

[文章编号] 1007-385X(2005)01-0074-02

基因电路研究进展

王卫东 综述; 陈正堂, 王志新 审阅(第三军医大学新桥医院全军肿瘤中心, 重庆 400037)

[摘要] 将不同基因按一定规则连接在一起即构成基因电路(genetic circuits), 上游基因的蛋白产物调控下游基因的表达活性, 环环相扣, 从而完成特定的生物学功能。基因电路构成的基本原理是各种逻辑门(logic gate), 最基本的两个逻辑门是“变极器”和“AND”, 在此基础上可构成各种复杂的基因电路。BioSPICE 软件是目前常用的一种基因电路设计程序, 但其尚需进一步完善。“定向进化”(directed evolution)法是最近提出的一种基因电路设计方法。基因电路在未来的肿瘤诊治中将发挥重要作用。

[关键词] 基因电路; 细胞; 逻辑门

[中图分类号] Q730.8 **[文献标识码]** A

近来, 研究者将电子工程的概念应用于生物学, 比如数字逻辑、记忆存储、振荡子等, 构建基因电路。人们计划用基因电路给细胞行为进行编程, 最终目标是制造出基因“程序”, 完成特定的任务, 比如监测和清除环境污染物、跟踪体内的肿瘤细胞、合成抗体以及分子级的电子元件等。通过将 DNA 序列黏进细胞就可给细胞下载程序, 就像从因特网上下载 JAVA 程序一样, 生产出试管内的“奔腾芯片”。本文拟对基因电路研究的基本概念及相关进展作简要综述, 并展望基因电路在肿瘤研究中的意义。

1 细胞逻辑门

数字电路是现代计算机制作的基本结构, 编码的比特信息为 0 和 1, 通过严格而精确的途径操纵计算行为。细胞由细胞器、蛋白、小分子等构成, 似不适于上述计算。然而, 细胞应用类似数字电路的方式调控它们的行为及其对环境的反应, 比如 On/Off 开关、反馈回路等。而且, 细胞拥有大量的信息处理系统, 它们的 DNA 序列中包含有详细的有关何时、如何合成何种蛋白质的信息。根据细胞改变的需要决定基因表达的开始与否。

在电子工程中通过线路将晶体管(硅芯片的基本 On/Off 开关)联接成复杂的电路, 模拟此过程, 研究者将各种基因按一定规则连接在一起, 构成“基因电路”, 一种基因的蛋白产物调控下一种基因的活性。硅电路通过大量简单的逻辑门完成复杂的操作。基因电路设计者正在细胞内构建同样的逻辑门。其中一种逻辑门称为“变极器”, 如果输入为 0, 则输出为 1; 如输入为 1, 则输出为 0。另一种是 AND 门, 有两种输入, 只有当两种输入均为 1 时, 输出为 1。令人吃惊的是, 应用看起来如此简单的两种逻辑门, 数学家们可以进行任何复杂的逻辑操作。

Weiss 等^[1]近年来在构建细胞逻辑门方面进行了初步的研究, 已成功建立了一个细胞变极器、一个 AND 门和两个其它逻辑门。在变极器逻辑门中, 输入比特和输

出比特分别为两个蛋白浓度, 为简化起见分别称为蛋白 A 和蛋白 B。变极器由基因、蛋白 B、蛋白 A 组成; 基因编码蛋白 B, 含有与蛋白 A 结合的区域。当蛋白 A 不存在时(输入为 0), 基因活化, 蛋白 B 形成(输出为 1); 当蛋白 A 存在时(输入为 1), 与基因结合而使其受抑, 抑制蛋白 B 产生(输出为 0)。Weiss 在埃希氏大肠杆菌构建一个 DNA 环, 包含两种重要成分: 编码蛋白 B 的基因, 在其附近有蛋白 A 的结合序列。DNA 转录为 mRNA, 后者翻译成蛋白 B。如果蛋白 A 浓度足够高, 它将与 DNA 环结合, 阻止 mRNA 的合成, 最终阻断蛋白 B 的产生。相反, 如果蛋白 A 浓度低, 则蛋白 B 将大量合成。因此, 在此基因电路中, A 低则 B 高, A 高则 B 低。在 AND 基因电路中, 输入蛋白 X 和 Y 结合并灭活不同拷贝的编码 R 蛋白的基因, R 蛋白结合并灭活编码 Z 蛋白的基因, 后者为输出蛋白。如果 X 和 Y 同时输入, 结果 R 输出为 0, Z 输出为 1。如果 X、Y 或二者同时输入为 0, R 输出为 1, Z 输出为 0。

将变极器连接一起, 已构建了许多有趣的基因电路, 比如 Gardner 等^[2]将 2 个变极器相连接构成一个记忆存储结构, 两种蛋白互为输出和输入。Elowitz 等^[3]利用 3 个变极器构建了一个振荡基因电路, 3 个变极器串联, 上一个变极器的输出是下一个变极器的输入, 并形成一个大环路。实验结果提示, 只要任一个蛋白处于低浓度时, 报告分子荧光蛋白都将活化。最近, Weiss 等^[4]用 5 个基因构建了一个基因电路, 并转入大肠杆菌, 可以探测到环境中某一浓度的毒性物质, 发出荧光。不同的大肠杆菌可探测不同浓度的毒物, 发出不同荧光, 从而形成一个反映毒物位置和浓度的彩色图谱。

2 基因电路的设计

真正让这些基因电路在细胞内正常运转, 远非仅仅理论

[基金项目] 国家自然科学基金(30300097)

描述那么简单。比如,将一个逻辑门与下一个连接起来,上一个逻辑门产生的蛋白必须是刚好激活下一个逻辑门的量,在每一步,输出蛋白须要么非常高,要么非常低,避免假阳性和假阴性。各个参数必须匹配,比如各个蛋白与 DNA 的结合力须与整个逻辑门的功能相一致,否则难以达到目的。通过反反复复的试验调整基因电路,使之达到预期目的,是一个代价高昂的过程。基因电路工程师们往往需将一种生物基因组的 DNA 用酶切割下来,再用别的酶将其连接在一起,导入另外一种生物组织内。就象一篇文章是由来自不同杂志的句子段落拼凑而成一样。为解决这一难题,基因电路工程师试图利用数学模型预测基因电路的行为特征。生物学、数学等领域的专家,合作编写了一种计算机程序,称为“BioSPICE”。SPICE 是一种试验电子芯片设计是否合理的程序。BioSPICE 通过建模蛋白、基因等生化反应的速率而模拟基因电路。

由于基因电路常常包含复杂的反馈环路,模拟反应的方程式往往是非线性的^[5]。如果输入蛋白的数量加倍,输出蛋白的数量未必加倍。非线性方程多见于天气预报和人口动力学研究,参数极小的改变可导致系统行为的大幅度摆动。这使得系统难以分析。同时,非线性是基因电路多样性产生的源泉,即使只有 3~4 个基因的基因电路,就可能有大量的潜在行为模式。由于生化反应的许多参数尚不完全清楚,分子本身随机变化等使得基因电路更加复杂化,数学模拟仅能给出基因电路是否工作的部分信息。因此,原本想得到 500 个蛋白,而实际研究结果仅有 50 个蛋白,这种情况非常普遍。基因电路的设计是一个反复模拟、改进的过程。

Weiss 等^[6]最近提出了一种新的基因电路设计方法,即定向进化法。该方法不通过反复的修改设计,而是让实验室版的自然选择来完成筛选工作,一旦基因电路如预期的一样工作,允许 DNA 产生突变,满足基因电路功能的需要。Weiss 等^[7]把其先前设计的一个变极器引入多种随机突变,然后将这些突变的基因电路导入细胞,检测它们的工作性能,选出功能最佳的变极器;经过两轮筛选就找出较为理想的变极器。

根据电子学原理,真正的功效来源于将多个细胞逻辑门装配成大的电路。达此目标尚需克服许多技术上的难题。比如,基因电路中的每一个新逻辑门必须由特殊的蛋白来启动开关,各门之间的启动蛋白应不相同;而且,每一阶段产生蛋白须不干扰其它基因电路。至今,仅有几种背景清楚的基因可用于基因电路设计。

麻省理工学院的 Weiss 和 Basu 正在致力于构建一个基因电路元件库,他们将这些元件称为“生物砖”,尤其是将这些生物砖制成标准元件,明确其各种功能参数,并附有说明书注明其工作条件,极限条件,规格大小,精确性及可靠性等^[7]。构建一个理想的基因电路往往需要大量而持久的工

作;基因电路的设计可从细胞自然的生命过程中获取思维火花。随着基因电路设计方法的不断更新和完善,这一技术将被广泛应用,造福人类。

3 基因电路与肿瘤研究

基因电路的工作原理有助于人们理解和探索肿瘤细胞的一些生物学特性,比如肿瘤细胞同一基因在不同时间,以及同一基因在不同肿瘤细胞内表达强度存在很大差异,其主要机理在于调控基因表达的基因电路存在非同步的震荡,表现出随机性特征。这一特征也可见于其他一些生物学现象。因此,通过研究基因电路的工作原理,可进一步深化我们对一些肿瘤生物机制的认识。

利用基因电路,人们可以精确地操纵细胞行为,满足人类需要。根据肿瘤细胞生物学特性,构建特定的基因电路,下载给工程细胞,使其能够识别和跟踪肿瘤细胞,从而实现肿瘤的早期诊断。在我们正在进行的一项研究中,利用肿瘤特异性标志物作为输入蛋白,通过相应的基因调控序列诱导报告基因表达,再进一步检测报告基因,识别肿瘤细胞;配合特定的放大基因电路,可大大提高肿瘤细胞检测敏感性和特异性。

基因电路应用于肿瘤基因治疗,可大大更新现有的治疗模式,现有的基因治疗载体仅能达到粗略的调控,即目的基因的表达与否。基因电路则可精细地调控基因表达,比如何时何地表达、表达强度、持续时间等。相信不久的将来,基因电路将广泛应用于肿瘤的诊治。

[参考文献]

- [1] Yokobayashi Y, Weiss R, Basu S, *et al.* Evolutionary design of genetic circuits and cell-cell communication[J]. *Adv Comp Systems*, 2003, 9(3): 25-32.
- [2] Gardner TS, Cantor CR, Collins JJ. Construction of a genetic toggle switch in *E. coli*[J]. *Nature*, 2000, 403(6767): 339-342.
- [3] Elowitz MB, Leibler S. A synthetic oscillatory network of transcriptional regulators[J]. *Nature*, 2000, 403(6767): 335-338.
- [4] Yokobayashi Y, Weiss R, Arnold FH. Directed evolution of a genetic circuit[J]. *Proc Natl Sci U S A*, 2002, 99(26): 16587-16591.
- [5] Hasty J, McMillen D, Collins JJ. Engineered gene circuits[J]. *Nature*, 2002, 420(6912): 224-230.
- [6] Hasty J. Design then mutate[J]. *Proc Natl Sci U S A*, 2002, 99(26): 16516-16518.
- [7] Weiss R, Basu S, Hooshangi S, *et al.* Genetic circuit building blocks for cellular computation, communications, and signal processing[J]. *Nat Comp*, 2003, 6(2): 1-40.

[收稿日期] 2004-08-30

[修回日期] 2004-10-20

[本文编辑] 韩丹, 王莹