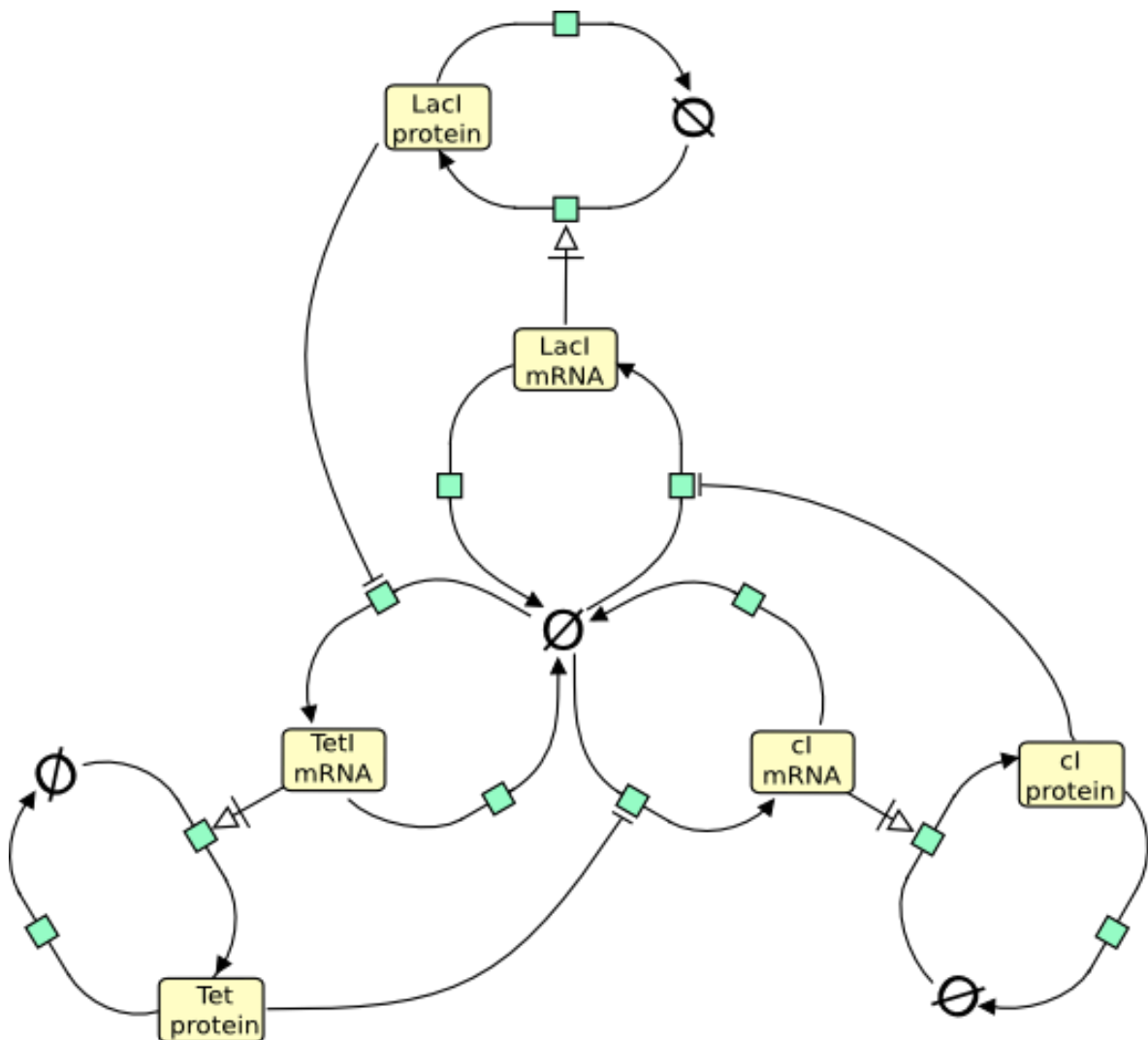


## Projekt 5: *E. Coli* - Repressilator

Řešitelé:

Zadání:

1) Uvažujte následující síť representující interakce v syntetickém obvodu zavedeném do *E. coli* prostřednictvím lac operonu. Jedná se o tzv. represilátor, cyklus řetězově inhibovaných proteinů LacI  $\rightarrow$  TetI  $\rightarrow$  cI  $\rightarrow$  LacI. Model je popsán v článku <http://www.elowitz.caltech.edu/publications/Repressilator.pdf>. Hotový model pro výše zmiňovanou síť je k dispozici v databázi Biomodels.net (<http://www.ebi.ac.uk/biomodels-main/BIOMD0000000012>).



Rozšiřte spojitý model výše uvedené sítě o další dva inhibované proteiny Synt1 a Synt2 (LacI -> TetI -> cI -> Synt1 -> Synt2 -> LacI). Pro modelování transkripce/translace a degradace použijte stejný princip jako je uplatněn u ostatních proteinů.

Kinetické parametry uvažujte v následujících intencích:

rozpad Synt1 ->	0.0693 min <sup>-1</sup>
rozpad Synt2 ->	0.0693 min <sup>-1</sup>
rozpad synt1_mRNA ->	0.347 min <sup>-1</sup>
rozpad synt2_mRNA ->	0.347 min <sup>-1</sup>
Km transkripce synt1_mRNA, synt2_mRNA	40
Hillův koeficient strmosti	2
bázová rychlost transkripce při represi	0.03 transcripts/min
maximální rychlost transkripce Synt1_mRNA, synt2_mRNA	29.97 transcripts/min
rychlost translace Synt1, Synt2	6.93 proteins/(mRNA*min)

Prozkoumejte parametry modelu, jejich výpočet je realizován prostřednictvím algebraických výrazů, tzv. assignments.

Vysvětlení je patrné na záložce Model v biomodels.

Iniciální koncentrace přidaných proměnných uvažujte nulové (nenulová proměnná modelu je iniciálně pouze TetR\_mRNA nastavená na 20).

Pomocí nástroje COPASI demonstруйте time course simulacemi chování všech 5 proteinů. Primárně uvažujte pouze deterministické simulace. Následně zkuste i simulace stochastické (diskutujte, v jaké části modelu může dojít ke zkreslení kinetiky). Zjištěné výsledky i s grafy zaznamenejte do protokolu.

[30 bodů]

2) Rozpojte represní cyklus nastavením bázové transkripce a maximální transkripce pro TetR\_mRNA na 0. Pomocí vhodných simulačních experimentů (deterministických) analyzujte dobu odezvy proteinů Synt1 a Synt2 a vzájemně je porovnejte. Identifikujte parametry, které tyto

doby odezvy výrazně ovlivňují.  
Výsledky sepište do protokolu.

[30 bodů]

3) Přepište model do nástroje BioCHAM (represní cyklus znovu uzavřete). Zachyťte pomocí logiky LTL s omezeními v reálných číslech následující vlastnost:

- Oscilace obou Vámi přidaných proteinů Synt1 a Synt2.

Pomocí nástroje BioCHAM otestujte platnost výše uvedené vlastnosti a analyzujte její robustnost vzhledem k vhodně zvolené perturbaci parametrů rozpadu Synt1 a Synt2.

Výsledky sepište do protokolu.

[40 bodů]