

一个合成基因网络的电路模型构建

李光壁^{1,3}, 孟令贞^{2,3}, 刘清岱^{2,3}, 张芹^{2,3}, 王志伟^{2,3}

(1. 天津科技大学海洋科学与工程学院, 天津 300457; 2. 天津科技大学食品工程与生物技术学院, 天津 300457;
3. 天津市食品安全管理与战略研究中心, 天津 300457)

摘要: 在系统生物学研究中, 使用已熟知的工程技术来研究基因网络的行为是公认的有效方法. 本文基于一个与细胞振荡放大有关的合成基因网络模型, 构建了它的电路模型. 使用非线性电路设计方法来维持原模型的非线性特性. 分别使用运算放大器方法和 MOSFET 晶体管方法构建了两种电路模型, 并进行了简单比较. 结果可为利用电路模型研究更复杂的基因网络提供了一种可能性.

关键词: 基因网络; 电路; 工程化; 非线性; 相干振荡

中图分类号: O643.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-6510(2011)04-0022-04

Electronic Circuit Model Construction of A Synthetic Gene Network

LI Guang-bi^{1,3}, MENG Ling-zhen^{2,3}, LIU Qing-dai^{2,3}, ZHANG Qin^{2,3}, WANG Zhi-wei^{2,3}

(1. College of Marine Science & Engineering, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China;
2. College of Food Engineering and Biotechnology, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China;
3. Research Center for Food Safety Management and Strategy, Tianjin 300457, China)

Abstract: Engineered gene networks have shown its potential in the study of the properties of natural occurring gene networks. In the present article, an electronic circuit model was constructed based on a synthetic gene network model, which accounts for cell oscillation and amplification. Nonlinear electronic circuits were used to maintain the nonlinearity of the gene networks model. The electronic circuit models was constructed by the operational amplifiers and MOSFET transistors, respectively, and simple comparison was made between them. The results provide a possibility for using electronic models to study the properties of more complex gene networks.

Keywords: gene networks; electronic circuit; engineered; nonlinear; coherent oscillations

在系统生物学研究中, 由于基因以及蛋白质之间相互连接的方式非常复杂, 使得直接研究基因调控网络的动力学行为非常困难^[1], 因此, 近些年来合成生物学取得了很大的发展. 它保留了自然基因网络的一般特性, 同时大大减少了复杂性, 更容易让人理解, 并得到了广泛的应用^[2]. 合成生物学用于研究基因网络时, 产生了合成基因网络^[3]. 目前为止, 研究者在实验上已经构造出了诸如调控开关、振荡动力学体系等合成基因网络模型, 取得了很大成功^[4-5]; 在理论上也得到了这些模型的数值定量关系, 并构造出了更复杂一些的理论模型^[6]. 这些模型可以组合起来

发挥更加复杂的功能, 甚至可以与自然的基因网络相互作用来得到更加丰富的结果^[7].

模拟电路和数字电路的一些特点和基因网络的动力学行为有类似之处, 而且它们都是人们所熟知的, 之前也有一些电路模型在生命体系研究中的应用的报道^[8]. 本文利用非线性电路来模拟一个合成基因网络的动力学行为, 可以最大限度地保留基因网络的非线性特性. 基因网络的非线性已被认为是生物体的自然选择、适应环境扰动、进化等现象的基础, 因此不能被忽视^[9]. 选择了一个基因网络抑制子模型 (repressilator), 它反映了在大肠杆菌中三个基因相互

收稿日期: 2011-01-05; 修回日期: 2011-03-14

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(20903071); 天津科技大学实验室开放基金资助项目(1014A109)

作者简介: 李光壁(1981—), 男, 山东人, 工程师; 通信作者: 王志伟, 副研究员, 博士, 硕士生导师, wangzw@tust.edu.cn.

抑制后产生动力学行为, 这种动力学能导致细胞内蛋白质水平的振荡和振荡的放大^[10]. 分别用运算放大器和 MOSFET 晶体管来构建电路模型, 用简单而直观的方式来表现基因与蛋白质之间的相互作用. 对电路模型进行耦合, 并分析了耦合效应对于总体振荡的影响. 简单的电路模型对于理解合成基因网络的动力学行为很有帮助.

1 抑制子模型

Elowitz 等^[10]人提出了大肠杆菌中抑制子模型 (repressilator). 在该模型中, 有三个互相连接的起振荡器作用的抑制基因, 每个基因的蛋白质产物均抑制其后的基因的表达. 图 1 显示了网络内部相互作用示意图, 箭头代表基因的启动点. 每一个抑制基因产生一种蛋白质, 与下一个基因的启动子结合, 从而抑制了该基因相应蛋白质的生成. 这种结构导致了三个抑制基因在表达上的振荡, 并包含一个 $2\pi/3$ 的相位延迟.

在最初的设计中, 振荡周期 (主要由蛋白质和 mRNA 分子的降解率决定) 比构成该网络的大肠杆菌分裂时间要长. 细胞分裂之后, 子细胞的频率与所处的阶段逐渐形成差异, 形成了一个具有许多独立振荡

行为的群体. 怎样使该系统的振荡同步呢? García-Ojalvo 等^[11]提出了以数值模型为基础的群体感应细胞间通信, 因此同步并不是问题.

该抑制子模型进行电路模型设计, 分别采用运算放大器和晶体管方法来设计简单电路.

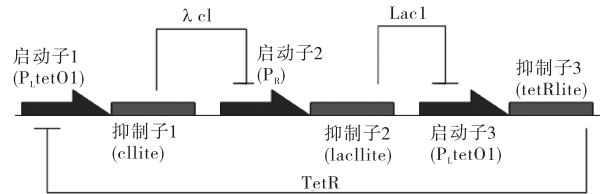


图 1 抑制子模型简图 (三个抑制基因由负反馈连接)

Fig.1 Network architecture of a repressilator (three repressor genes are connected by negative feedbacks)

2 电路模型设计

2.1 利用运算放大器构建电路模型

运算放大器是电路设计中最常用的器件. 它构成的电路可完成基本的运算, 如加法和减法等. 在这一部分, 使用运算放大器的级联来模拟基因抑制子的动力学行为. 设计的简单级联运算放大器如图 2 所示. 该设计使用了三个相互连接的简单电路来代表图 1 中的基因抑制子.

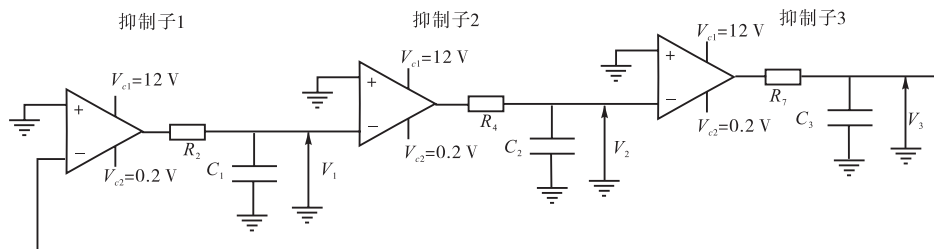


图 2 使用运算放大器构建的抑制子电路模型

Fig.2 Electronic circuits of the “repressilator” based on operational amplifiers

该电路由 RC 积分电路和运算放大器构成三个基本单元. 每个 RC 电路的输出电压 (如图 2 记录为 V_i) 与每个抑制子基因的蛋白浓度相当. 电压值输入到运算放大器中可模拟基因的启动子区域. 输出电压 V_i 与反相输入端相连而同相输入端接地, 因此运算放大器可作为电压对照. 在一个单元里, 输入 V_i 与输出 V_0 通过 RC 电路相连. 描述每个单元的电压行为的微分方程可以表示为

$$R_1 C_1 \frac{dV_1}{dt} = -V_1 + H_v(-V_3) + D_1 \xi(t)$$

$$R_2 C_2 \frac{dV_2}{dt} = -V_2 + H_v(-V_1)$$

$$R_3 C_3 \frac{dV_3}{dt} = -V_3 + H_v(-V_2)$$

其中 $H_v(x)$ 为运算放大器的对照, 它可由一个阶梯函数表示:

$$H_v(x) = V_{e2} \quad (x < 0)$$

$$H_v(x) = V_{c1} \quad (x > 0)$$

而 $D_1 \xi(t)$ 为高斯白噪声项, D_1 表示噪声强度.

将电源电压设置为非对称的, 该模型中, 负电源

V_{c2} 设置为一个略低于 0 V 的值. 在这样的电路方式更接近初始基因振荡网络, 不显示负电压. 这个方式产生了一种振荡行为(参见图 3 的模拟结果), 噪声对它的频率(主要取决于 $R_2, R_4, R_7, C_1, C_2, C_3$)和幅度(主要取决于正负电源的数值)影响较小. 从图 3 可以看出, 噪声强度几乎没有对振荡曲线产生影响, 因为在这样的参数下体系并没有处于分岔点附近, 因此只会有微小的扰动.

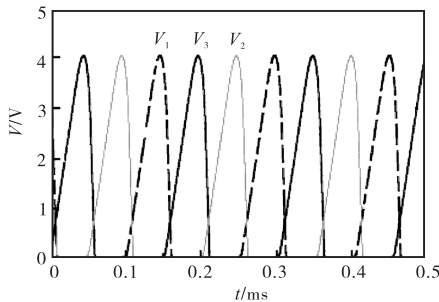


图 3 运算放大器模型产生的振荡

Fig.3 Oscillations generated by the operational amplifier model

2.2 利用 MOSFET 晶体管构建电路模型

电路的一个重要优势是它的集成能力. 从这个意义上来说, 晶体管是最适合集成的一种器件. 在这里用同样的方法, 由晶体管取代运算放大器来构建电路模型(如图 4 所示). N-沟道 MOSFET 晶体管 (T_1, T_2, T_3) 作为控制开关, 每个晶体管的输出电压与每个抑制子基因的蛋白质浓度相当.

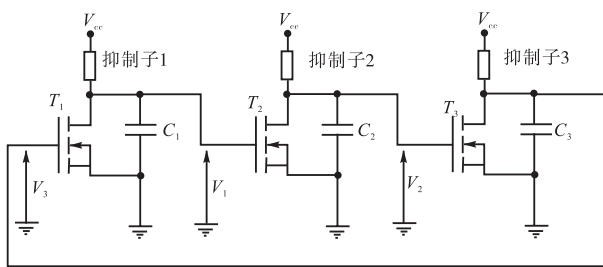


图 4 使用 MOSFET 晶体管构建的抑制子电路模型

Fig.4 Electronic circuits of the “repressilator” based on MOSFET transistors

当加在栅极上的电压超过某一阈值电压时, 晶体管改为导通, 使得输出电压接近零. 在这种情况下, 栅电压作为输出电压的抑制子, 类似于一个抑制蛋白质. 例如: V_2 作为 T_3 的栅电压, V_3 作为输出电压. 当栅电压 V_2 降至阈值(无抑制子), V_3 达到它的最大值 (V_{cc}), 此时晶体管可作为一个高的阻抗(即断路). 另外, 随着前一个晶体管电压的升高, 抑制作用增强,

输出电压降至零. 说明三个晶体管的这种自抑制的方式与它们所对应的原始生化过程是一致的. 模拟结果发现, 这种方法得到的三种输出电压也形成了振荡(见图 5), 这种振荡称为环形振荡, 其微分方程为

$$R_1 C_1 \frac{dV_1}{dt} = -V_1 + V_{cc} f(V_3)$$

$$R_2 C_2 \frac{dV_2}{dt} = -V_2 + V_{cc} f(V_1)$$

$$R_3 C_3 \frac{dV_3}{dt} = -V_3 + V_{cc} f(V_2)$$

其中 $f(x)$ 取决于晶体管参数. 若想在晶体管输出时获得振荡, $f(x)$ 应该有一个反曲线形状. $f(x)$ 可由下式得到:

$$f(x) = \frac{\alpha}{1 + \beta x^n}$$

式中 α, β 和 n 是 MOSFET 晶体管的参数.

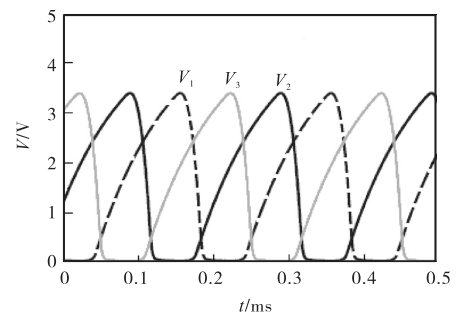


图 5 MOSFET 晶体管电路模型产生的振荡

Fig.5 Oscillations generated by the MOSFET transistors model

由图 5 可以看出电压随时间的变化规律. 在两个相邻的电路振荡中, 参考相位的电压振荡不同于 $2\pi/3$ 的相位延迟, 也就是说当调高一个晶体管(如 T_1)的电位时, 下一个晶体管(T_2)电压就会降低, 而此时第三个(T_3)的电压会升高. 这样的抑制链就可以产生整个振荡系统, 包括电子和基因抑制子等.

3 结 语

本文分别使用两种简单的电路, 构建了两两种各有特点的三基因抑制网络的电路模型. 今后可以设计更加复杂和合理的电路模型. 当然, 也可以利用这些简单电路按照更复杂的方式组合起来, 利用这样的模型来研究实验上较难实现的基因网络的连接关系与网络鲁棒性和适应性问题. 希望本文的结果为利用电路模型研究更复杂的基因网络提供一种可能性.

参考文献:

- [1] Hasty J,McMillen D,Collins J J. Engineered gene circuits[J]. Nature,2002,420(6912):224-230.
- [2] Isaacs F J,Hasty J,Cantor C R, et al. Prediction and measurement of an autoregulatory genetic module[J]. Proc Natl Acad Sci USA,2003,100(13):7714-7719.
- [3] Tomas R,Thieffry D. Feedback loops,the wheels of biological regulatory networks[J]. Med Sci,1995,11(2):189-197.
- [4] Becskei A,Serrano L. Engineering stability in gene networks by autoregulation[J]. Nature,2000,405(6786):590-593.
- [5] Wang Zhiwei,Hou Zhonghuai,Xin Houwen. Internal noise stochastic resonance in a synthetic gene network [J]. Chem Phys Lett,2005,401(1/2/3):307-311.
- [6] Barkai N,Leibler S. Biological rhythms[J]. Nature,1999,403:267-268.
- [7] Toettcher J E,Mock C,Batchelor E. et al. A synthetic-natural hybrid oscillator in human cells[J]. Proc Natl Acad Sci USA,2010,107(39):17047-17052.
- [8] Hänggi P. Stochastic resonance in biology[J]. Chem Phys Chem,2002,3(3):285-290.
- [9] Elowitz M B,Levine A J,Siggia E D,et al. Stochastic gene expression in a single cell[J]. Science,2002,297(5584):1183-1186.
- [10] Elowitz M B,Leibler S. A synthetic oscillatory network of transcriptional regulators[J]. Nature,2000,403:335-338.
- [11] García-Ojalvo J,Elowitz M B,Strogatz S H. Modeling a synthetic multicellular clock;Repressilators coupled by quorum sensing[J]. Proc Natl Acad Sci USA,2004,101(30):10955-10960.
-
- (上接第13页)
- [7] Buzon V,Natrajan G,Schibli D,et al. Crystal structure of HIV-1 gp41 including both fusion peptide and membrane proximal external regions[J]. Plos Pathog,2010,6(5):880.
- [8] Luftig M A,Mattu M,Di Giovine P,et al. Structural basis for HIV-1 neutralization by a gp41 fusion intermediate-directed antibody[J]. Nat Struct Mol Biol,2006,13(8):740-747.
- [9] Kwong P D,Wyatt R,Robinson J,et al. Structure of an HIV gp120 envelope glycoprotein in complex with the CD4 receptor and a neutralizing human antibody[J]. Nature,1998,393(6686):648-659.
- [10] Huang C C,Tang M,Zhang M Y. Structure of a V3-containing HIV-1 gp120 core[J]. Science,2005,310(5750):1025-1028.
- [11] ZHOU Tongqing,XU Ling,Dey B,et al. Structural definition of a conserved neutralization epitope on HIV-1 gp120[J]. Nature,2007,445(7129):732-737.
- [12] Chen L,Kwon Y D,Zhou T,et al. Structural basis of immune evasion at the site of CD4 attachment on HIV-1 gp120[J]. Science,2009,326(5956):1123-1127.
- [13] Zhou T,Georgiev I,Wu X,et al. Structural basis for broad and potent neutralization of HIV-1 by antibody VRC01[J]. Science,2010,329(5993):811-817.
- [14] 张晓燕,李红梅,梁华,等. EIAV 减毒疫苗诱导的特异性细胞免疫应答[J]. 细胞与分子免疫学杂志,2006,22(1),115-118.
- [15] 梁华,沈弢,张晓燕,等. 马传染性贫血病毒基因表达调节机制的研究进展[J]. 细胞与分子免疫学杂志,2005,21(z1):130-132.
- [16] 沈荣显,徐振东,何云生,等. 马传染性贫血病免疫的研究[J]. 中国农业科学,1979(4):1-15.