



少数代谢物调控大肠杆菌中心 代谢基因的表达

汇报人：何贝贝

日期：2017.10.18

背景介绍



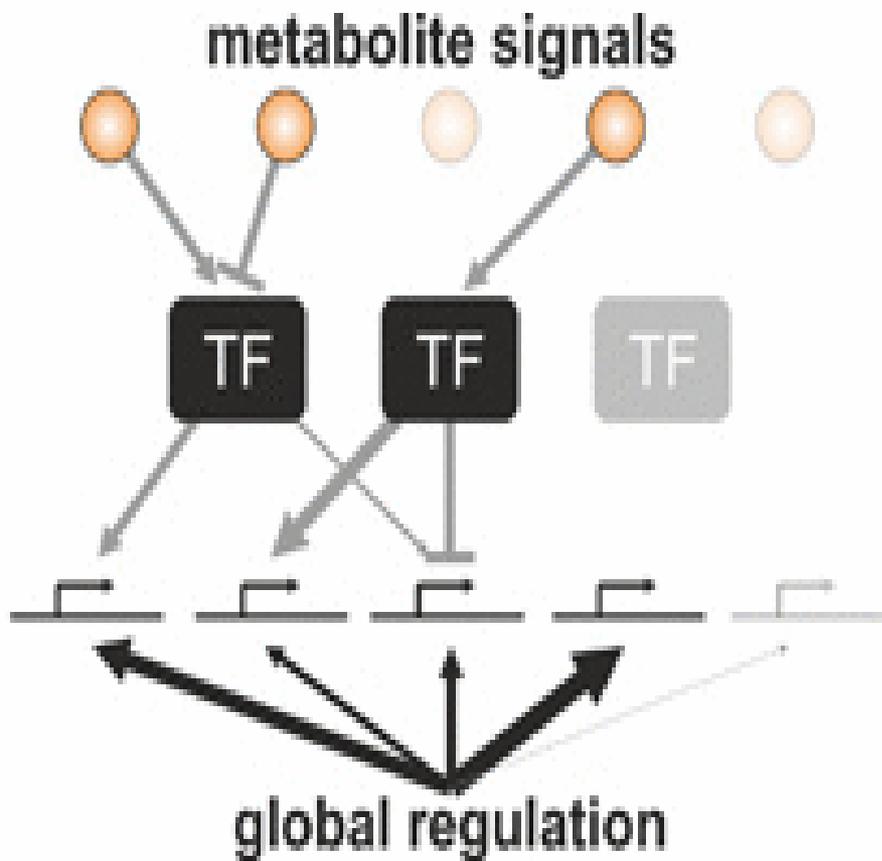
对于大多数微生物来讲，维持其生长的环境包括广泛的营养条件。应对这种不同的环境需要对新陈代谢进行调节，以适当的化学计量提供生物质前体，氧化还原因子和能量。转录调控在微生物适应不同的环境时起关键作用。

转录网络由数百个转录因子和数千个重叠的靶基因组成。那么在这么复杂的网络中，对中心代谢基因表达的调控是不是需要所有的代谢物都参与其中呢？



背景介绍

在调控转录的过程中起到重要作用的是转录因子，而转录因子又需要接收信号（代谢物）才能发挥其转录水平上的调控作用。





背景介绍

了解细胞如何从调控网络和信号的相互作用下实现转录有两个方面限制了我们以定量的方式研究这些调控网络的能力，第一个限制来自**实现启动子的活性**。第二个限制是**缺乏系统地鉴定调节转录因子活性的代谢物（信号）的方法**。为了克服这两反方面的限制，我们进行了以下的研究。



1. 启动子活性的全面量化

使用荧光转录报告质粒库，量化了26种环境条件下64种中心代谢启动子的活性。

培养物从LB预培养物以1:50比例接种于96孔深孔格板的M9培养基中，并在37°C下振荡孵育过夜。在6-10分钟（稳态实验）或10分钟（动态实验）间隔下，在37°C下振荡使用600nm（OD 600）和荧光的在线测量。

2. 细胞内代谢物浓度的定量

为了确定代谢物的绝对浓度，制备了具有 ^{13}C 内标的标准溶液的1:3稀释液并行测量。



3. 数据处理

所有数据处理均采用MATLAB软件进行

4. 解析全局和特异性的转录调控

使用自然对数和z分数归一化来转化启动子活性数据

5. 鉴定调节代谢物

用一种数学建模的计算方法系统地鉴定了作为转录因子介导的特异性调控的潜在调控信号的代谢物



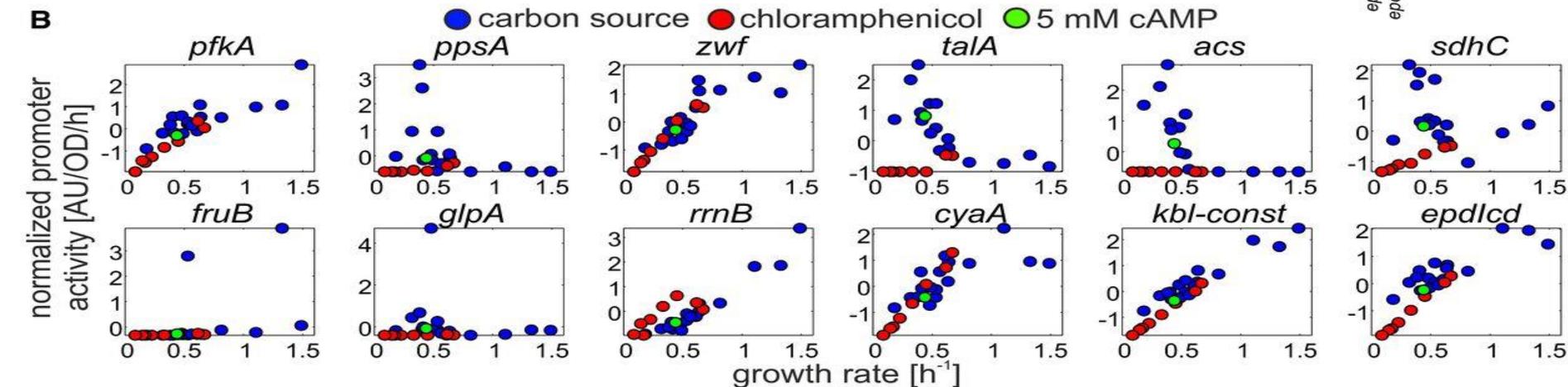
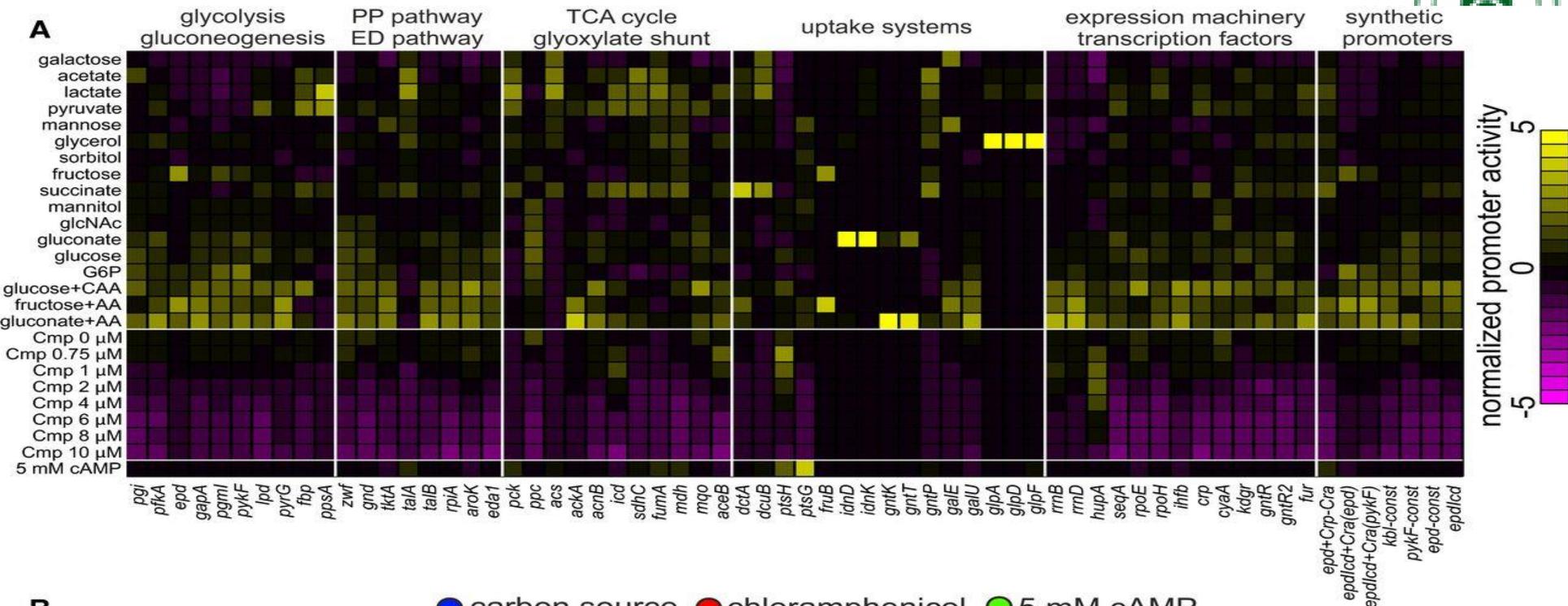
结果 用荧光转录报告质粒定量大肠杆菌的基因表达

总共确定了在26种不同环境条件下（包括不同的碳、氨基酸补充以及氯霉素）稳态生长期间95个启动子的活性，在这些条件下，实现了0.1/h和1.5/h之间的稳态生长。

95个中的31个启动子主要是次要中枢代谢同工酶的启动子，在所有测试条件下都是无活性的，因此被丢弃。

剩下的64个启动子显示出不同的模式。碳利用途径的一小部分启动子在一个或两个测试条件（例如fruB）中显示高度条件特异性的活化。约15%的启动子（TCA循环启动子），在支持低于0.8 / h的生长速率的碳源上活化，但未被氯霉素处理活化，导致低生长速率。

64个中心代谢基因在26个条件下的稳态启动子活性





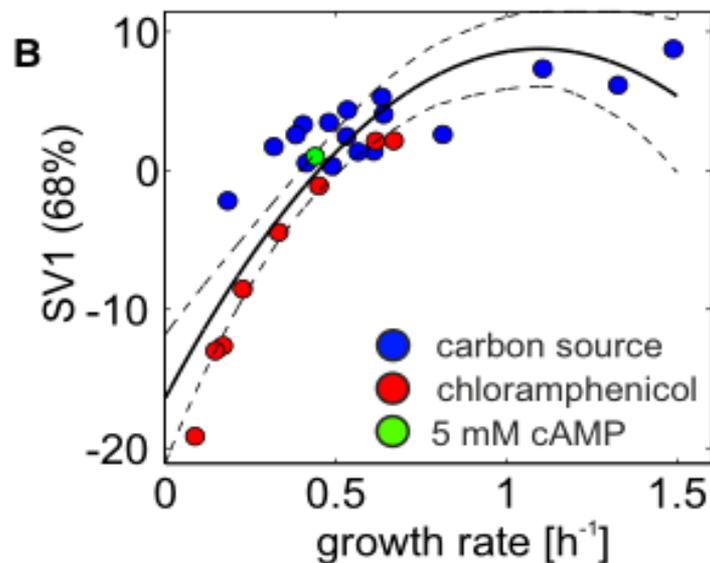
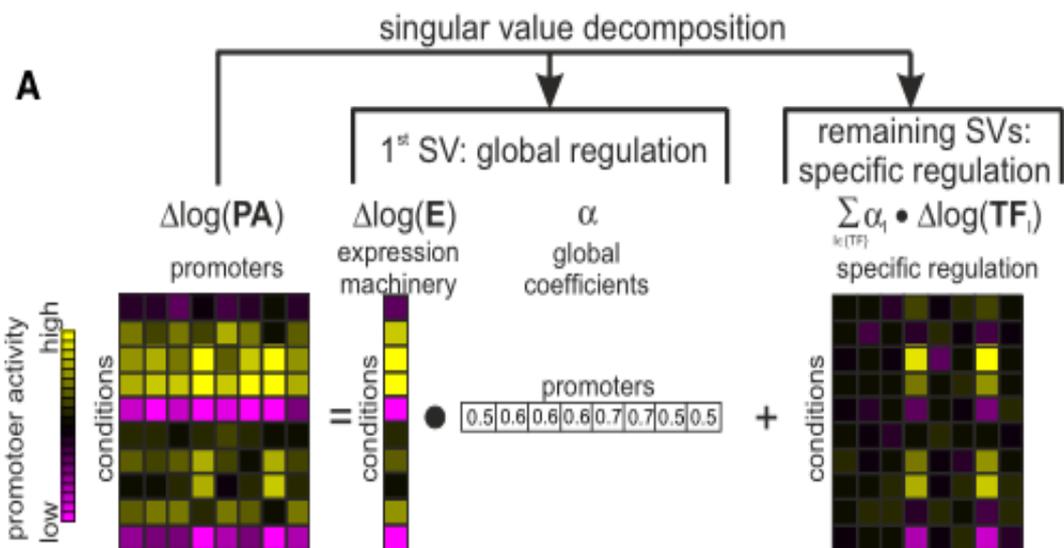
解析中心代谢中的全局和特异性转录调控

$$pa_{ij} = (E_j/K_{Ei})^{\alpha_{Ei}} \cdot \prod_{l \in \{TF\}} (1 + TF_{lj}/K_{li})^{\alpha_{li}}$$

通过将启动子活性转化自然对数进行了特异性转录调控的分析

$$\Delta \log(pa_{ij}) = G + S$$

$$G = \alpha_{Ei} \cdot \Delta \log(E_j) \quad S \approx \sum_{l \in \{TF\}} \alpha_{li} \cdot \Delta \log(TF_{lj})$$

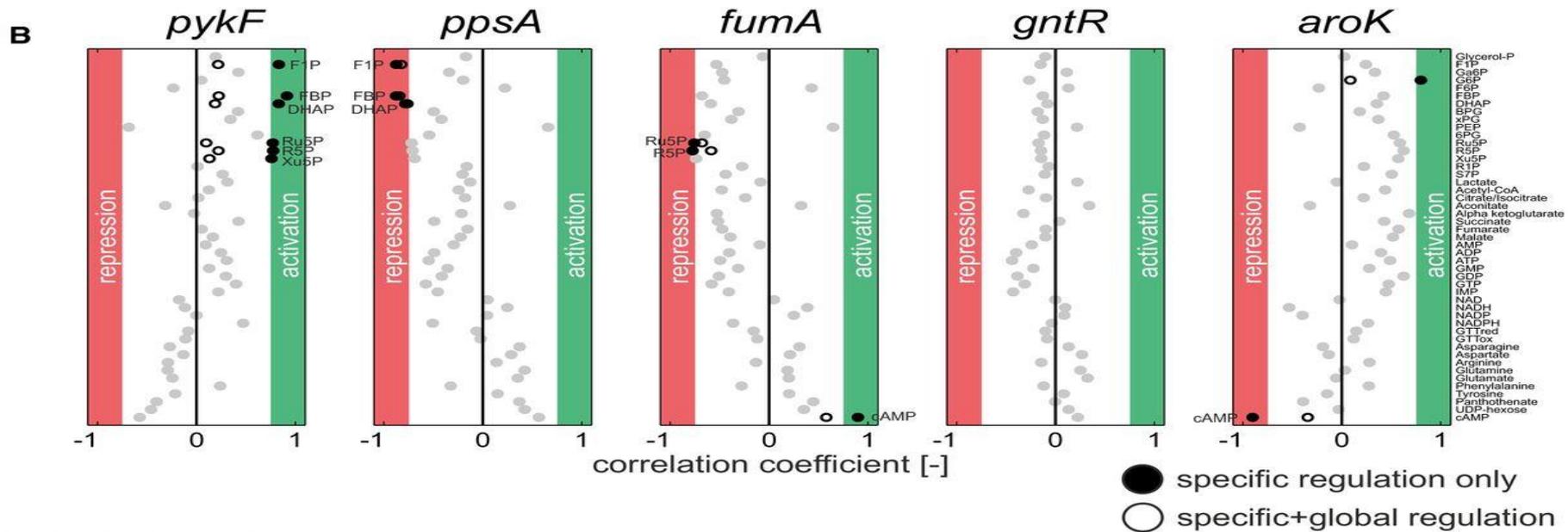
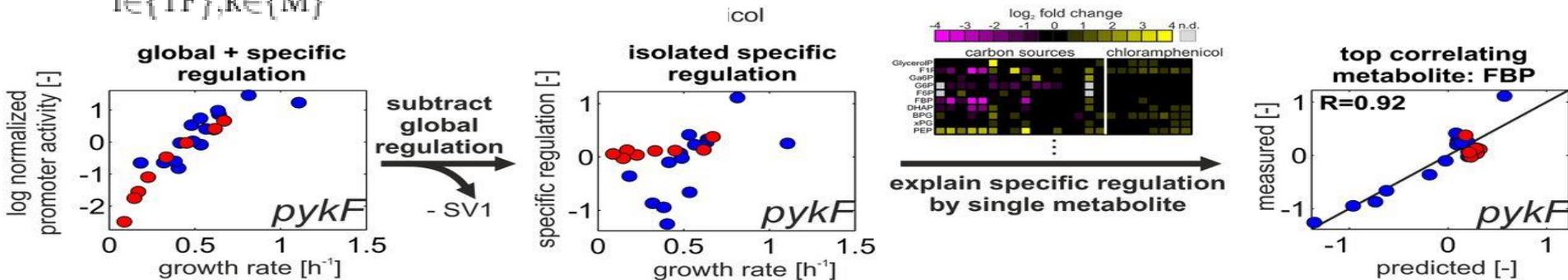




影响特异性转录调控的代谢物的系统鉴定

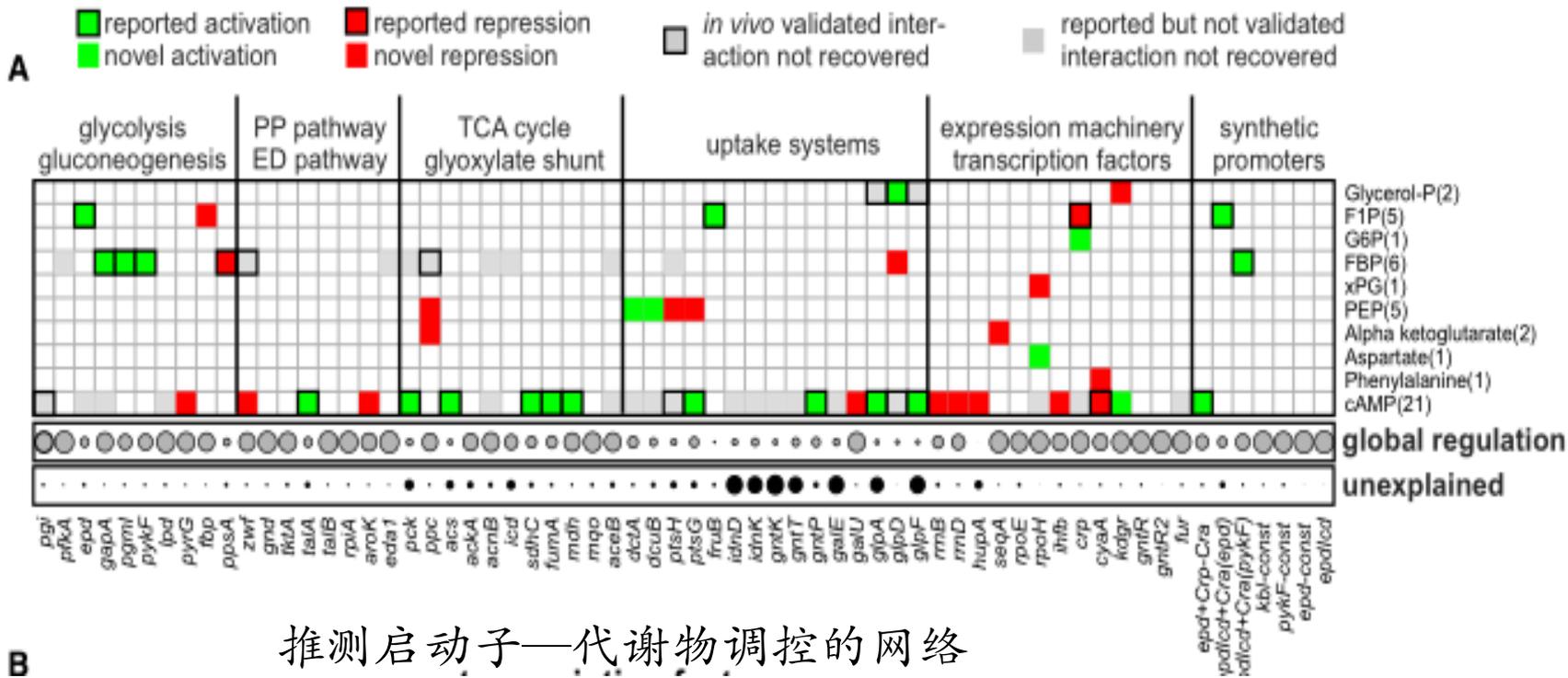
$$S \approx \sum_{l \in \{TF\}, k \in \{M\}} \alpha_{li} \cdot \beta_{lk} \cdot \Delta \log(M_{kj})$$

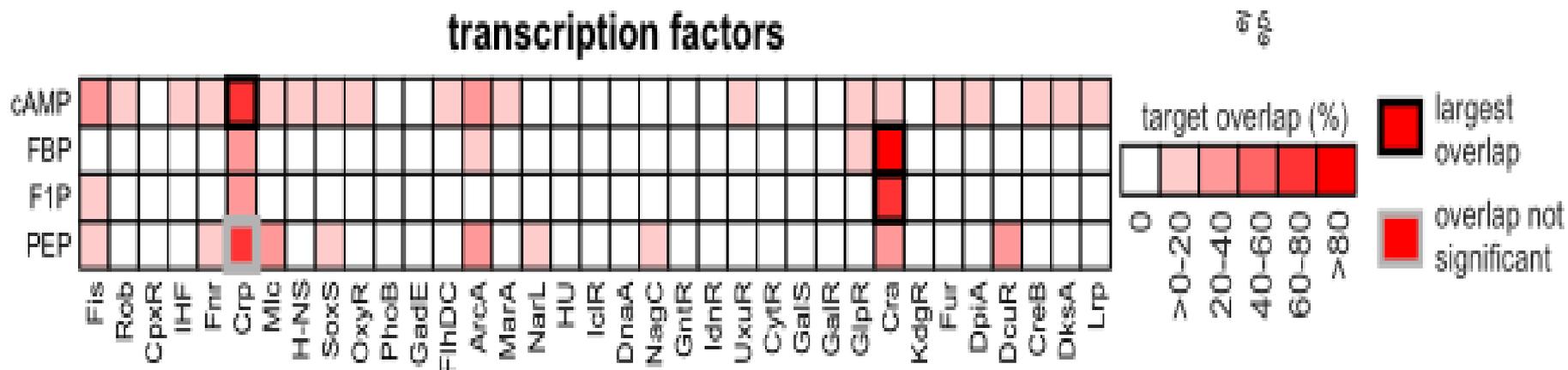
表明果糖-1,6-二磷酸在调控中起重要作用



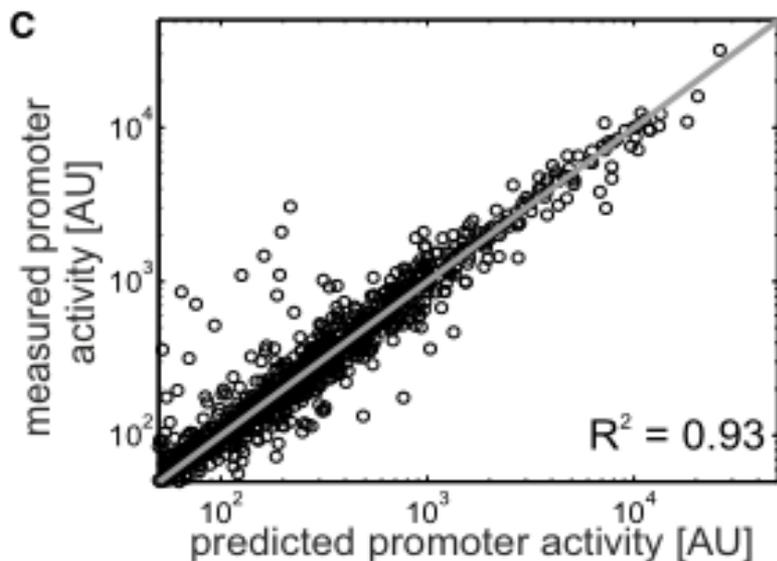


将代谢调控信号（代谢物）与转录因子相关联



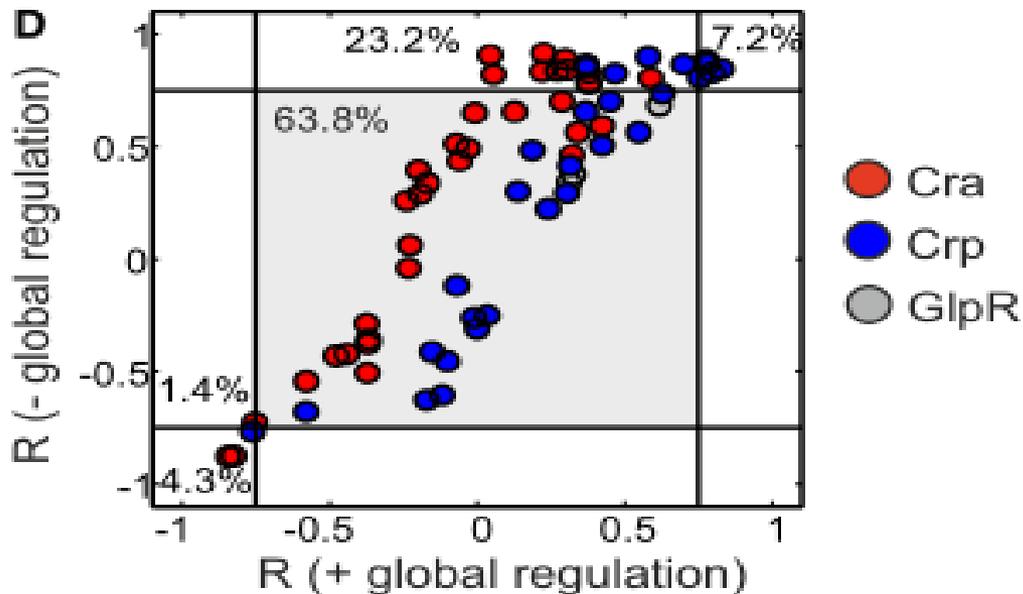


推测潜在转录因子—代谢物的相互作用



图C表明cAMP、果糖-1,6-二磷酸、果糖-1-磷酸、PEP这几种代谢物调控转录的推测基本上是正确的

交叉验证



转录因子—代谢物相互作用的相关系数

结果表明，少数几种代谢物：**cAMP**，果糖-1,6-二磷酸和果糖-1-磷酸单独通过它们与两种主要转录因子**Crp**和**Cra**的相互作用就可以解释大部分的特异性转录调控。

结论



结论：在数学建模的基础上，对启动子活性和代谢物浓度进行高通量定量，结果表明简单的转录调控程序和少数代谢物就可以调控大肠杆菌中心代谢基因的表达。

启发：当处理一个比较复杂的网络（包含较多的参数和变量）时可以采用数学建模的方法或者其他一些建模的方法归纳进行解决。

存在的问题：这篇文章只是对大肠杆菌中心代谢基因表达的调控进行了分析，我们无从知道其他一些微生物中心代谢基因表达的调控机制。



谢谢！