## iGEM 簡介



2018

iGEM 的全名是 國際基因工程生物機械競賽 (International Genetically Engineered Machines Competition),即融合基因和工程的概念,嘗試全新的應用。透過 Genebank 與美國國家生物技術資訊中心 (National Center for Biotechnology Information, NCBI) ,我們能搜尋到許多科學家過去做過的研究,從中得知基因序列定序(DNA sequencing)與其表現的結果。而在這場比賽中我們的工作是去尋找未知的序列—利用已知序列去拼裝我們的工程細菌 (bio robot/Engineered E.coli),並設計出符合實驗目標的基因迴路(bio circuit)。

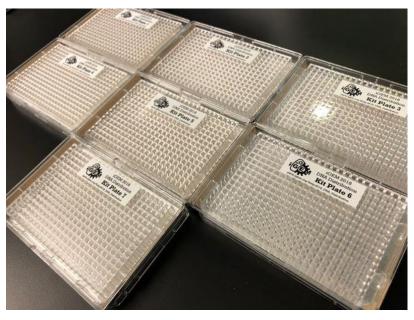


▲ 透過美國國家生物技術資訊中心(NCBI)的網站, 我們可以得到相關基因的實驗結果以及基因序列

每一年各組會選定有興趣的題目,並設計對應的基因完成作品,種類非常多元:像是 Food/Energy、Health/Medicine、Environment 等等。至今,iGEM 透過過去每年收取各國參賽者所繳交的 gene,現已是個完整的資料庫。iGEM 網頁中有非常多的基因資料(例如各種螢光蛋白),像是每個基因的歷年隊伍使用狀況、實驗效果、序列等等,提供新的賽季參賽隊伍參考並使用。當然,這些真的在質體上的基因被儲存在 iGEM 於美國的總部裡面,若隊伍有需要,都可以寄信去向 iGEM 總部索取。此外,iGEM 每年都會提供所有參賽隊伍一盒 distribution kit,裡面有被評選為最常用的 gene,參賽者可以上網查詢所需的基因並直接使用。



▲ iGEM database

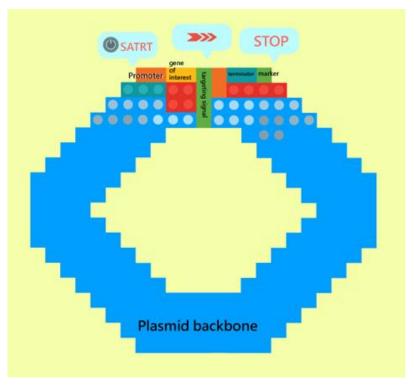


▲ iGEM distribution kit

# BioBrick 介紹



那究竟甚麼是 biobrick 呢?**iGEM 有系統地把所有基因都做成一個個片段,而每個片段都可以被接合,就像樂高積木一樣**,如此一來使用者可以輕鬆的移動每一段基因,並且依需求組裝不同的片段,像是特定蛋白質、啟動子(promoter)、質體骨架(backbone)等。



那 iGEM 是如何讓不同的基因能依照需求被組裝呢? iGEM 設定了一個標準化的質體骨架(standard backbone),在基因的頭尾兩端加上了 prefix,及 suffix,即成為基因載體(vector)。常用的載體例如 pSB1C3,就是我們這次實驗使用到的。其中 BBa\_是 iGEM 官方的基因名稱前綴,載體上 B1 代表的是拷貝數(copy number),C3 代表其對氣黴素(Chloramphenicol)具抗藥性,故能用氣黴素對細菌進行「選殖」,只有具有此質體的細菌才能被留下來!



▲ iGEM standard backbone (pSB1C3)

Prefix 和 suffix 是一段約 20 個鹼基對(base pair, bp)的序列夾住我們所需的基因(insert),以這次實驗為例是紅色螢光蛋白(RFP, iGEM 註冊編號 J04450)和綠色螢光蛋白(GFP, iGEM 註冊編號 E0240),在所有 iGEM 當中的質體上都共有的,以方便來自世界上不同實驗室的實驗者共用。以下是 Prefix、suffix 的例子:



Prefix \ suffix 上都有獨特的序列可以提供限制酶(restriction enzyme)辨識,限制酶就像剪刀一樣,可以辨認上面的序列並剪開特序列。其中,iGEM 所做的最神奇也最實用的部分是 XbaI 和 SpeI 切位:



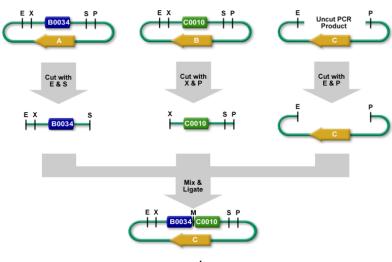
### ▲ XbaI & SpeI

經過限制酶辨識後切割會得到以下片段,可以發現他們兩段是互補的:

XbaI			SpeI
5' 👔	3'	5′	CTAGT 3'
3' AGATC	5′	3′	A 5'

▲ 切割後的 xbal 和 Spel 是互補的

由於切開後他們的鹼基互補,加入連接酶 (ligase)後,他們就會接上了!而且這會形成一個 mix site 不會再被限制酶辨識切割,因此 bio brick 被黏接住不會再被任何限制酶辨識切開! 其中 mix site 在 iGEM 裡面也稱為 scar(疤痕),意思就是 bio brick 曾經被組裝過後留下來的痕跡,挺有意思的吧!這個功能就像樂高積木一樣,使得不同片段的 biobrick 可以輕易的被接起來。有興趣的同學也可以思考下圖的 3A assembly(三條基因的組裝)為何能成功:



每年隊伍完成的作品,序列頭尾也都要是 prefix、suffix 才能送回美國 iGEM 總部,這樣明年的隊伍就可以繼續使用我們的作品當作 bio brick,組裝出更厲害的生物機器人!最後和大家分享,iGEM 得獎隊伍可以得到的獎盃就是一個像是樂高積木的模型,象徵 iGEM 作品就是由 bio brick 組成的。每年得獎隊伍可以把自己的隊名刻在上面,明年參加大會(Giant Jamboree)時再歸還,和網球大滿貫賽的獎盃一樣,是不是很特別呢?



▲ BioBrick trophy

# 關於 iGEM 的隊伍分工.....



iGEM 的參賽隊伍通常都會分成 Wet Lab、Dry Lab、HP(Human Practice) 三大類。Wet Lab 就是進行基因編輯、菌種培養的地方,也是整個團隊的主幹,要活用合成生物學來成功設計出 biobrick; Dry Lab 則負責程式設計、製作儀器、模擬細菌繁衍等,讓 Wet Lab 的結果能夠更實質的運用,甚至朝商業化邁進;HP(Human Practice,人類實踐)要輔助前兩者,幫助團隊和社會大眾、民間企業連結,除了推廣 iGEM 競賽和合成生物學,更是使團隊項目發揚光大的好機會!例如這兩天的營隊,就是由 HP 向鳳中提案並計畫的哦。

所以在 iGEM 隊伍中,身兼數職的也是大有人在。雖然參加越多就代表肝的 負荷量也越大,不過這會是非常充實的一段時光,也可以學習到很多東西,絕對 是值得的!那接下來直接進入業配主題......講解團隊項目!

## 團隊項目介紹:

## 利用工程細菌控制弧菌數量



生物防治法,簡單來說,就是利用大自然循環相剋、互相平衡的力量,來達 到疾病防治的目的。例如利用天敵、寄生性昆蟲來獵捕害蟲,如草蛉、瓢蟲、寄 生蜂;利用性費洛蒙來誘捕害蟲,如以陷阱捕捉蛾類;也有用病原微生物來控制 害蟲生長的,像是靠蘇力菌來殺死危害蔬菜類作物的青蟲。利用這些天然的生物 方法可以減少傳統藥物的使用,最重要的是能夠減少作物上的農藥殘留,對人畜 及農作物更安全,也較不會引起細菌的抗藥性。

今年我們NTHU\_Taiwan 團隊,就想要利用生物防治的概念,減少養殖漁業濫用抗生素殺菌的問題。養殖漁業的殺手「弧菌(Vibrio sp.)」,會感染石斑魚、蝦子等多種海產,每年造成龐大的經濟損害,而目前解決辦法都是加入抗生素殺菌,雖然快速有效,卻有著使細菌產生抗藥性的風險。因此,我們藉由模擬自然界的掠食者—獵物模型,做出特殊基因設計的大腸桿菌,希望能利用它來抑制魚塭內的弧菌數量,達到永續經營的目的!

#### $\rightarrow$ Wet Lab

細菌能相互交流嗎?其實細菌彼此之間有溝通的管道哦!它們能知道環境是否適合生存、細菌密度的多寡,而能調節生長速率。這種細菌間的溝通方式稱作群體感應(Quorum Sensing),細菌會分泌特殊的化合物來傳遞訊息,進而調控基因表現。弧菌也不例外,它們分泌一群稱作 AHL 的分子(每種細菌都有所異同)來做為群體感應的媒介,而我們要利用這個物質來監測水中的弧菌濃度。

我們設計的大腸桿菌會偵測出弧菌本身所釋放出來的 AHL,當 AHL 濃度高於某一閾值時,調控基因會啟動,讓大腸桿菌釋放出大腸桿菌素(Colicin),一種能穿破細胞膜的物質,達到殺死弧菌的效果;而當弧菌濃度下降,AHL 濃度也跟著下降,大腸桿菌就會開啟自殺基因,控制數量以防止自己過度生長。而下一次弧菌數量上升後又會啟動基因,呈現消長的循環,達到永續平衡的狀態。

$$\bigcap_{O} \bigvee_{N} \bigcap_{R}$$

▲ AHL 分子結構通式

### → Dry Lab

我們團隊設計了特殊的「MVkit」來自動化檢測魚塭弧菌的濃度。因為傳統測量魚塭細菌數的方法,需要透過魚塭採樣,拿回實驗室再做培養皿養菌,等待10 幾個小時後觀測菌落生長數,再計算原魚塭裡的細菌濃度。過程耗時費力,所以我們想設計出一個能自動檢測的裝置!這個裝置透過蠕動幫浦自動從魚塭取水,並滴入這次 DryLab 和行政院農委會的水產檢驗所合作,透過該單位設計的 MVkit (Multiple Vibrio detecting kit)模組。這模組可以讓不同細菌濃度的樣本,在不同時間區段內變色,而透過自動影像辨識,我們的微電腦就可以偵測到不同樣本變色的時間,以回推細菌濃度。最後會透過 MQTT(Message Queuing Telemetry Transport)的輕量傳輸協定將我們計算後的資料傳到雲端,這樣漁民就能透過我們設計的 APP 自動顯示目前魚塭狀況了。

### → 延伸閱讀: 合成生物學 vs 基因改造

很多人一聽到基因改造(基改),就覺得有毒、不健康,甚至會引發癌症,而 這是錯誤的認知。究竟基因改造的本質是什麼,和合成生物學的異同在哪裡?

簡單來說,基因改造是將一段生物體的基因,轉植到另一生物體身上,以達到特定功能。通常只牽涉特定基因片段,屬於小規模的。例如:將細菌的啟動子 (promoter)改造,加速轉錄與轉譯,使其產生蛋白質的速度提高而增加產量;或是將一小段外來基因編入生物體內使其表現特殊性狀,例如具有抗凍能力的草莓和抗蟲害玉米。

合成生物學,則是人類根據想要達成的目標,在實驗室裡設計一段基因序列組,透過電腦輔助和工程測試方法,並將此人工序列轉植到特定生物體。要設計出模組化的 DNA 元件(DNA Biobricks)和基因迴路(Gene circuits),通常牽涉到修改數千個 DNA 鹼基對,是比較大規模結合生物學與工程方法的解決問題。像是iGEM 就是活用合成生物學的技巧,希望藉此來造福世界。



## 感謝各位的聆聽, 也希望能繼續追蹤我們!

期待有朝一日鳳中也能加入 iGEM 這個大家庭哦!



文章編輯: 2018 iGEM 團隊 NTHU Taiwan

→ Facebook: IGEM NTHU Taiwan

→ Instagram: igem nthu taiwan