PB050: Modelování a predikce v systémové biologii

David Šafránek

11.11.2010

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

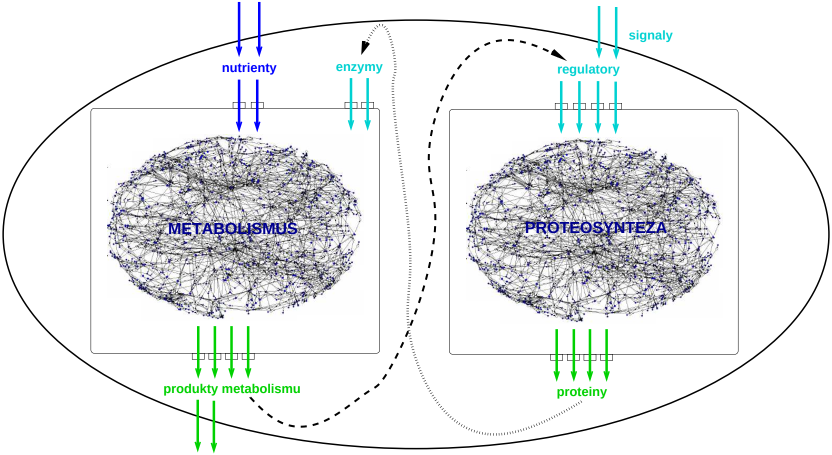
EVROPSKÁ UNIE

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

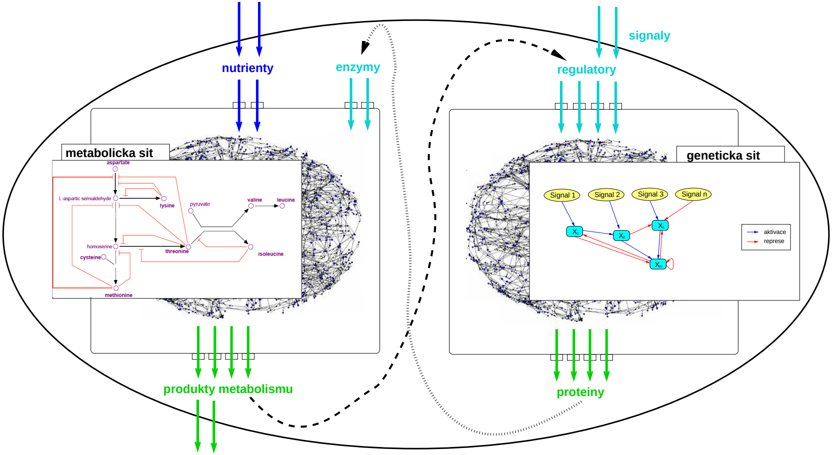
Obsah

Obsah

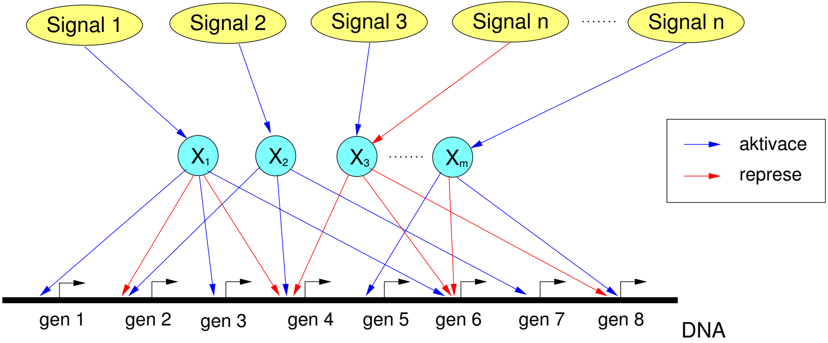
Základní mechanismy buňky – opakování



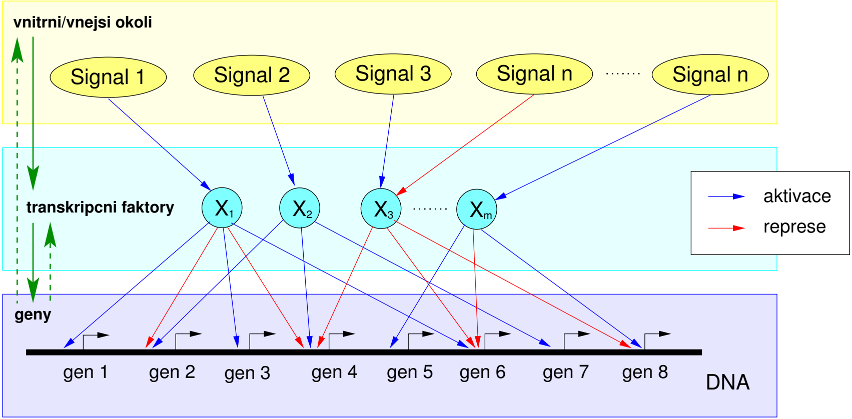
Základní mechanismy buňky – opakování



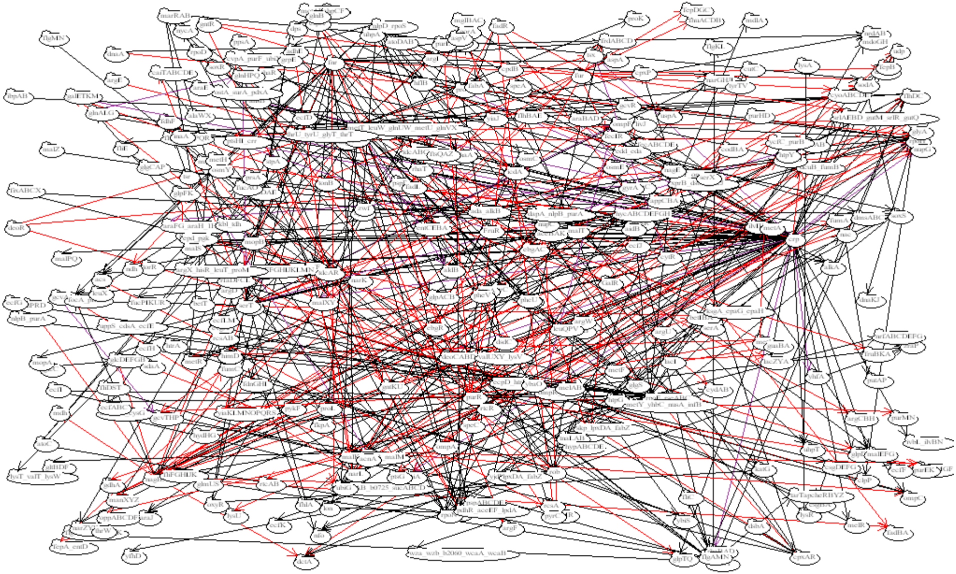
Schema transkripční regulace



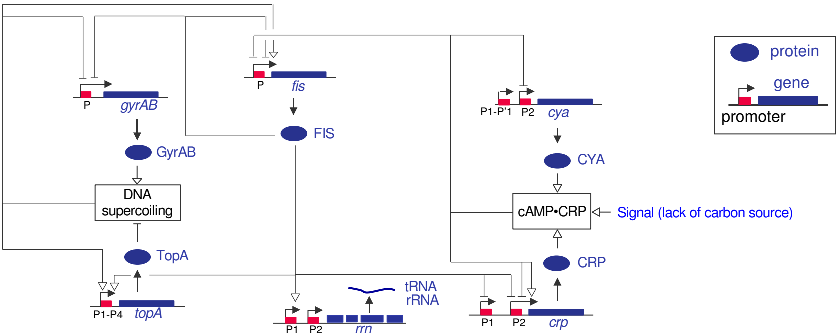
Schema transkripční regulace



Kompletní transkripční síť E.coli



Schematický výřez transkripční sítě E.coli



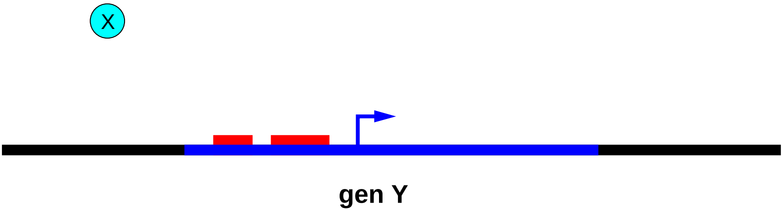
Časové dimenze v E. coli

Experimentálně zjištěný parametr	**E.Coli**
Vazba molekuly signálu na transkripční faktor vedoucí ke změně aktivity faktoru	$\sim 1msec$
Vazby aktivního faktoru na operon DNA	$\sim 1sec$
Transkripce + translace jednoho genu	$\sim 5min$
Životnost mRNA	$\sim 2-5min$
50% změna koncentrace stabilního proteinu	$\sim 1h$

Aktivace transkripce

- transkripční faktor X aktivuje transkripci proteinu Y

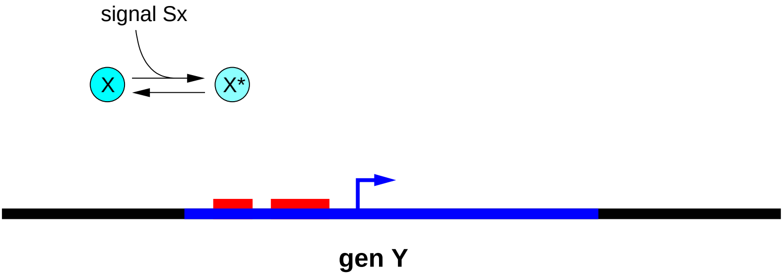
$$X \longrightarrow Y$$



Aktivace transkripce

- transkripční faktor X aktivuje transkripci proteinu Y

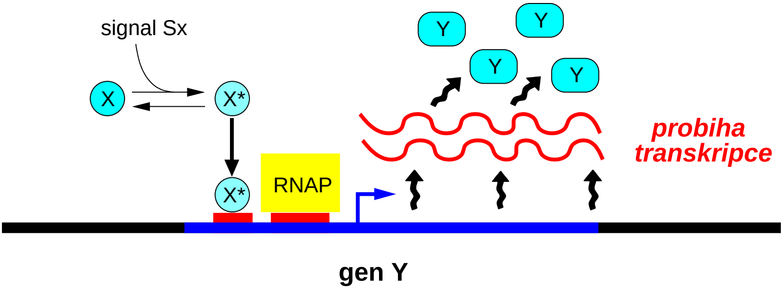
$$X \rightarrow Y$$



Aktivace transkripce

- transkripční faktor X aktivuje transkripci proteinu Y

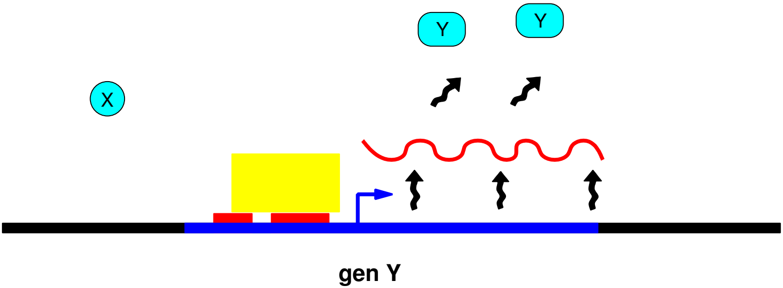
$$X \rightarrow Y$$



Represe transkripce

- transkripční faktor X degraduje transkripci proteinu Y

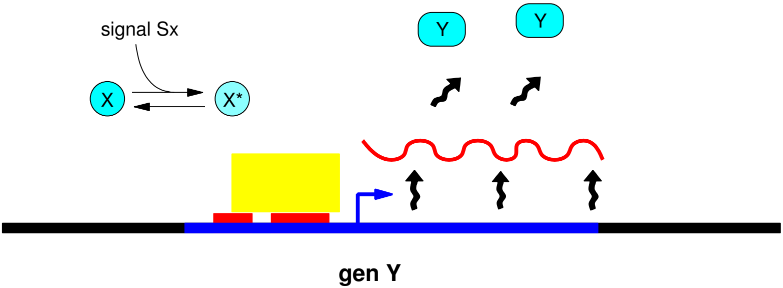
$$X \dashv Y$$



Represe transkripce

- transkripční faktor X degraduje transkripci proteinu Y

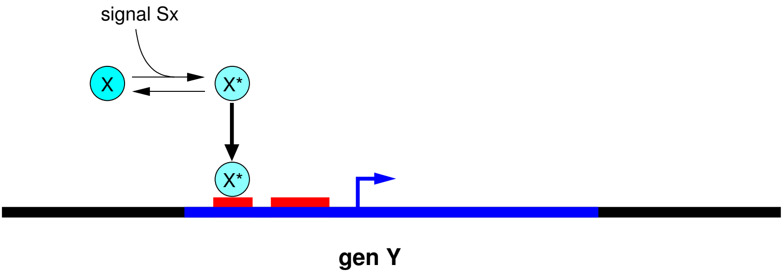
$$X \dashv Y$$



Represe transkripce

- transkripční faktor X degraduje transkripci proteinu Y

$$X \dashv Y$$



Model dynamiky transkripční regulace

- nejprve předpokládáme koncentraci X stabilní
  - konstantní regulace (předpokládáme aktivaci)
- modelujeme produkci proteinu Y v čase
  - koncentrace $[Y]$ v (mol/s)
  - v čase t: $[Y](t)$
  - rychlost produkce: $\frac{d[Y]}{dt}$
- předpoklady: signální regulaci, transkripční, translační, posttranskripční a ostatní procesy uvažujeme stabilní
- modelujeme v časové škále stability proteinů

Model dynamiky transkripční regulace

- z pohledu mass action jde o následující reakce:

$$\xrightarrow{\beta} Y \qquad Y \xrightarrow{\gamma}$$

$$\frac{d[Y]}{dt} = \beta - \gamma[Y]$$

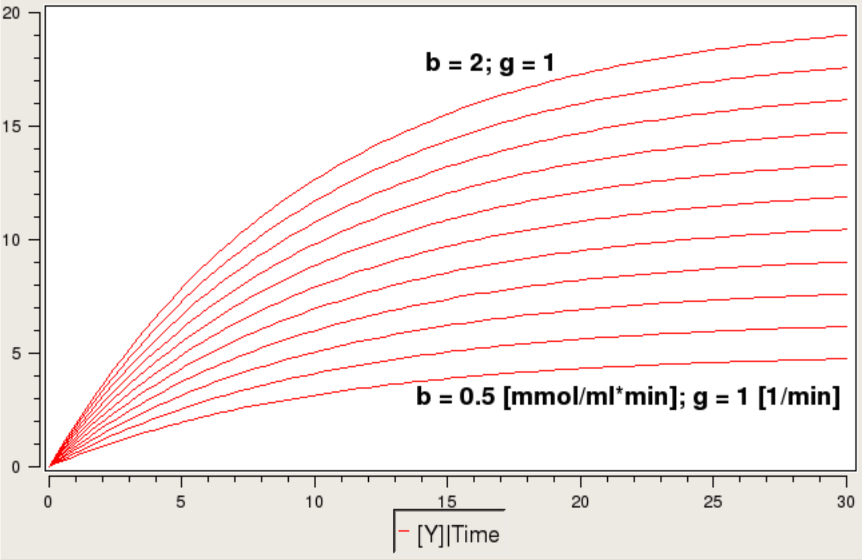
β ... produkční koeficient ($[mol/s]$)

$\gamma = \gamma_{dil} + \gamma_{deg}$ ($[1/s]$)

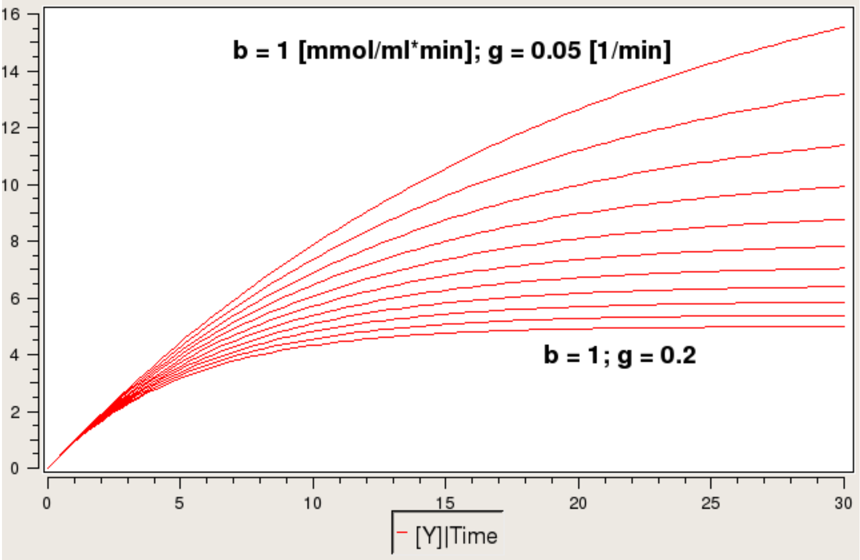
γ_{deg} ... rozpad (degradace) proteinu v buňce

γ_{dil} ... redukce koncentrace proteinu růstem buňky

Chování pří různém β



Chování při různém γ



Model dynamiky transkripční regulace

$$\frac{d[Y]}{dt} = \beta - \gamma[Y]$$

- stabilní stav transkripce (ekvilibrium):

$$\frac{d[Y]}{dt} = 0$$

Model dynamiky transkripční regulace

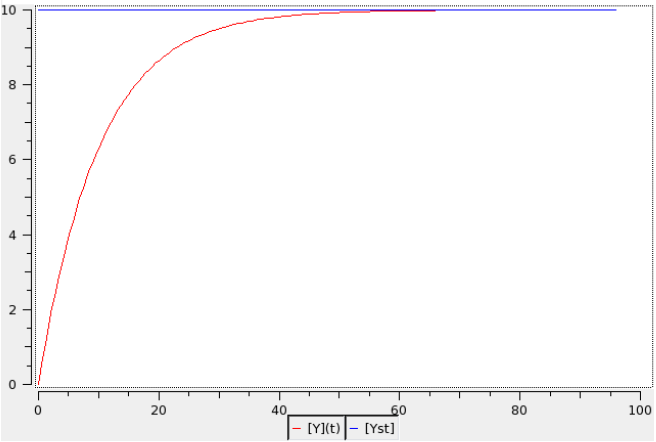
$$\frac{d[Y]}{dt} = \beta - \gamma[Y]$$

- stabilní stav transkripce (ekvilibrium):

$$\frac{d[Y]}{dt} = 0 \Leftrightarrow [Y] = \frac{\beta}{\gamma}$$

  - stabilní koncentraci značíme Y_{st}

Stabilní transkripce



$$\beta = 1 \qquad \gamma = 0.1 \quad \Rightarrow \quad Y_{st} = \frac{\beta}{\gamma} = 10$$

Stabilní transkripce

$$\frac{d[Y]}{dt} = \beta - \gamma[Y]$$

- stabilní stav transkripce (ekvilibrium):

$$\frac{d[Y]}{dt} = 0 \Leftrightarrow [Y] = \frac{\beta}{\gamma}$$

- zásadní pozorování:
    - jaká je rychlost rozpadu proteinu Y?
    - jaký má projev v časové škále transkripční regulace?

Doba odezvy transkripční regulace

- uvažujme (okamžité) vypnutí signálu S_X

Doba odezvy transkripční regulace

- uvažujme (okamžité) vypnutí signálu S_X
  - $\Rightarrow$ vzhledem k časové škále (okamžitě) $[X^*] \to 0$

Doba odezvy transkripční regulace

- uvažujme (okamžité) vypnutí signálu S_X
  - $\Rightarrow$ vzhledem k časové škále (okamžitě) $[X^*] \to 0$
  - $\Rightarrow$ a tedy je (okamžitě) zrušen účinek aktivátoru

Doba odezvy transkripční regulace

- uvažujme (okamžité) vypnutí signálu S_X
  - $\Rightarrow$ vzhledem k časové škále (okamžitě) $[X^*] \to 0$
  - $\Rightarrow$ a tedy je (okamžitě) zrušen účinek aktivátoru
  - $\Rightarrow$ produkce Y zastavena, $\beta = 0$

Doba odezvy transkripční regulace

- uvažujme (okamžité) vypnutí signálu S_X
  - $\Rightarrow$ vzhledem k časové škále (okamžitě) $[X^*] \rightarrow 0$
  - $\Rightarrow$ a tedy je (okamžitě) zrušen účinek aktivátoru
  - $\Rightarrow$ produkce Y zastavena, $\beta = 0$
- nyní probíhá pouze rozpad Y (z hladiny Y_{st})

$$\frac{d[Y]}{dt} = -\gamma Y$$

Doba odezvy transkripční regulace

- uvažujme (okamžité) vypnutí signálu S_X
  - $\Rightarrow$ vzhledem k časové škále (okamžitě) $[X^*] \to 0$
  - $\Rightarrow$ a tedy je (okamžitě) zrušen účinek aktivátoru
  - $\Rightarrow$ produkce Y zastavena, $\beta = 0$
- nyní probíhá pouze rozpad Y (z hladiny Y_{st})

$$\frac{d[Y]}{dt} = -\gamma Y \Rightarrow Y(t) = Y_{st} e^{-\gamma t}$$

Doba odezvy transkripční regulace

- uvažujme (okamžité) vypnutí signálu S_X
  - $\Rightarrow$ vzhledem k časové škále (okamžitě) $[X^*] \rightarrow 0$
  - $\Rightarrow$ a tedy je (okamžitě) zrušen účinek aktivátoru
  - $\Rightarrow$ produkce Y zastavena, $\beta = 0$
- nyní probíhá pouze rozpad Y (z hladiny Y_{st})

$$\frac{d[Y]}{dt} = -\gamma Y \Rightarrow Y(t) = Y_{st} e^{-\gamma t}$$

- definujeme **dobu odezvy** T jako dobu nutnou k dosažení poloviny rozdílu hodnot mezi iniciálním a finálním stavem:

$$Y(T) = \frac{Y_{st}}{2}$$

Doba odezvy transkripční regulace

- uvažujme (okamžité) vypnutí signálu S_X
  - $\Rightarrow$ vzhledem k časové škále (okamžitě) $[X^*] \rightarrow 0$
  - $\Rightarrow$ a tedy je (okamžitě) zrušen účinek aktivátoru
  - $\Rightarrow$ produkce Y zastavena, $\beta = 0$
- nyní probíhá pouze rozpad Y (z hladiny Y_{st})

$$\frac{d[Y]}{dt} = -\gamma Y \Rightarrow Y(t) = Y_{st} e^{-\gamma t}$$

- definujeme **dobu odezvy** T jako dobu nutnou k dosažení poloviny rozdílu hodnot mezi iniciálním a finálním stavem:

$$Y(T) = \frac{Y_{st}}{2} \Rightarrow \frac{Y_{st}}{2} = Y_{st} e^{-\gamma T}$$

Doba odezvy transkripční regulace

- uvažujme (okamžité) vypnutí signálu S_X
  - $\Rightarrow$ vzhledem k časové škále (okamžitě) $[X^*] \rightarrow 0$
  - $\Rightarrow$ a tedy je (okamžitě) zrušen účinek aktivátoru
  - $\Rightarrow$ produkce Y zastavena, $\beta = 0$
- nyní probíhá pouze rozpad Y (z hladiny Y_{st})

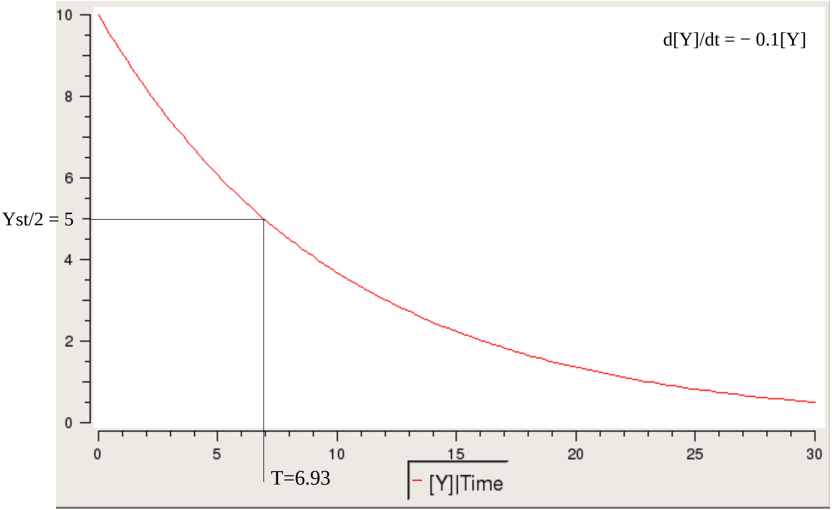
$$\frac{d[Y]}{dt} = -\gamma Y \Rightarrow Y(t) = Y_{st} e^{-\gamma t}$$

- definujeme **dobu odezvy** T jako dobu nutnou k dosažení poloviny rozdílu hodnot mezi iniciálním a finálním stavem:

$$Y(T) = \frac{Y_{st}}{2} \Rightarrow \frac{Y_{st}}{2} = Y_{st} e^{-\gamma T} \Rightarrow$$

$$T = \frac{\ln 2}{\gamma}$$

Doba odezvy transkripční regulace



Doba odezvy transkripční regulace

$$T = \frac{ln\,2}{\gamma}$$

- doba odezvy nezávisí na produkční konstantě β ale pouze na degradační konstantě γ
- některé proteiny mají poměrně vysoké γ
  - k udržení optimálního stabilního stavu je nutné vysoké produkce (β)
  - krátká doba odezvy umožňuje rychlou reakci transkripční regulace na signály

Doba odezvy transkripční regulace

- nyní uvažujme nulovou iniciální koncentraci Y i X^*
- nechť dojde k (okamžitému) zapnutí signálu S_X

Doba odezvy transkripční regulace

- nyní uvažujme nulovou iniciální koncentraci Y i X^*
- nechť dojde k (okamžitému) zapnutí signálu S_X
  - $\Rightarrow$ vzhledem k časové škále (okamžitě) $[X] \rightarrow [X^*]$

Doba odezvy transkripční regulace

- nyní uvažujme nulovou iniciální koncentraci Y i X^*
- nechť dojde k (okamžitému) zapnutí signálu S_X
  - $\Rightarrow$ vzhledem k časové škále (okamžitě) $[X] \rightarrow [X^*]$
  - $\Rightarrow$ a tedy je (okamžitě) přítomen účinek aktivátoru

Doba odezvy transkripční regulace

- nyní uvažujme nulovou iniciální koncentraci Y i X^*
- nechť dojde k (okamžitému) zapnutí signálu S_X
  - $\Rightarrow$ vzhledem k časové škále (okamžitě) $[X] \rightarrow [X^*]$
  - $\Rightarrow$ a tedy je (okamžitě) přítomen účinek aktivátoru
  - $\Rightarrow$ nastává produkce Y daná konstantou β

Doba odezvy transkripční regulace

- nyní uvažujme nulovou iniciální koncentraci Y i X^*
- nechť dojde k (okamžitému) zapnutí signálu S_X
  - $\Rightarrow$ vzhledem k časové škále (okamžitě) $[X] \rightarrow [X^*]$
  - $\Rightarrow$ a tedy je (okamžitě) přítomen účinek aktivátoru
  - $\Rightarrow$ nastává produkce Y daná konstantou β
- produkce začíná z hladiny $Y = 0$

$$\frac{d[Y]}{dt} = \beta - \gamma Y$$

Doba odezvy transkripční regulace

- nyní uvažujme nulovou iniciální koncentraci Y i X^*
- nechť dojde k (okamžitému) zapnutí signálu S_X
  - $\Rightarrow$ vzhledem k časové škále (okamžitě) $[X] \rightarrow [X^*]$
  - $\Rightarrow$ a tedy je (okamžitě) přítomen účinek aktivátoru
  - $\Rightarrow$ nastává produkce Y daná konstantou β
- produkce začíná z hladiny $Y = 0$

$$\frac{d[Y]}{dt} = \beta - \gamma Y \Rightarrow Y(t) = Y_{st}(1 - e^{-\gamma t})$$

Doba odezvy transkripční regulace

- nyní uvažujme nulovou iniciální koncentraci Y i X^*
- nechť dojde k (okamžitému) zapnutí signálu S_X
  - $\Rightarrow$ vzhledem k časové škále (okamžitě) $[X] \rightarrow [X^*]$
  - $\Rightarrow$ a tedy je (okamžitě) přítomen účinek aktivátoru
  - $\Rightarrow$ nastává produkce Y daná konstantou β
- produkce začíná z hladiny $Y = 0$

$$\frac{d[Y]}{dt} = \beta - \gamma Y \Rightarrow Y(t) = Y_{st}(1 - e^{-\gamma t})$$

- doba odezvy T je opět:

$$Y(T) = \frac{Y_{st}}{2}$$

Doba odezvy transkripční regulace

- nyní uvažujme nulovou iniciální koncentraci Y i X^*
- nechť dojde k (okamžitému) zapnutí signálu S_X
  - $\Rightarrow$ vzhledem k časové škále (okamžitě) $[X] \rightarrow [X^*]$
  - $\Rightarrow$ a tedy je (okamžitě) přítomen účinek aktivátoru
  - $\Rightarrow$ nastává produkce Y daná konstantou β
- produkce začíná z hladiny $Y = 0$

$$\frac{d[Y]}{dt} = \beta - \gamma Y \Rightarrow Y(t) = Y_{st}(1 - e^{-\gamma t})$$

- doba odezvy T je opět:

$$Y(T) = \frac{Y_{st}}{2} \Rightarrow \frac{Y_{st}}{2} = Y_{st}(1 - e^{-\gamma T})$$

Doba odezvy transkripční regulace

- nyní uvažujme nulovou iniciální koncentraci Y i X^*
- nechť dojde k (okamžitému) zapnutí signálu S_X
  - $\Rightarrow$ vzhledem k časové škále (okamžitě) $[X] \rightarrow [X^*]$
  - $\Rightarrow$ a tedy je (okamžitě) přítomen účinek aktivátoru
  - $\Rightarrow$ nastává produkce Y daná konstantou β
- produkce začíná z hladiny $Y = 0$

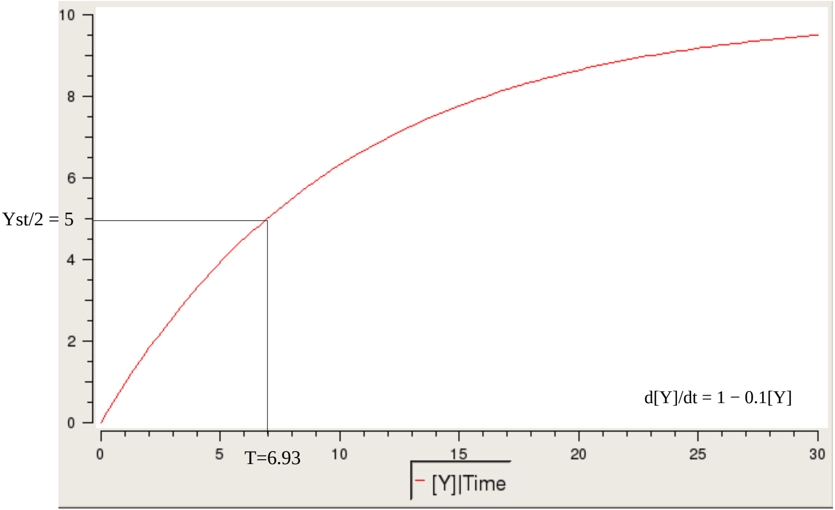
$$\frac{d[Y]}{dt} = \beta - \gamma Y \Rightarrow Y(t) = Y_{st}(1 - e^{-\gamma t})$$

- doba odezvy T je opět:

$$Y(T) = \frac{Y_{st}}{2} \Rightarrow \frac{Y_{st}}{2} = Y_{st}(1 - e^{-\gamma T}) \Rightarrow$$

$$T = \frac{ln\, 2}{\gamma}$$

Doba odezvy transkripční regulace



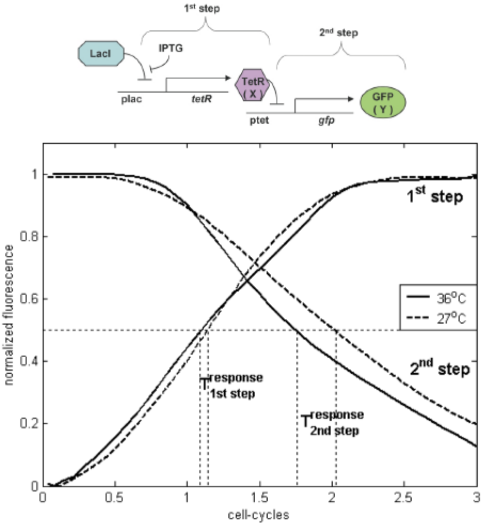
Doba odezvy transkripční regulace

- stabilní proteiny neprojevují degradaci, $\gamma_{deg} \approx 0$
- doba odezvy je u nich rovna době trvání generace buňky τ
- zastavíme-li produkci stabilního proteinu Y, dojde k 50% snížení jeho koncentrace při dělení buňky, proto:

$$T = \frac{ln\, 2}{\gamma_{deg}} = \tau$$

- pro syntetickou biologii je klíčový závěr, že zaváděné změny v transkripční regulaci musí respektovat dobu odezvy příslušných proteinů

Doba odezvy transkripční regulace – experiment



N Rosenfeld and U Alon, Response Delays and the Structure of Transcription Networks JMB, 329:645, (2003).

Řízení transkripční regulace

- dosud jsme uvažovali stabilní koncentraci aktivátoru

$$\frac{d[Y]}{dt} = \beta - \gamma Y$$

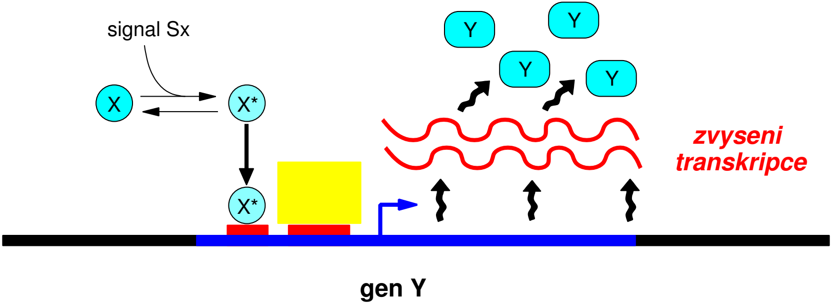
- transkripční faktory jsou proteiny, tedy změny jejich koncentrace v časové škále transkripce hrají primární roli při řízení proteosyntézy
- produkční parametr β závisí na aktuální koncentraci regulujících faktorů
- uvažme např. protein Y a jeho aktivátor X, pak:

$$\frac{d[Y]}{dt} = f(X^*) - \gamma Y$$

- $f(X^*)$ reprezentuje tzv. **vstupní funkci** proteinu Y

Vstupní funkce

$$\boxed{Y = f(X^*)}$$



Vstupní funkce (aktivátor)

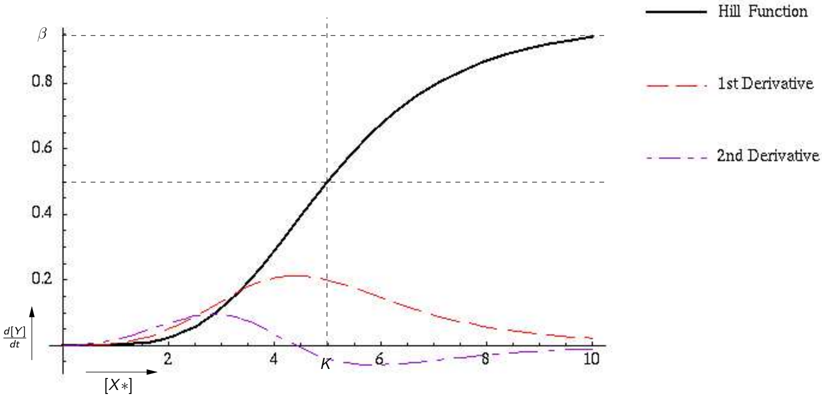
- monotonní, křivka tvaru "S" (Hillova funkce)
- aktivátor – rostoucí fce f^{+} ($0 \rightarrow$ nejvyšší úroveň)
- represor – klesající fce f^{-} (nejvyšší úroveň $\rightarrow 0$)
- Hillova funkce pro aktivátor:

$$f^{+}(X^{*}) = \frac{\beta {X^{*}}^{n}}{K^{n} + {X^{*}}^{n}}$$

K ... aktivační koeficient (vazba TF–DNA)
β ... maximální úroveň exprese (vazba RNAp–DNA)
n ... ostrost křivky (mezi 1-4)

- $f^{+}(X^{*}) = \beta \Leftrightarrow X^{*} >> K$

Vstupní funkce (aktivátor)



Vstupní funkce (represor)

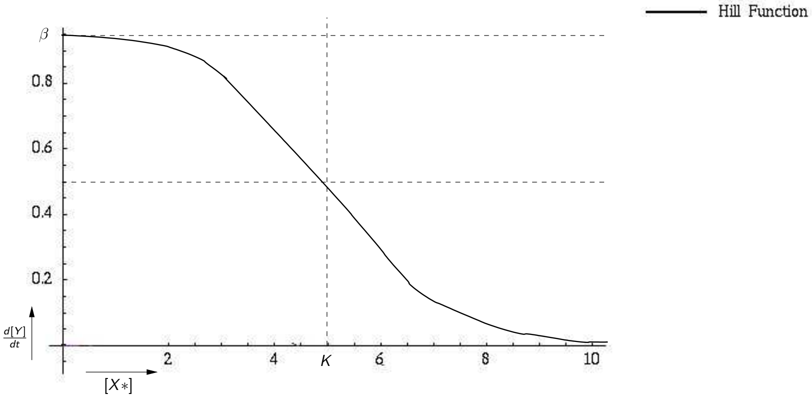
- Hillova funkce pro represor:

$$f^{-}(X^{*}) = \frac{\beta}{1 + (\frac{X^{*}}{K})^{n}}$$

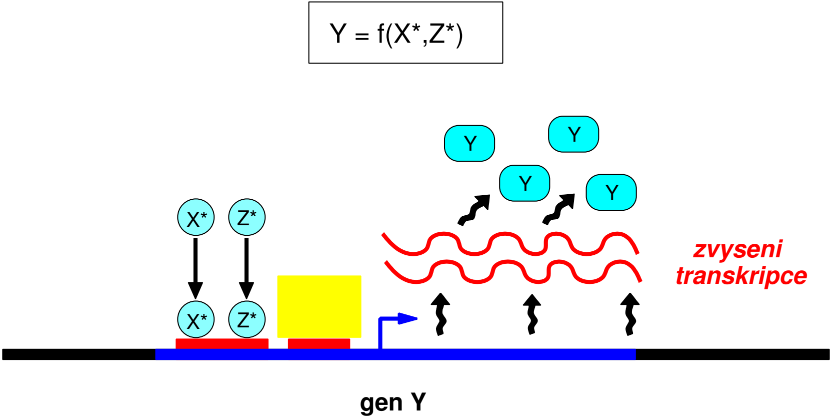
K ... represní koeficient (vazba TF–DNA)
β ... maximální úroveň exprese (vazba RNAp–DNA)
n ... ostrost křivky (mezi 1-4)

- $f^{-}(X^{*}) = \beta \Leftrightarrow X^{*} = 0$
- někdy může být minimální úroveň vstupních funkcí nenulová (β_0)

Vstupní funkce (represor)



Vícerozměrné vstupní funkce



- např. součet: $f(X^*, Z*) = \beta_X X^* + \beta_Z Z^*$

Aproximace vstupních funkcí

- vzhledem k S-charakteru vstupní funkce lze uplatnit její aproximaci pomocí schodové funkce

Aproximace vstupních funkcí

- vzhledem k S-charakteru vstupní funkce lze uplatnit její aproximaci pomocí schodové funkce

$$f^+(X) \sim \beta s^+(X, K)$$

Aproximace vstupních funkcí

- vzhledem k S-charakteru vstupní funkce lze uplatnit její aproximaci pomocí schodové funkce

$$f^{+}(X) \sim \beta s^{+}(X, K)$$

$$f^{-}(X) \sim \beta s^{-}(X, K)$$

Aproximace vstupních funkcí

- vzhledem k S-charakteru vstupní funkce lze uplatnit její aproximaci pomocí schodové funkce

$$f^{+}(X) \sim \beta s^{+}(X, K)$$

$$f^{-}(X) \sim \beta s^{-}(X, K)$$

$$s^{+}(X, K) = \begin{cases} 1, \text{ if } X > K, \\ 0, \text{ if } X < K, \end{cases}$$

Aproximace vstupních funkcí

- vzhledem k S-charakteru vstupní funkce lze uplatnit její aproximaci pomocí schodové funkce

$$f^{+}(X) \sim \beta s^{+}(X,K)$$

$$f^{-}(X) \sim \beta s^{-}(X,K)$$

$$s^{+}(X,K) = \begin{cases} 1, \text{ if } X > K, \\ 0, \text{ if } X < K, \end{cases} \qquad s^{-}(X,K) = 1 - s^{+}(X,K)$$

Aproximace vstupních funkcí

- vzhledem k S-charakteru vstupní funkce lze uplatnit její aproximaci pomocí schodové funkce

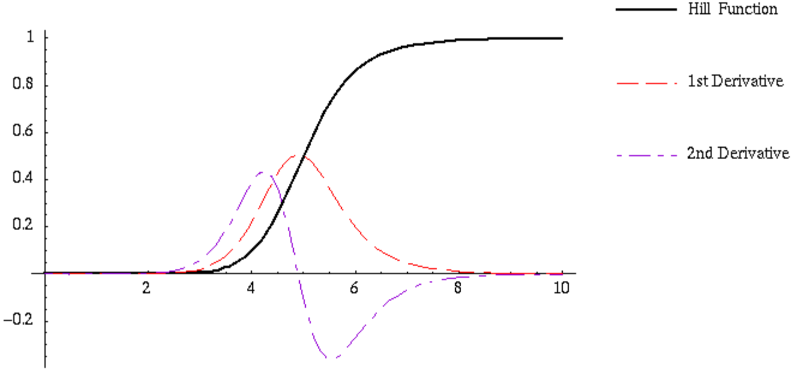
$$f^{+}(X) \sim \beta s^{+}(X, K)$$

$$f^{-}(X) \sim \beta s^{-}(X, K)$$

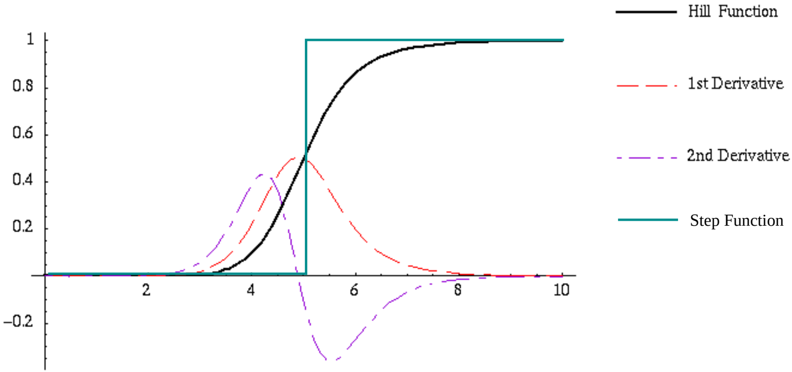
$$s^{+}(X, K) = \begin{cases} 1, \text{ if } X > K, \\ 0, \text{ if } X < K, \end{cases} \qquad s^{-}(X, K) = 1 - s^{+}(X, K)$$

- aproximace odpovídá zavedení tzv. "kinetické logiky"

Schodová vstupní funkce



Schodová vstupní funkce



Obsah

Transkripční motiv I – Negativní autoregulace

$$\boxed{\mathbf{Y} \longrightarrow\!\!\!\!| \;\; \mathbf{Y}}$$

$$\frac{d[Y]}{dt} = f^{-}(Y) - \gamma[Y]$$

Transkripční motiv I – Negativní autoregulace

$$\boxed{\quad \mathbf{Y} \dashv \mathbf{Y} \quad}$$

$$\frac{d[Y]}{dt} = \beta s^{-}(Y, K) - \gamma [Y]$$

Transkripční motiv I – Negativní autoregulace

$$\boxed{\mathbf{Y} \longrightarrow\!\!\!\!| \;\; \mathbf{Y}}$$

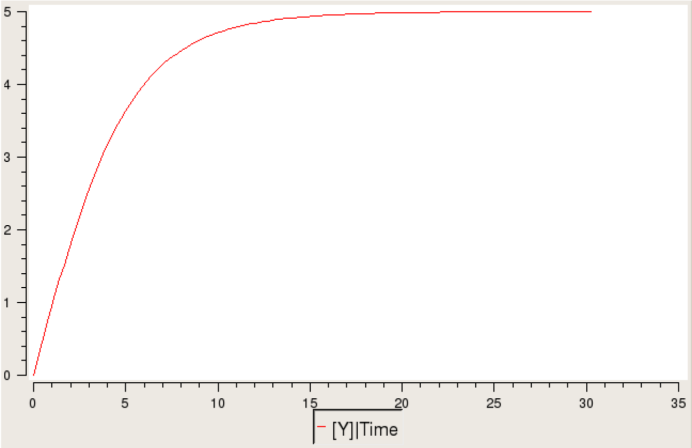
- pro $[Y] << K$: $$\frac{d[Y]}{dt} = \beta - \gamma[Y]$$
- pro $[Y] >> K$: $$\frac{d[Y]}{dt} = -\gamma[Y]$$

Transkripční motiv I – Negativní autoregulace

$$\boxed{\mathbf{Y} \longrightarrow\!\!\!\!| \;\; \mathbf{Y}}$$

- pro $[Y] << K$: $$\frac{d[Y]}{dt} = \beta - \gamma[Y]$$
- pro $[Y] >> K$: $$\frac{d[Y]}{dt} = -\gamma[Y]$$
- pro $[Y] = K$, drobné oscilace $[Y]$ vedoucí k stabilnímu stavu
  - $Y_{st} = K$

Transkripční motiv I – Negativní autoregulace



$$\beta = 1 \quad \gamma = 0.1 \quad K = 5 \quad n = 4$$

Transkripční motiv I – Negativní autoregulace

- doba odezvy T je určena $Y(T) = \frac{Y_{st}}{2}$
- aproximujeme pro $Y_{st} = K << \frac{\beta}{\gamma}$ (uvažujeme lineární akumulaci zpočátku transkripce, kdy $[Y] = \beta t$):

$$\beta T = \frac{Y_{st}}{2} = \frac{K}{2}$$

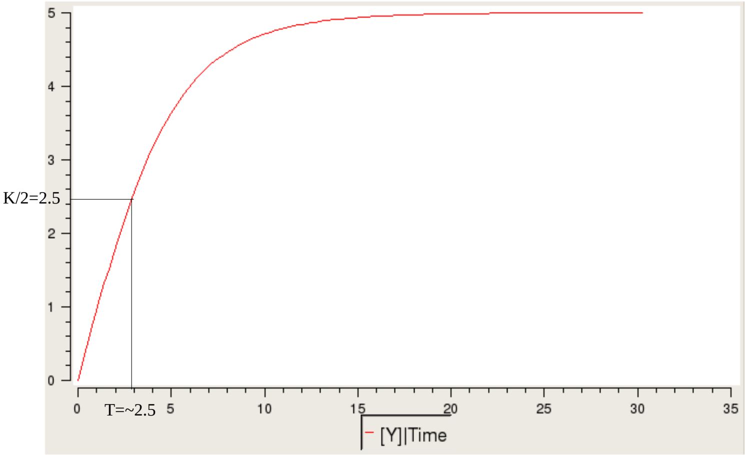
Transkripční motiv I – Negativní autoregulace

- doba odezvy T je určena $Y(T) = \frac{Y_{st}}{2}$
- aproximujeme pro $Y_{st} = K << \frac{\beta}{\gamma}$ (uvažujeme lineární akumulaci zpočátku transkripce, kdy $[Y] = \beta t$):

$$\beta T = \frac{Y_{st}}{2} = \frac{K}{2} \Rightarrow$$

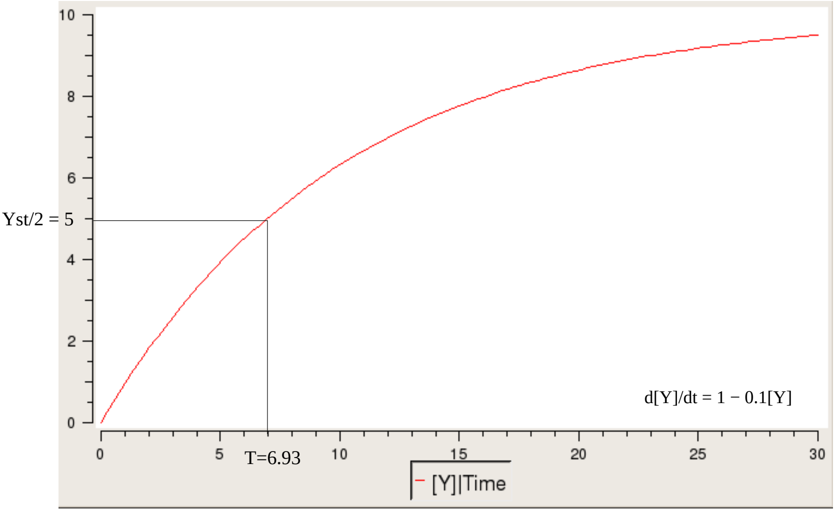
$$T = \frac{K}{2\beta}$$

Negativní autoregulace – snížení doby odezvy

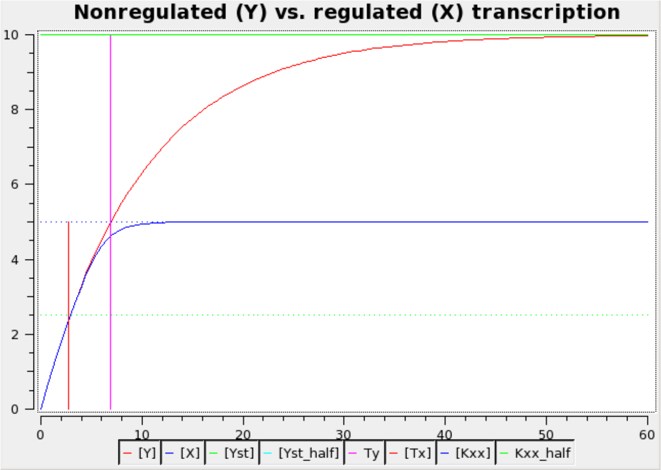


$$\beta = 1 \quad \gamma = 0.1 \quad K = 5 \quad n = 4$$

Doba odezvy bez regulace

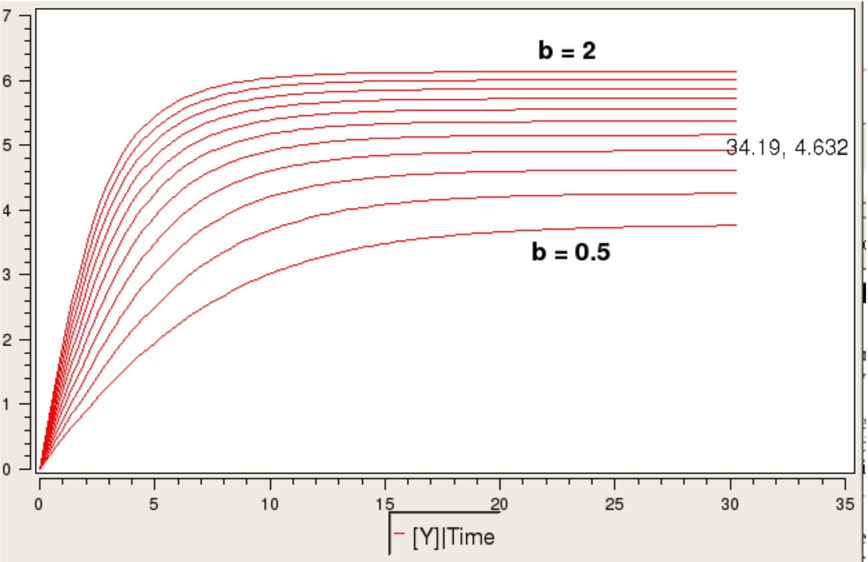


Srovnání regulované a neregulované varianty

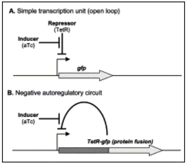


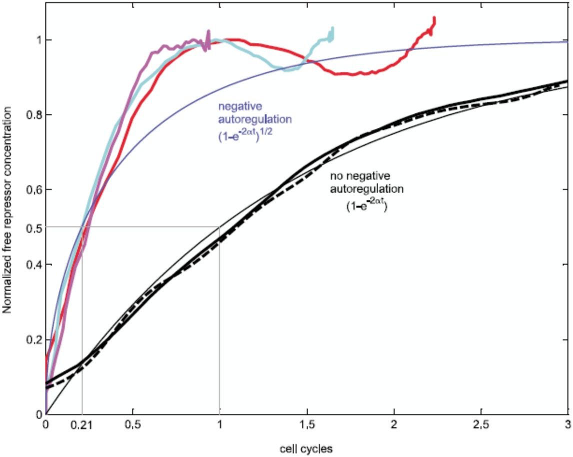
$$\beta = 1 \quad \gamma = 0.1 \quad K = 5 \quad n = 10$$

Vliv autoregulace na robustnost



Experimentální výsledky vs. model





N Rosenfeld, M Elowitz, and U Alon, Negative Autoregulation Speeds the Response Times of Transcription Networks JMB, 323:785-793 (2002).

Poděkování

Předmět připravován za podpory projektu OPvK Vzdělání pro konkurenceschopnost, projekt *"Inovace bakalářského a magisterského studijního oboru Bioinformatika ve směru Systémová biologie"*, reg. číslo CZ.1.07/2.2.00/07.0464.

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

EVROPSKÁ UNIE

2007–13

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ