

Wiki-sharing

WHU-China-iGEM-2022

REACH For LIGHT

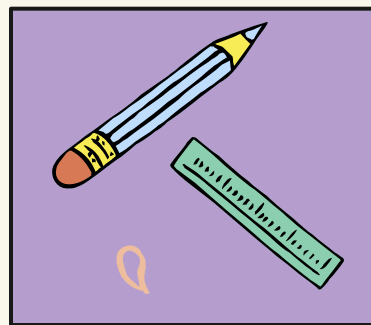
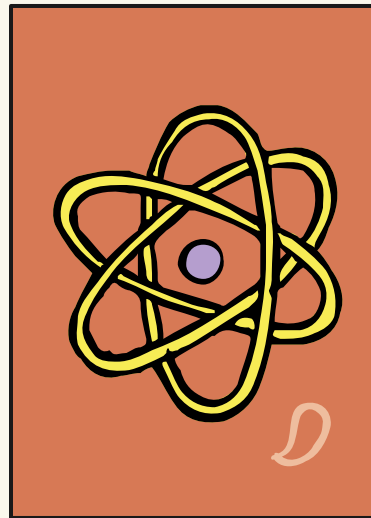


Table of contents

01

BACKGROUND

02

INTRODUCTION

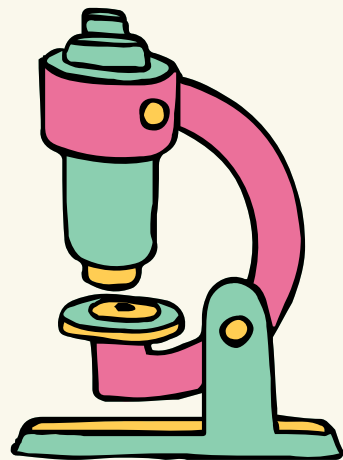
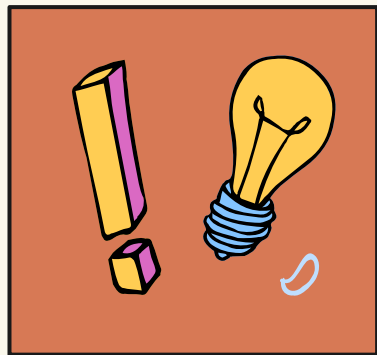
03

DESIGN

01

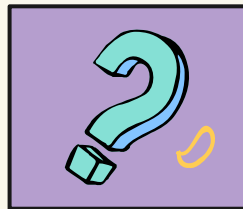
BACKGROUND

现在，全球范围内越来越多人受到抑郁症的困扰，尤其是青少年和大学生群体。在抑郁症的治疗过程中，多种药品联合使用十分普遍，然而如何规范联合药物治疗仍然是一个难题。



02

INTRODUCTION



该项目基于一种肠道益生菌**长双歧杆菌**（*Bifidobacterium longum*）进行设计。长双歧杆菌本身具有抗抑郁作用，该项目对其进行基因工程改造，使得其可以作为抑郁症药物使用。

- 使得其具有生产天然抗抑郁药物SAMe的能力
- 使SAMe的分泌受到振荡器的调节
- 设计温度控制的安全开关和主动终止开关（AHL）

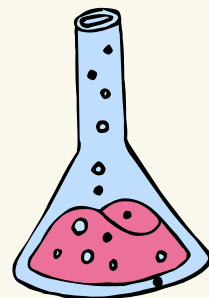


03

CHOICE of PROBIOTIC STRAIN

项目计划使用一种具有天然抗抑郁能力的益生菌菌株作为工程菌来工作。

- 某些特定的益生菌长双歧杆菌菌株（长双歧杆菌，如Ncc3001）已被证明具有抑制抑郁和改变大脑活动的的能力。
- 在项目的开发阶段，该团队首先使用枯草芽孢杆菌和大肠杆菌作为模型进行功能验证

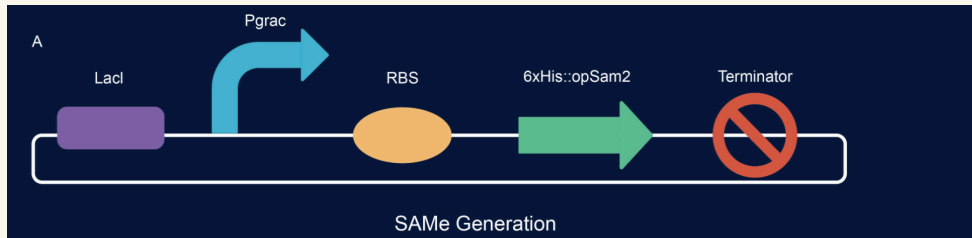
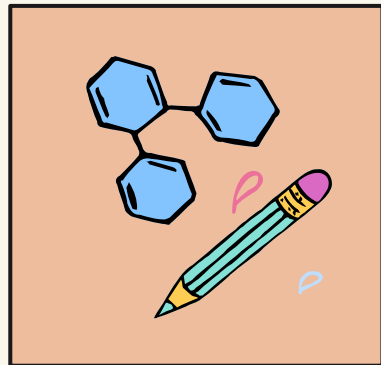


03

PRODUCTION MODULE

合成：

- 酿酒酵母存在SAmE合成酶Sam2，它可以催化SAmE的合成，并且不存在反馈抑制现象。
- 项目对Sam2酶的基因序列进行了优化，获得了opSam2，帮助其在GEAM-POSITIVE细菌中表达。
- 项目使用IPTG- induced Pgrac 作为启动子。
- His-tag在免疫印迹鉴定蛋白质表达时发挥作用。

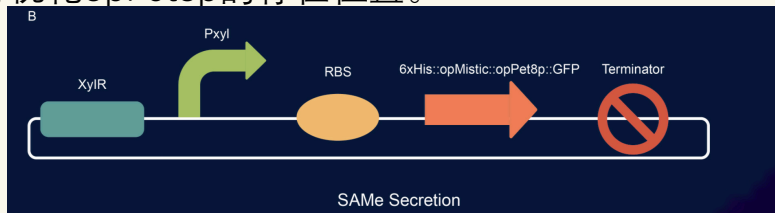
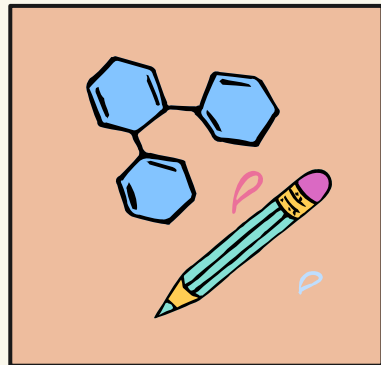


03

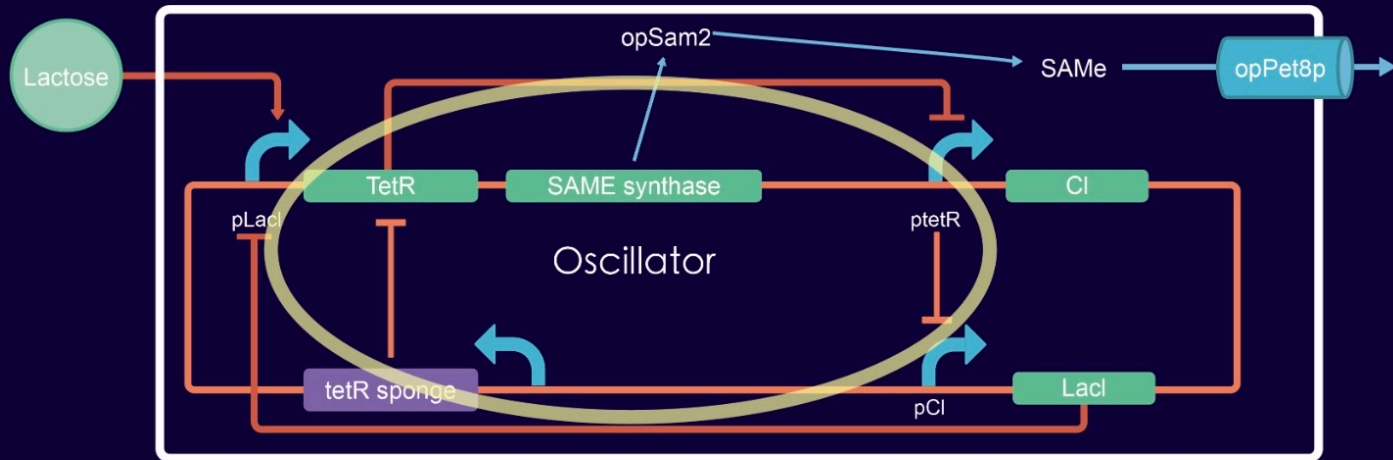
PRODUCTION MODULE

分泌：

- 在酿酒酵母线粒体中发现了被动运输的蛋白Pet8p，可以帮助SAmE分泌。
- 项目对Pet8P酶的基因序列进行了优化，获得了opPet8p，帮助其在GEAM-POSITIVE细菌中表达。
- 项目使用Xylose- induced Pxyl 作为启动子。
- 信号肽Mistic可以帮助opPet8p整合到细胞膜上。
- sfGFP可以帮助可视化opPet8p的存在位置。



03 OSCILLATOR MODULE



三个启动子环环相扣形成一个完整的抑制循环，在三种阻遏子基因轮流表达、阻遏蛋白相继降解的过程中实现自身及其调控基因开启状态的顺序转变，从而实现周而复始的振荡。

03

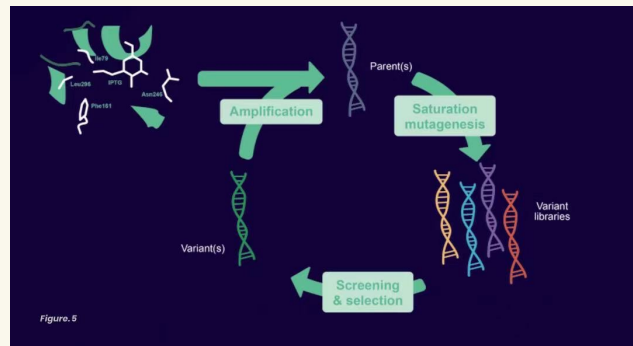
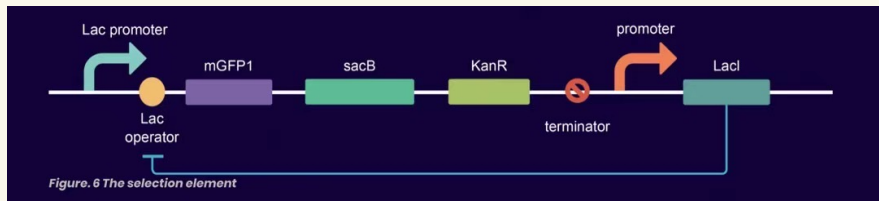
DIRECTED EVOLUTION MODULE

目的：获得一种可以忍受高浓度乳糖并且不失去其对相应启动子抑制功能的 LacI 蛋白。

过程：构建突变-选择-扩增

构建突变：利用饱和诱变技术构建 LacI 蛋白的变异文库。
构建好相应的质粒并转化到大肠杆菌之中。

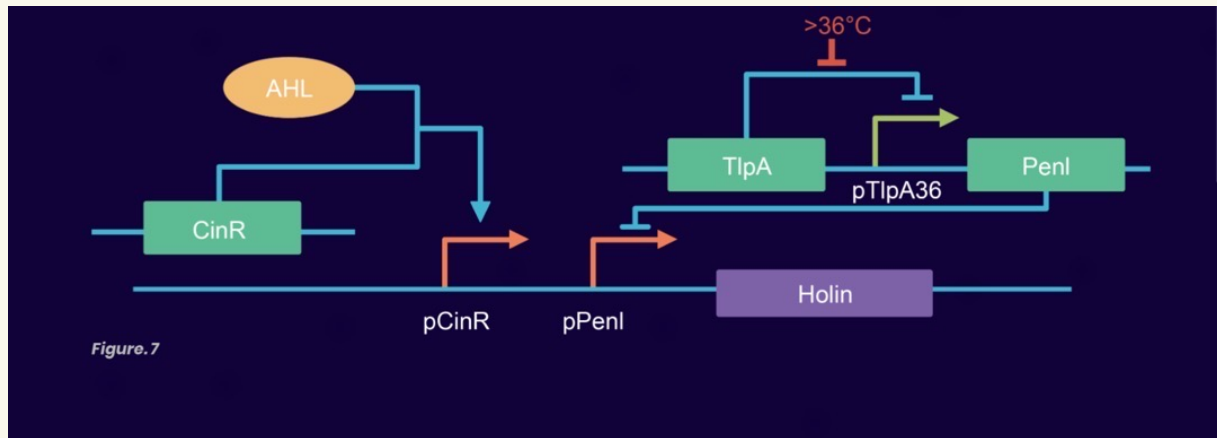
选择：建立不同的培养条件对LacI突变体进行选择。



- SacB蛋白酶- 催化蔗糖水解-在培养基中添加蔗糖并逐渐增高乳糖水平，可以筛选出所需的LacI突变体
- KanR蛋白-对抗卡那霉素的抗性-通过卡那霉素-筛选出那些永久失去结合乳糖能力的LacI突变体

03

SAFETY SWITCH MODULE



并联安全开关

- 主动开关可以使得患者按照自己的意愿主动去除细菌
- 温控开关可以避免细菌泄漏到环境之中