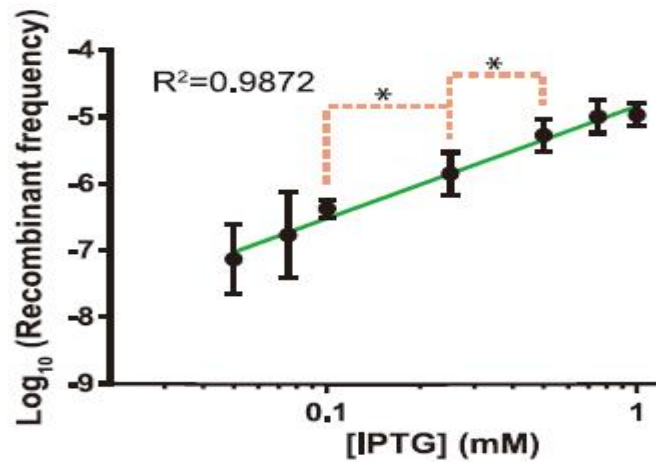
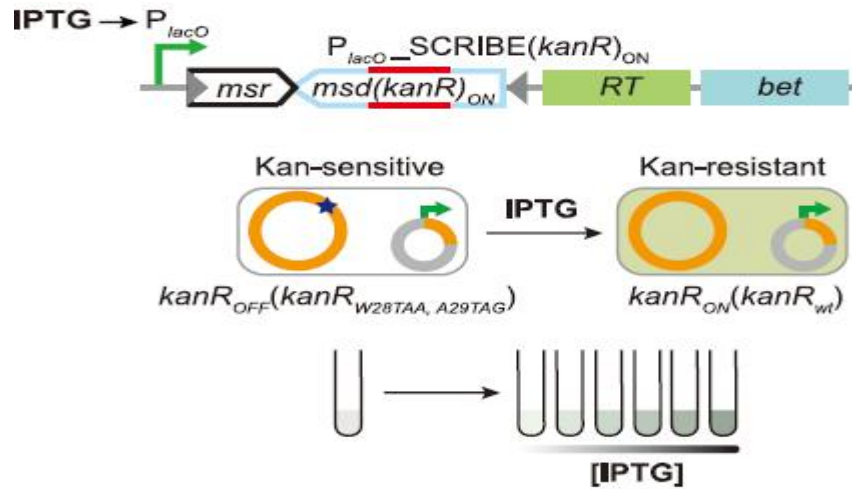
C



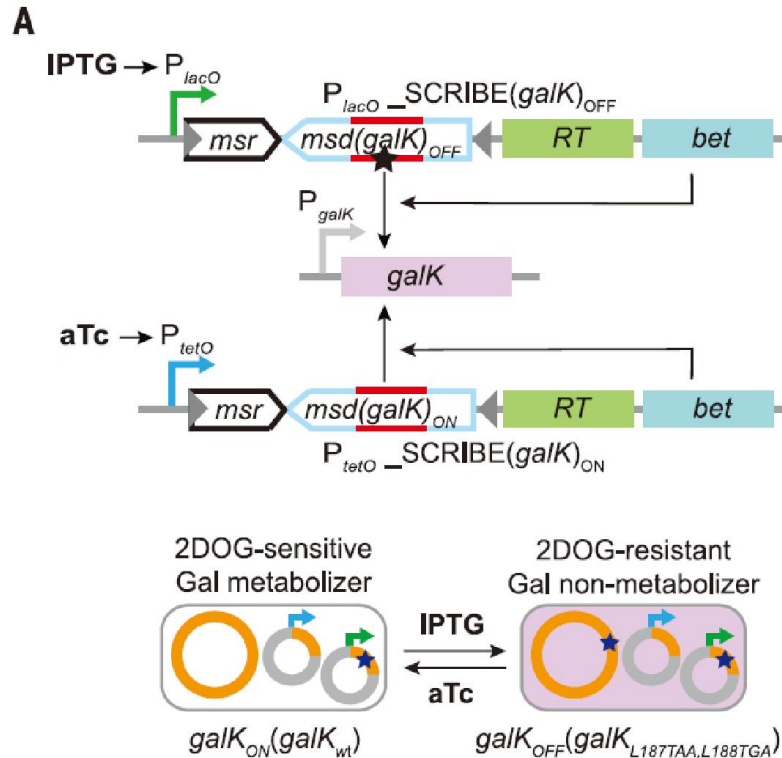
ssDNA(*kanR*)_{ON} 5' ... TAT GGG TAT AAA TGG GCC CGC GAT AAT GTC ...
 Genomic (*kanR*)_{OFF} 5' ... TAT GGG TAT AAA TAA TAG CGC GAT AAT GTC ...
 3' ... ATA CCC ATA TTT ATT ATC GCG CTA TTA CAG ...



(3) Recording input magnitudes into genomic memory (用基因记录输入幅度)



2. SCRIBE can write multiple different DNA mutations into a common target loci (*galK*). (在一个靶位点书写多种不同的DNA突变)



frequencies in the population were determined by plating the cells on appropriate selective conditions. Error bars indicate SEM for three independent biological replicates.

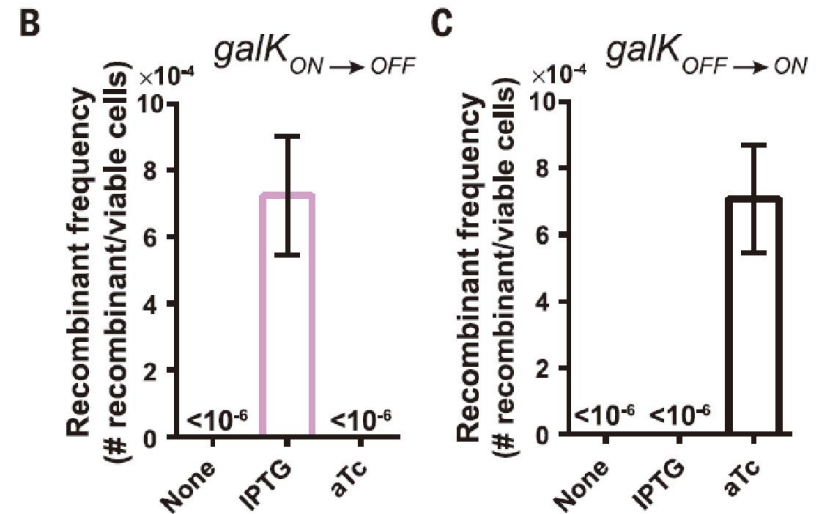
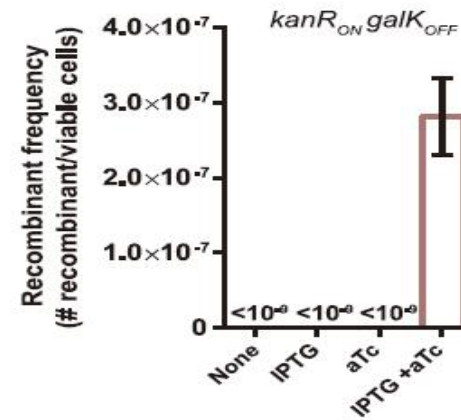
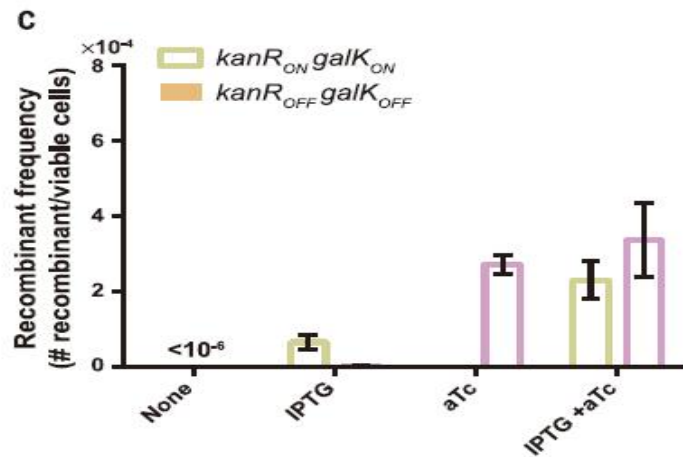
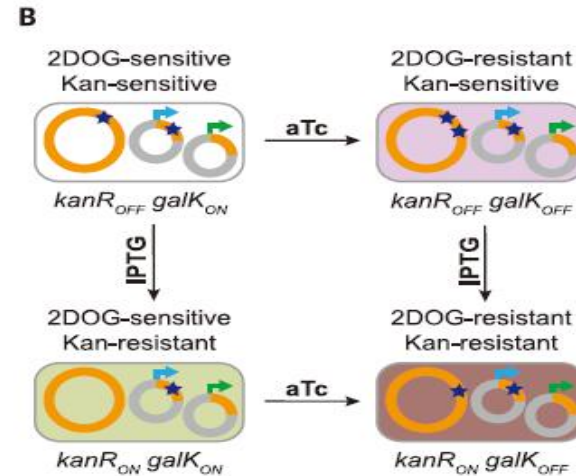
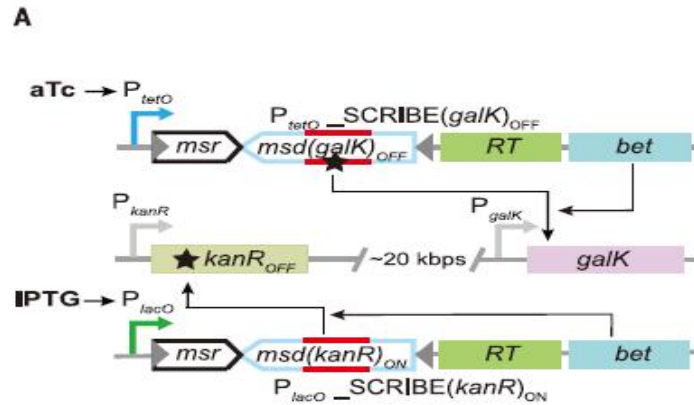


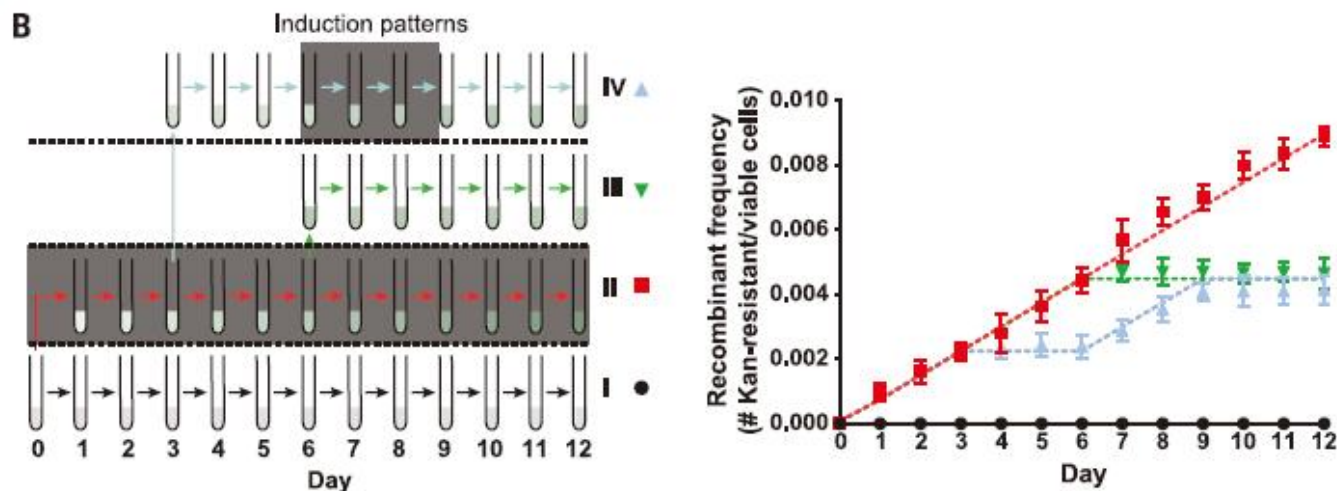
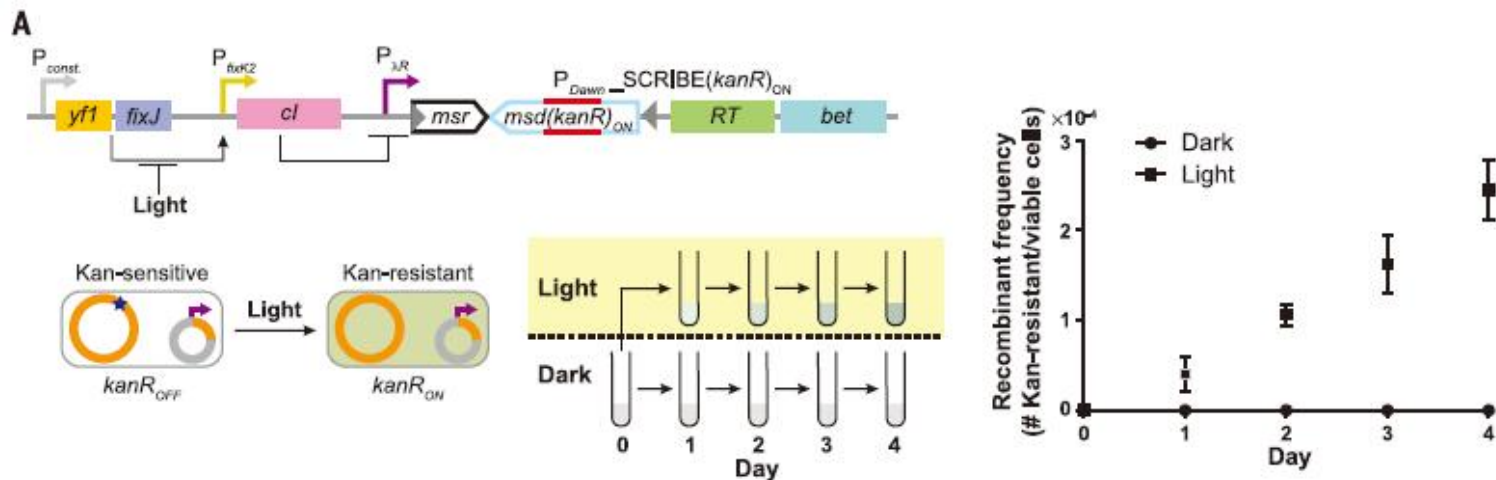
Fig. 2. SCRIBE can write multiple different DNA mutations into a common target loci (*galK*). (A) Schematic of the procedure (see text for details). (B) $galk_{ON}$ cells harboring the circuits shown in (A) were induced with either IPTG (1 mM) or aTc (100 ng/ml) for 24 hours, and the $galk_{OFF}$ frequencies in the population were determined by plating the cells on appropriate selective conditions. (C) $galk_{OFF}$ cells [obtained from the experiment described in (B)] were induced with IPTG (1 mM) or aTc (100 ng/ml) for 24 hours, and the $galk_{ON}$



3. Writing multiple mutations into independent target loci within population. (在独立的靶标位点分别书写多个突变)



4. Optogenetic genome editing and analog memory for long-term recording of input signal exposure times in the genomic DNA of living cell populations. (光遗传学, 记录输入的曝光时间)



- ❖ 5.SCRIBE memory operations can be decoupled into independent “input,” “write,” and “read” operations, thus facilitating greater control over addressable memory registers in genomic tape recorders and the creation of sample-and-hold circuits. (整套程序可以分为输入、写和读取三个独立的操作)
- ❖ 输入：细胞在输入信号的诱导下产生ssDNA
- ❖ 写：ssDNA整合到靶基因上
- ❖ 读取：靶基因发生变化，会造成相应的表达变化，如抗性、酶活性等。



四、结论

- ※ 1. 我们介绍了一个扩展性的平台：在活细胞群中使用基因组DNA来模拟、重写及灵活记忆。
- ※ 2. 我们预计SCRIBE使得长时间的细胞记忆成为可能，将应用到环境和生物医学中。



五、讨论

1. 创新点

过去，研究人员以开启或关闭特定蛋白的表达来作为细胞对某种刺激的回应，以此把细胞变成简单的传感器。但是每一次开关都只能记录一条简单的信息——细胞是否曾经受到过刺激——而无法记录接受刺激的时长或者规模。而且如果细胞死亡，隐藏在蛋白质中的信息就会丢失。而本文介绍的方法就能弥补这些缺点。

2. 启发

SCRIBE还可以被设计用来感知其他刺激，并产生任何人们需要的基因变异。例如用作环境监测传感器，不仅能知道环境中是否有有毒物质等，还能大概推测有毒物质的含量多少。或者用在医学上。解决相关疾病问题。例如操控活体动物的脑细胞或培养皿中培育的人类细胞，这将使得研究人员能够追踪在某一时间是否表达了某种疾病标记物或是一种神经元是否活化。

3. 缺点

- (1) 此文章采用的细胞是群体水平上的，无法具体到单个细胞。
- (2) 此文章提到的幅度、暴露时间，是用同一方法检索的，无法区分。
- (3) 怎么读取，还有待改进。



THANKS!!!

