

特约评述

DOI: 10.12211/2096-8280.2024-083

合成基因回路面临的细胞“经济学窘境”

田晓军, 张日新

(亚利桑那州立大学生物与健康系统工程学院, 美国 亚利桑那州 坦佩 85281)

摘要: 在合成生物学中, 基因模块是执行生物功能的核心元件。“模块性”是指已知基因元件在被拼装为目的基因回路后仍能保持其功能相对独立的特性。不同于传统工程学独立且稳定的特性, 基因回路存在于动态变化的细胞环境中, 其功能蛋白的表达效率高度依赖于胞内资源。有限的资源分配使得基因回路面临胞内资源的约束挑战, 导致基因回路的模块性丧失。恢复基因回路的模块性有助于构建普适的生命系统理论模型, 推动人工生命体系的智能化发展。近年来, 有关资源竞争如何重塑基因回路表现的研究逐渐增多, 这些研究加深了对潜在作用机制的理解, 并推动了基因回路设计的优化。本综述系统阐述了细胞资源竞争现象对基因回路功能的影响, 包括基因回路噪声的改变, 基因模块的耦合关系, 以及赢者通吃的涌现性。同时, 对现有控制策略进行了全面归纳, 包括细胞资源的正交化设计, 单基因模块的资源调控以及多基因模块的统筹化控制。随着合成生物学的快速发展, 人工设计的基因回路在结构和功能上会变得更加复杂。这一趋势预示着未来的研究重点将不再局限于简单的资源竞争控制体系, 而需要向更大规模的研究范畴拓展。与此同时, 研究方向应从基础研究探索延伸至实际应用, 最终实现精确可控的人工生命体系的构建。

关键词: 合成生物学; 基因元件; 资源竞争; 模块化; 设计策略

中图分类号: Q816 **文献标志码:** A

“Economics Paradox” with cells in synthetic gene circuits

TIAN Xiao-jun, ZHANG Rixin

(School of Biological and Health Systems Engineering, Arizona State University, Tempe 85281, Arizona, USA)

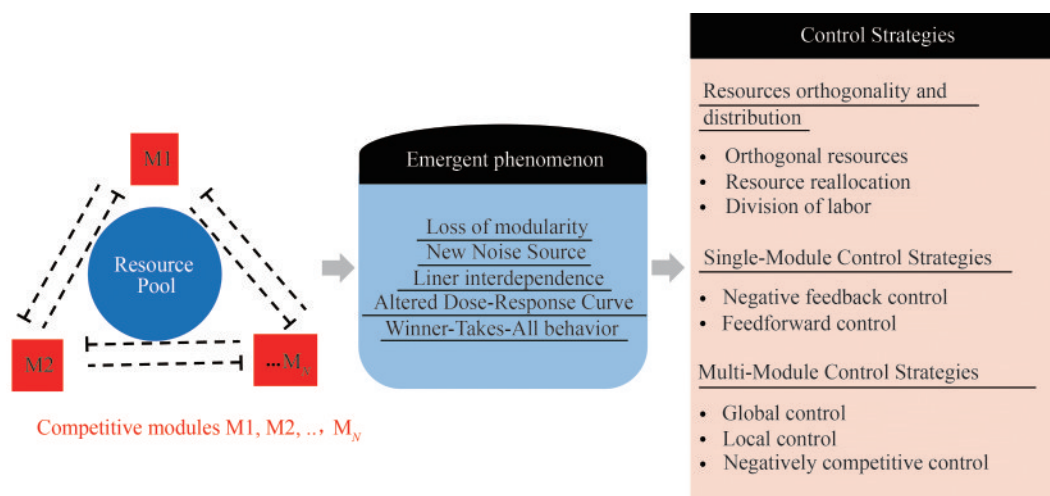
Abstract: In synthetic biology, gene modules are fundamental components that facilitate the execution of various biological functions. “Modularity” refers to the property where known genetic elements maintain their relatively independent functions after being assembled into specific gene circuits. Unlike traditional engineering systems, which often possess independent and stable characteristics, gene circuits must navigate the complexities of dynamically fluctuating cellular environments. This inherent variability means that the effectiveness of gene circuits in producing functional proteins is highly contingent upon the availability of intracellular resources. When these resources are scarce, it can create significant bottlenecks that impede the overall functionality of the gene circuits. Moreover, gene

收稿日期: 2024-11-27 修回日期: 2025-02-19

引用本文: 田晓军, 张日新. 合成基因回路面临的细胞“经济学窘境”[J]. 合成生物学, 2025, 6(3): 532-546

Citation: TIAN Xiao-jun, ZHANG Rixin. “Economics Paradox” with cells in synthetic gene circuits[J]. Synthetic Biology Journal, 2025, 6(3): 532-546

modules do not typically operate in isolation; rather, they are integrated into complicated network systems that interact with other modules to achieve multifaceted regulatory objectives. This interconnectedness leads to competition among various modules for limited intracellular resources, which disrupts the basic principle of modular design. Restoring the modularity of gene circuits is crucial for constructing universal models of life systems, which can further promote the intelligent development of artificial life systems. Recently, increasing studies have focused on how this resource competition impacts the performance of gene circuits, which have deepened our understanding of the underlying mechanisms and have paved the way for optimizing gene circuit designs to enhance their modularity and functionality. This review aims to comment on the influences of cellular resource competition on gene circuit functions, through exploring various aspects, including the fluctuations in noise levels within gene circuits, the coupling relationships among different gene modules, and the emergent “winner-takes-all” phenomenon. Additionally, we summarize existing strategies for controlling these challenges, such as the orthogonal design of cellular resources, the regulation of single gene modules, and the coordinated control of multiple gene modules. With the rapid development of synthetic biology, artificially designed gene circuits are becoming increasingly complicated in both structures and functions. This trend suggests that future research will no longer be limited to simple resource competition control systems, but instead will need to expand to larger-scale research areas. At the same time, research directions should extend from basic research to practical applications, ultimately aiming to construct precisely controllable artificial life systems.



Keywords: synthetic biology; genetic parts; resource competition; modularity; design strategies

合成生物学是一个高度跨学科领域，融合了生物学、物理、工程学、控制学、数学和计算机科学等学科。作为一种高度交叉融合的学科，合成生物学广泛影响了各个领域的发展，包括食品、医疗、农业、工业和能源等。在基础生命科学领域中，合成生物学有助于加深人类对生命运作方式的理解。例如，通过观察生物的调控模式并辅以传统工程学的思维方式，研究人员总结归纳了多种基因模块，包括“双稳态开关”和“生

物振荡器”等，对这些基因模块的深入研究可为理解高等生物内部紧密的关系网络提供启示。在工业应用中，合成生物学可被用于提高目标蛋白或代谢物的生产效率。例如，人造细胞系统可被用于高效生产植物或动物来源的天然化合物。

自下而上的研究策略是理解合成生物学的关键方向，它着重于已知基因元件的人工设计与组装，以构建具备特定功能的生物系统。运用这种研究思路有助于深入理解生物元件、装置和系统

设计原理,并将这些原理扩展应用于医疗健康、农业、环境可持续发展和智能材料科学等广泛领域,以促进人工生物体系的开发^[1-5]。随着研究的不断深入,合成生物学领域在过去20多年中取得了显著进展,但目前仍面临诸多挑战,其中最为突出的问题为人工合成基因回路的不稳定性。这种不稳定性主要来源于“基因回路-宿主相互作用”^[6-12]。基因回路并非独立存在,而是与所处的宿主细胞内环境密切相关。基于中心法则,基因回路的功能表现主要受制于转录和翻译过程所需的RNA聚合酶和核糖体的可用程度^[13-16]。当不同功能的基因回路被重新组合时,资源竞争现象会导致基因回路展现出与预期功能完全不同的表现^[17-18]。这种非模块化的特性与传统工程学科的可预测和独立性不同,增加了合成生物学研究的挑战性,还延长了研发周期,同时降低了课题成功的可预期性^[9]。资源竞争现象会引发基因回路的涌现性,反复调试的过程往往使得生物器件的开发需要漫长的周期,严重阻碍了人工设计的生物器件在实验室外的实际应用^[12, 19-20]。

本文首先概述了合成基因回路中细胞资源竞争的基本原则,随后总结了资源竞争对基因回路功能的影响,包括基因模块功能失调和赢者通吃现象。在深入了解资源竞争现象的基础上,本文进一步介绍了现有的资源竞争控制策略,主要包括以下三个方面:通过资源正交化和资源再分配实现资源解耦;利用特定拓扑结构调控单基因模块的资源流动;采用全局性、局部性和竞争性控制策略来缓解多基因模块间的资源竞争现象。最后,本文讨论了该领域亟待解决的问题,旨在为合成基因回路的稳健设计提供新的研究方向。

1 合成基因回路中的细胞资源竞争基本原则

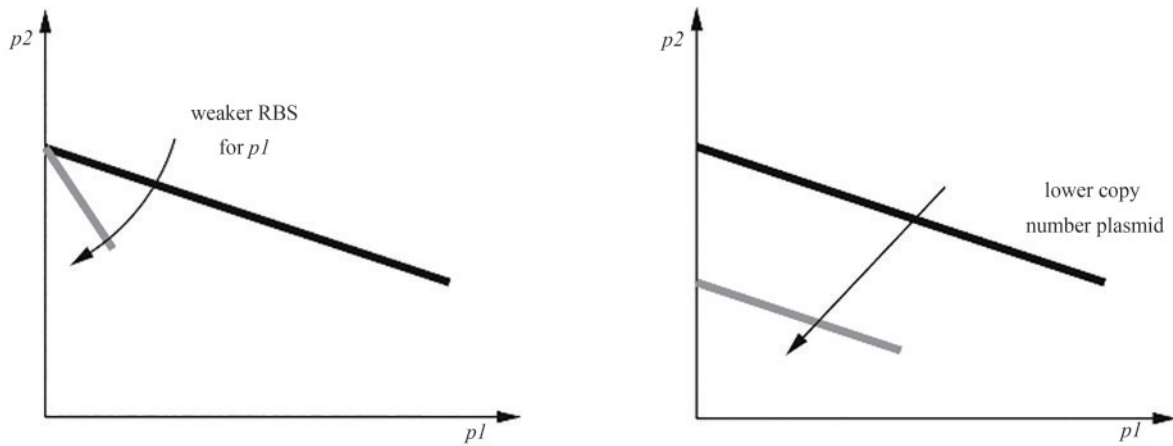
1.1 不同物种中的细胞资源稀缺性差异

在合成生物学中,全新生物体系的构建离不开宿主细胞,作为搭建功能回路的平台,宿主细胞在“设计-构建-测试-学习”的研究范式中发挥着不可替代的作用,因此也被称为“底盘细胞”。

原核生物因其结构简单且培养条件易控,被首先运用在合成生物学领域中,其中最具有代表性的底盘细胞为大肠杆菌。随着合成生物技术手段的不断进步,在更高等的生物体中合成人工设计的基因回路成为可能,这种类型的底盘细胞有酵母细胞和哺乳动物细胞等。基因回路的功能受胞内资源可用性的影响,目前已有研究表明,有限的RNA聚合酶和核糖体是造成胞内资源紧张的主要因素,它们分别在基因转录和蛋白翻译过程中发挥重要作用^[13-16]。在细菌中,翻译资源的竞争是引发资源耦合的主要原因^[18, 21-22],而在酵母细胞和哺乳动物细胞中,转录资源的可用性在资源过载的形成中起到了关键作用^[23-24]。了解不同细胞中资源受限的主要类型有助于设计特定的资源控制策略。基因表达包含多个步骤:遗传信息的转录、RNA剪接、mRNA翻译以及mRNA或蛋白质的降解。各个阶段所需的细胞资源都是有限且共享的,因此,除了上述两种主要的受限资源外,胞内多种物质的有限性都能引发资源竞争现象,例如有限的转录因子、tRNA分子和降解酶等^[25-31]。

1.2 基因模块间的资源分配原理及等成本曲线依赖特性

Gyorgy等^[18]研究发现,在细胞资源有限的条件下,等成本曲线能够有效展示两个基因表达水平的线性依赖作用。在经济学领域,通过对等成本曲线进行分析可评估模型的参数范围,使模型能够在资源有限的情况下达到最优效果。同样,有限的细胞资源也给基因回路的模块化设计带来了挑战,描绘资源耦合现象的等成本曲线能够为基因回路的理性设计提供参考。在理想情况下,系统中不存在任何资源约束,基因的表达完全独立。然而,在现实情况中,不同的基因模块会相互竞争有限的资源,导致基因的表达呈现负相关。另外,Gyorgy等发现,在等成本曲线中有两个关键参数起着重要作用:两基因间的核糖体结合位点相对强度比(决定曲线的斜率)和基因回路的质粒拷贝数(决定曲线的截距)(图1)。减弱基因*pI*的核糖体结合位点强度将导致等成本曲线顺时针旋转[图1(a)],而降低质粒拷贝数会使等成本曲线平行下移[图1(b)]。



(a) 降低基因 $p1$ 的RBS结合强度使等成本曲线顺时针转动^[18] (b) 降低质粒拷贝数使等成本曲线向下平移^[18]
 (a) Decreasing the RBS strength of $p1$ rotates the isocost line clockwise^[18] (b) Decreasing the plasmid copy number shifts the isocost line down^[18]

图1 基于模型预测的等成本曲线^[18]

Fig. 1 Isocost lines predicted by the model^[18]

1.3 新的基因表达噪声源

细胞资源竞争不仅仅会导致基因回路的“确定性”功能失调，还会影响基因表达的“随机性”行为。基因表达过程伴随着噪声，其中包含由于细胞间差异或者环境起伏波动而带来的外噪声和由于细胞内的转录、翻译和降解等生化反应的随机性而带来的内噪声。通过对 mRNA 和蛋白质的生成以及降解过程进行数学模拟，研究人员发现这些过程产生的噪声是基因表达内噪声的主要来源^[32-33]。Goetz 等^[34] 通过研究含有两个独立表达蛋白 [绿色荧光蛋白 (green fluorescent protein, GFP) 和红色荧光蛋白 (red fluorescent protein, RFP)] 的简单双基因系统模型，发现了一项新的由细胞资源竞争所带来的基因表达噪声源。在新的噪声解析表达式中，存在一项独立于自身 mRNA 拷贝数波动的项，此项可被定义为“资源竞争噪声”。基因表达过程中的随机性导致 mRNA 拷贝数随时间波动，这种波动进一步影响了核糖体的利用率，使得其他 mRNA 的翻译速度产生相应的波动。此外，该研究揭示了胞内资源竞争对基因回路噪声的“双刃剑”效应：资源竞争在引发独立于自身 mRNA 拷贝数波动的同时也抑制了自身 mRNA 翻译速度的波动。

资源竞争可全局性地抑制基因回路的表达，通过限制 mRNA 和蛋白质的合成来降低由于其浓度波动引发的噪声。资源竞争引起的升噪或降噪

取决于细胞翻译能力(图2)。在翻译能力较低时，高水平的资源竞争噪声伴随着低水平的 mRNA 生成或降解噪声，此状态下蛋白总噪声较大。随着翻译能力的增高，蛋白质生成或降解噪声以及资源竞争噪声的下降将导致基因回路整体噪声水平降低。当噪声持续降低至某一特定值时，资源竞争现象的缓和会导致 mRNA 自身噪声水平升高，进而导致整体噪声水平回升。因此，在最佳翻译能力的状态下，基因回路的整体噪声水平最低。

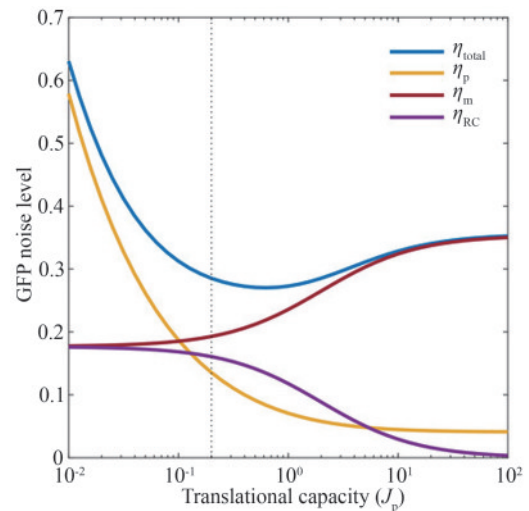


图2 总体蛋白噪声的解析解曲线^[34]

(η_{total} —蛋白总噪声; η_p —蛋白生成或降解噪声;
 η_m —mRNA 波动噪声; η_{RC} —资源竞争噪声)

Fig. 2 Analytical solutions of the total protein noise^[34]

(η_{total} —total protein noise; η_p —birth/death of protein noise;
 η_m —mRNA fluctuating noise; η_{RC} —resource competition noise)

2 细胞资源竞争引发的基因回路功能失调及其原理

2.1 基因模块的功能失调

上文所述的等成本曲线虽可模拟双基因信号的资源耦合效应，但却难以预测复杂基因网络的资源分配规则。在庞大的生物网络中，一些具有特定结构的基因回路反复出现。其高频率的存在表明这些基因回路具有重要的生物学功能，是形成复杂调控网络的基本单元，被称为基因模块^[35-37]。双稳态开关是最常见的模块之一，在细胞分化和细胞命运抉择的调控过程中发挥关键作用^[38]。在合成生物学中，双稳态开关的最终稳定状态取决于系统所受的历史刺激，因此具备记忆功能，可被用于构建体外记忆回路^[39]。然而，在基因回路中，由于资源竞争的存在，双稳态开关的稳态特性可能发生变化或丧失。例如，当在双稳态开关下游接入一个新的基因时，该基因会与双稳态开关竞争有限的表达资源，最终导致双稳态区域发生位移或彻底丧失双稳态特性^[40]。另一种常见的模块是振荡回路，振荡回路能够周期性调控特定基因的表达，进而维持生物钟等与时间相关的生物功能^[41-42]。Moriya等^[25]发现在振荡回路中引入一个报告基因会破坏基因回路的固有功能。具体体现为，基因回路中下游的报告基因会与上游功能蛋白竞争蛋白酶的使用，有限的蛋白酶无法对功能蛋白进行充分降解，进而改变了基因回路的振荡特性。

资源竞争对多基因模块的影响同样在级联激

活基因回路中得到了体现。Qian等^[21]的研究表明，资源竞争现象会破坏级联激活基因回路的剂量-反应曲线的单调递增特性。根据数学模型预测，随着诱导剂量的增加，相应模块的输出信号应呈现单调递增趋势。然而由于资源受限，上游基因模块将争夺下游基因模块的资源，导致在某一诱导剂量的节点下，输出信号不升反降（图3）。资源竞争现象间接在多级联基因回路中引入非一致性前馈网络，破坏了基因回路的固有功能。

2.2 “赢者通吃”表现

在更为复杂的基因回路中，资源竞争现象可以导致高阶的涌现特性，例如系统的稳态性质或者数量的变化。Zhang等^[43]研究发现，在双自激活基因回路中，资源竞争会导致“赢者通吃”现象，具体表现为有且只有一个模块被激活，而不是预期的共激活行为。“赢者通吃”现象刻画一种新的由细胞资源竞争而引发的基因回路失调，增加了系统的复杂性，会导致细胞资源分配的不连续变化，这种变化与连续的线性或非单调变化不同。即使基因模块之间只有微小的资源利用差距，这个微小的差异也足以显著改变系统的状态。在级联双稳态开关（cascading bistable switches, CBS）中，两个自激活模块（M1和M2模块）正向连接，且两个模块都具有双稳态特性。根据理论模型预测，基于两模块间的不同连接强度，CBS系统可实现不同的细胞命运转变，当M1到M2弱连接、M2到M1强连接时，CBS系统将关

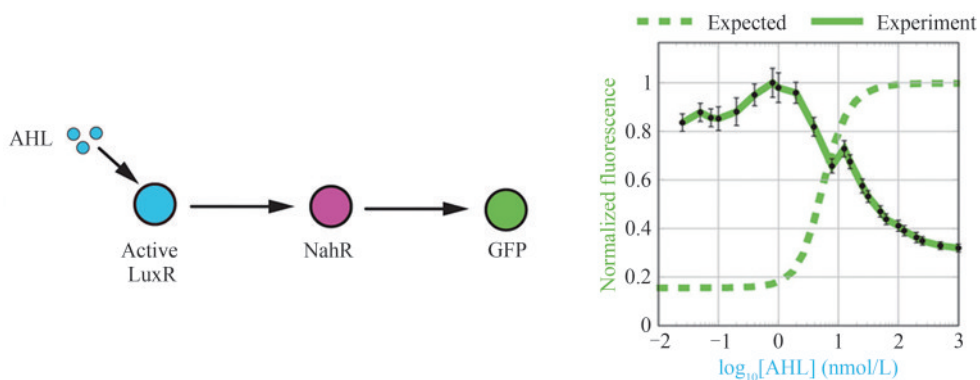


图3 级联激活基因回路呈现非单调递增的剂量-反应曲线^[21]

Fig. 3 Cascade activation circuit demonstrates a nonmonotonic dose-response curve^[21]

闭状态(两个模块均关闭)到M1模块激活,最终随着诱导的增加达到共激活状态(M1和M2模块均激活)[图4(a)];当M1到M2强连接、M2到M1弱连接时,CBS系统将从关闭状态到M2模块激活,最终实现共激活状态[图4(b)].实验数据仅证实了第一阶段状态的变化,由于资源竞争现象的存在,第二阶段即共激活状态未能实现,最终呈现出单一模块激活的状态.在上述现象中,随着第二个模块激活程度增加,它开始与第一个模块竞争有限的资源,最后通过对资源占用能力上的微小优势成为唯一的赢家.研究者也发现两个独立的双稳态开关间微小的失衡也会促成“赢者通吃”现象的出现,即激活程度稍高的模块会获取更多的资源来抑制激活程度较低的模块.

3 细胞资源正交化和分配控制策略

上面讨论到细胞资源竞争可引起基因间接的相互作用并可能使基因回路功能失调.引入资源竞争约束条件可以更好地理解基因回路功能失调的机理.相反,如果不考虑资源约束条件,将会导致对基因回路行为的错误预测.基于对细胞资源竞争引发的基因回路功能变化的深入了解,近些年来研究人员提出了多种控制策略,旨在构建一个稳定且可预测的合成生物学体系.控制细胞

资源竞争的核心在于实现各个基因模块对胞内资源的合理利用,本节将从不同角度归纳总结这些控制策略,包括以下几个方面:正交化设计可改变细胞资源池的属性,使得不同基因回路保持相对独立;资源的分配和分工策略可合理控制细胞内资源的流动;负反馈和前馈控制机制可实现对资源的实时感应,从而及时调整胞内基因模块对资源的利用;最后,将从全局、局部和竞争性控制的角度介绍不同策略的控制效率,为控制策略进一步研究提供新的思考视角.

3.1 正交化设计

基因回路的功能执行依赖于基因转录和蛋白翻译,因此共享胞内有限的RNA聚合酶和核糖体成为引发资源竞争的主要因素.为了应对这些挑战,研究人员尝试使用独立的转录和翻译资源将基因回路区块化,以避免模块间相同资源的竞争.通过这种方法,特定RNA聚合酶或核糖体只能被特定类型的基因利用,而不会与使用不同类型资源的基因发生竞争.在基因转录层面,RNA聚合酶浓度的波动会显著影响由组合型启动子所转录的基因表达水平^[13, 44-47],因此,对RNA聚合酶正交化的研究成为解决问题的重要方向.T7噬菌体的RNA聚合酶可解除基因回路和宿主间的转录耦合^[48-50],Kushwaha等^[51]利用T7 RNA聚合酶构建

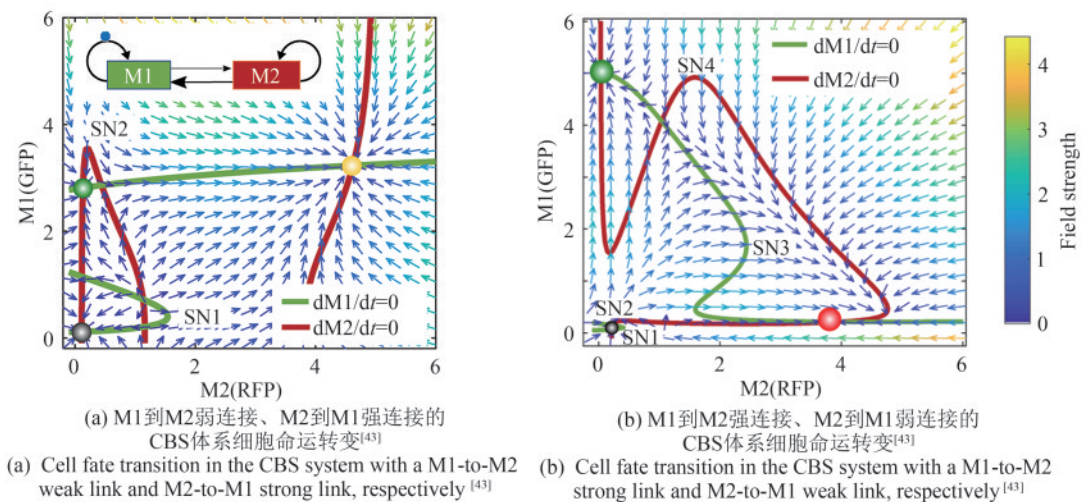


图4 基于两模块的不同连接强度,级联双稳态开关(CBS)呈现出不同的两种细胞命运转变途径^[43]

Fig. 4 Cascaded bistable switch circuit demonstrates two different paths for cell fate transition associated with the strength of links between the two modules^[43]

了“通用型细菌表达资源”调节器，此调节器可有效改善基因转录层面的资源竞争。T7 RNA聚合酶包含多种亚基，不同的亚基功能各异，其中核心亚基可帮助RNA聚合酶非特异性地结合到DNA上，而 σ 亚基可特异性地识别不同启动子的-35和-10区域^[52]。基于这一特征，Segall-Shapiro等^[53]使用T7 RNA聚合酶的不同亚基开发了一种“转录资源分配器”，可用于减轻转录水平的资源耦合程度。

尽管此类基于RNA聚合酶正交化的设计在一定程度上可以缓解资源竞争，其作用仍仅限于转录水平，无法传递到翻译水平上^[54]。在大肠杆菌细胞中，核糖体的竞争是造成资源耦合的主要因素^[18, 21-22]。因此，核糖体的正交化设计在理论上可有效减轻资源竞争现象。研究人员通过表达正交的16S rRNA (o-16S) 来构建正交核糖体 (O-ribosome)，由于o-16S与核糖体蛋白的复合物只能识别突变的Shine-Dalgarno (SD) 序列，因此，O-ribosome只能结合到具有突变核糖体结合位点的mRNA上，无法识别野生型mRNA^[55]。在此研究基础上，Orelle等^[56]提出了Ribo-T体系，此方法将50S核糖体亚基与突变的30S亚基（由突变的16S rRNA所形成）连接在一起，所得复合体失去与野生型30S亚基竞争50S亚基的能力，从而有效避免了资源竞争现象。然而，在Ribo-T体系中，由于50S和30S亚基相连，其翻译能力明显低于野

生型核糖体系统，限制了其在基因回路设计中的应用。基于Ribo-T系统，有研究提出了OSYRIS体系。通过转变Ribo-T编辑的核糖体和野生型核糖体的翻译角色，OSYRIS系统可提高目标基因的翻译效率，然而OSYRIS体系细胞生长速率低，可能由Ribo-T翻译和组装的低效率所致^[57]。基于RNA聚合酶和核糖体的正交化设计可分别在转录和蛋白翻译水平降低资源耦合，因此，Darlington等^[54]尝试将这两种设计融合，以实现转录-翻译水平上的同时解耦控制。研究发现，将两种资源控制器简单组合会导致系统不稳定而无法发挥预期功能。

3.2 资源的重新分配策略

在工程学中，负反馈和前馈网络是发挥控制功能的重要拓扑结构，将发生资源竞争的基因模块整合入调控网络中，可提高基因表达的稳定性^[58]。Darlington等^[55, 59]研究了负反馈网络调控正交核糖体的分布效果。在此研究中，正交核糖体通过翻译一种具有抑制其自身生成功能的蛋白来构成负反馈回路 [图5(a)]。当基因回路的蛋白表达增高时，其对正交核糖体资源的竞争会降低可用核糖体的数量，解除了抑制蛋白对其自身的抑制作用，使得基因表达维持在稳定水平。这项研究通过负反馈系统有效控制了核糖体资源的分配，进而降低合成回路中基因表达的资源竞争。

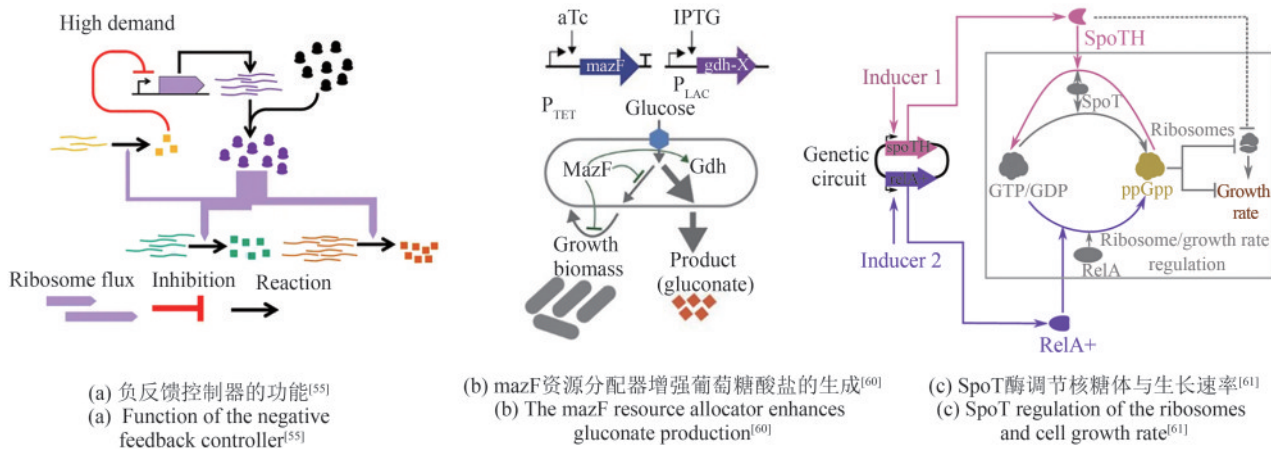


图5 资源重新分配策略^[55, 60-61]

Fig. 5 Diagram for the resource reallocation strategy^[55,60-61]

Venturelli等^[60]提出了一种能够调节宿主和基因回路之间资源分配的新策略,在此设计中,基因回路可表达一种RNA酶mazF, mazF能够下调宿主细胞的翻译活性[图5(b)]。同时,研究人员巧妙地对基因回路中mazF的结合序列进行基因编辑,使其能在正常发挥功能的情况下不受mazF的影响。mazF可通过下调宿主细胞的翻译能力来缓解资源竞争,促进基因回路合理利用宿主细胞的资源来优化目标产物的生成。

此外,Barajas等^[61]利用非一致性前馈网络构建了资源控制器,该生物器件能够在增强目标基因活性的同时激活修饰化的SpoT酶,上调胞内核糖体浓度。ppGpp分子对*E. coli*的生长速率和rRNA/核糖体合成具有抑制作用^[62-64]。SpoT酶可通过催化ppGpp的降解来解除rRNA合成的抑制效应,进而增强核糖体的生成速率[图5(c)]。SpoT酶在此机制中发挥了资源调节的作用,确保了被消耗的资源能够得到及时补充。

3.3 劳动分工策略

劳动分工策略是指将执行任务划分到不同细胞,进而避免基因模块间接的资源竞争的一种控制范式^[65]。研究发现不同细菌群体的基因模块可通过群聚感应分子进行交流,进而共同执行预期功能^[66]。Zhang等^[43]发现将级联体系中的激活开关分配到不同的亚群菌株并将它们与LuxR/LuxI/AHL群聚感应系统相连,可以有效解决“赢者通吃”的资源竞争现象。在这种策略下,每个开关仅限于所在的细胞资源池,无法夺取其他开关的资源,从而消除了单菌株系统中的“赢者通吃”行为。同理,运用相似的空间控制理念,劳动分工策略也可通过隔离基因模块和细胞环境来实现^[67-68]。有研究发现,细菌微区室可以有效隔离宿主细胞的多种代谢反应,其本质为蛋白质细胞器,其中的蛋白质可组装为具有多面体结构的外壳,具有包裹或隔离的功能^[69-71]。这一特性为合成生物学的模块化设计提供了研究方向。资源分工策略的应用不仅限于基础研究,在代谢组学生物工程领域也取得了一定成功,例如,在生化反应中,相似机理的反应步骤可被分配到专属的微环境中,

这一方式不仅提高了反应速率和效率,也减轻了宿主细胞的资源压力^[72-73]。

资源分工策略虽然有其优势,但也存在一定的限制和挑战。首先,群聚感应分子通常以群体形式发挥功能,因此,在细胞培养过程中,如果无法保持细胞密度的稳定,由群聚感应分子引发的群体效应可能会影响基因回路的功能。其次,在运用多细胞工程体的资源分工策略时,各亚群间的生长速率需要保持相对平衡以防止在细胞繁殖进化过程中低生长速率的细胞亚群逐渐消失,影响整体工程体的稳定性和功能^[74]。除上述限制以外,实验中使用的培养条件要能为工程体提供充分良好的生长环境,否则会导致细胞亚群而非基因模块水平之间的生长资源竞争,进而导致资源分工策略的失效^[43, 75-76]。

4 细胞资源竞争的单模块动态控制策略

4.1 负反馈控制策略

负反馈网络在合成生物学中具有重要意义,它能够有效控制基因表达水平,降低噪声以及精确调节基因回路的动态变化。通过感应系统输出水平的波动,负反馈控制器可相应地对输入信号进行及时调整以应对内部或外部环境的变化。因此,含有负反馈网络的生物器件在理论上应具备一定的资源调控能力。Shopera等^[77]发现,将负反馈机制整合入基因回路可降低基因表达的资源耦合,使等成本曲线更加平缓。另外, Jones等^[78]通过调节共价修饰循环构建了新形式的负反馈控制器。在此策略中,用于激活目的基因转录的转录因子仅在磷酸化状态下才能与启动子结合,且其浓度受到特异化的激酶和磷酸酶动态平衡的调控[图6(a)]。在此基因回路中,与目的基因共表达的磷酸酶可以以负反馈的方式调控目的基因的输出信号,降低资源波动对其造成的影响。

资源竞争可导致宿主细胞负荷增高,因此,有关于宿主资源过载问题的研究有助于理解资源竞争现象的潜在机制。目前已有研究成功构建了生物负荷感受器来检测宿主负荷水平。Ceroni等^[22]将持续表达的GFP报告基因插入宿主基因组

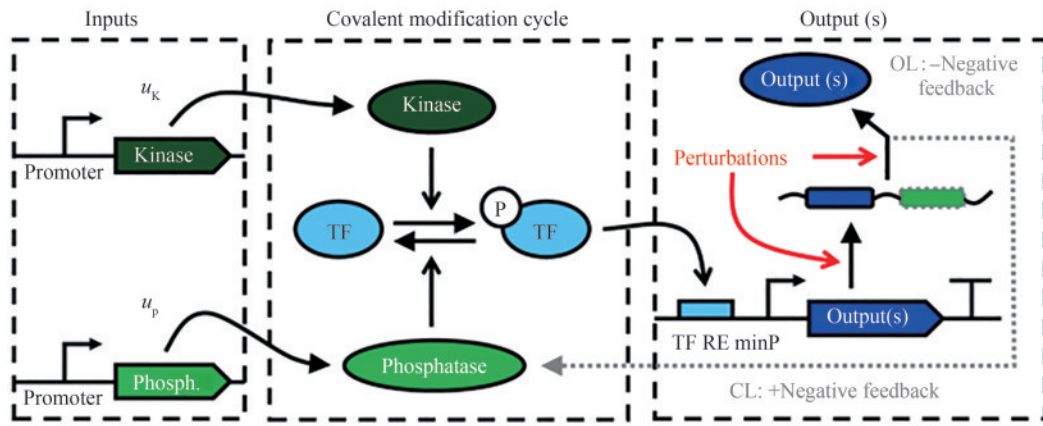
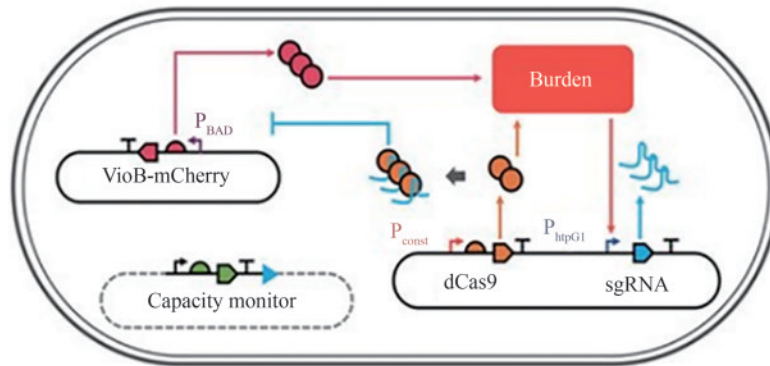
(a) 基于共价修饰循环的负反馈资源控制器^[78](a) Negative feedback resource controllers based on covalent modification cycles^[78](b) 负荷驱动的CRISPR-dCas9负反馈感受器^[79](b) Burden-driven negative feedback sensor using CRISPR-dCas9^[79]

图6 基于负反馈机制的资源控制装置

Fig. 6 Resource controlling devices based on the negative feedback loop

中，提出并构建了“资源容量感受器”。由于GFP是持续表达的，因此GFP的荧光变化可指示胞内资源的动态变化。与细胞生长速率标志物相比，胞内资源波动对GFP荧光水平的影响更加显著，因此这种方式可以更敏感地检测胞内资源水平。在另一项研究中，Ceroni等^[79]利用CRISPR-dCas9构建了基于负荷水平的负反馈感受器。当胞内资源稀缺时，CRISPR-dCas9会通过负反馈的作用方式持续降低目的基因的转录水平，直至胞内资源负荷恢复到正常水平[图6(b)]。

4.2 前馈控制策略

负反馈控制器通过检测系统的信号输出水平与预期水平的偏离对输入信号进行相应调整。与

负反馈检测系统偏差的特性不同，前馈网络通过预判系统的偏差来实现调控。Jones等^[23]将内核糖核酸酶与目的基因共表达，利用内核糖核酸酶可加速降解目标基因mRNA的特性构建了前馈控制器，使得目标基因能够在资源波动的环境中稳定表达[图7(a)]。另外，Frei等^[80]采用了相似的构建策略，使用具有抑制目标基因转录功能的miRNA与目标基因共表达，成功构建了有效的资源控制前馈网络。应用前馈控制网络可以有效应对细胞生长带来的不利影响。自激活基因回路的功能易受细胞生长的影响。Stone等^[81]在自激活回路中引入了一个辅助抑制模块，使得自激活回路转变为非一致性前馈控制网络，新的体系在应对大肠杆菌细胞生长反馈时表现出更高的稳定性，展现出更强的稳健性[图7(b)]。

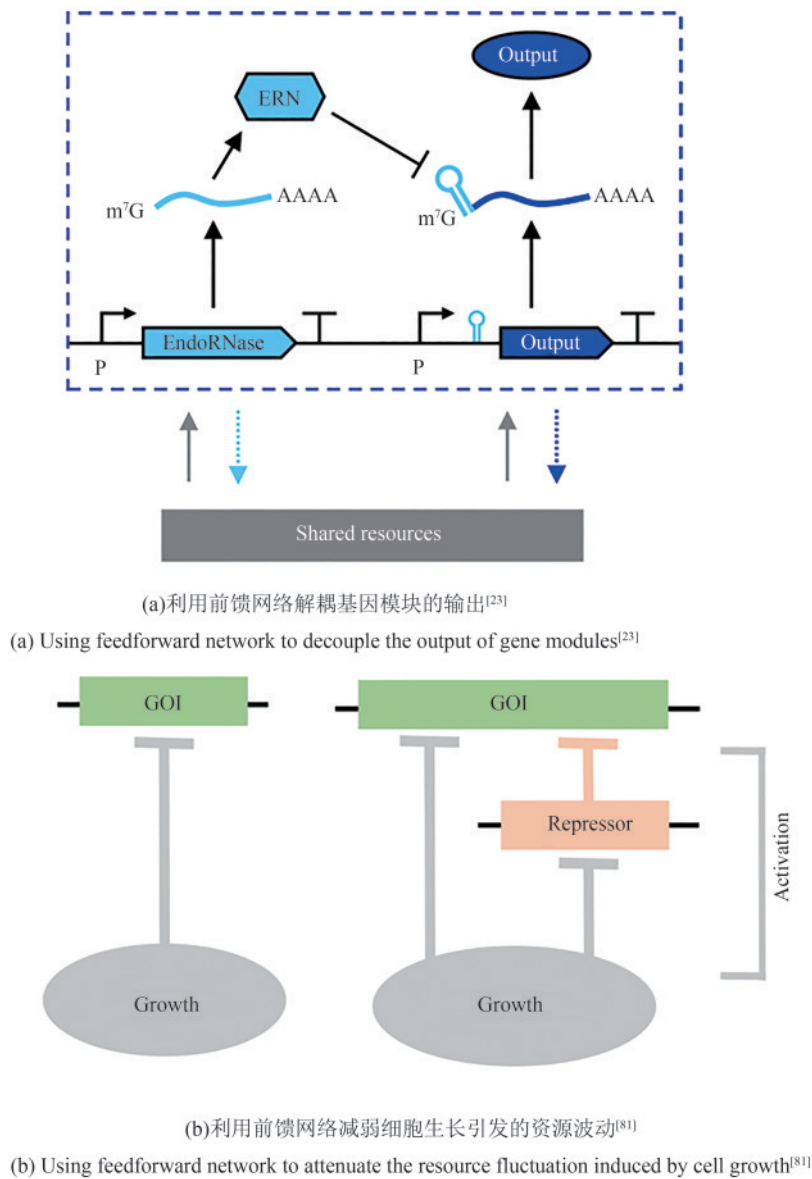


图7 基于前馈机制的资源控制装置

Fig. 7 Resource controlling devices based on the feedforward network

5 细胞资源竞争的多模块控制策略

上述控制策略可提高基因回路在细胞内环境中的稳健性。此类策略也可被运用在规模更大的多基因模块系统中，基于调控机制，多基因模块系统的控制策略主要采用3种范式：全局性、局部性和竞争性控制（图8）。

全局控制器可接收基因回路中所有模块（M1和M2）的活性水平，当整体活性水平过高时，控制器可全局性地抑制所有基因模块从而减轻资源

竞争现象。例如，上述讨论的Barajas等^[61]提出的SpoT控制器即采用了全局性控制方式，该控制器所调控的ppGpp基因与核糖体均属于细胞水平的全局性资源。然而全局控制器在调控时缺乏灵活性和精确性，限制了该种控制策略的广泛运用。

局部控制器是指基因模块拥有独立的控制器（C1控制M1；C2控制M2），资源消耗过高的基因模块会受到控制器的特异性抑制，进而促进资源流向低活性水平的基因模块。例如，在Huang等^[82]提出的准积分控制器中，sRNA可通过局部控制的调控方式靶向特定的mRNA模块，最终实

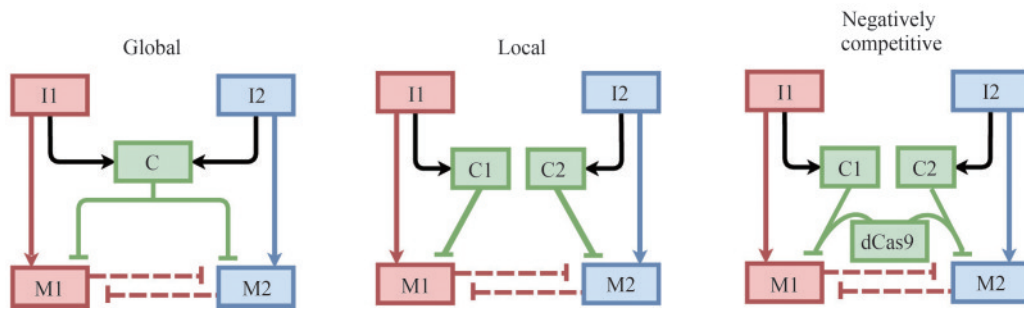


图8 资源竞争控制器的3种控制策略^[83]

Fig. 8 Three types of strategies for controlling resource competition^[83]

现目标基因的稳态表达。

竞争性控制器在局部控制器的基础结构上引入了一个额外的基因，该基因与局部控制器共同抑制基因模块的表达^[83-84]。如图8所示，局部控制器C1和C2竞争性地与dCas9结合来发挥抑制作用。由于高活性的基因模块在受到局部抑制的同时也占用了更多的竞争性资源dCas9，因此dCas9对低活性基因模块的抑制作用被减弱，促使其活性增高。数学建模的结果显示，竞争性控制器由于整合了抑制和交叉激活的效果，其调控资源分配的能力优于局部和全局控制器，可以更好地控制“赢者通吃”现象以及基因表达噪声^[34, 83-86]。

6 结论与展望

通过上述讨论，总结了由细胞资源竞争而引发的几种基因回路功能失调行为及其原理。基因元件在系统中并非独立发挥作用，元件与元件之间既要相辅相成共同执行任务，又要防止元件间相互影响而产生预料外的作用。其中胞内资源竞争是处于复杂网络系统中的基因元件无法避免的问题，这种基因元件间的资源约束现象加剧了生物系统的复杂度，破坏了工程学中模块的正交性。人工智能与生命科学的交叉研究或可成为解决这一问题的突破口。机器学习善于预测生物中复杂的非线性相互作用，从对简单基因元件的功能预测到对复杂环境中基因回路的涌现行为预测，机器学习目前已参与到基因回路的理性设计过程中，加速了合成生物学的发展^[87]。资源竞争现象一方面阻碍了可预测的动力学建模，另一方面也为构建全面系统的生物模型带来了机遇和挑战。人工

智能的黑箱模型可基于现有数据准确预测特定情况下的资源耦合行为，将加速资源竞争潜在作用机制的研究，进一步完善现有模型，提升其解释能力和预测准确性。另外一种可行的策略是使资源竞争现象具有可控性，本文所概述的控制策略均可在一定程度上缓解胞内资源竞争，恢复基因元件的模块性，然而，由于生物系统的多样性和复杂性，现有研究仍局限在简单体系和理论研究中，如何拓展资源控制策略的应用范围，以解除当前的局限性，以及如何将现有的体系大规模应用到实际生产中仍然是亟待解决的问题，主要包括：

(1) 将控制简单基因回路资源竞争的策略拓展到更为复杂的生物系统中，通过检验其有效性并根据特定的生物体系进行进一步的优化，来寻求普适化的控制原则。

(2) 基于对现有资源竞争现象的观察构建预测模型，以指导基因回路的精确设计。在合成生物学中，全面理解生物体系需要融合“自下而上”和“自上而下”的研究思路。利用数学模型来预测基因模块的输出变化，可以为基因回路的合理设计提供理论支持。受细胞内复杂环境因素的影响，如细胞生长状态和细胞资源类型等，现有的资源竞争预测模型仍存在一定局限性。因此，研究不同条件下资源竞争现象的特点并构建相应的数学模型有助于对这一领域进行更加全面和系统的理解。

(3) 与细菌不同，哺乳动物细胞具有更复杂的结构和调节机制，因此，引发哺乳动物细胞内基因回路发生资源竞争的因素更为广泛。研究由于细菌和哺乳动物细胞生物结构不同造成的资源

竞争的调控机制有利于在哺乳动物细胞中构建稳定可预测的基因回路并优化现有的控制策略。

(4) 探索现有胞内资源竞争控制策略的局限性和不足, 据此制定优化策略, 以克服现存挑战。

(5) 上述讨论的控制策略目前仍只运用在实验室环境中, 需要对这些控制策略进行更深一步的研究, 挖掘其潜在价值。在更加广泛的条件下评估这些控制策略的功能以拓展其适用性, 推进合成生物体系在实验室外的应用。

深入研究合成生物学中基因回路面临的资源约束挑战可使我们实现基因模块设计的正交化, 为发展精确可控的人工生命设计体系提供新思路与新方向。

参 考 文 献

- [1] MOE-BEHRENS G H G, DAVIS R, HAYNES K A. Preparing synthetic biology for the world[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2013, 4: 5.
- [2] WURTZEL E T, VICKERS C E, HANSON A D, et al. Revolutionizing agriculture with synthetic biology[J]. *Nature Plants*, 2019, 5(12): 1207-1210.
- [3] MENG F K, ELLIS T. The second decade of synthetic biology: 2010—2020[J]. *Nature Communications*, 2020, 11(1): 5174.
- [4] NGUYEN P Q, HUANG X N, COLLINS D S, et al. Harnessing synthetic biology to enhance ocean health[J]. *Trends in Biotechnology*, 2023, 41(7): 860-874.
- [5] TANG T C, AN B L, HUANG Y Y, et al. Materials design by synthetic biology[J]. *Nature Reviews Materials*, 2021, 6(4): 332-350.
- [6] BORKOWSKI O, CERONI F, STAN G B, et al. Overloaded and stressed: whole-cell considerations for bacterial synthetic biology[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2016, 33: 123-130.
- [7] SHAKIBA N, JONES R D, WEISS R, et al. Context-aware synthetic biology by controller design: engineering the mammalian cell[J]. *Cell Systems*, 2021, 12(6): 561-592.
- [8] LIAO C, BLANCHARD A E, LU T. An integrative circuit-host modelling framework for predicting synthetic gene network behaviours[J]. *Nature Microbiology*, 2017, 2(12): 1658-1666.
- [9] DEL VECCHIO D. Modularity, context-dependence, and insulation in engineered biological circuits[J]. *Trends in Biotechnology*, 2015, 33(2): 111-119.
- [10] BOO A, ELLIS T, STAN G B. Host-aware synthetic biology[J]. *Current Opinion in Systems Biology*, 2019, 14: 66-72.
- [11] ILIA K, DEL VECCHIO D. Squaring a circle: to what extent are traditional circuit analogies impeding synthetic biology?[J]. *GEN Biotechnology*, 2022, 1(2): 150-155.
- [12] ŞİMŞEK E, YAO Y, LEE D, et al. Toward predictive engineering of gene circuits[J]. *Trends in Biotechnology*, 2023, 41(6): 760-768.
- [13] BREMER H, DENNIS P P. Modulation of chemical composition and other parameters of the cell at different exponential growth rates[J]. *EcoSal Plus*, 2008, 3(1): 10.1128/ecosal.5.2.3.
- [14] VIND J, SØRENSEN M A, RASMUSSEN M D, et al. Synthesis of proteins in *Escherichia coli* is limited by the concentration of free ribosomes. Expression from reporter genes does not always reflect functional mRNA levels[J]. *Journal of Molecular Biology*, 1993, 231(3): 678-688.
- [15] CHURCHWARD G, BREMER H, YOUNG R. Transcription in bacteria at different DNA concentrations[J]. *Journal of Bacteriology*, 1982, 150(2): 572-581.
- [16] STOEBEL D M, DEAN A M, DYKHUIZEN D E. The cost of expression of *Escherichia coli* lac operon proteins is in the process, not in the products[J]. *Genetics*, 2008, 178(3): 1653-1660.
- [17] CARBONELL-BALLESTERO M, GARCIA-RAMALLO E, MONTAÑEZ R, et al. Dealing with the genetic load in bacterial synthetic biology circuits: convergences with the Ohm's law[J]. *Nucleic Acids Research*, 2016, 44(1): 496-507.
- [18] GYORGY A, JIMÉNEZ J I, YAZBEK J, et al. Isocost lines describe the cellular economy of genetic circuits[J]. *Biophysical Journal*, 2015, 109(3): 639-646.
- [19] DEL VECCHIO D, QIAN Y L, MURRAY R M, et al. Future systems and control research in synthetic biology[J]. *Annual Reviews in Control*, 2018, 45: 5-17.
- [20] BASHOR C J, COLLINS J J. Insulating gene circuits from context by RNA processing[J]. *Nature Biotechnology*, 2012, 30(11): 1061-1062.
- [21] QIAN Y L, HUANG H H, JIMÉNEZ J I, et al. Resource competition shapes the response of genetic circuits[J]. *ACS Synthetic Biology*, 2017, 6(7): 1263-1272.
- [22] CERONI F, ALGAR R, STAN G B, et al. Quantifying cellular capacity identifies gene expression designs with reduced burden[J]. *Nature Methods*, 2015, 12(5): 415-418.
- [23] JONES R D, QIAN Y L, SICILIANO V, et al. An endoribonuclease-based feedforward controller for decoupling resource-limited genetic modules in mammalian cells[J]. *Nature Communications*, 2020, 11(1): 5690.
- [24] DI BLASI R, PISANI M, TEDESCHI F, et al. Resource-aware construct design in mammalian cells[J]. *Nature Communications*, 2023, 14(1): 3576.

- [25] MORIYA T, YAMAOKA T, WAKAYAMA Y, et al. Comparison between effects of retroactivity and resource competition upon change in downstream reporter genes of synthetic genetic circuits[J]. *Life*, 2019, 9(1): 30.
- [26] CAMERON D E, COLLINS J J. Tunable protein degradation in bacteria[J]. *Nature Biotechnology*, 2014, 32(12): 1276-1281.
- [27] HERMSEN R, TANS S, TEN WOLDE P R. Transcriptional regulation by competing transcription factor modules[J]. *PLoS Computational Biology*, 2006, 2(12): e164.
- [28] DONG H J, NILSSON L, KURLAND C G. Co-variation of tRNA abundance and codon usage in *Escherichia coli* at different growth rates[J]. *Journal of Molecular Biology*, 1996, 260(5): 649-663.
- [29] LOVE A M, NAIR N U. Specific codons control cellular resources and fitness[J]. *Science Advances*, 2024, 10(8): eadk3485.
- [30] COOKSON N A, MATHER W H, DANINO T, et al. Queueing up for enzymatic processing: correlated signaling through coupled degradation[J]. *Molecular Systems Biology*, 2011, 7: 561.
- [31] BUTZIN N C, HOCHENDORER P, OGLE C T, et al. Entrainment of a bacterial synthetic gene oscillator through proteolytic queueing[J]. *ACS Synthetic Biology*, 2017, 6(3): 455-462.
- [32] PAULSSON J. Models of stochastic gene expression[J]. *Physics of Life Reviews*, 2005, 2(2): 157-175.
- [33] PAULSSON J. Summing up the noise in gene networks[J]. *Nature*, 2004, 427(6973): 415-418.
- [34] GOETZ H, STONE A, ZHANG R, et al. Double-edged role of resource competition in gene expression noise and control[J]. *Advanced Genetics*, 2022, 3(1): 2100050.
- [35] ALON U. Network motifs: theory and experimental approaches [J]. *Nature Reviews Genetics*, 2007, 8(6): 450-461.
- [36] SHEN-ORR S S, MILO R, MANGAN S, et al. Network motifs in the transcriptional regulation network of *Escherichia coli*[J]. *Nature Genetics*, 2002, 31(1): 64-68.
- [37] MILO R, SHEN-ORR S, ITZKOVITZ S, et al. Network motifs: simple building blocks of complex networks[J]. *Science*, 2002, 298(5594): 824-827.
- [38] WANG L, WALKER B L, IANNACCONE S, et al. Bistable switches control memory and plasticity in cellular differentiation [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(16): 6638-6643.
- [39] VEENING J W, SMITS W K, KUIPERS O P. Bistability, epigenetics, and bet-hedging in bacteria[J]. *Annual Review of Microbiology*, 2008, 62: 193-210.
- [40] CHAKRABORTY P, GHOSH S. Emergent correlations in gene expression dynamics as footprints of resource competition [J]. *The European Physical Journal E*, 2021, 44(10): 131.
- [41] PARTCH C L, GREEN C B, TAKAHASHI J S. Molecular architecture of the mammalian circadian clock[J]. *Trends in Cell Biology*, 2014, 24(2): 90-99.
- [42] ITO H, MUTSUDA M, MURAYAMA Y, et al. Cyanobacterial daily life with Kai-based circadian and diurnal genome-wide transcriptional control in *Synechococcus elongatus*[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(33): 14168-14173.
- [43] ZHANG R, GOETZ H, MELENDEZ-ALVAREZ J, et al. Winner-takes-all resource competition redirects cascading cell fate transitions[J]. *Nature Communications*, 2021, 12(1): 853.
- [44] LIANG S T, XU Y C, DENNIS P, et al. mRNA composition and control of bacterial gene expression[J]. *Journal of Bacteriology*, 2000, 182(11): 3037-3044.
- [45] LIANG S T, BIPATNATH M, XU Y C, et al. Activities of constitutive promoters in *Escherichia coli*[J]. *Journal of Molecular Biology*, 1999, 292(1): 19-37.
- [46] KLUMPP S, HWA T. Growth-rate-dependent partitioning of RNA polymerases in bacteria[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105(51): 20245-20250.
- [47] KLUMPP S, ZHANG Z G, HWA T. Growth rate-dependent global effects on gene expression in bacteria[J]. *Cell*, 2009, 139(7): 1366-1375.
- [48] ALEXANDER W A, MOSS B, FUERST T R. Regulated expression of foreign genes in vaccinia virus under the control of bacteriophage T7 RNA polymerase and the *Escherichia coli* lac repressor[J]. *Journal of Virology*, 1992, 66(5): 2934-2942.
- [49] CHAMBERLIN M, MCGRATH J, WASKELL L. New RNA polymerase from *Escherichia coli* infected with bacteriophage T7[J]. *Nature*, 1970, 228(5268): 227-231.
- [50] STUDIER F W, MOFFATT B A. Use of bacteriophage T7 RNA polymerase to direct selective high-level expression of cloned genes[J]. *Journal of Molecular Biology*, 1986, 189(1): 113-130.
- [51] KUSHWAHA M, SALIS H M. A portable expression resource for engineering cross-species genetic circuits and pathways[J]. *Nature Communications*, 2015, 6: 7832.
- [52] EL-SAMAD H, KURATA H, DOYLE J C, et al. Surviving heat shock: control strategies for robustness and performance [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005, 102(8): 2736-2741.
- [53] SEGALL-SHAPIRO T H, MEYER A J, ELLINGTON A D, et al. A 'resource allocator' for transcription based on a highly fragmented T7 RNA polymerase[J]. *Molecular Systems Biology*, 2014, 10(7): 742.

- [54] DARLINGTON A P S, BATES D G. Architectures for combined transcriptional and translational resource allocation controllers[J]. *Cell Systems*, 2020, 11(4): 382-392. e9.
- [55] DARLINGTON A P S, KIM J, JIMÉNEZ J I, et al. Dynamic allocation of orthogonal ribosomes facilitates uncoupling of co-expressed genes[J]. *Nature Communications*, 2018, 9(1): 695.
- [56] ORELLE C, CARLSON E D, SZAL T, et al. Protein synthesis by ribosomes with tethered subunits[J]. *Nature*, 2015, 524(7563): 119-124.
- [57] ALEKSASHIN N A, SZAL T, D'AQUINO A E, et al. A fully orthogonal system for protein synthesis in bacterial cells[J]. *Nature Communications*, 2020, 11(1): 1858.
- [58] DE JONG H, GEISELMANN J, ROPERS D. Resource reallocation in bacteria by reengineering the gene expression machinery[J]. *Trends in Microbiology*, 2017, 25(6): 480-493.
- [59] DARLINGTON A P S, KIM J, JIMÉNEZ J I, et al. Engineering translational resource allocation controllers: mechanistic models, design guidelines, and potential biological implementations[J]. *ACS Synthetic Biology*, 2018, 7(11): 2485-2496.
- [60] VENTURELLI O S, TEI M, BAUER S, et al. Programming mRNA decay to modulate synthetic circuit resource allocation [J]. *Nature Communications*, 2017, 8: 15128.
- [61] BARAJAS C, HUANG H H, GIBSON J, et al. Feedforward growth rate control mitigates gene activation burden[J]. *Nature Communications*, 2022, 13(1): 7054.
- [62] ZHU M L, DAI X F. Growth suppression by altered (p)ppGpp levels results from non-optimal resource allocation in *Escherichia coli*[J]. *Nucleic Acids Research*, 2019, 47(9): 4684-4693.
- [63] BÜKE F, GRILLI J, COSENTINO LAGOMARSINO M, et al. ppGpp is a bacterial cell size regulator[J]. *Current Biology*, 2022, 32(4): 870-877. e5.
- [64] MU H Y, HAN F, WANG Q, et al. Recent functional insights into the magic role of (p)ppGpp in growth control[J]. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 2023, 21: 168-175.
- [65] ROELL G W, ZHA J, CARR R R, et al. Engineering microbial consortia by division of labor[J]. *Microbial Cell Factories*, 2019, 18(1): 35.
- [66] TSOI R, WU F L, ZHANG C, et al. Metabolic division of labor in microbial systems[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2018, 115(10): 2526-2531.
- [67] OVÁDI J, SAKS V. On the origin of intracellular compartmentation and organized metabolic systems[J]. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2004, 256-257(1-2): 5-12.
- [68] MAMPEL J, BUESCHER J M, MEURER G, et al. Coping with complexity in metabolic engineering[J]. *Trends in Biotechnology*, 2013, 31(1): 52-60.
- [69] CHOWDHURY C, SINHA S, CHUN S, et al. Diverse bacterial microcompartment organelles[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2014, 78(3): 438-468.
- [70] YEATES T O, JORDA J, BOBIK T A. The shells of BMC-type microcompartment organelles in bacteria[J]. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 2013, 23(4-5): 290-299.
- [71] KERFELD C A, HEINHORST S, CANNON G C. Bacterial microcompartments[J]. *Annual Review of Microbiology*, 2010, 64: 391-408.
- [72] THOMMES M, WANG T Y, ZHAO Q, et al. Designing metabolic division of labor in microbial communities[J]. *mSystems*, 2019, 4(2): e00263-18.
- [73] LINDEMANN S R. A piece of the pie: engineering microbiomes by exploiting division of labor in complex polysaccharide consumption[J]. *Current Opinion in Chemical Engineering*, 2020, 30: 96-102.
- [74] ALNAHHAS R N, WINKLE J J, HIRNING A J, et al. Spatiotemporal dynamics of synthetic microbial consortia in microfluidic devices[J]. *ACS Synthetic Biology*, 2019, 8(9): 2051-2058.
- [75] KIM H J, BOEDICKER J Q, CHOI J W, et al. Defined spatial structure stabilizes a synthetic multispecies bacterial community [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105(47): 18188-18193.
- [76] XU P. Dynamics of microbial competition, commensalism, and cooperation and its implications for coculture and microbiome engineering[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2021, 118(1): 199-209.
- [77] SHOPERA T, HE L, OYETUNDE T, et al. Decoupling resource-coupled gene expression in living cells[J]. *ACS Synthetic Biology*, 2017, 6(8): 1596-1604.
- [78] JONES R D, QIAN Y L, ILIA K, et al. Robust and tunable signal processing in mammalian cells *via* engineered covalent modification cycles[J]. *Nature Communications*, 2022, 13(1): 1720.
- [79] CERONI F, BOO A, FURINI S, et al. Burden-driven feedback control of gene expression[J]. *Nature Methods*, 2018, 15(5): 387-393.
- [80] FREI T, CELLA F, TEDESCHI F, et al. Characterization and mitigation of gene expression burden in mammalian cells[J]. *Nature Communications*, 2020, 11(1): 4641.
- [81] STONE A, RIJAL S, ZHANG R, et al. Enhancing circuit stability under growth feedback with supplementary repressive regulation[J]. *Nucleic Acids Research*, 2024, 52(3): 1512-1521.
- [82] HUANG H H, QIAN Y L, DEL VECCHIO D. A quasi-integral controller for adaptation of genetic modules to variable ribosome demand[J]. *Nature Communications*, 2018, 9(1): 5415.

- [83] STONE A, RYAN J, TANG X, et al. Negatively competitive incoherent feedforward loops mitigate winner-take-all resource competition[J]. ACS Synthetic Biology, 2022, 11(12): 3986-3995.
- [84] STONE A, ZHANG R, TIAN X J. Coupling shared and tunable negative competition against winner-take-all resource competition *via* CRISPRi moieties[C/OL]//2021 American Control Conference (ACC). IEEE, 2021: 1-6. (2021-07-28) [2024-11-01]. <https://ieeexplore.ieee.org/document/9483381>.
- [85] CHAKRAVARTY S, ZHANG R, TIAN X J. Noise reduction in resource-coupled multi-module gene circuits through antithetic feedback control[J]. bioRxiv, 2024: 2024. 05. 24. 595570.
- [86] CHAKRAVARTY S, GUTTAL R, ZHANG R, et al. Mitigating winner-take-all resource competition through antithetic control

mechanism[J]. ACS Synthetic Biology, 2024, 13(12): 4050-4060.

- [87] RAI K, WANG Y D, O'CONNELL R W, et al. Using machine learning to enhance and accelerate synthetic biology[J]. Current Opinion in Biomedical Engineering, 2024, 31: 100553.



第一作者及通讯作者：田晓军 (1984—),男,博士生导师。研究方向为定量生物学、系统生物学、合成生物学,目前研究是优化人工合成基因回路设计及其应用。

E-mail: Xiaojun.Tian@asu.edu