

Lecture8: Regulation of Gene Expression

Honor Biology學生 陳俊鴻

1. Lessons, questions and answers

Lesson 1:

Regulation of gene expression can be implemented by four levels, inclusive of transcriptional level, post-transcriptional level, translational level, and post-translational level. To go into detail, regulation on transcriptional level is mostly via controlling transcriptional initiation; that on post-transcriptional level mostly depends on alternate splicing and stability of mRNA; that on translational level is mostly via controlling translation initiation; that on post-translational level mostly depends on protein stability, reversible chemical and modification, and irreversible modification.

(The content concerning the discovery of *lac* operon would be referred to in Answer , so it wasn't shown in any Lesson.)

Question 1:

Is it possible to transform the regulation of gene expression into truth tables(真值表), Boolean algebra(布林代數), and combinational logic circuits(邏輯電路)?

Answer 1:

Reasoning:

我在看到老師上課時所介紹的實驗內容時，想到基因調控似乎可以和邏輯電路做結合，於是就著手嘗試了。以下Table 1, 2是兩次實驗的數據。

Genotype	<i>lac Z</i>		<i>lac A</i>	
	-IPTG	+IPTG	-IPTG	+IPTG
$I^+Z^+A^+$	<0.1	100	<1	100
$I^+Z^-A^+$	<0.1	<0.1	<1	100
$I^-Z^+A^+$	100	100	100	100
$I^+Z^-A^+/F'I^-Z^+A^+$	<0.1	100	<1	200

Table 1. 實驗數據1

Genotype	<i>lac Z</i>	
	-IPTG	+IPTG
$I^+o^+Z^+$	<0.1	100
$I^+o^cZ^+$	100	100
$I^+o^cZ^+/F'I^+o^+Z^-$	100	100
$I^+o^cZ^-/F'I^+o^+Z^+$	<0.1	100

Table 2. 實驗數據2

從這兩次實驗，我首先從定義真值表開始，以input來說，還有功用的基因為1，沒有功用的基因為0；給予IPTG者為1，沒有給予者為0；至於output，表現量高為1，表現量低為0。於是，我以卡諾圖表示了實驗數據1,2的內容，如Table 3, 4, 5。

IZ(Genotype)/IPTG	1	0
\11	1	0
\10	0	0
\01	1	1
\00	0	0

Table 3. 在比較I和Z的基因型，*lac Z*的表現量以卡諾圖表示

IZ(Genotype)/IPTG	1	0
\11	1	0
\10	1	0
\01	1	1
\00	N/A	N/A

Table 4. 在比較I和Z的基因型，*lac A*的表現量以卡諾圖表示

o(Genotype)/IPTG	1	0
\1	1	0
\0	1	1

Table 5. 在比較o的基因型，*lac Z*的表現量以卡諾圖表示

由於 $I^+Z^-A^+/F'I^-Z^+A^+$ 、 $I^+o^cZ^+/F'I^+o^+Z^-$ 及 $I^+o^cZ^-/F'I^+o^+Z^+$ 並無法寫入這個格式，但我在之後會把這三種情況納入考量並修正最終的邏輯電路。從Table 3, 4, 5，我們可以將卡諾圖的內容以布林代數表示input和output

之間的邏輯關係，同時透過布林代數的計算最佳化(即減少邏輯閘的層數)。
如式(1), (2), (3)分別轉換自Table3, 4, 5。

$$\begin{aligned} lacZ &= \bar{I} \cdot Z \cdot IPTG + \bar{I} \cdot Z \cdot \overline{IPTG} + I \cdot Z \cdot IPTG \\ &= Z \cdot (\bar{I} + I \cdot IPTG) \end{aligned} \quad (1)$$

$$\begin{aligned} lacA &= I \cdot Z \cdot IPTG + I \cdot \bar{Z} \cdot IPTG + \bar{I} \cdot Z \cdot IPTG + \bar{I} \cdot Z \cdot \overline{IPTG} \\ &= I \cdot IPTG + \bar{I} \cdot Z \end{aligned} \quad (2)$$

$$lacZ = \overline{o \cdot \overline{IPTG}} \cdot Z = (\bar{o} + IPTG) \cdot Z \quad (3)$$

透過已最佳化的式(1), (2), (3)，我們可以據此畫出相對應的邏輯電路，如Figure 1, 2。

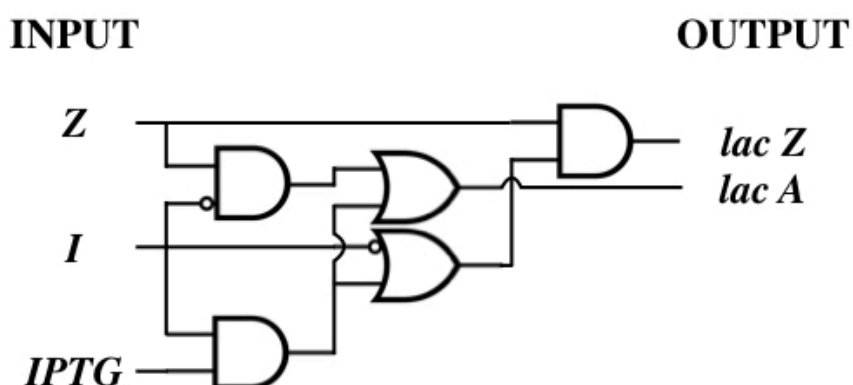


Figure 1. 以式(1)及式(2)轉換之邏輯電路

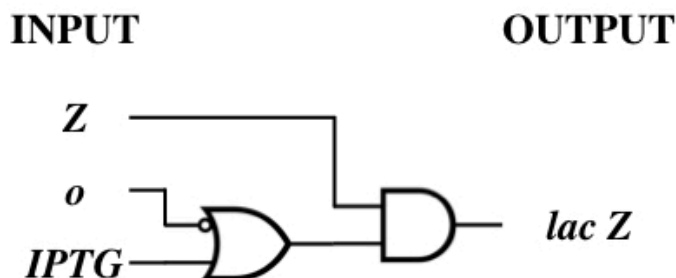


Figure 2. 以式(3)轉換之邏輯電路

然而，此時的邏輯電路並非是真正的作用機制，我們還得考慮到 $I^+Z^-A^+/F'I^-Z^+A^+$ 、 $I^+o^cZ^+/F'I^+o^+Z^-$ 及 $I^+o^cZ^-/F'I^+o^+Z^+$ 三組結果。因此，我透過定義input還存在Z', I', o'並將原先的邏輯電路大致上複製到新定義的input，與原電路不同之處在於IPTG之輸入端及所有的輸出端都與原電路共用。最後再將condition代入，確定還有哪些路徑與原電路共用，以及convergence的地方是以哪種邏輯閘連接。由此我們可以得到Figure 3, 4。

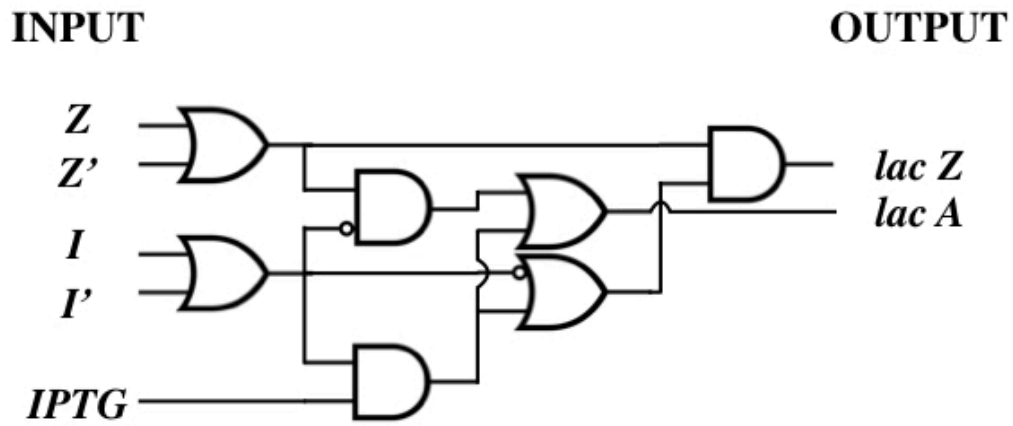


Figure 3. 由 $I^+Z^-A^+/F'I^-Z^+A^+$ 所歸納修正後的邏輯電路

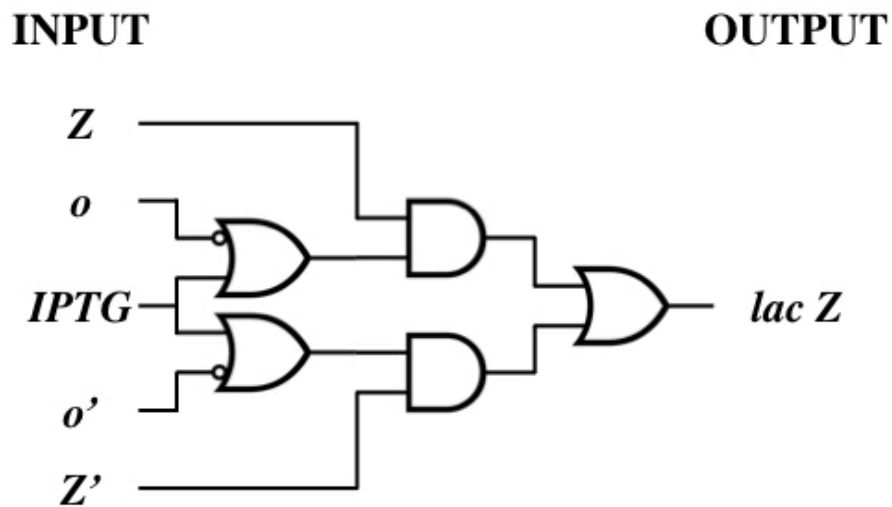


Figure 4. 由 $I^+o^cZ^+/F'I^+o^+Z^-$ 及 $I^+o^cZ^-/F'I^+o^+Z^+$ 所歸納修正後的邏輯電路
在完成這個實驗結果所對應到邏輯電路的成果，我們可以從Figure 4.得知輸入端I, Z其實是兩個獨立事件，因此在*E. coli*的基因體中，只要該基因存在且具有功用即會產生交互作用。然而，在Figure 5. 中，我們可以看到輸入端o與Z並非是獨立事件，可以明確知道兩者必須同時存於同一個基因序列上且都具有功能才會產生output為1的結果，也因此才會推測出*lac operon*的存在。

Postscript:

在完成這個跨領域的結合後，我其實有些想法，如果有一天人類可以完全解答生物基因體與環境之間的交互作用，將所有的基因體與環境因子定義為輸入端，而造成的改變定義為輸出端，也許可以建構出一套完整的維持生命的邏輯電路，倘若我們可以透過已知的材料和元件來製作這個邏輯電

路，創造出與大自然中的生命體構造上迥異卻有一樣生命特徵的人工生命體我認為並非不可能。

Lesson 2:

Functions of RNA never cease to amaze me. After learning from this lecture, I've entirely altered my initial perspective into RNA. In the past, it could only occur to me that RNA just only acts as heralds conveying genetic information and, to some extent, resembles enzyme from the aspect of catalyzing chemical reaction. But now, we found its controlling gene expression through riboswitch, mRNA stability, or RNA interference while it appears in the way of nutrient sensor, miRNA, or large intergenic non-coding RNA, respectively. Furthermore, it breaks my past ongoing stereotypes that nucleoplasm and chromosomes actually not scatter in nucleus evenly at all. On the contrary, their structures depend on large intergenic non-coding RNAs; that is to say large intergenic non-coding RNAs decide and arrange the nuclear and chromosome structure so that every part of nucleus has difference from structures to functions.

2. Answer to quiz

(1) 為什麼 Lac repressor 蛋白是需要形成 tetramer 才能 function?

因為每個 dimer 上的 headpieces 與 hinges 可以針對 DNA 序列，並且在滑動到 operators 時會抓住該序列。而 tetramer 是由兩個 dimers 組成，如此一個 lac repressor 可以同時抓住兩個 operator，造成 DNA looping 的產生。DNA looping 則是 lac repressor 主要抑制轉譯過程的方式，因此如果只有抓住單個 operator，DNA looping 不會發生抑制的效果也會有顯著的下降，故 tetramer 的形成在功能上是非常重要的[1]。此外，也有發現當 dimers 未形成 tetramers 時，dimers 固定的方向會沒有 tetramers 如此精確，並且 dimers 也將會容易地變成許多 alternate conformations，故 tetramers 的形成在結構上也是非常重要的[2]。

(2) 如何利用 riboswitch 作為藥物開發的標的?

透過加入針對病毒的 transgene 使 riboswitch 呈現關閉狀態，進而減少病毒基因之表現[3], [4]。

(3) 為什麼 histone acetylation 會減少 histone 與 DNA 間的關係?

因為在histone上胺基端的lysine在還沒被修飾前帶正電，並且會弱化染色體整體的結構。在以acetyl group修飾後，正電會被有效地移除使得histone帶負電並因此減少了histone與nucleosome之間的交互作用。這會打開通常緊密包裹著的nucleosome，讓轉錄機制得以與DNA模板接觸並導致基因轉錄。基因轉錄的抑制則是透過反向操作這個機制，acetyl group會被移除，同時允許histone與DNA更緊密地作用、組成緻密的nucleosome assembly。這樣的機制避免了轉錄機制的加入，並有效地使基因轉錄沈默[5]。

(4) Enhancer 的作用一般說來是 in cis, 可不可能 in trans?
可能[6], [7]。

(5) 解釋什麼是 transcription factory?

Transcription factories 是指在細胞核中發生轉錄的獨立位置，他對基因調控和核的結構有很大的影響。Transcription factory含有RNA polymerase、一些必要的transcription factors還有其他co-regulators，他的中心部分具有多孔且充滿蛋白質。值得一提的是一個factory只會包含一種RNA polymerase，而factory的結構會直接地影響它的功能 [8]。

3. Reference

[1] <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1990.tb08199.x>

[2] <https://doi.org/10.1016/j.crv.2005.04.004>

[3] <https://doi.org/10.1073/pnas.1318563111>

[4] <https://doi.org/10.1038/mt.2015.123>

[5] <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2008.08.027>

[6] [https://doi.org/10.1016/0968-0004\(91\)90163-P](https://doi.org/10.1016/0968-0004(91)90163-P)

[7] [https://doi.org/10.1016/0168-9525\(90\)90236-Y](https://doi.org/10.1016/0168-9525(90)90236-Y)

[8] https://en.wikipedia.org/wiki/Transcription_factories

(老師，這個禮拜的課程內容和我高中時做的科展非常相關，下面我也附上我當時的科展說明書，如果您方便過目，我很希望您能不吝賜教、給我一些建議，我並不會在意嚴厲的語氣)

<https://activity.ntsec.gov.tw/activity/race-2/2017/pdf/090018.pdf>