

合成生物学： 应用时代的来临

ppt制作：鲍国强，蒋碧轩
讲解：鲍国强，蒋碧轩

摘要

- Synthetic biology is bringing together engineers and biologists to design and build novel biomolecular components, networks and pathways, and to use these constructs to rewire and reprogram organisms.
- 合成生物学将工程师和生物学家聚集在一起，以构建新的生物分子组分，网络和通路，并使用这些来重新连接和重新设计生物体。

- These re-engineered organisms will change our lives over the coming years, leading to cheaper drugs, and targeted therapies for attacking ‘superbugs’ and diseases, such as cancer.
- 这些重新设计的生物将在未来几年改变我们的生活，导致药更便宜，和靶向治疗来攻击“超级病菌”和疾病，如癌症。
- The *de novo* engineering of genetic circuits, biological modules and synthetic pathways is beginning to address these crucial problems and is being used in related practical applications.
- 基因回路，生物模块和合成通路的从头设计正在开始解决这些关键问题，并将用于实际应用。

1. Introduction

toggle switch & repressilator

2. Synthetic biosensors

1. Transcriptional
2. Translational
3. Post-translational
4. Hybrid

3. Therapeutic spectrum

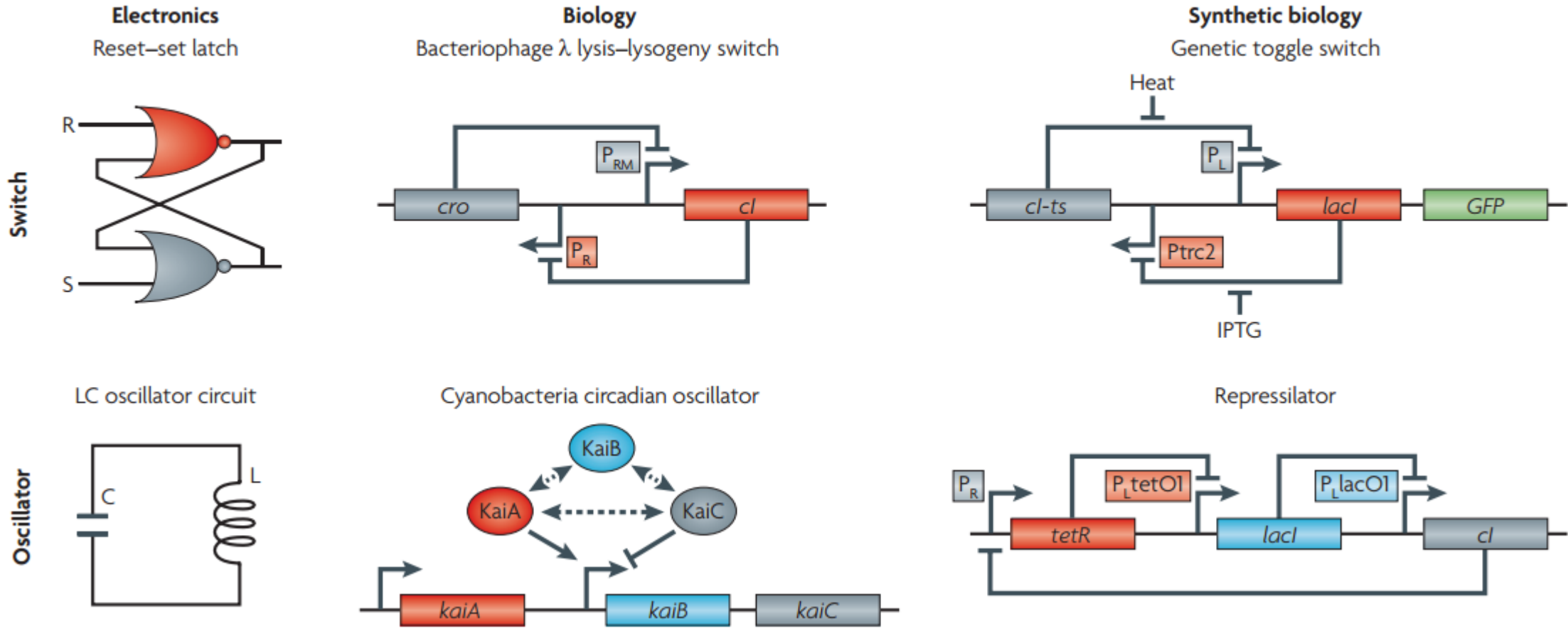
1. Disease-mechanism & drug-target identification
2. Drug discovery
3. Treatment & delivery
4. Drug production and access

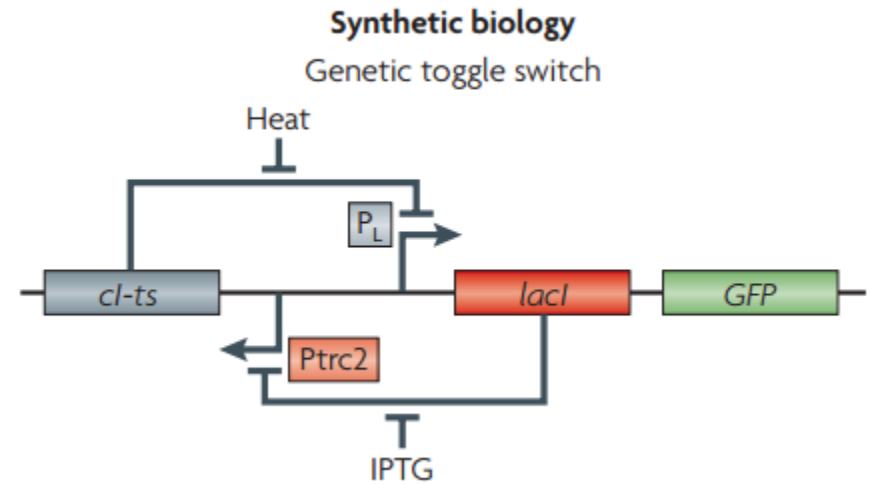
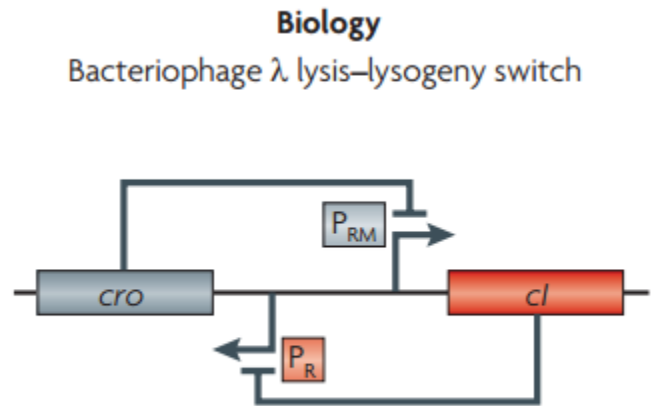
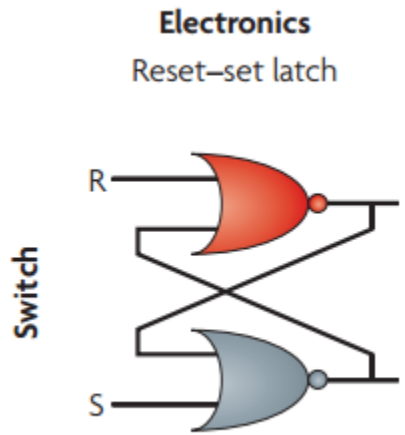
4. Biofuels, pharmaceuticals and biomaterials

5. Future challenges and conclusions

- 由于生物部件的类似于电路及其处理逻辑操作的能力
- 所以，可以用数学模型描述生物调控模式，并将电路类比应用于生物通路
- 同时，基因组研究和基因工程(eg.重组DNA技术)取得的重大突破也推动了构建和组装生物分子部件的工作
- 第一个成功设计并构建出来的合成基因网络——拨动开关和阻遏振荡器，说明基于工程的方法确实可以用于在生物系统中构建复杂的行为。

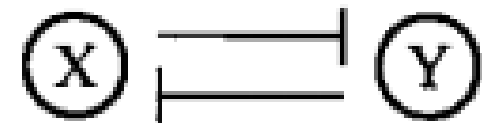
Box 1 | Early synthetic biology designs: switches and oscillators

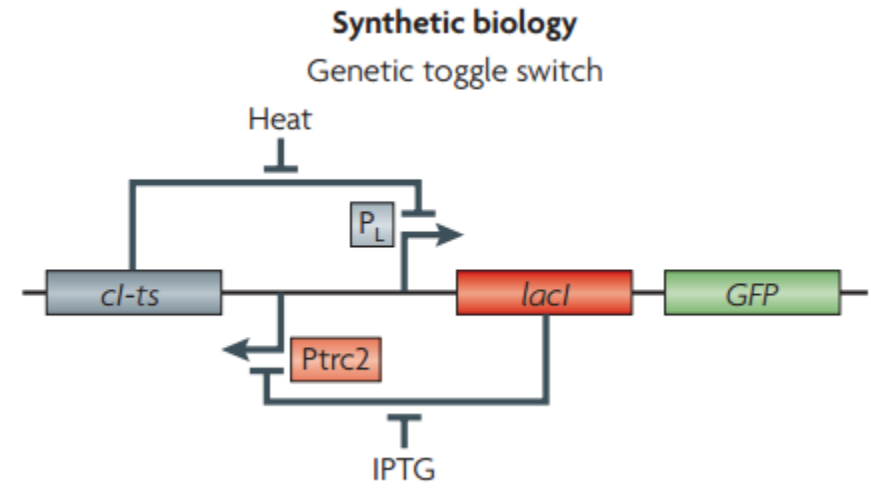
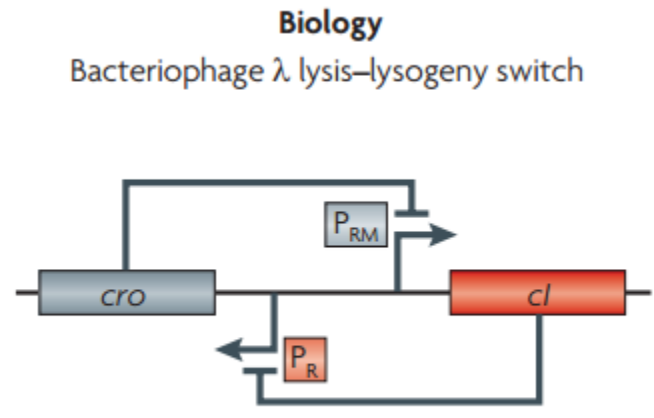
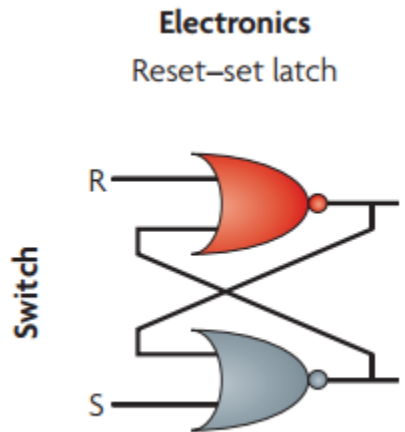




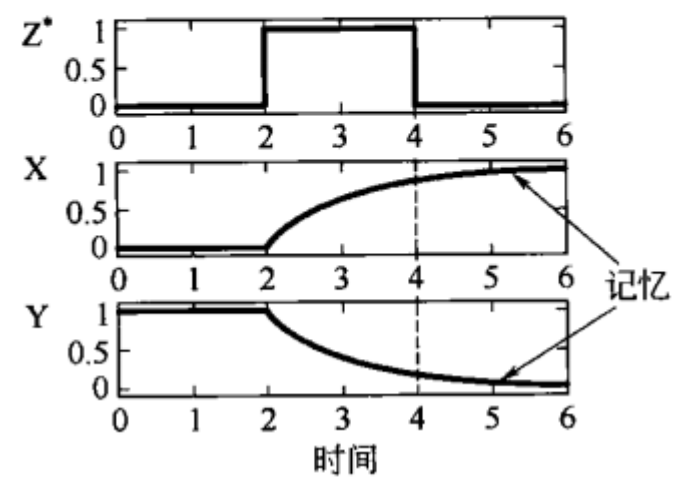
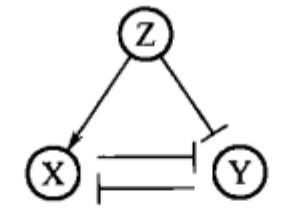
- 双节点反馈环重要性质：**双稳态**
- Lysis-裂解：表达许多基因，包括cro，生成；从而杀死细菌。基因的表达是由cro激活的
- Lysogeny-溶源：细胞裂解方式的致命噬菌体
- cro和c1形成一个双负反馈环，在这两种生存方式间可相互影响或选择

双负反馈环

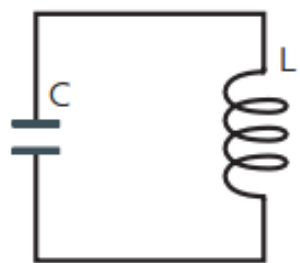




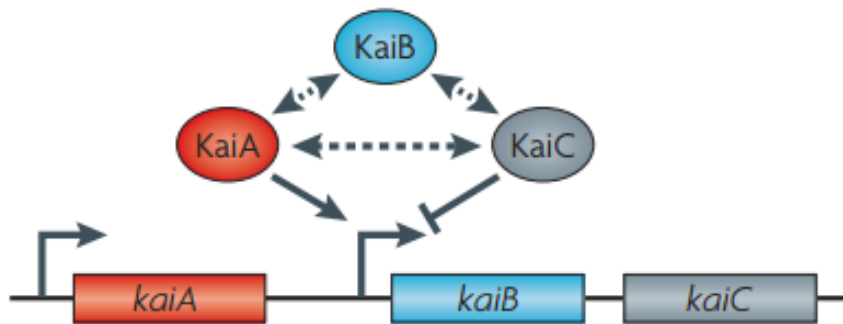
- Genetic toggle switch:
- 通过外源诱导剂IPTG or 提高温度 能够控制此系
- 重要的是，去除以上两种信号以后，此系统还能
也就是双负反馈环储存记忆的功能



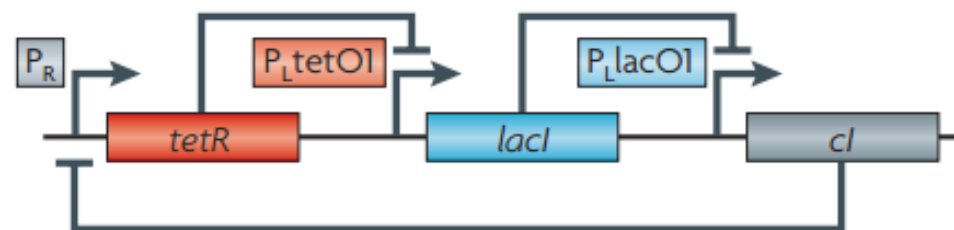
LC oscillator circuit



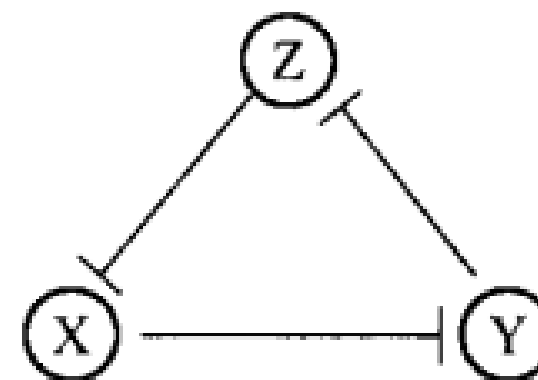
Cyanobacteria circadian oscillator



Repressilator



- 阻遏振荡器通常在蛋白质的生成速率出现波动的振荡
蓝细菌的昼夜节律钟



阻遏振荡器

(b)

- Now, 10 years after the demonstration of synthetic biology's inaugural devices, engineered biomolecular networks are beginning to move into the application stage and yield solutions to many complex societal problems. Although work remains to be done on elucidating biological design principles, this foray into practical applications signals an exciting coming-of-age time for the field.
- 现在，在合成生物学的首例出现10年之后，设计出的生物分子网络正开始进入应用阶段，并为许多复杂的社会问题提供解决方案。尽管在阐明生物设计原理方面还有工作待完成，但这种实际应用可以表明这一领域时代的来临。

- Here, we review the practical applications of synthetic biology in biosensing, therapeutics and the production of biofuels, pharmaceuticals and novel biomaterials. Many of the examples herein do not fit exclusively or neatly into only one of these three application categories; however, it is precisely this multivalent applicability that makes synthetic biology platforms so powerful and promising.
- 在这里，我们回顾了合成生物学在生物传感，治疗，与生物燃料，药物和新型生物材料生产中的实际应用。本文中的许多示例不能完全适用于仅适用于这三种应用类别中的一种；然而，正是这种多元适用性使得合成生物学平台如此强大和有美好的愿景。

1. Introduction

toggle switch & repressilator

2. Synthetic biosensors

1. Transcriptional
2. Translational
3. Post-translational
4. Hybrid

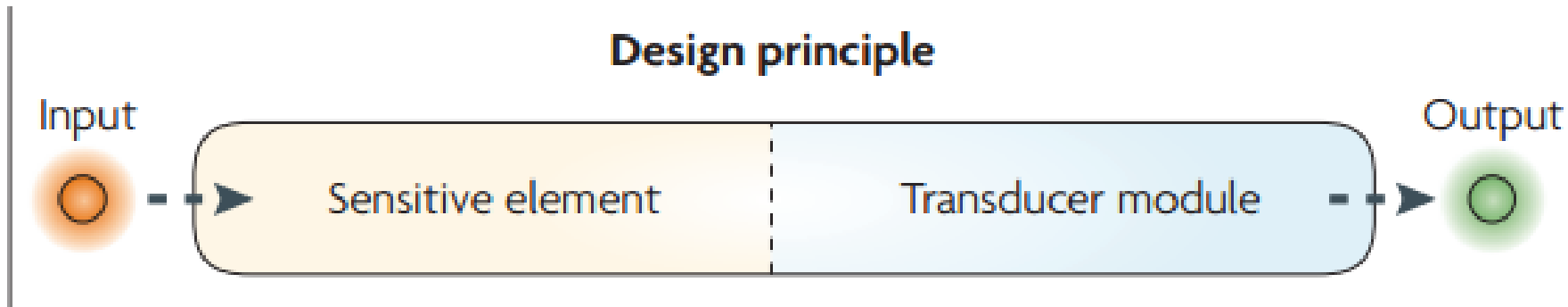
3. Therapeutic spectrum

1. Disease-mechanism & drug-target identification
2. Drug discovery
3. Treatment & delivery
4. Drug production and access

4. Biofuels, pharmaceuticals and biomaterials

5. Future challenges and conclusions

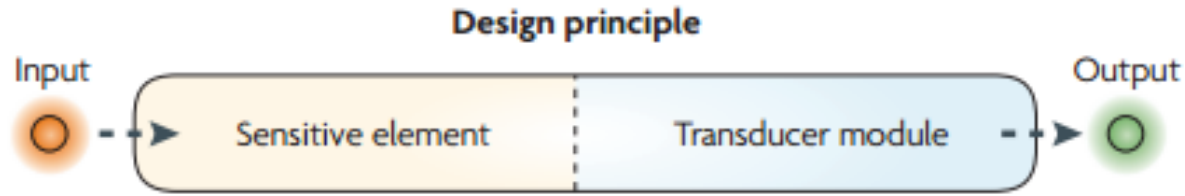
2. Synthetic biosensors (Biosensing)



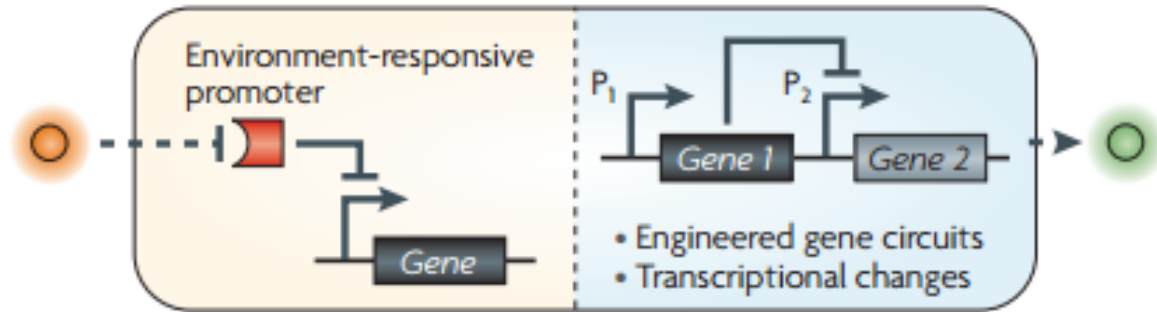
- 两个基本模块：
 1. 敏感的生物元件：识别和结合作用
 2. 换能器：发送和报告信号通过模块化和专一性达到二者的平衡

分为 转录、翻译、翻译后、混合 四种类型

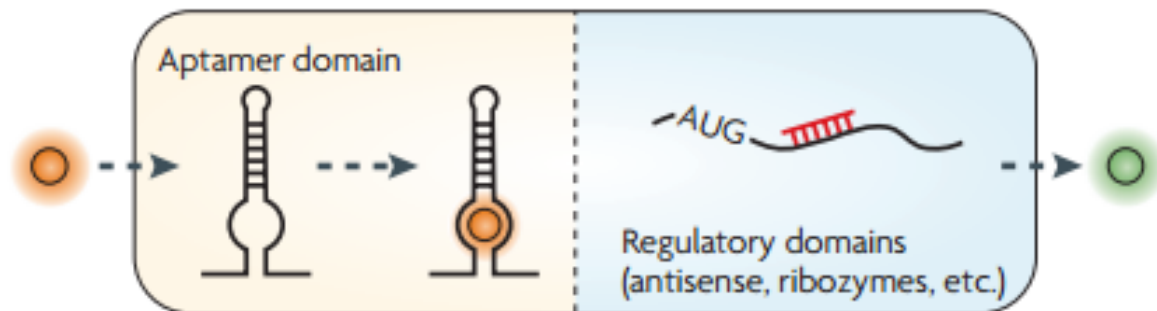
Box 2 | Synthetic biosensors: transcriptional and translational architectures and examples



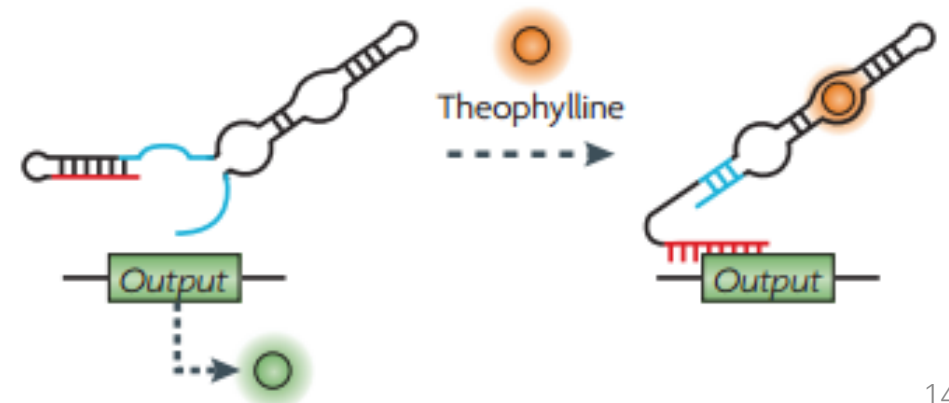
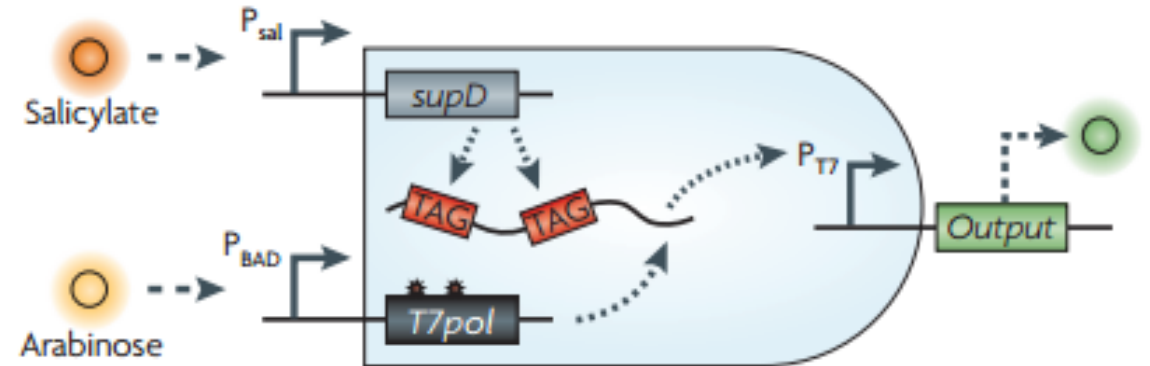
a Transcriptional



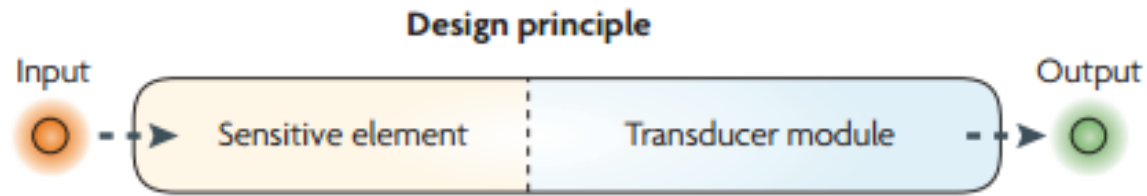
b Translational



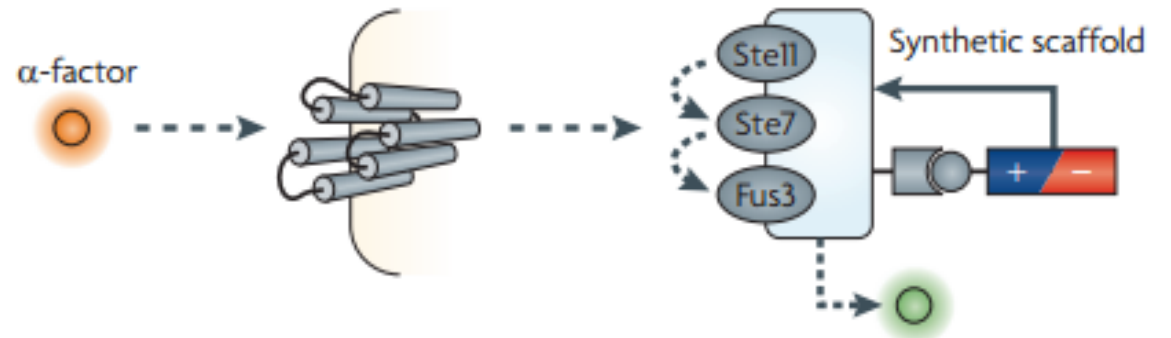
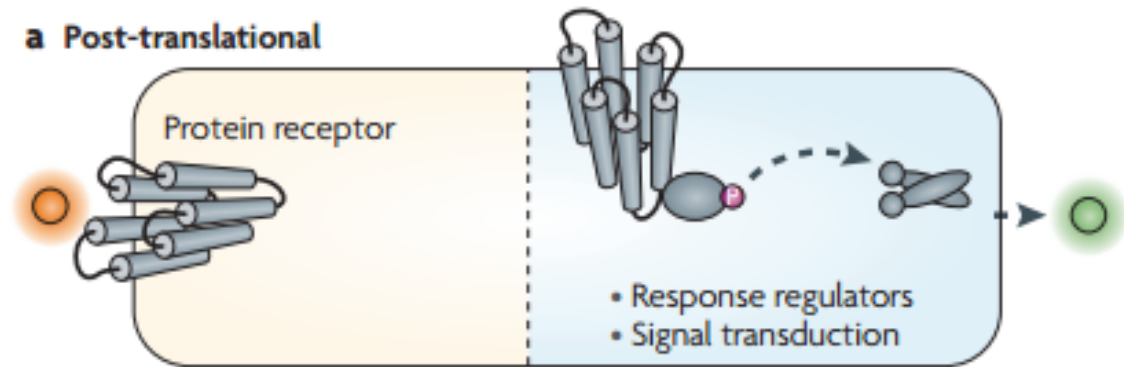
Biosensor example



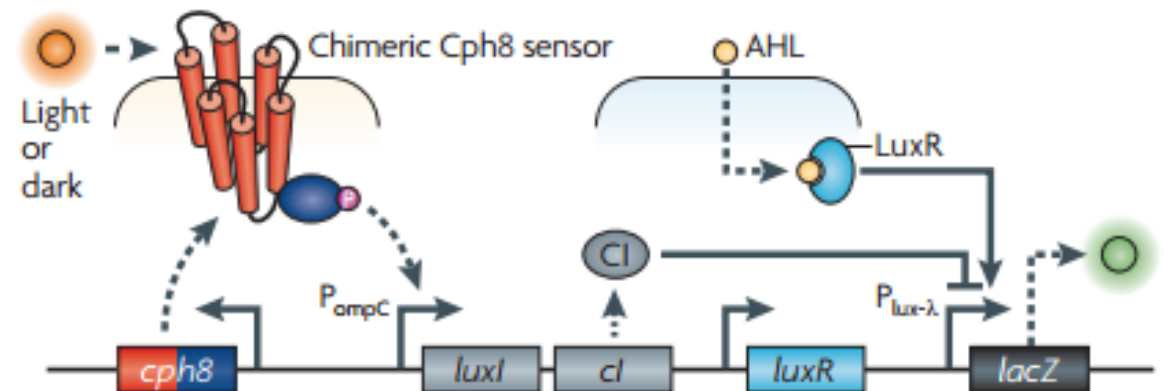
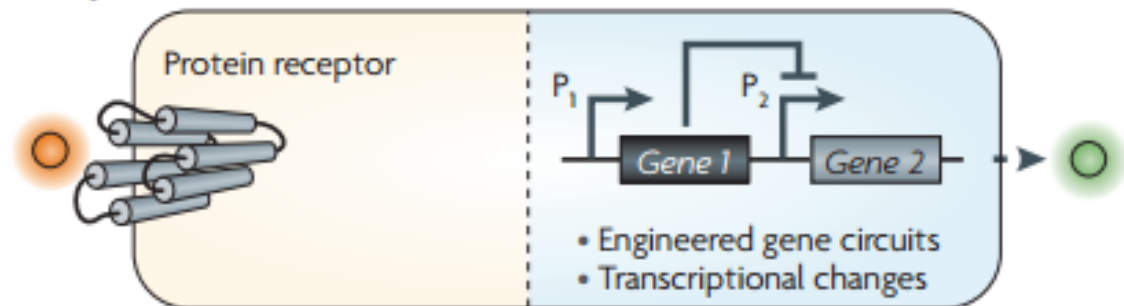
Box 3 | Synthetic biosensors: post-translational and hybrid architectures and examples



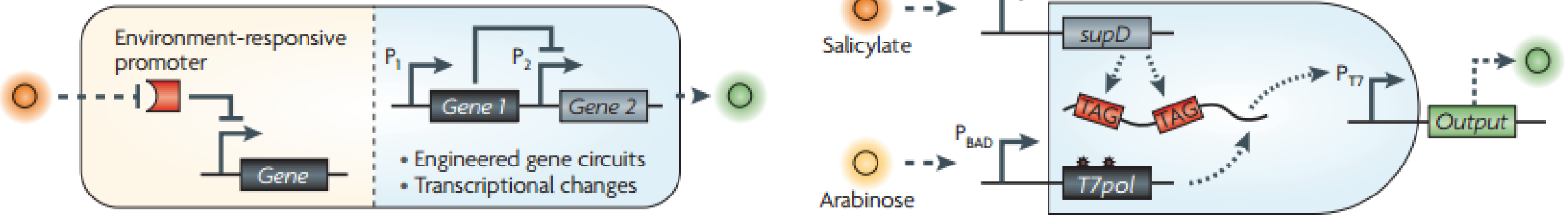
a Post-translational





b Hybrid

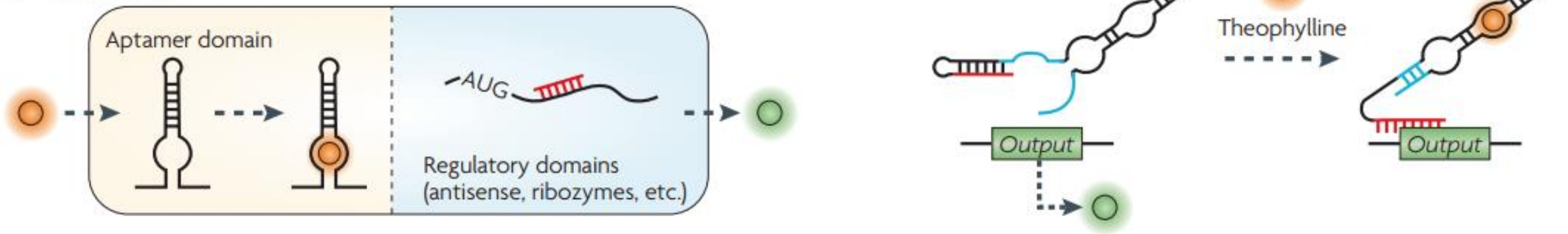


a Transcriptional

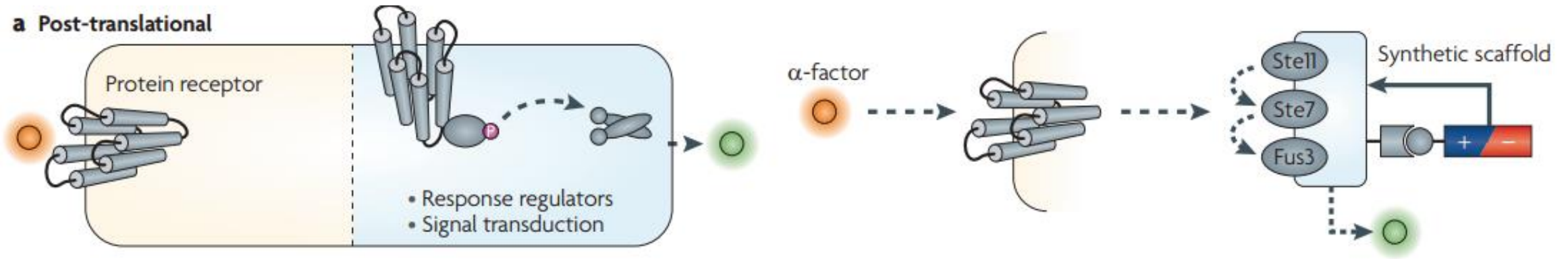


- “与” 门：只有当两种外界信号（水杨酸&阿拉伯糖）均存在时，才能感应和报告
- 1.外界信号阿拉伯糖出现 $\rightarrow P_{BAD}$ 激活T7pol的转录时   琥珀型终止密码子阻碍其转录物的翻译
- 2.外界信号水杨酸出现 $\rightarrow supD$ 抑制琥珀型突变，从而恢复正常
- 目的：两个外界信号更能模拟环境的复杂性

b Translational

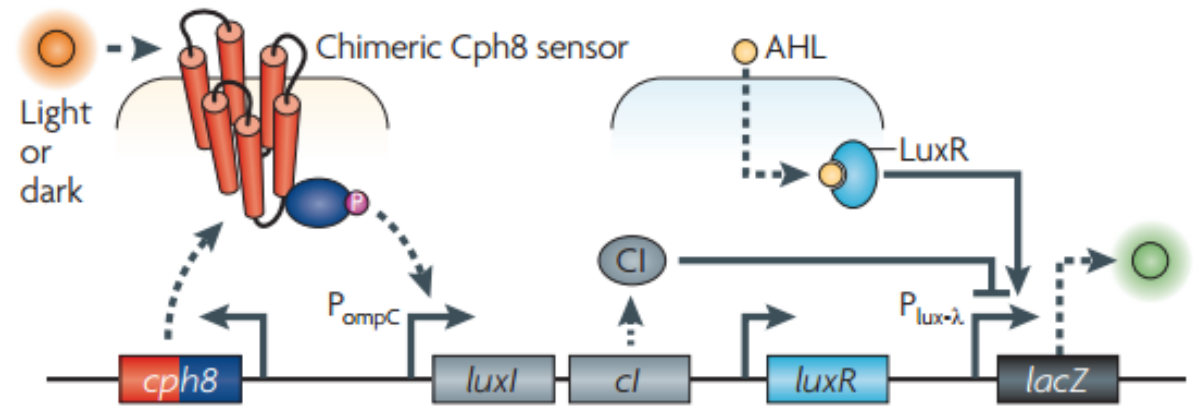
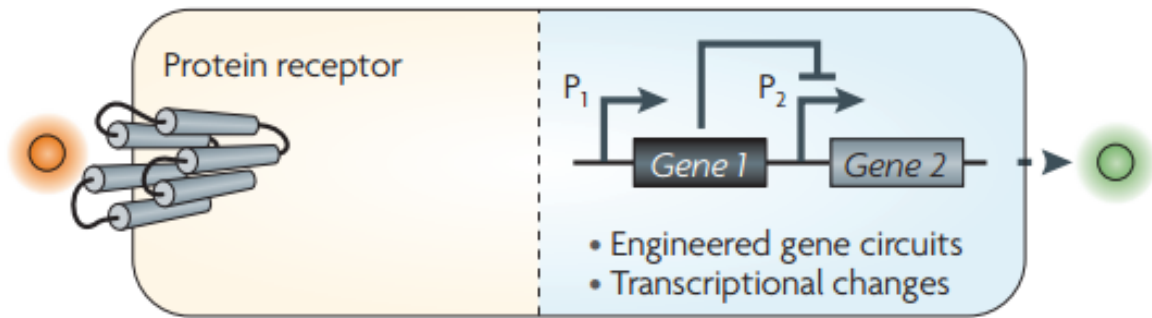


- Binding 小分子配体（茶碱） —> 构象改变
- ON—稳定的茎环结构
- OFF—抑制Output gene reporter 的翻译
- **类似于拨动开关



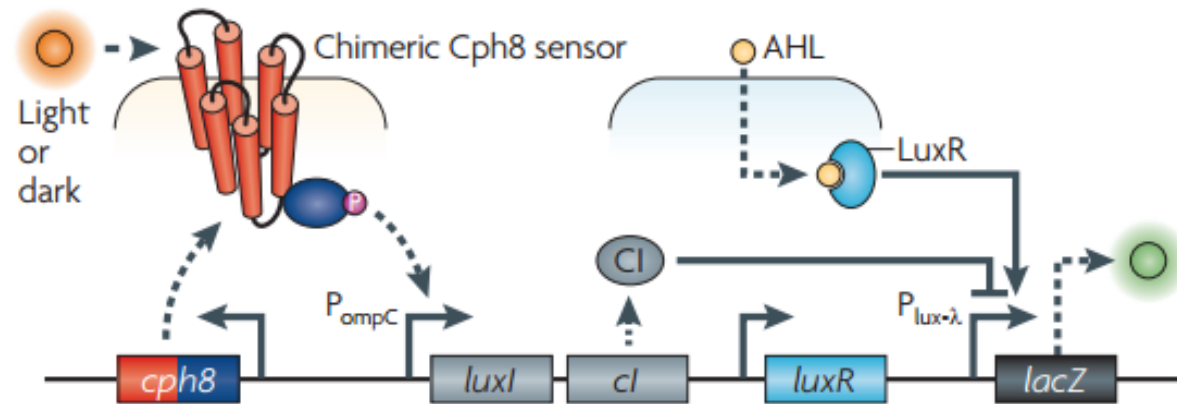
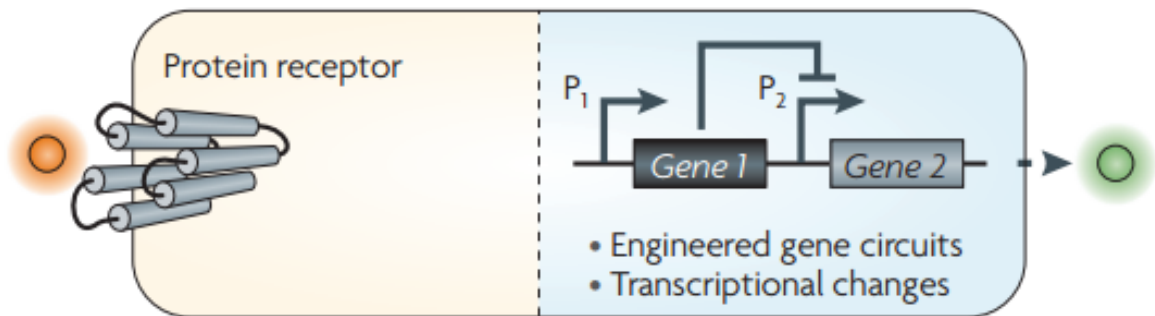
- Protein receptor：触发器的作用，通过信号蛋白触发信号转导级联反应
- 本例中，通过合成支架蛋白，固定modulators(+/-)，从而此系统可以调整到对上游信号想要的反应状态（加速、延迟、超灵敏反应）
- 具体可参看课本P89 蛋白激酶感知机模型

b Hybrid



- Sensitive elements:光感应器
- 1.没有光时：
 - (1)通过lux1的表达,会产生AHL分子(黄圆) (AHL作用是细胞间通讯)
 - (2)此外, c1会转录出转录抑制物C1
 - (3)AHL会结合到组成型表达的转录因子LuxR(蓝圆) (用于激活下面的 $P_{lux-\lambda}$)
- 那lacZ什么时候会表达呢？

b Hybrid



- 只有当细胞
- (1)收到光信号 (C1不表达)
- (2)旁边的细胞收到dark 信号(能产生AHL)
- 才能激活lacZ的转录

- 称为hybrid的原因是：
- 将光传感器和起到细胞通讯的转录回路相连接

1. Introduction

toggle switch & repressilator

2. Synthetic biosensors

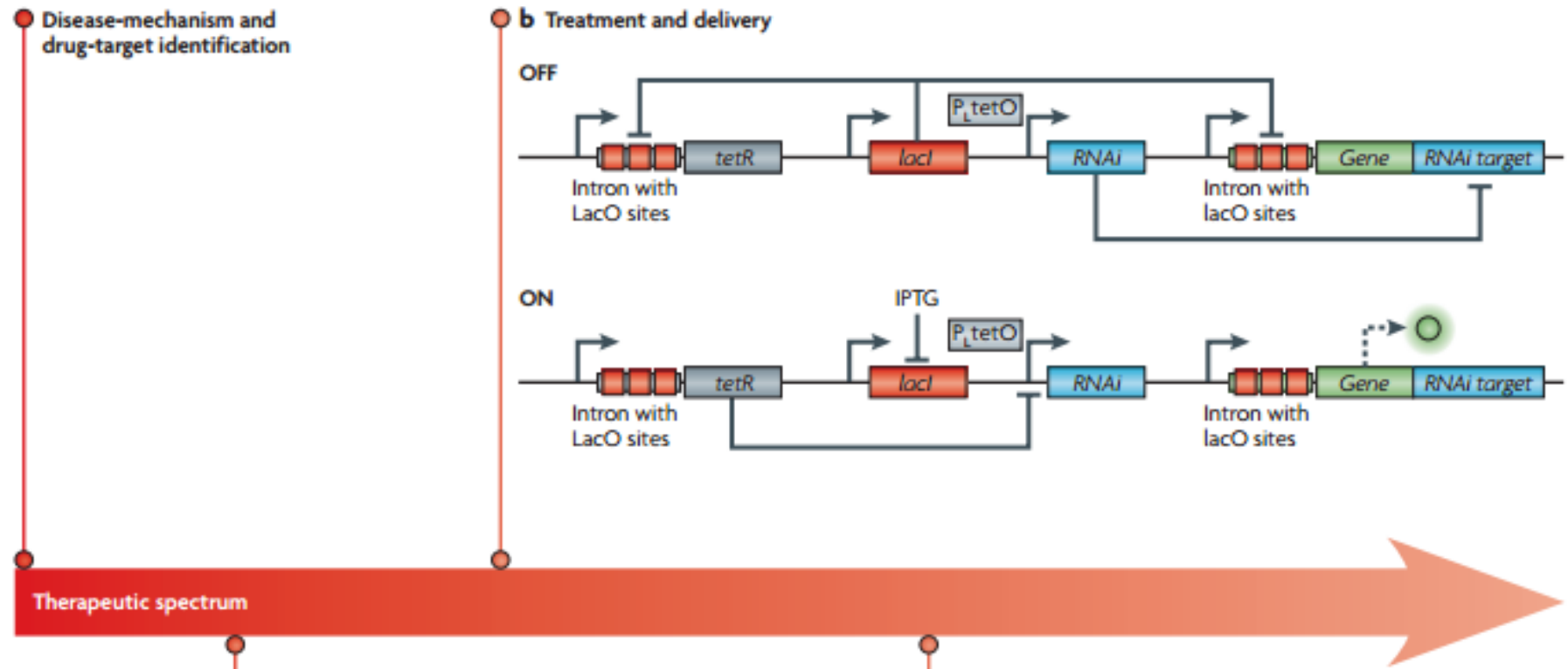
1. Transcriptional
2. Translational
3. Post-translational
4. Hybrid

3. Therapeutic spectrum

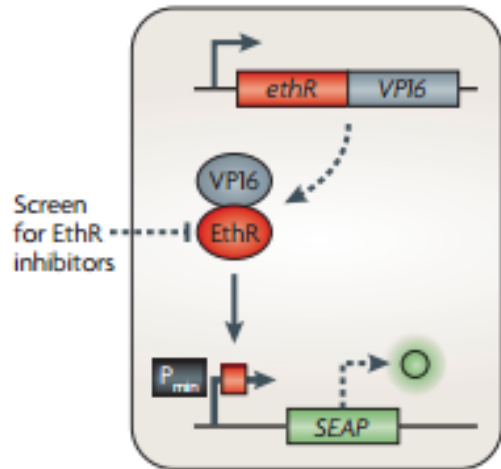
1. Disease-mechanism & drug-target identification
2. Drug discovery
3. Treatment & delivery
4. Drug production and access

4. Biofuels, pharmaceuticals and biomaterials

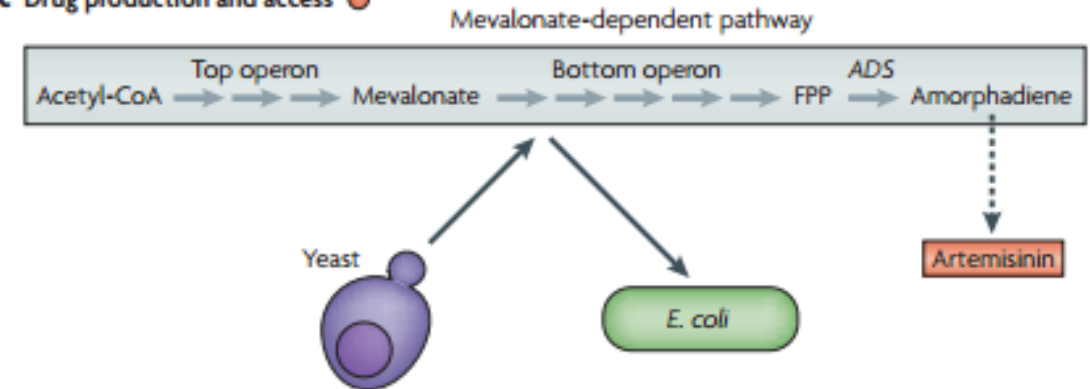
5. Future challenges and conclusions



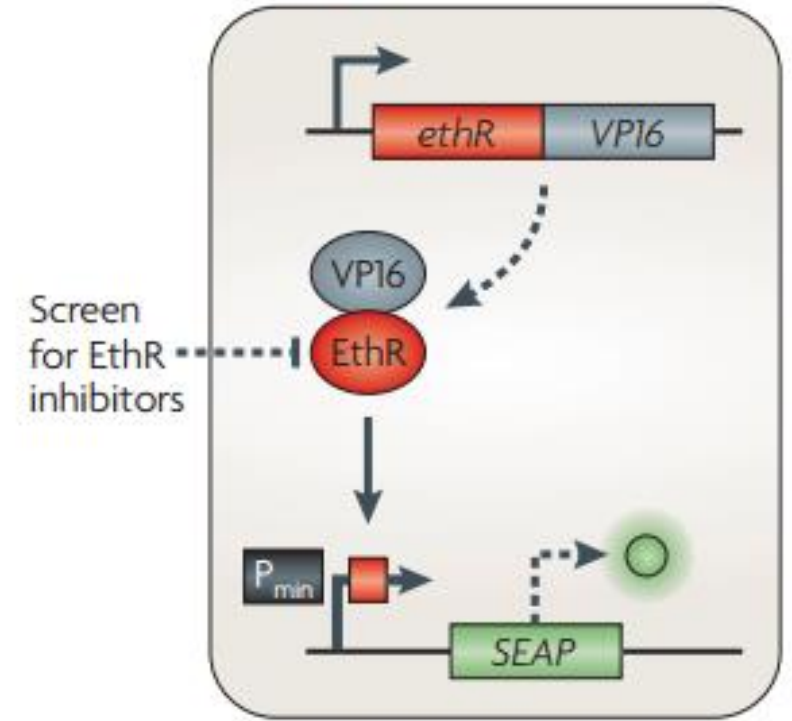
a Drug discovery



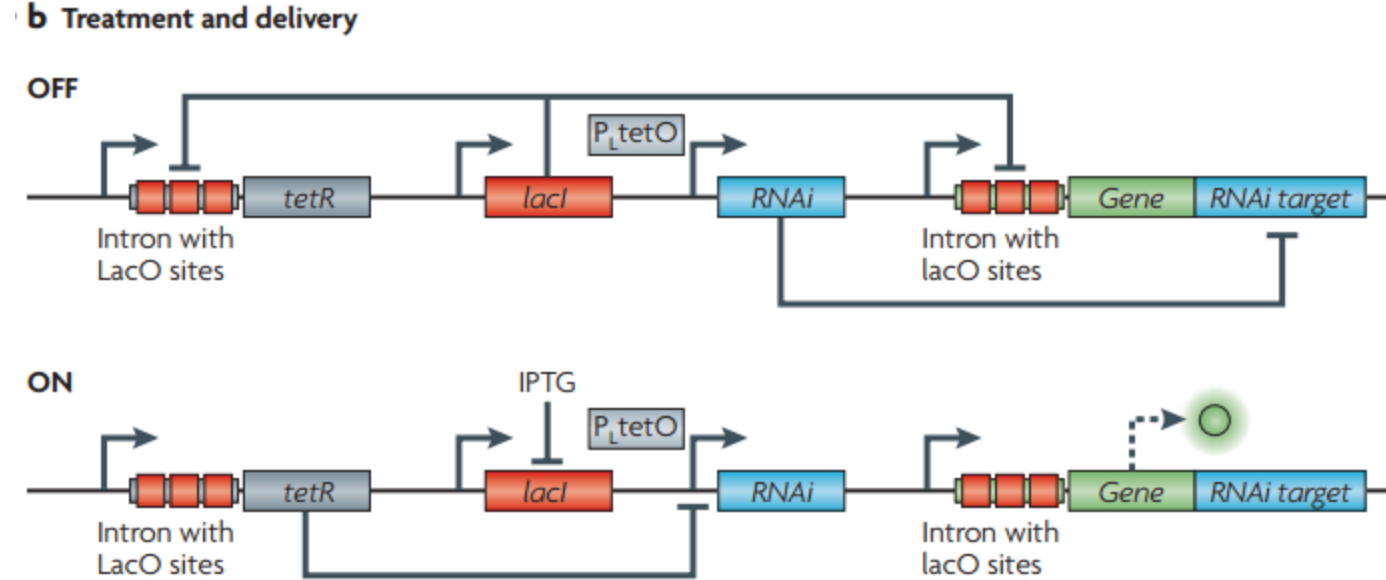
c Drug production and access



- 图示是筛选抗结核化合物的原理
- EthA有毒性，但能在感染细胞中起作用
- EthR是EthA的天然抑制物
- 故可用右图快速筛选EthR的抑制物



- 治疗和传递
- 传统药物治疗在遗传病和代谢疾病上不够有效



- OFF: 绿色的基因在转录和翻译水平上都被抑制
 - ***红色lac1基因组成型表达（转录水平）
 - ***RNAi作用于3' UTR（翻译水平）
- ON: IPTG抑制lac1，从而解除lac1的抑制作用，而且tetR的产物也抑制RNAi

用于gene-silencing applications

1. Introduction

toggle switch & repressilator

2. Synthetic biosensors

1. Transcriptional
2. Translational
3. Post-translational
4. Hybrid

3. Therapeutic spectrum

1. Disease-mechanism & drug-target identification
2. Drug discovery
3. Treatment & delivery
4. Drug production and access

4. Biofuels, pharmaceuticals and biomaterials

5. Future challenges and conclusions

在生物燃料， 药物和生物材料中的应用

New synthetic biology tools would also greatly advance the microbial production of biomaterials and the development of novel materials.

生物燃料在生产上有一定的局限性，导致其生产成本高于传统燃料，许多药物生产过程过于昂贵，使其不能大规模使用。新的合成生物工具还将大大推进生物材料的微生物生产和新材料的开发。

构建生物合成途径。

When engineering for biofuels, drugs or biomaterials, two of the first design decisions are choosing which biosynthetic pathway or pathways to focus on and which host organism to use.

两个最重要的步骤：选择哪些生物合成途径或哪些宿主生物体中存在这样的途径。

Typically, these decisions begin with the search for organisms that are innately capable of achieving some desired biosynthetic activity or phenotype.

通常，首先寻找天生能够实现一些所需生物合成活性或表型的生物体。

Unfortunately, these highly desired properties exist in pathways that are tightly regulated according to the host's evolved needs and therefore may not be suitable in their native state for production scale.

the use of engineering principles for constructing functional, predictable and non-native biological pathways de novo to control and improve microbial production.

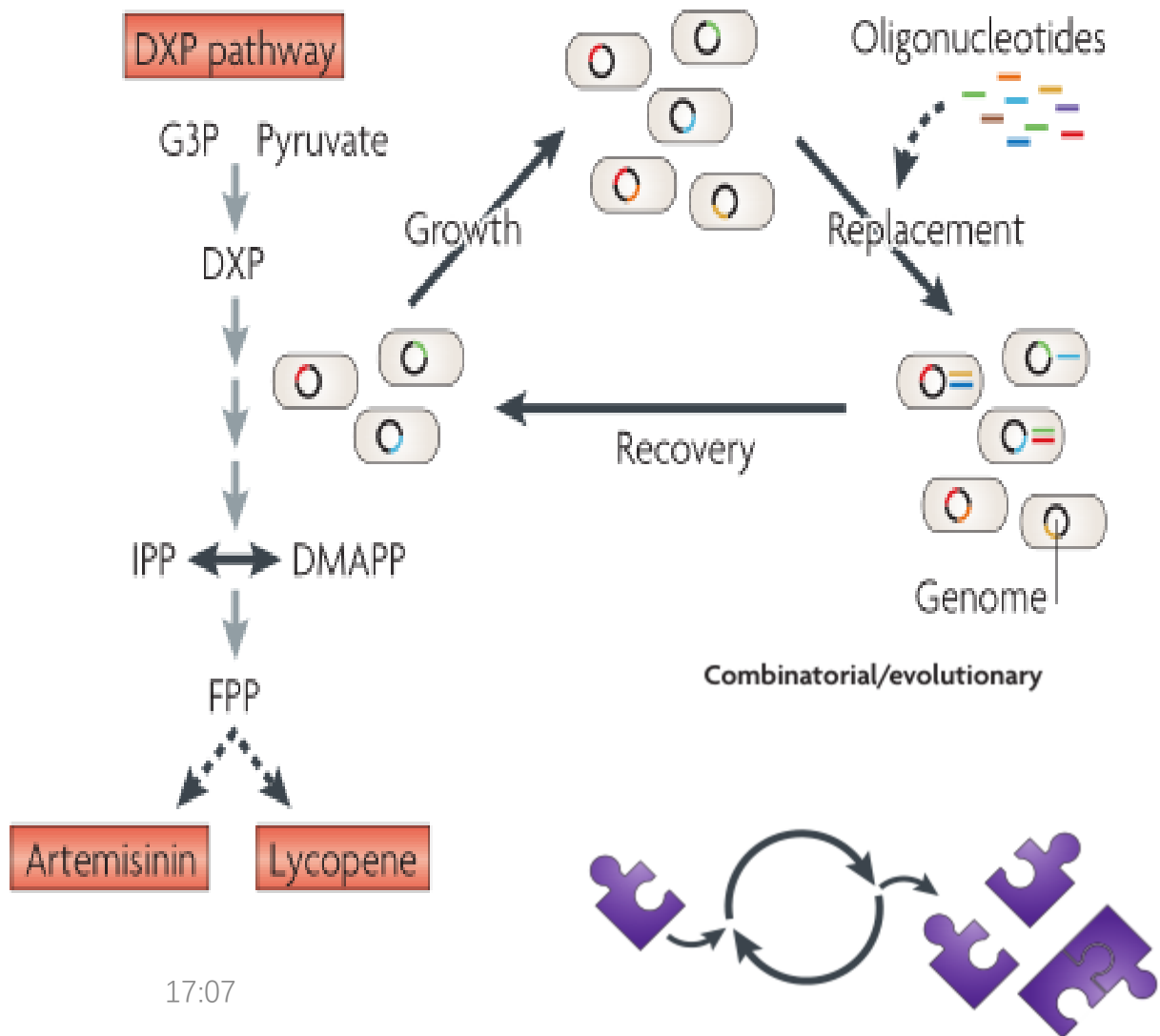
但其天然状态可能不适合于用于规模生产，所以可以利用工程原理构建生物学的途径来控制 and 改善微生物生产。

优化通路通量

- 在构建生物合成途径后，所有组分的表达水平都需要进行编排，以优化代谢通量，达到高产的目的。标准的方法是分别用强大的外源可调启动子来驱动途径成分的表达。
- 在BOX 5和BOX 6中，作者详细介绍了与代谢途径通量优化有关的几种合成生物学策略。这些策略有基于进化技术的，也有基于理性设计和计算机模型的。

BOX5 | 控制代谢通量：进化策略

a Multiplex automated genome engineering



首先在30C°下培养菌体，达到对数期后温度变换为42C°，该条件下，与DNA重组相关的蛋白表达；

接着将细菌冷藏于4C°，防止上述蛋白分解，同时将寡核苷酸通过电击的方式转入细胞中，每个寡核苷酸都靶定了基因序列，可以通过同源重组的方式替换与DXP相关的基因序列，造成细菌的基因突变；

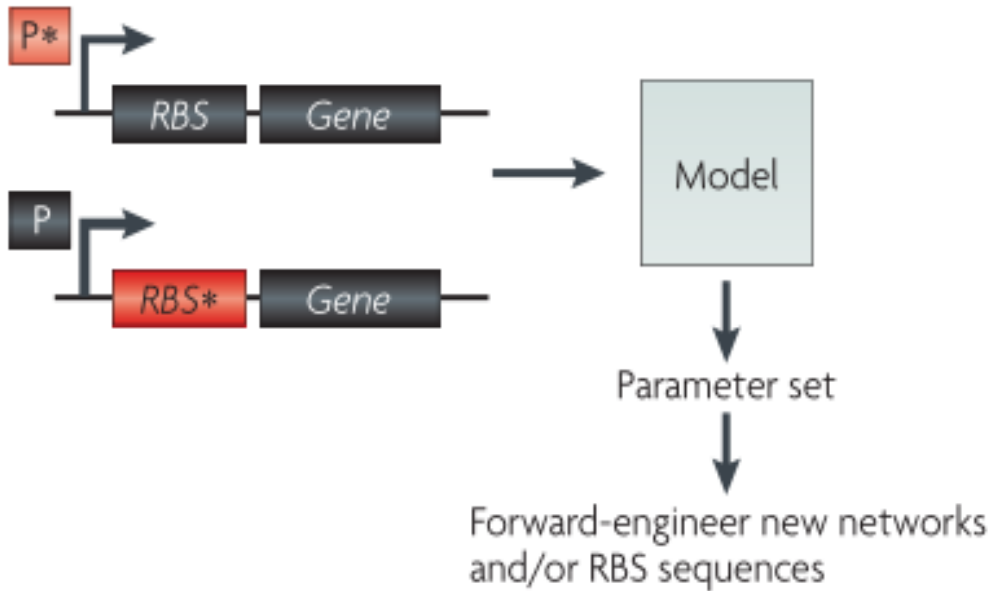
最后使细菌复苏。

重复这个过程，使细菌不断地发生基因突变，得到大量突变体，通过选择即得到合成途径最优的菌体

BOX5 | 控制代谢通量：合理设计

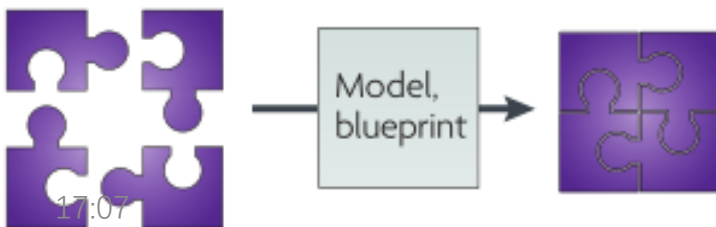
P^* ：启动子 RBS*：核糖体结合位点

b Promoter and RBS engineering



网络及其输入输出数据将被输入到一个模型中，该模型通过计算，确定在模型框架内能最佳地描述组件动态的参数集。最后，优化的参数集将用于对新的前向工程网络和组件。

Rational/model-guided



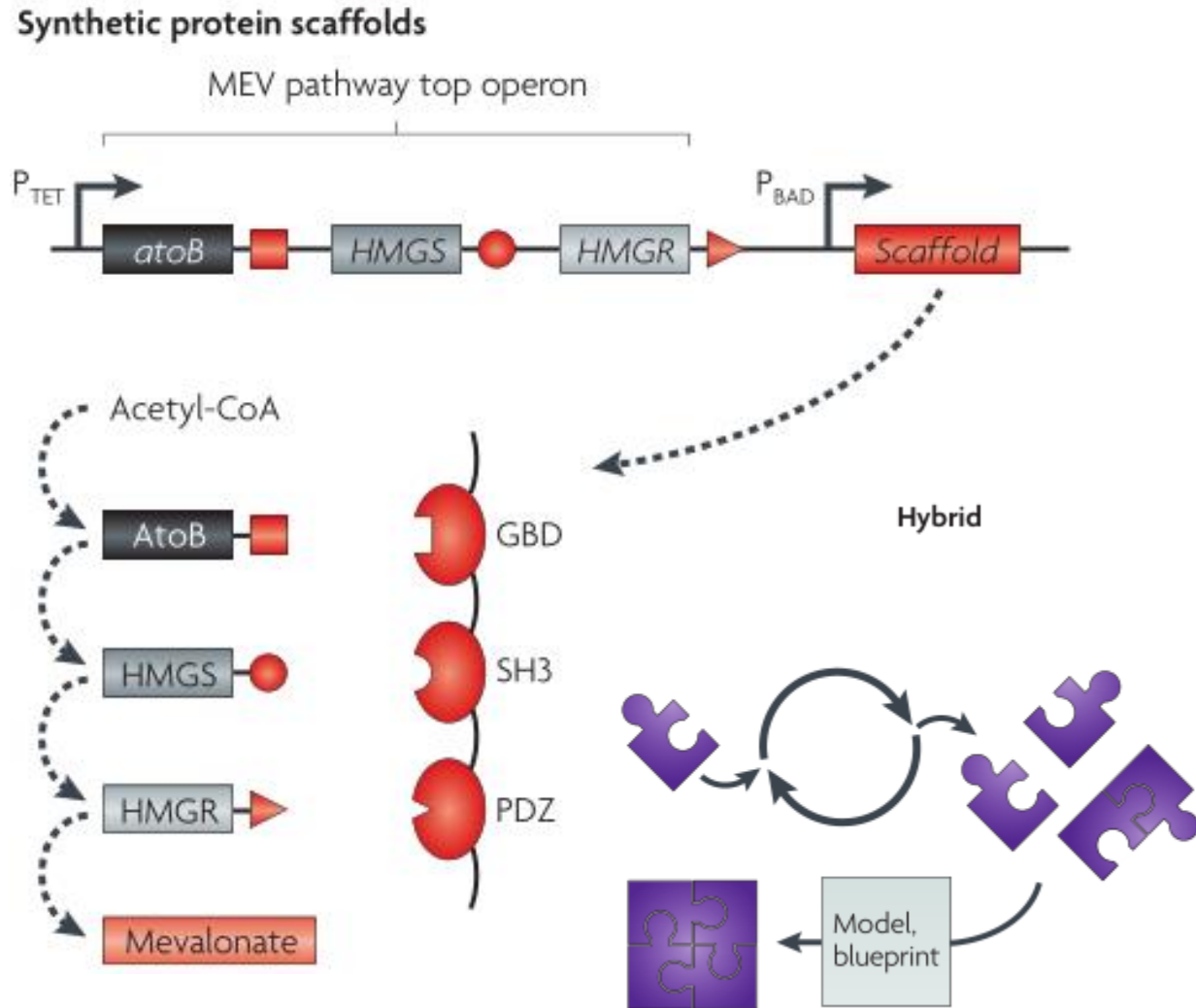
- 例如，已经开发了随机生物化学模型来捕获启动子的表达动力学；然后，这些模型被用于预测用建模的组件构建的基因网络的体内行为的正确性。
- 这种技术可以模拟遗传参数（转录或翻译）来预测网络中蛋白质和酶的表达水平。

BOX6 | 控制代谢通量：混合方法

是一种使用支架蛋白招募生物合成途径所需的酶来控制代谢通量的技术。

GBD、SH3、PDZ蛋白的功能域能识别并募集特定的酶。

通过改变相互作用域的数量，可以控制引入的酶量，进而控制每一步的反应速率，达到控制代谢通量的目的。



编写新的功能和制造新材料

- 合成系统生物学可以将新的功能注入到工程生物中用于生产新材料。

constructing basic circuits that could sense and process signals, perform logic operations and actuate biological responses 114 . Wiring these modules together to bring about reliable, higher-order functionality is one of the next major goals of synthetic biology 1.

- 构建可以感知和处理信号，执行逻辑操作和启动生物反应的基本电路，将这些模块连接在一起以实现可靠的高阶功能是合成生物学的下一个主要目标之一
- 例：遗传计时器用于酵母细胞，使酵母细胞在特定时间发生凝集，就可以促进工业发酵过程中酵母和乙醇的分离。

- 转化合成生物学的关键是，找到连接较小功能回路的可靠方法，来实现具有可预测行为的高阶网络。因此作者提出了几点建议，以改善和加速总体设计周期以及使生物回路更加无缝、集成（BOX 7）。

BOX7 | 改进合成生物学设计周期的建议

- 可互操作部件的数据库，可以使合成生物学扩展到更大和更复杂的生物系统，同时最大限度地减少部件之间的干扰，真核系统是发现这些信息的沃土。
- 应重视合成网络的建模和微调。随着网络规模和复杂性的增加。当连接不同的模块时，这将有助于正确匹配输入输出行为（即传递函数）。
- 需要开发用于体内测量电路动力学的新探针和高通量方法，以快速表征部件和调试网络。
- 需要开发蜂窝测试平台，以加快识别有问题的网络节点，或构建更复杂的网络或在更复杂的生物体中部署网络时降低故障机率。

1. Introduction

toggle switch & repressilator

2. Synthetic biosensors

1. Transcriptional
2. Translational
3. Post-translational
4. Hybrid

3. Therapeutic spectrum

1. Disease-mechanism & drug-target identification
2. Drug discovery
3. Treatment & delivery
4. Drug production and access

4. Biofuels, pharmaceuticals and biomaterials

5. Future challenges and conclusions

未来的挑战和结论

The ability to program higher-level decision-making into synthetic networks would yield more robust and dynamic organisms, including ones that can accomplish many tasks simultaneously.

- 将更高层决策纳入合成网络可以产生更健壮和更有活力的生物体，包括能够同时完成许多任务的生物体。

- 大多数合成生物学目前在微生物中进行，但目前最紧迫的问题是人类健康的问题，因此，要发展哺乳动物合成生物学，来促进下一代治疗方案的发展，例如研究干细胞生成和分化的合成基因网络工程。

Q&A

- What I cannot create, I do not understand.
- 如果我不能创造一个东西，那我对它的理解也必然不够。

—— Richard Feynman

WE ARE JUST **ON** THE WAY
THANK YOU.

