

Динамика синтетических сетей генной регуляции - 1



М.В. Иванченко

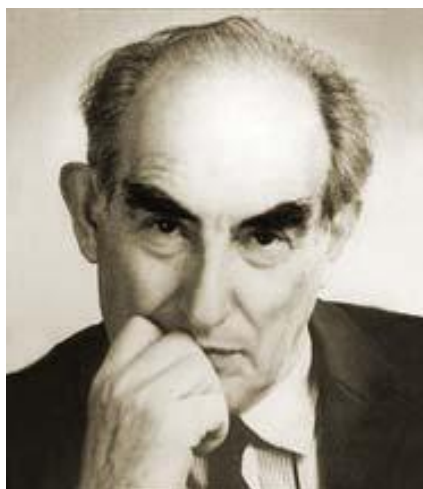
Нижегородский государственный университет



ФИЗИКА НАШИХ ДНЕЙ

Какие проблемы физики и астрофизики представляются сейчас особенно важными и интересными (тридцать лет спустя, причем уже на пороге XXI века)?

В.Л. Гинзбург

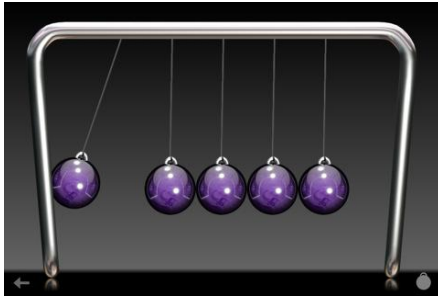


30 + 3 «великих» проблемы науки XXI века

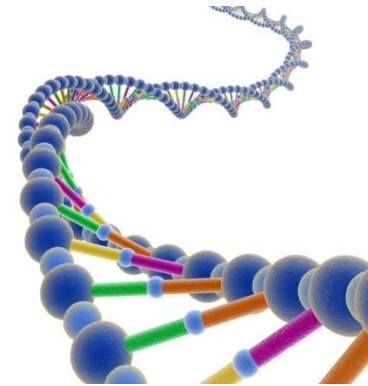
Последняя "великая" проблема, которая будет здесь затронута, касается связи физики с биологией. С конца

основе физики, уже известной физики. Конкретно, основными являются вопросы о происхождении жизни и появлении сознания (мышления). Образование в усло-

Фундаментальные законы для живых систем?



$$\overline{F} = \frac{dp}{dt}$$

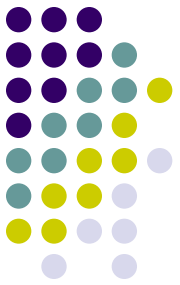


$$\overline{F} = \frac{dp}{dt}$$

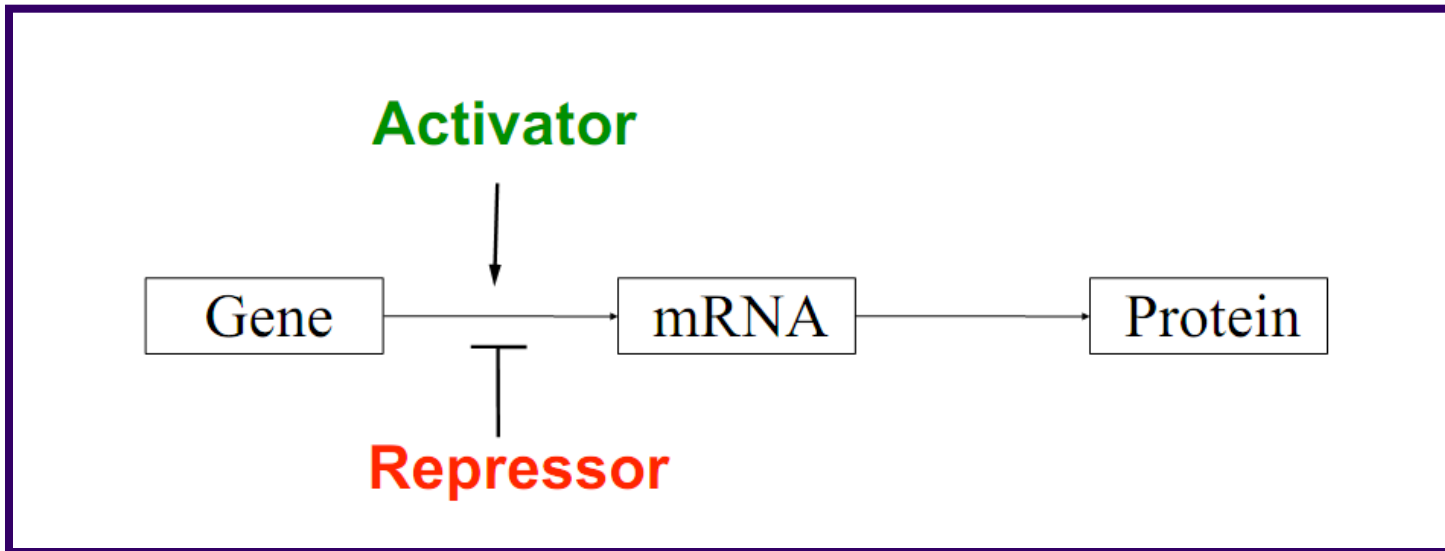
Сложные системы:

- состоят из множества взаимодействующих подсистем;
- возникают новые, коллективные свойства, не сводящиеся к свойствам отдельных подсистем





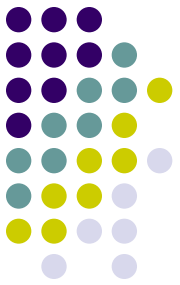
«Закон Ньютона» живых систем



Транскрипционная регуляция:

Activator - увеличивает скорость реакции

Repressor - уменьшает скорость реакции

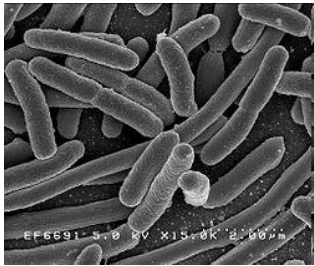
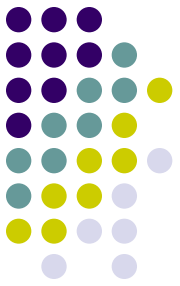


Динамика

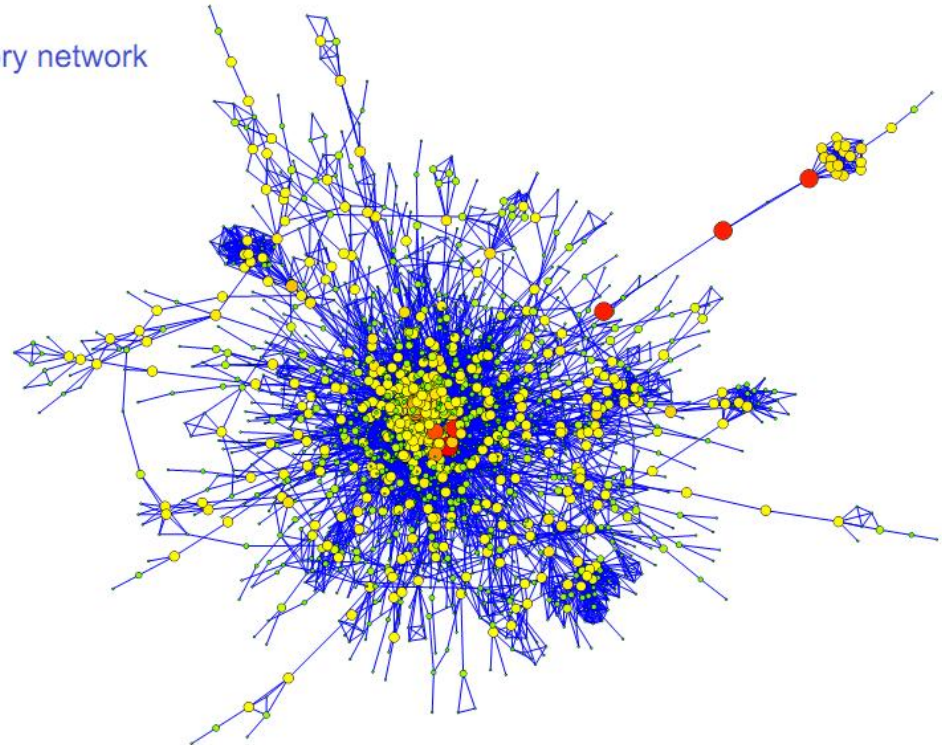
Экспрессия генов никогда не стационарна:

- Внешние сигналы
- Внешний шум
- Внутренний шум
- Колебания (циркадные и ультрадианные ритмы, клеточный цикл, ...)

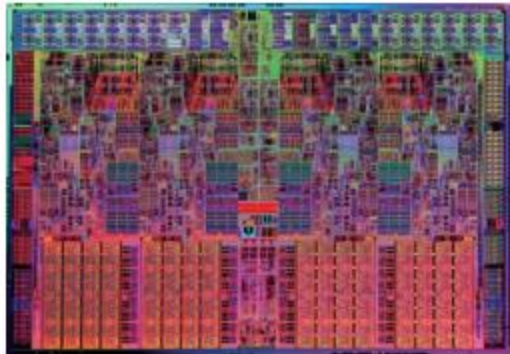
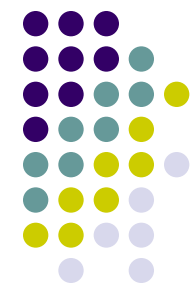
Сети геной регуляции



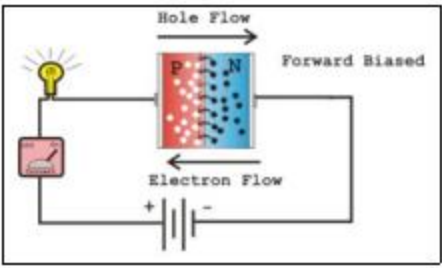
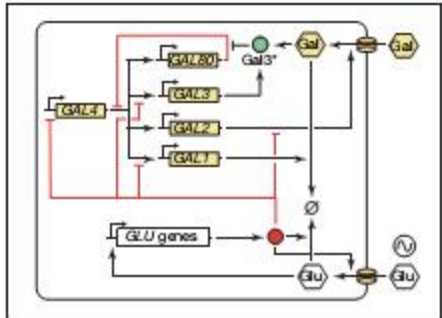
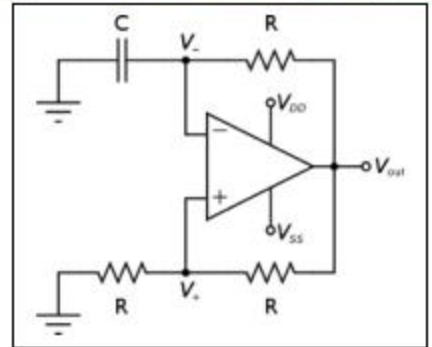
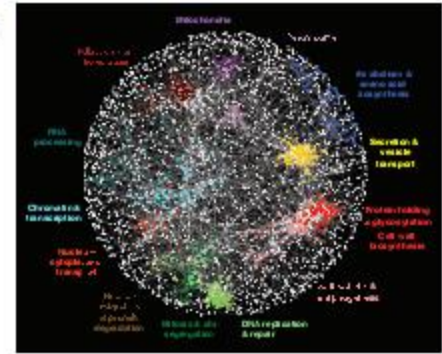
E.Coli regulatory network



- «прочитать» все гены (геномика)
- определить взаимодействие генов и протеинов (реконструкция сети)
- исследовать динамику сети (теория сложных систем)



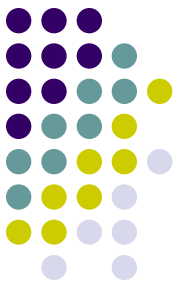
Systems Biology



↑
scale

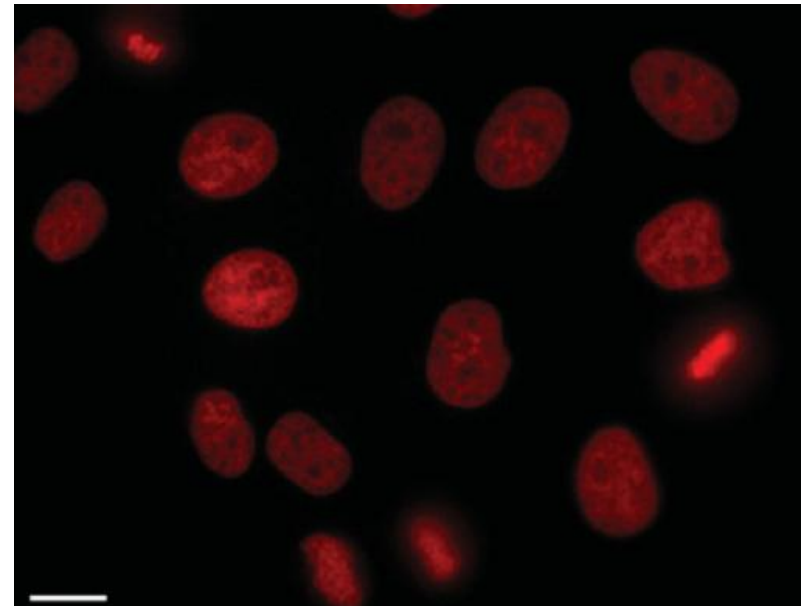
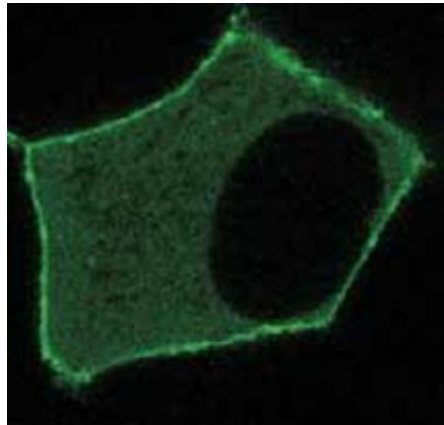
Synthetic Biology

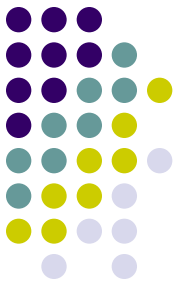




Синтетическая биология: встраиваем новые гены и конструируем регуляторные сети

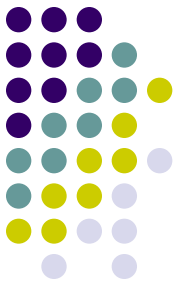
- новые функции
- «ортогональные» сигналы = возможность исследовать динамику в хорошей степени изолированных сетей
- визуализация экспрессии генов флуоресцентными белками



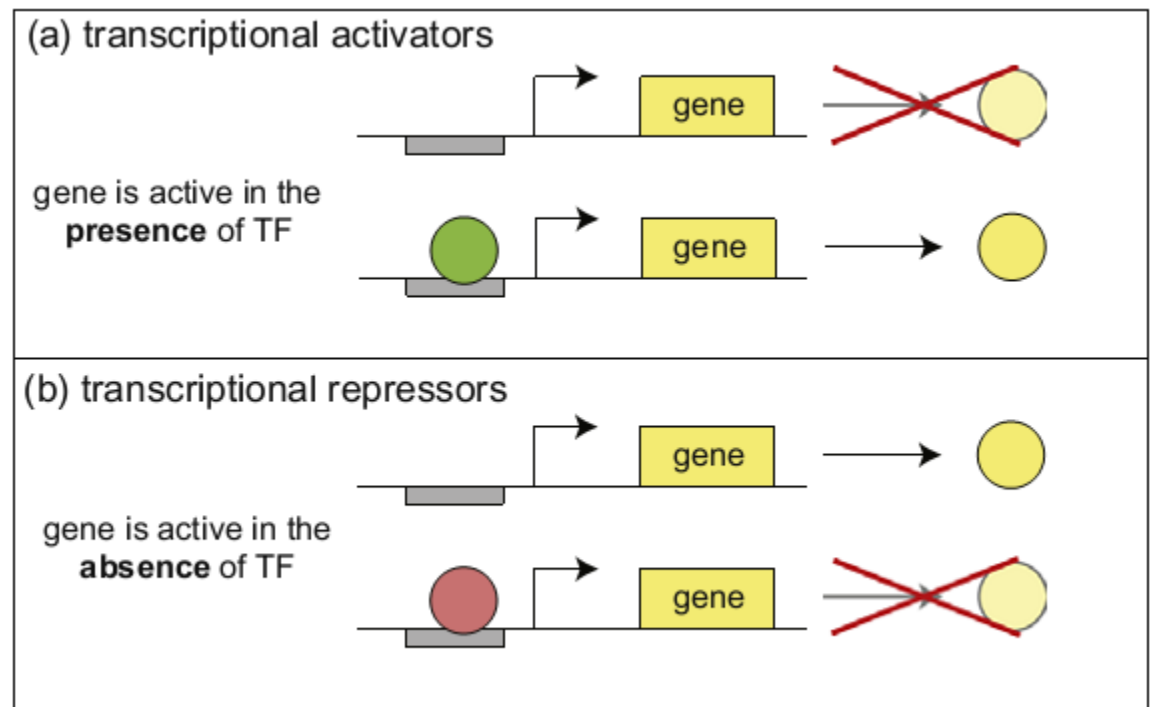
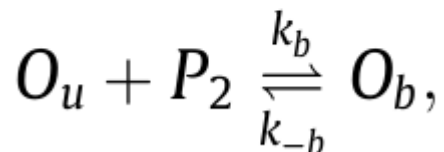
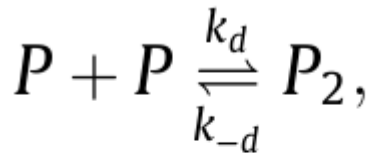


Математические модели генной регуляции

Транскрипционная регуляция и динамика белков



- Пусть ТФ активен только в состоянии димера.
- Пусть P — концентрация мономера ТФ, P_2 — концентрация его димера, O_u — концентрация несвязанных операторов, O_b — связанных.
- Тогда при постоянных концентрациях ДНК и ТФ имеем:



Транскрипционная регуляция и динамика белков



В равновесном состоянии будет выполняться

$$k_d P^2 = k_{-d} P_2,$$
$$k_b O_u P_2 = k_{-b} O_b.$$

Раз суммарная концентрация ДНК постоянна,

$$O_u + O_b = N$$

Отсюда

$$O_u = \frac{N}{1 + (P/K)^2},$$

где $K = \sqrt{k_{-b} k_{-d} / k_b k_d}$

и аналогично

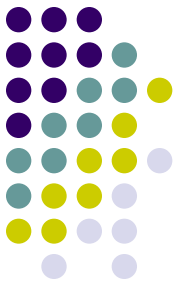
$$O_b = \frac{N(P/K)^2}{1 + (P/K)^2}$$

уравнения Хилла

константа Хилла

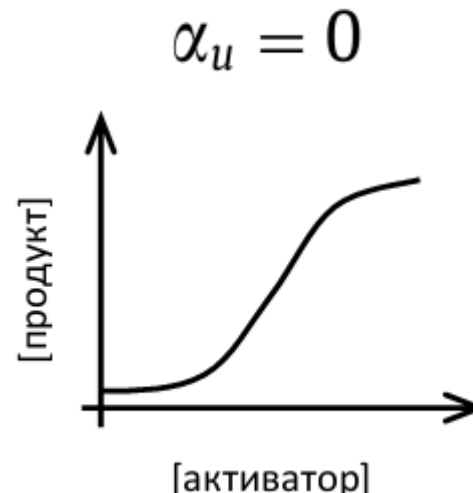
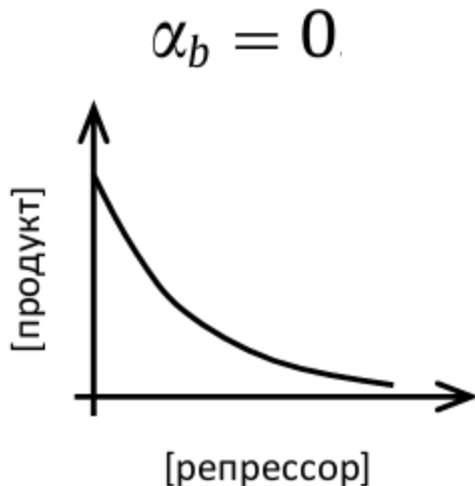
коэффициент Хилла (не обязательно =2 и даже не обязательно целое число — например, в случае одновременного связывания с несколькими сайтами)

Транскрипционная регуляция и динамика белков

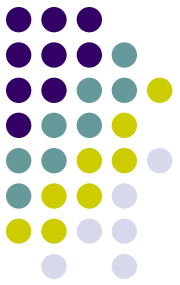


Если промотор срабатывает с коэффициентом α_u , когда он не связан ТФ, и с коэффициентом α_b , когда связан, то выражение для кинетического коэффициента срабатывания имеет вид

$$v_{init}(P) = \alpha_u O_u + \alpha_b O_b = \alpha_u \frac{N}{1 + (P/K)^2} + \alpha_b \frac{N(P/K)^2}{1 + (P/K)^2}.$$



Транскрипционная регуляция и динамика белков



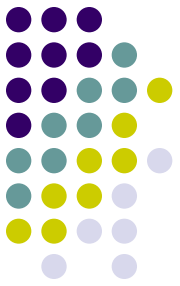
Наконец, с учетом деградации белка в клетке, получаем дифференциальное уравнение для его концентрации

$$\dot{x} = \alpha_u \frac{N}{1 + (P/K)^2} + \alpha_b \frac{N(P/K)^2}{1 + (P/K)^2} - r_{deg}(x)$$

Замечание:

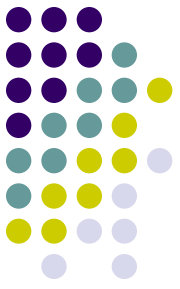
В реальности число молекул дискретно, как дискретны и молекулярные события. ОДУ — приближенное описание. Происходят случайные процессы с вероятностями, пропорциональными кинетическим коэффициентом. Когда число молекул мало и/или реакции редки, модель случайных процессов более адекватна

Транскрипционная регуляция и динамика белков



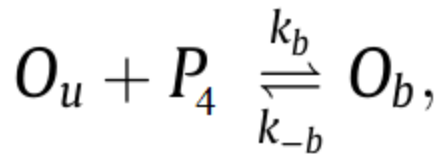
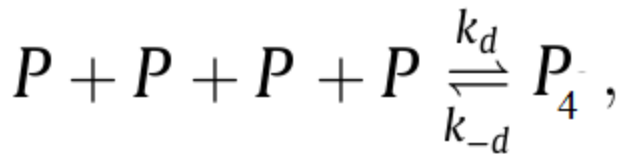
Полученная зависимость усложняется если:

- Промоутер имеет составную структуру из нескольких операторов (например, в тандеме могут идти оператор для репрессора и оператор для активатора)
- В эукариотах ТФ должны прежде войти в ядро клетки; вход и выход может быть сложным процессом
- Часто эффективность ТФ модулируется легкими активными молекулами — лигандами. Так, молекулы IPTG, связываясь с промоутером ТФ-репрессора LacI, мешают последнему присоединяться. А ТФ-активатор AraC связывается только в присутствии арабинозы



Задача 1

- Пусть ТФ активен только в состоянии **тетрамера**.
- Пусть P — концентрация мономера ТФ, P_4 — концентрация его **тетрамера**, O_u — концентрация несвязанных операторов, O_b — связанных.
- Тогда при постоянных концентрациях ДНК и ТФ имеем:



Найти динамическое уравнение синтеза белка

В равновесном состоянии

$$k_d P^4 = k_{-d} P_4, \quad O_u + O_b = N$$

$$k_b O_u P_4 = k_{-b} O_b.$$

В равновесном состоянии будет выполняться

От

$$k_d P^2 = k_{-d} P_2,$$

$$k_b O_u P_2 = k_{-b} O_b.$$

Раз суммарная концентрация ДНК постоянна,
Отсюда

$$O_u + O_b = N$$

х =

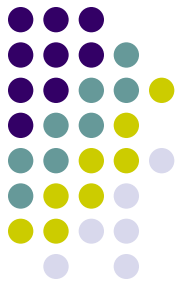
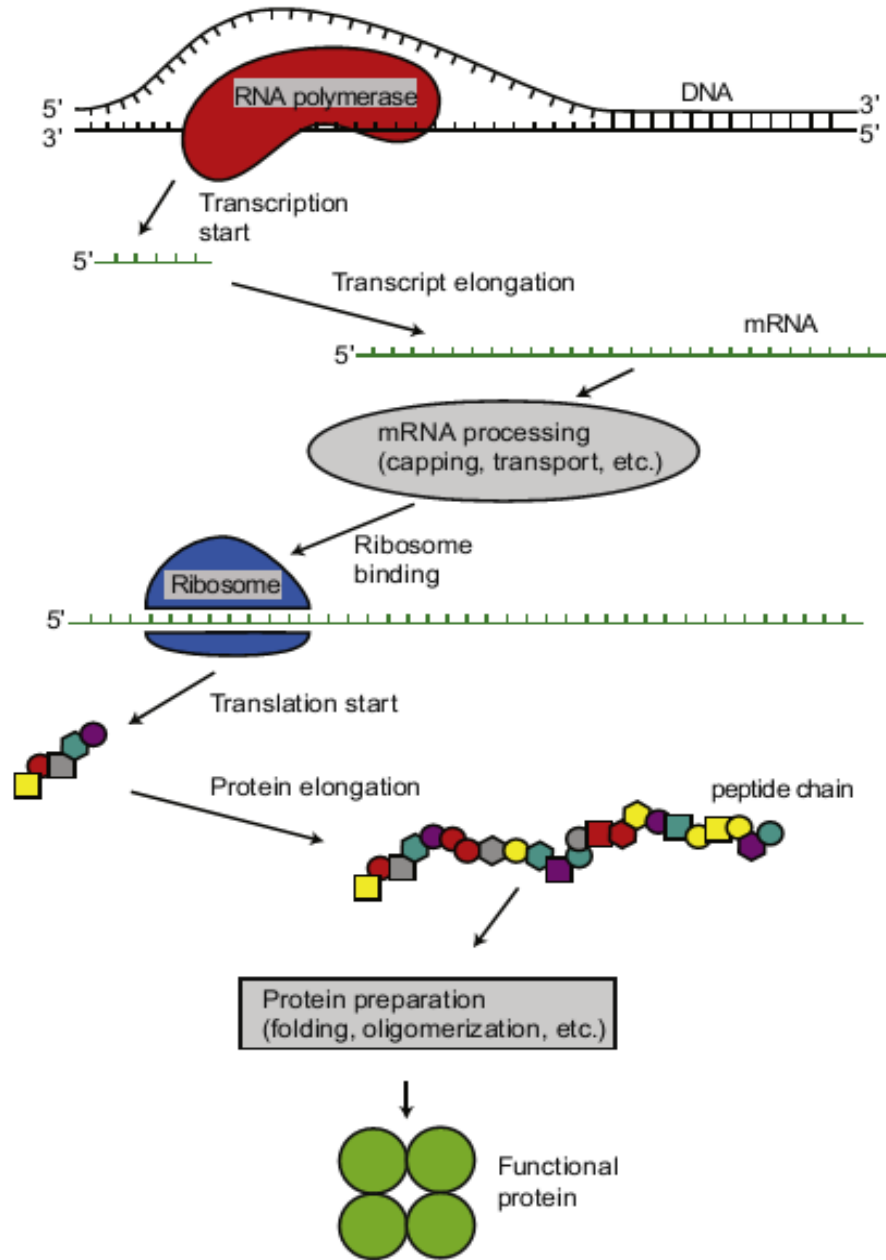
$$O_u = \frac{N}{1 + (P/K)^2},$$

где $K = \sqrt{k_{-b} k_{-d} / k_b k_d}$

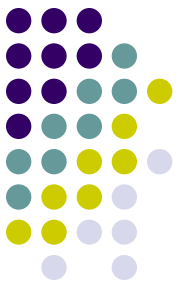
и аналогично $O_b = \frac{N(P/K)^2}{1 + (P/K)^2}.$

$\Gamma_{deg}(X)$

Полный цикл синтеза белка



Более детальные модели



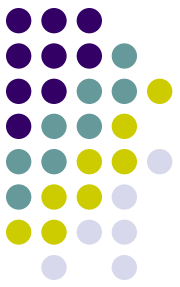
учет процесса производства мРНК

$$\dot{m} = \frac{\alpha_u N}{1 + (P/K)^2} + \frac{\alpha_b N (P/K)^2}{1 + (P/K)^2} - r_m(m),$$
$$\dot{x} = r_{tl}m - r_x(x),$$

Феноменологический учет всей цепи как эффект задержки

$$\dot{x} = \frac{\alpha_u N}{1 + (P(t - \tau)/K)^2} + \frac{\alpha_b N (P(t - \tau)/K)^2}{1 + (P(t - \tau)/K)^2} - r_{deg}(x)$$

Деградация белков



- «Экспоненциальная» (общие клеточные механизмы деградации белков)

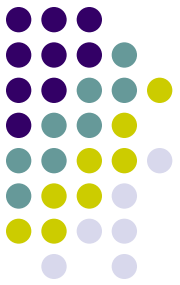
$$r_{deg}(x) = \gamma x$$

- Ферментная (специально подобранным ферментом, реагирующим на метки на белках)

$$r_{deg,enz} = \frac{V_{max}x}{K_m + x}$$

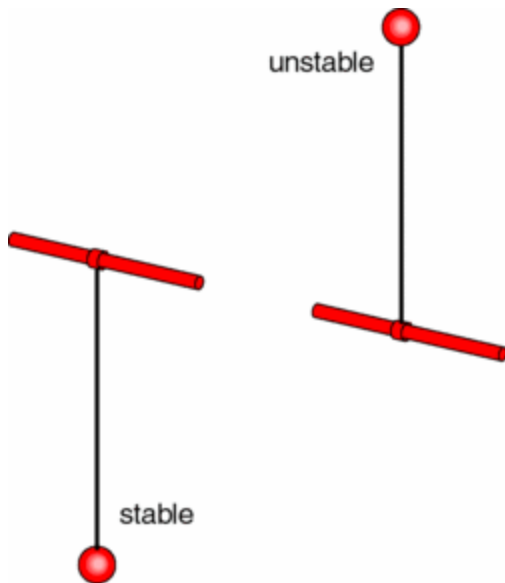
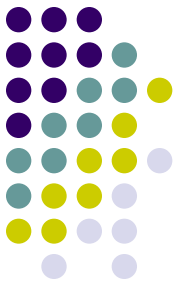
- В общем случае нескольких деградируемых белков имеем

$$r_{deg,i}(x_i, T) = \frac{V_{max,i}x_i}{K_m + \sum_j x_j} - \gamma x_i$$



Динамика генных сетей

Нелинейная динамика: состояния равновесия



$$\dot{x} = f(x)$$

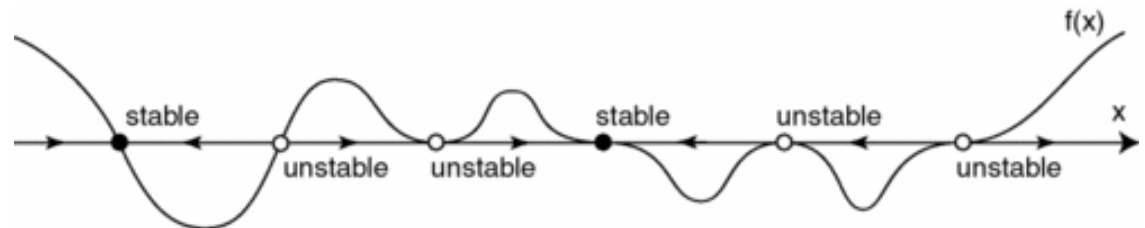
1D динамическая система

$$f(x^*) = 0$$

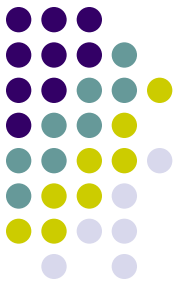
условие равновесия

$$f'(x^*) < 0$$

Условие устойчивости



Нелинейная динамика: состояния равновесия



2D динамическая система

$$\dot{x}_1 = f(x_1, x_2)$$

$$\dot{x}_2 = f(x_1, x_2)$$

Условие равновесия

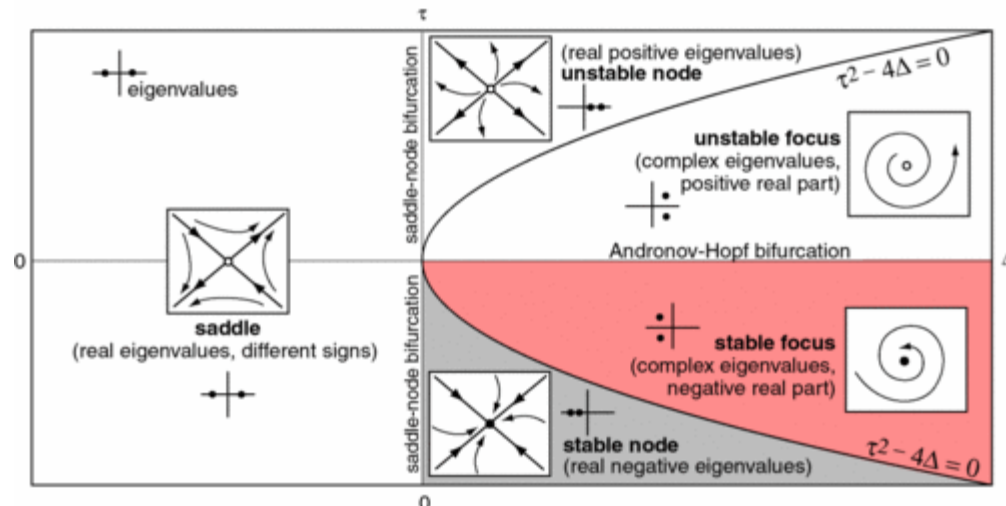
$$f_1(x_1, x_2) = 0$$

$$f_2(x_1, x_2) = 0$$

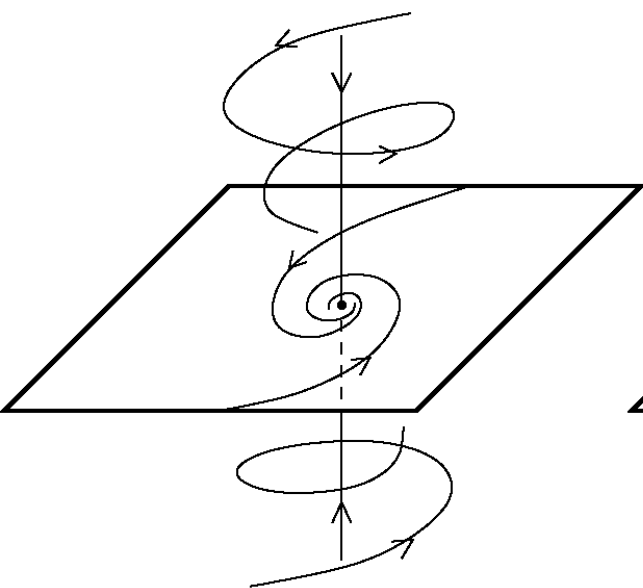
Условие устойчивости

$$\text{Det} \begin{pmatrix} \partial_{x_1} f_1 - \lambda & \partial_{x_2} f_1 \\ \partial_{x_1} f_2 & \partial_{x_2} f_2 - \lambda \end{pmatrix} = 0$$

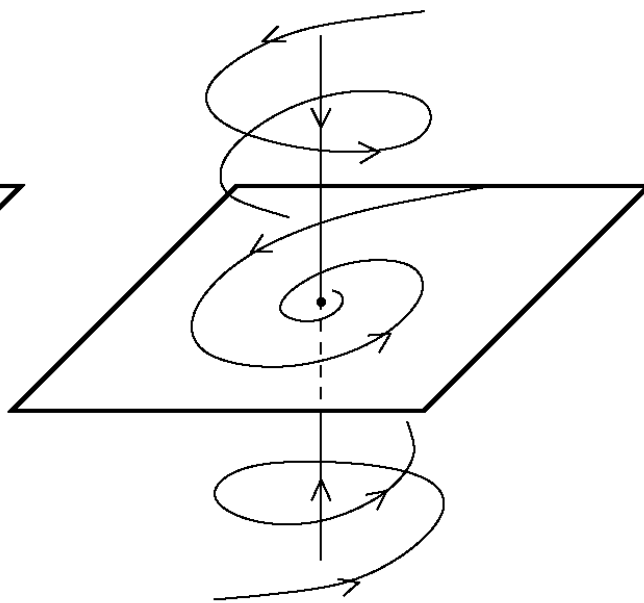
$$\text{Re } \lambda_{1,2} < 0$$



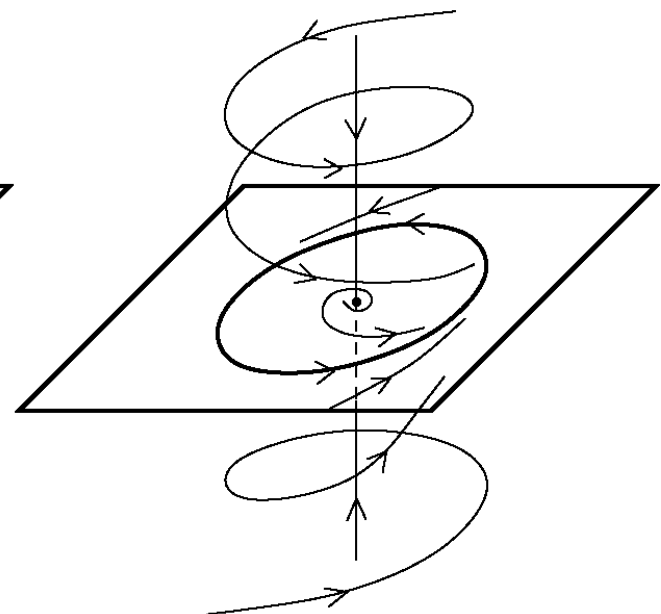
Нелинейная динамика: автоколебания



$\beta < 0$

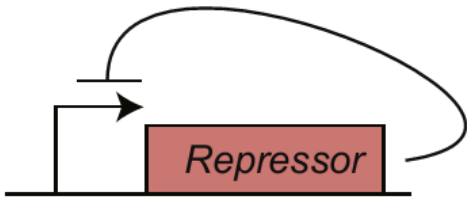
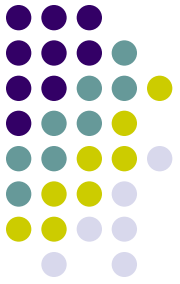


$\beta = 0$



$\beta > 0$

Задача 2: авторепрессор



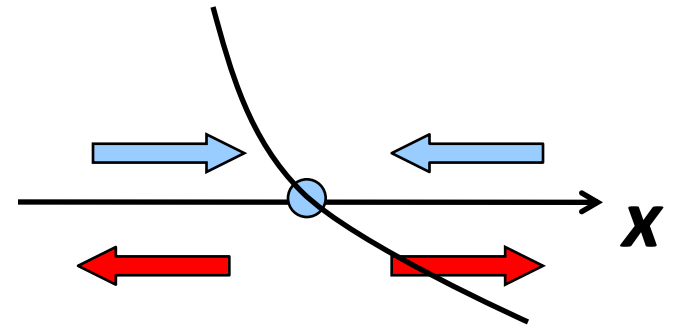
Дифференциальное уравнение

$$\dot{x} = \frac{\alpha}{1 + (x/K)^n} - \gamma x$$

Состояние равновесия

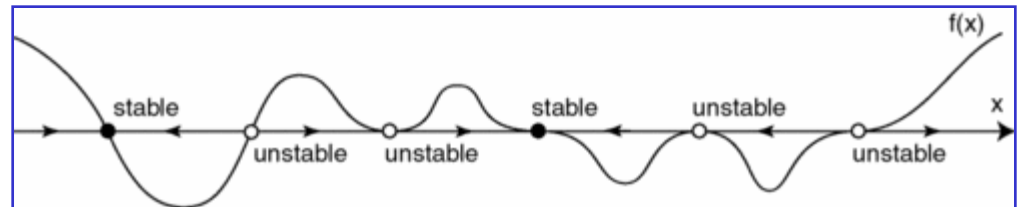
$$\gamma x = \frac{\alpha}{1 + (x/K)^n}$$

Устойчивость



?

$$\frac{\alpha}{1 + (x/K)^n} - \gamma x$$



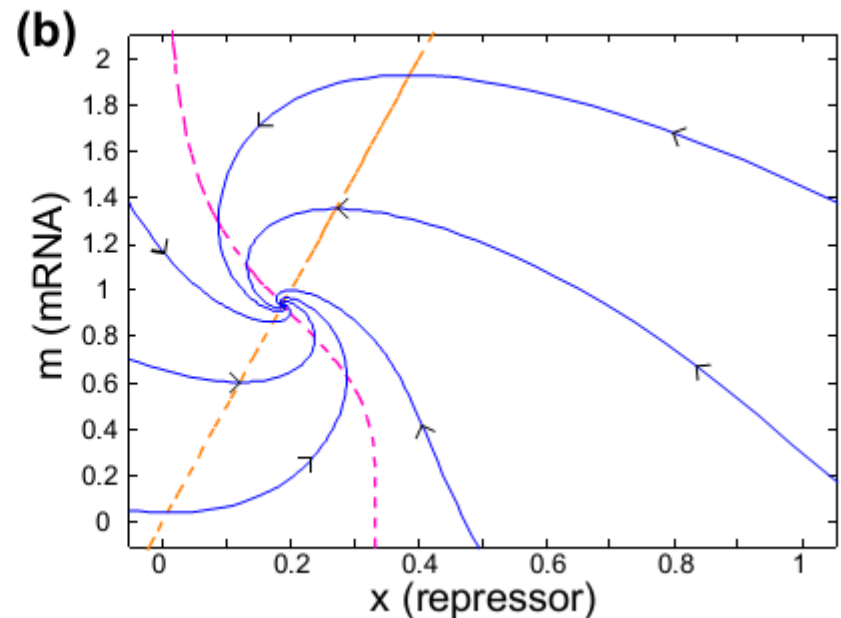
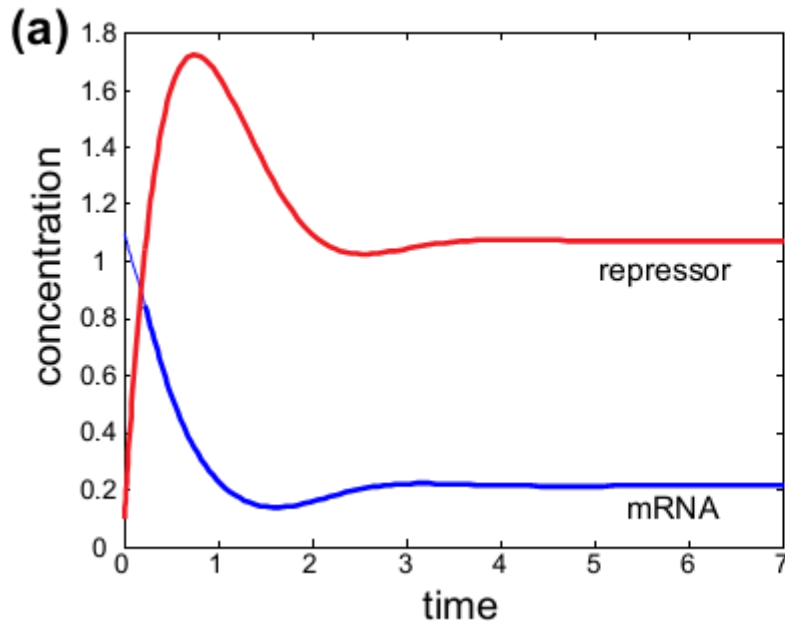
Авторепрессор: более сложная динамика?



- Учет динамики мРНК:

$$\dot{m} = \frac{\alpha}{1 + (x/K)^n} - \delta m,$$
$$\dot{x} = \beta m - \gamma x,$$

- по-прежнему только состояние равновесия, но уже с колебательным характером (устойчивый фокус)





Авторепрессор с задержкой: автоколебания!

- Модель
$$\dot{x} = \frac{\alpha}{1 + x^n(t - \tau)} - x,$$

- Линеаризация

$$x(t) = x_0 + \xi(t), \quad |\xi(t)/x_0| \ll 1,$$

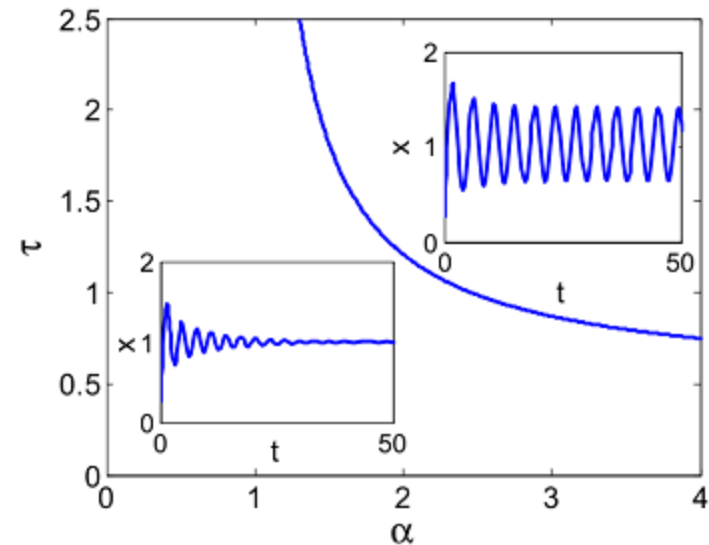
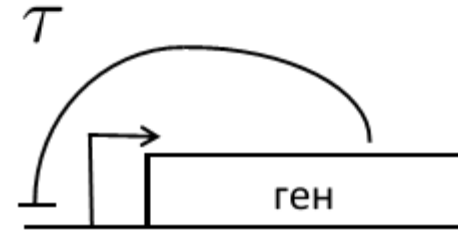
$$\dot{\xi}(t) \approx n \left(\frac{x_0}{\alpha} - 1 \right) \xi(t - \tau) - \xi(t)$$

- Характеристические показатели

$$\xi(t) \sim e^{\lambda t}$$

$$\lambda = n \left(\frac{x_0}{\alpha} - 1 \right) e^{-\tau \lambda} - 1$$

- Неустойчивость: $\text{Re } \lambda > 0$



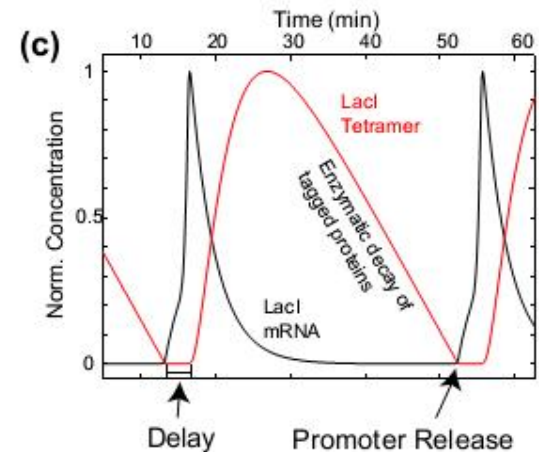
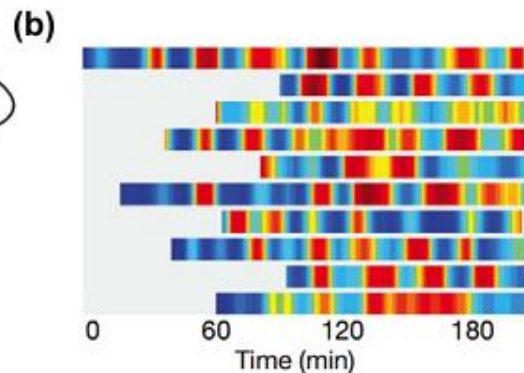
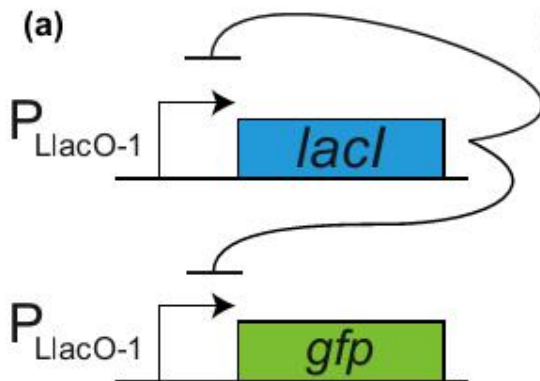
Авторепрессор с задержкой: автоколебания!



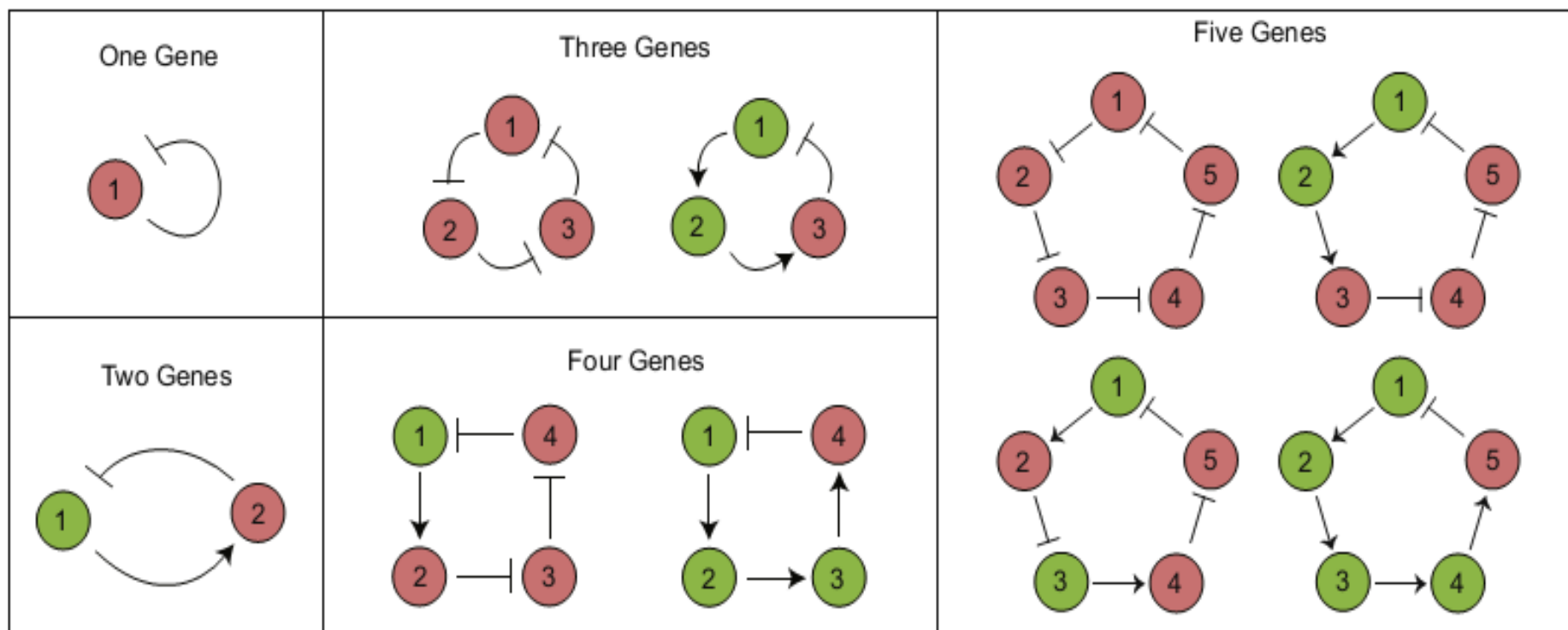
- математическая модель и биологический эксперимент
(*Striker et al., Nature, 2008*)

$$\dot{x} = \frac{\alpha'}{1 + (x_\tau/K)^\beta} - \frac{Vx}{K_m + x} - \gamma x$$

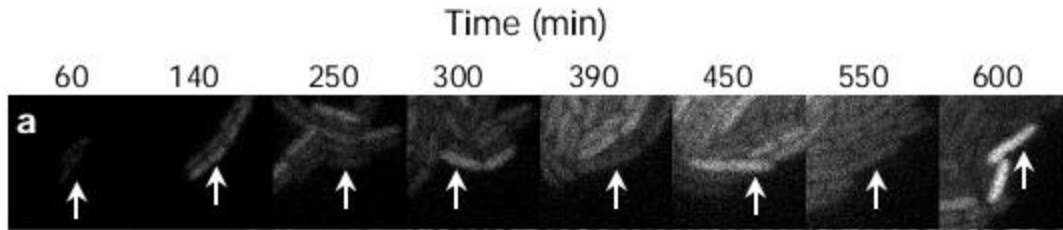
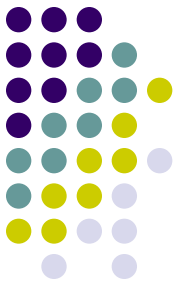
$$x_\tau = x(t - \tau)$$



Генные сети с отрицательной обратной связью



Синтетические осцилляторы. Репресселатор

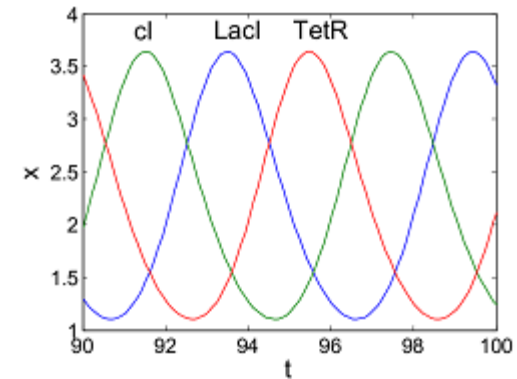
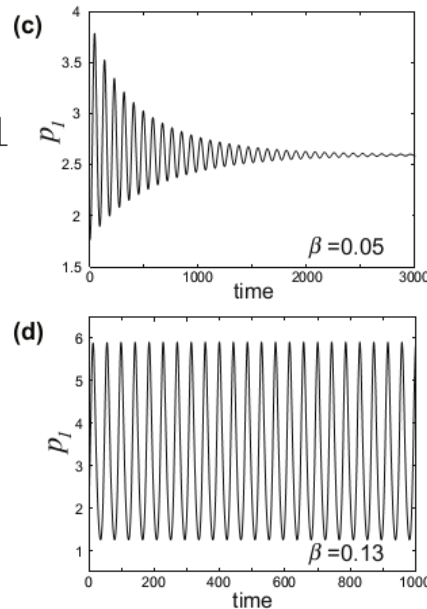
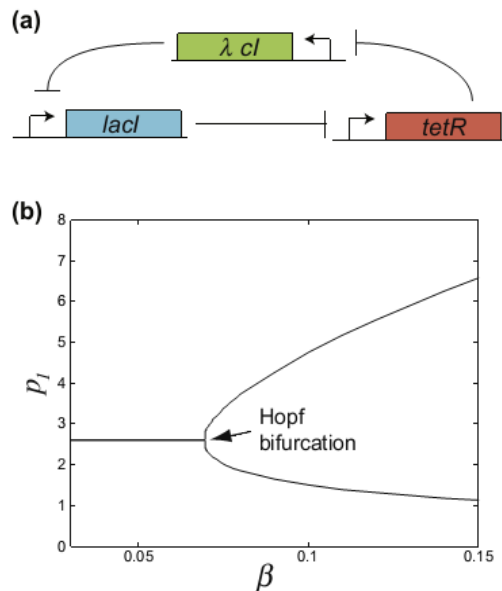


$$\dot{m}_i = \frac{\alpha}{1 + x_j^n} - m_i,$$

$$\dot{x} = -\beta(x_i - m_i),$$

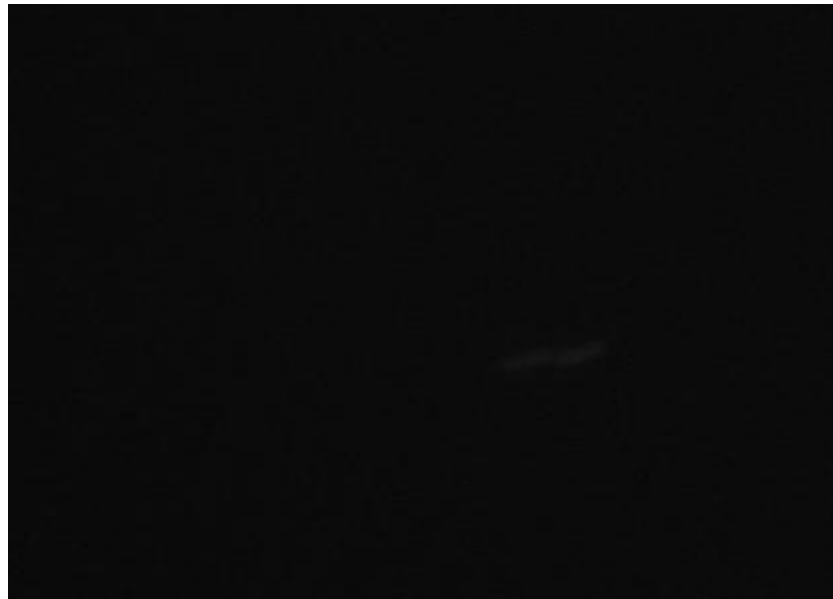
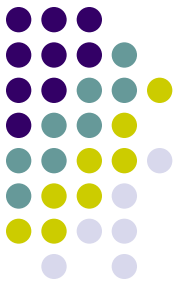
$$i = \{lacI, tetR, cI\},$$

$$j = \{cI, lacI, tetR\}.$$



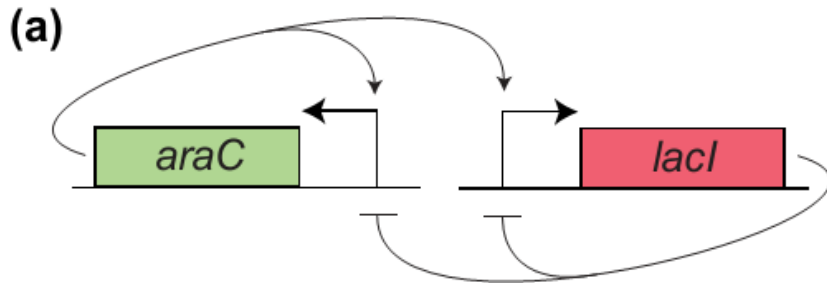
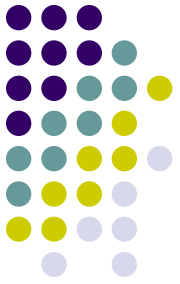
Elowitz & Leibler, Nature, 2000

Синтетические осцилляторы. Репресселятор



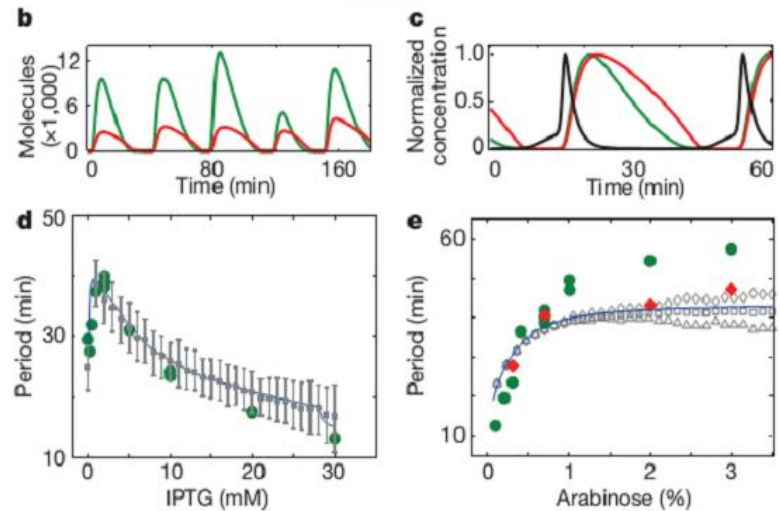
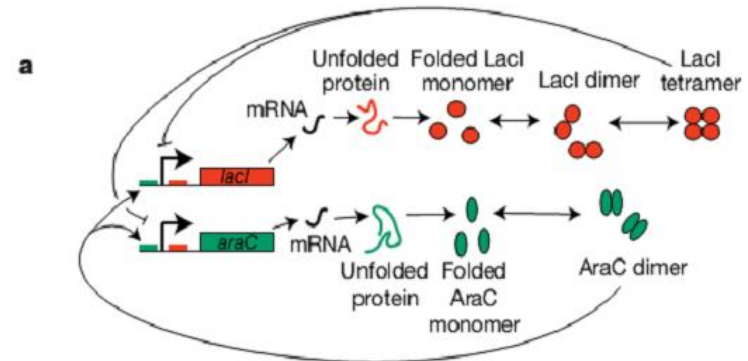
Elowitz & Leibler, Nature, 2000

Осциллятор с репрессией и активацией



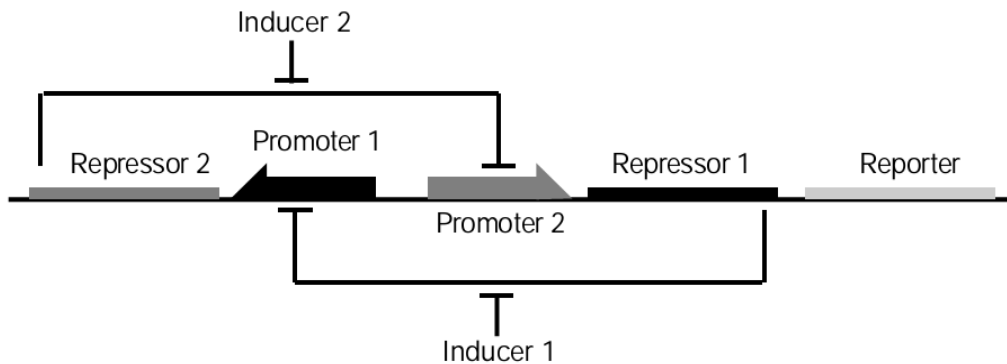
$$\dot{a} = p_a \frac{1 + \alpha a^2}{(1 + a^2)(1 + r^4)} - \gamma_a a,$$

$$\dot{r} = p_r \frac{1 + \alpha a^2}{(1 + a^2)(1 + r^4)} - \gamma_r r,$$



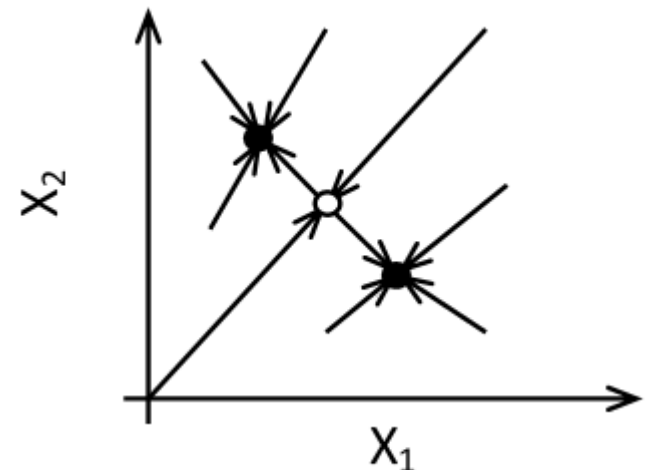
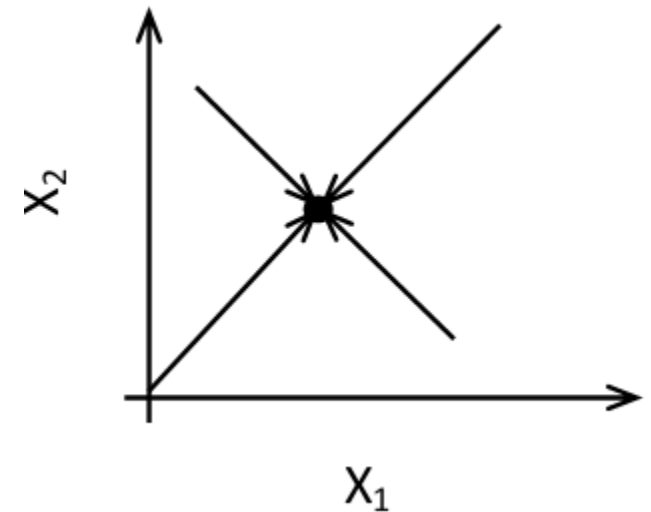
Stricker et al., Nature, 2008

Бистабильный элемент



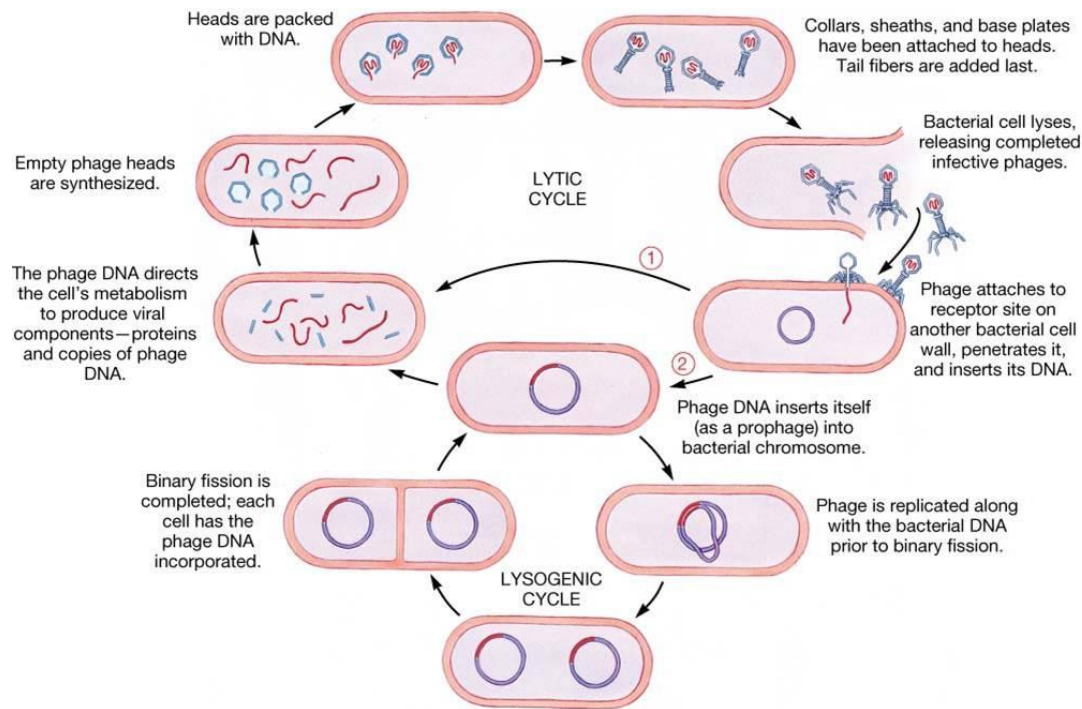
$$\dot{x}_1 = \frac{K_1}{1 + x_2^{n_2}} - x_1$$

$$\dot{x}_2 = \frac{K_2}{1 + x_1^{n_1}} - x_2$$

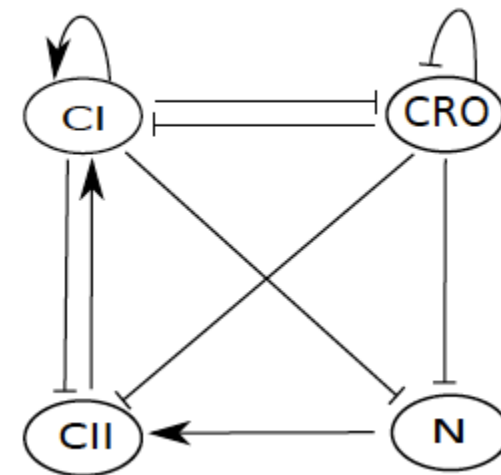


(Gardner, Kantor & Collins, Nature, 2000)

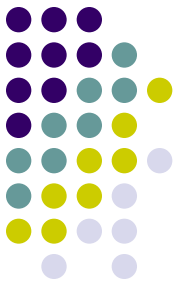
Бактериофаг λ свитч



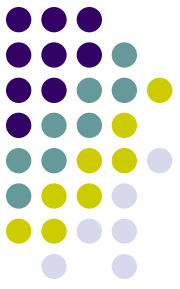
Lytic



Lysogenic

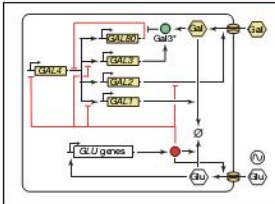
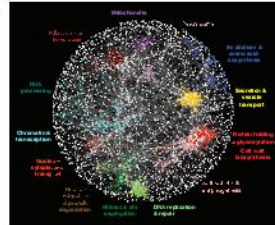
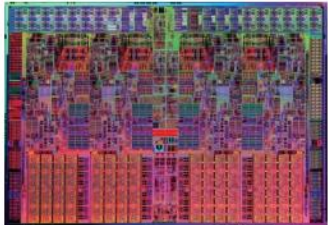


Коллективная динамика

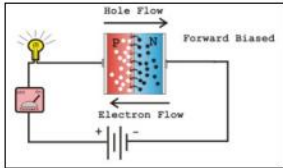
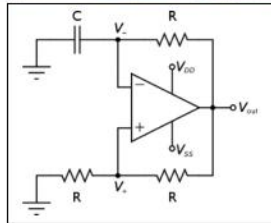


К распределенным взаимодействиям

Systems Biology



↑ scale

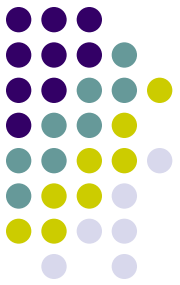


Ограничения одной клетки:

- Число экзогенных конструкторов (стабильность, жизнеспособность клетки)
- Сложность контура
- Полезная функциональность, модулируемая контуром (например, колебательному)

Решение:

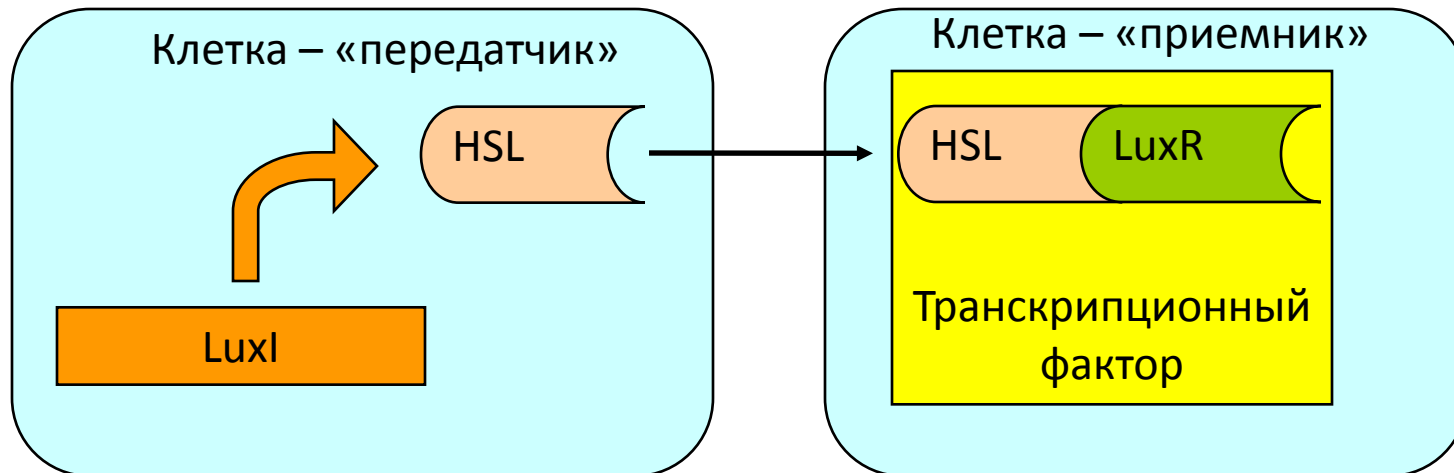
- Распределенные контуры и межклеточная коммуникация



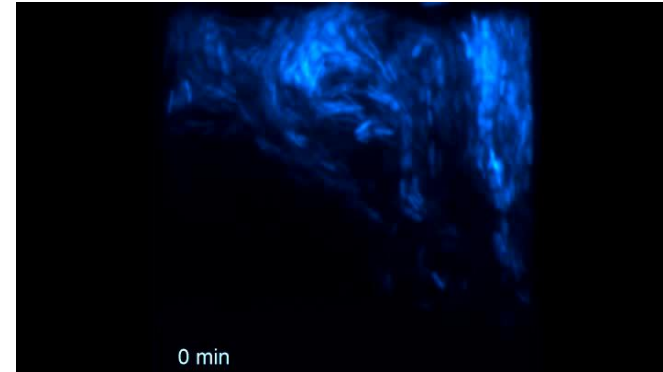
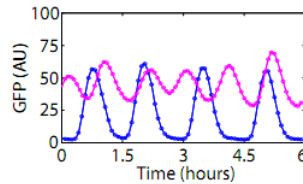
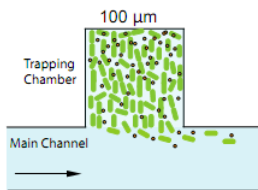
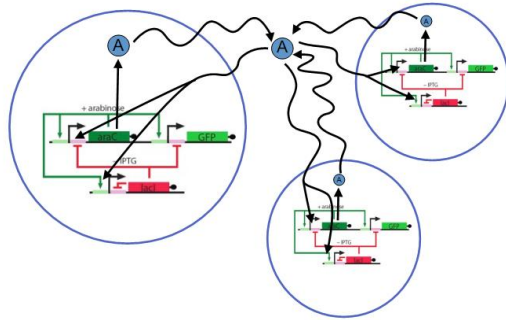
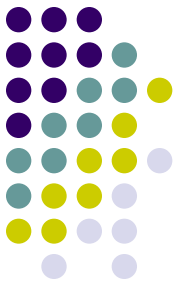
Межклеточная коммуникация

Кворум-сенсинг:

Семейство HSL (хомосерин-лактон) лиганд

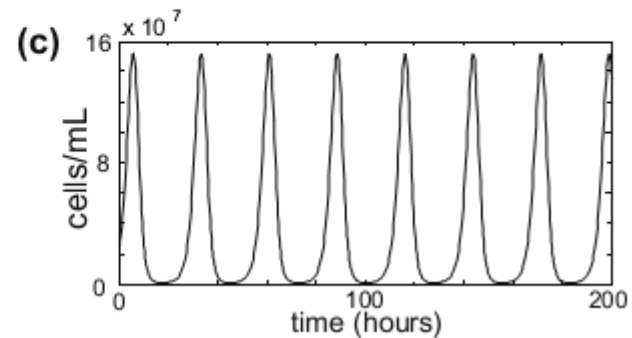
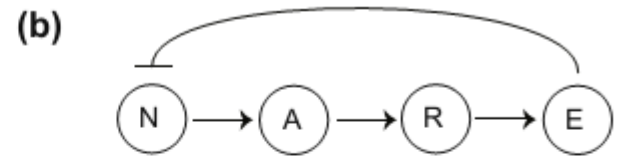
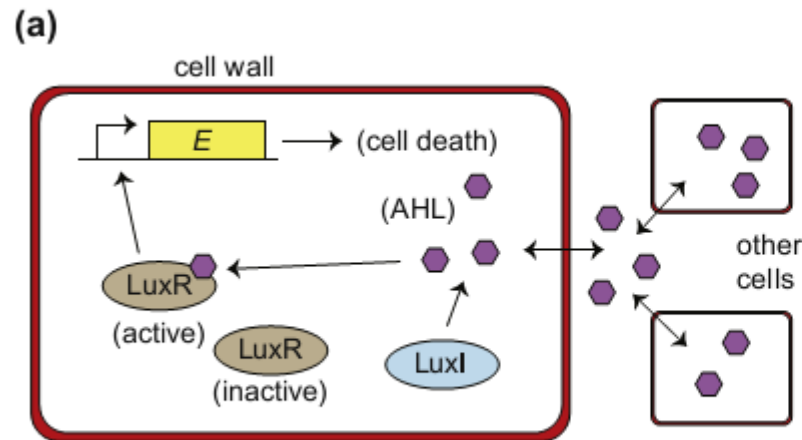
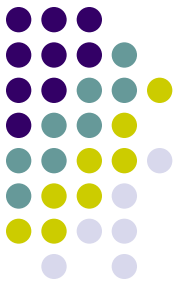


Межклеточная коммуникация: синхронизация



Danino et al., Nature, 2010

Популяции генных сетей. Управление численностью



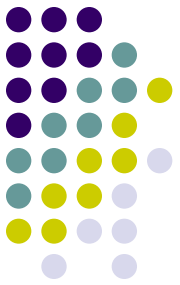
$$\dot{N} = kN \left(1 - \frac{N}{N_m} \right) - dEN - DN$$

$$\dot{A} = v_A N - (d_A + D)A,$$

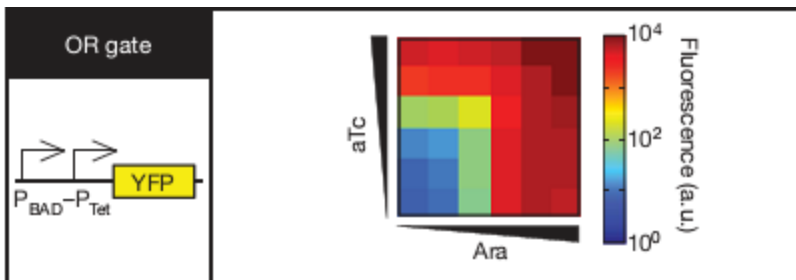
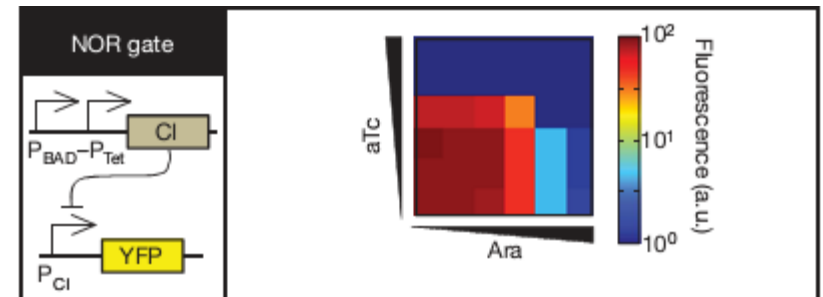
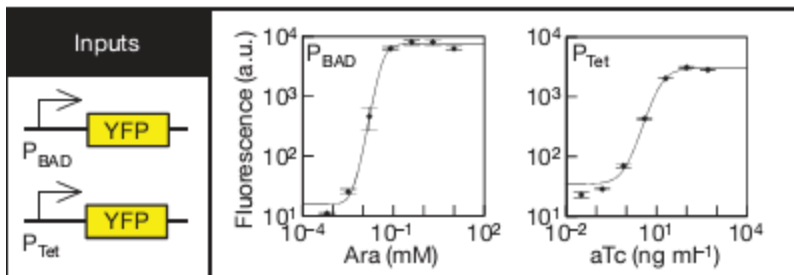
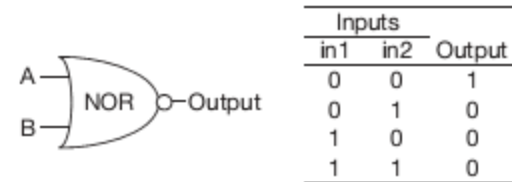
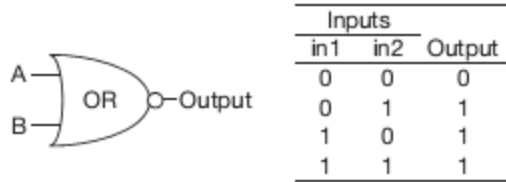
$$\dot{R} = k_R A - d_R R,$$

$$\dot{E} = k_E R - d_E E$$

(Ballagade et al., 2005)



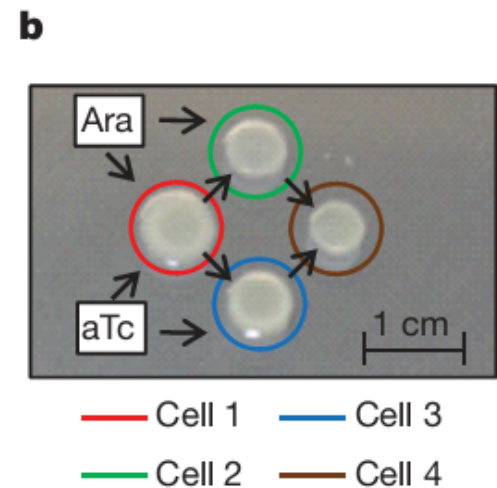
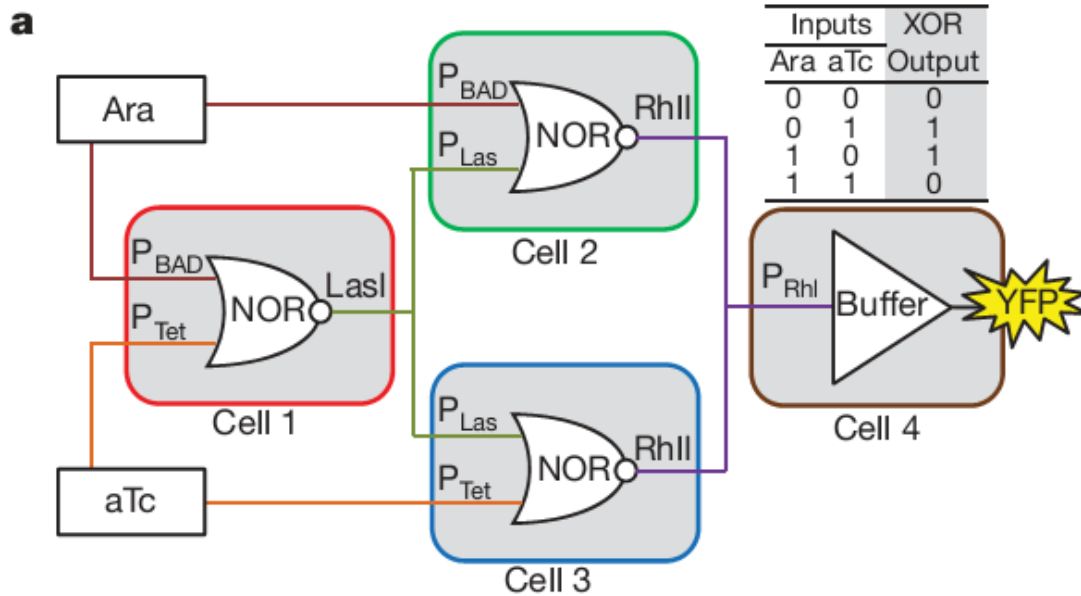
Задача 3. Логические элементы



Tamsir, Tabor & Voigt, Nature, 2011



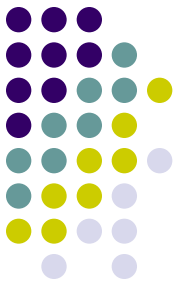
Сложные логические операции



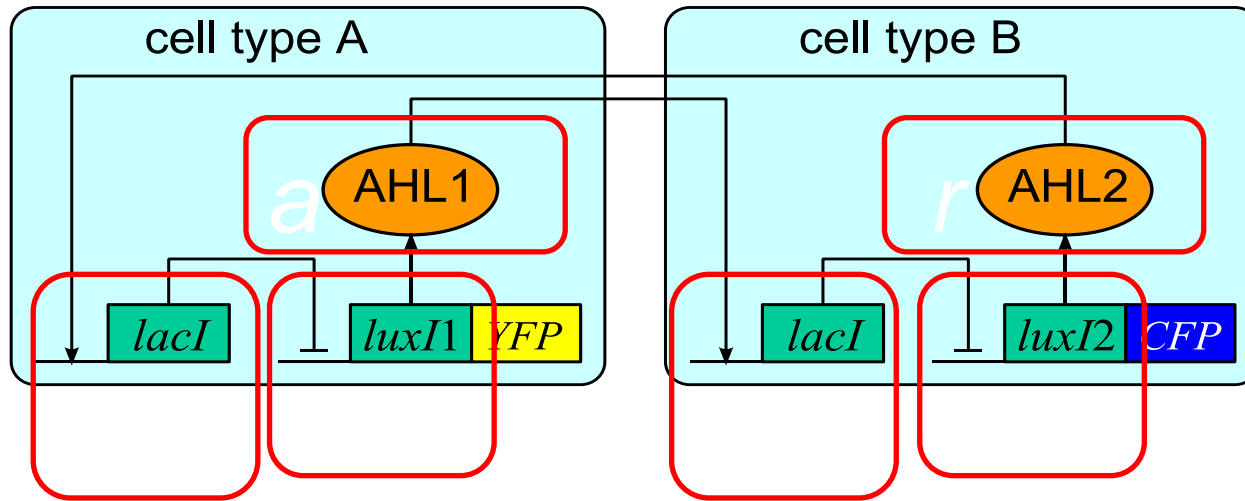
Tamsir, Tabor & Voigt, Nature, 2011



Распределенная конкуренция



Две конкурирующие популяции



$$\partial_t x = \frac{1}{1 + l_1^m} - x$$

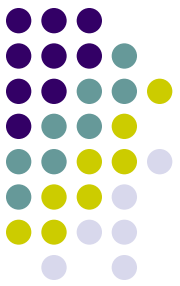
$$\partial_t y = \frac{1}{1 + l_2^m} - y$$

$$\frac{1}{\gamma_2} \partial_t l_1 = l_0 \frac{\mu + r}{1 + r} - l_1$$

$$\frac{1}{\gamma_2} \partial_t l_2 = l_0 \frac{\mu + a}{1 + a} - l_2$$

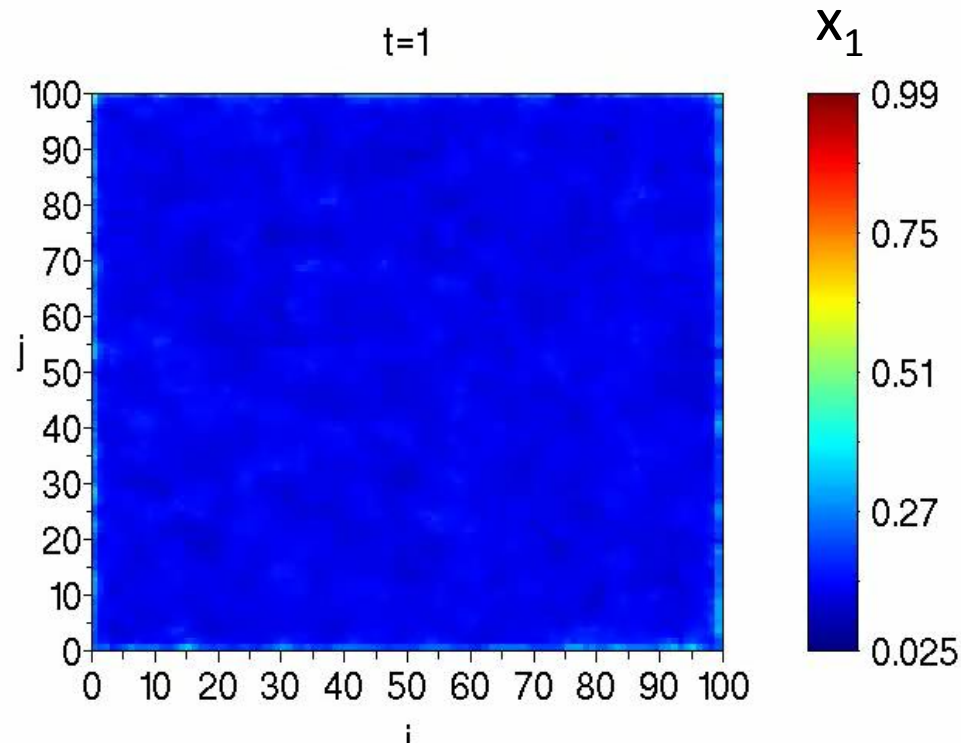
$$\partial_t a = b_3 x - \gamma_3 a + D \Delta a$$

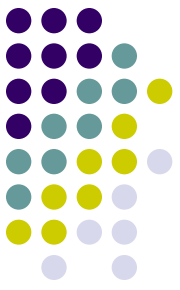
$$\partial_t r = b_3 y - \gamma_3 r + D \Delta r$$



Конкуренция на плоскости

Мобильные фронты, всегда есть победитель





Связь с популяционной динамикой

$$\partial_t x = b_1 \frac{1}{1 + (l_1/L)^m} - \frac{\gamma_1 x}{1 + f(x + l_1)}$$

$$\partial_t l_1 = b_2 \frac{\mu + r/A}{1 + r/A} - \frac{\gamma_2 l_1}{1 + f(x + l_1)}$$

$$\partial_t a = b_3 n_1 x - \gamma_3 a + D\Delta a$$

$$\partial_t n_1 = pn_1 \left(\frac{x}{k + x} - (n_1 + n_2) \right) + D_n \Delta n_1$$

$$\partial_t y = b_1 \frac{1}{1 + (l_2/L)^m} - \frac{\gamma_1 y}{1 + f(y + l_2)}$$

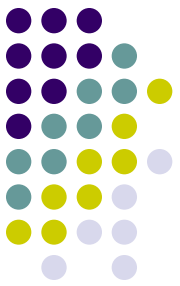
$$\partial_t l_2 = b_2 \frac{\mu + a/A}{1 + a/A} - \frac{\gamma_2 l_2}{1 + f(y + l_2)}$$

$$\partial_t r = b_3 n_2 y - \gamma_3 r + D\Delta r$$

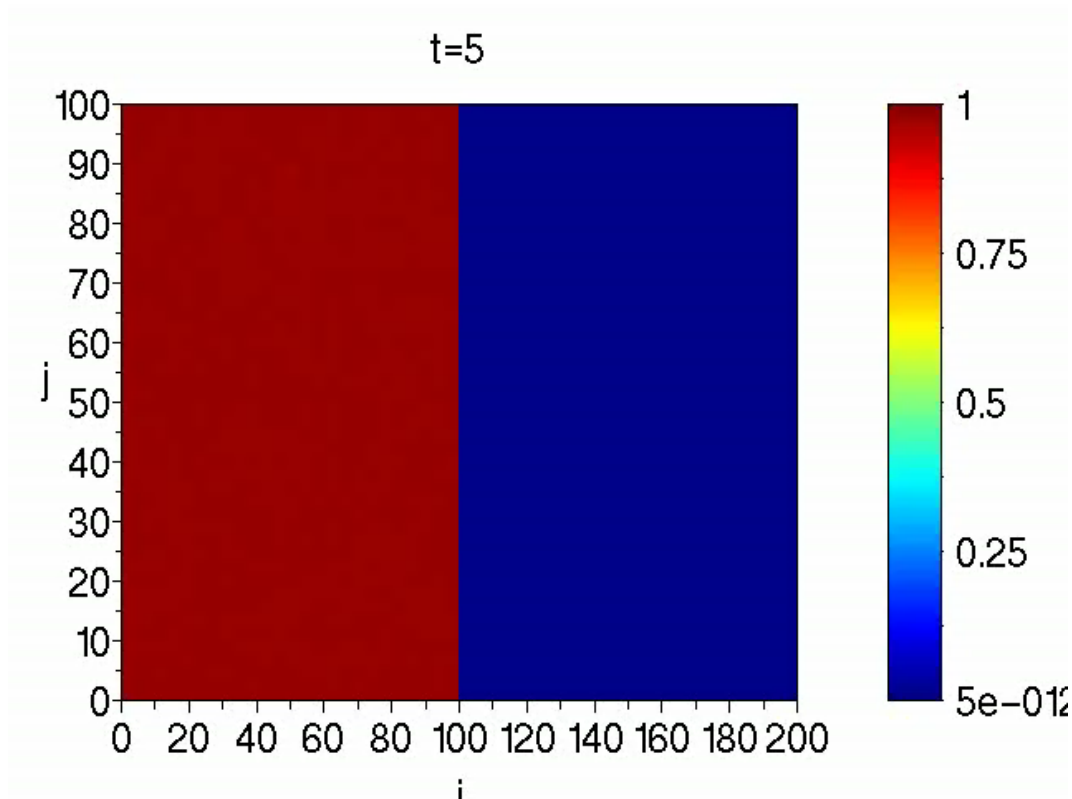
$$\partial_t n_2 = pn_2 \left(\frac{y}{k + y} - (n_1 + n_2) \right) + D_n \Delta n_2$$

Резистентность к антибиотикам под репрессией конкурента

Стабилизация фронтов



экспрессия популяции





Заключение

- Синтетические генные сети позволяют изучать фундаментальные принципы генной регуляции
- В основе – нелинейная динамика
- Генная регуляция моделируется уравнениями молекулярной химической кинетики
- Минимальные контуры демонстрируют стационарные состояния, колебания, бистабильность
- Кворум-сенсинг механизмы коллективной динамики
- Синхронизация, контроль популяции
- Клеточный компьютеринг
- Распределенная конкуренция