

Динамика синтетических сетей генной регуляции - 1



М.В. Иванченко

Нижегородский государственный университет

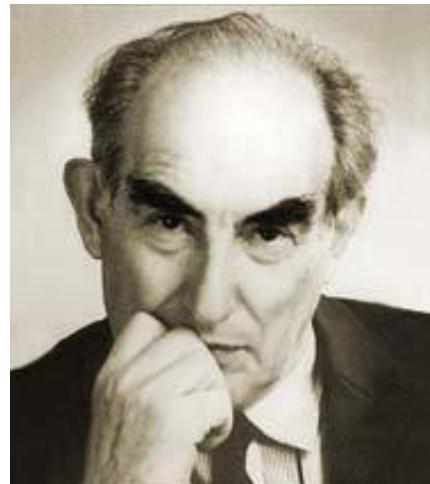




ФИЗИКА НАШИХ ДНЕЙ

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

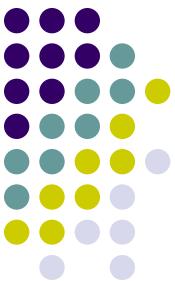
В.Л. Гинзбург



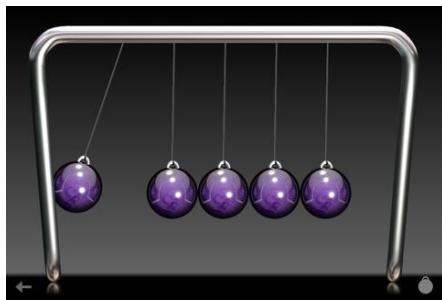
30 + 3 «великих» проблемы науки XXI века

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

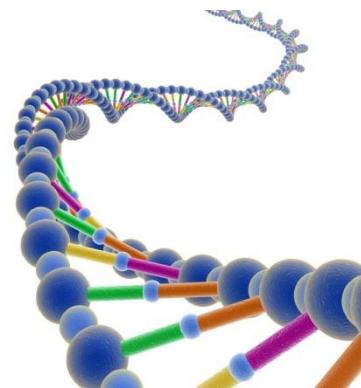
основе физики, уже известной физики. Конкретно, основ-
ными являются вопросы о происхождении жизни и
появлении сознания (мышления). Образование в усло-



Фундаментальные законы для живых систем?



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



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

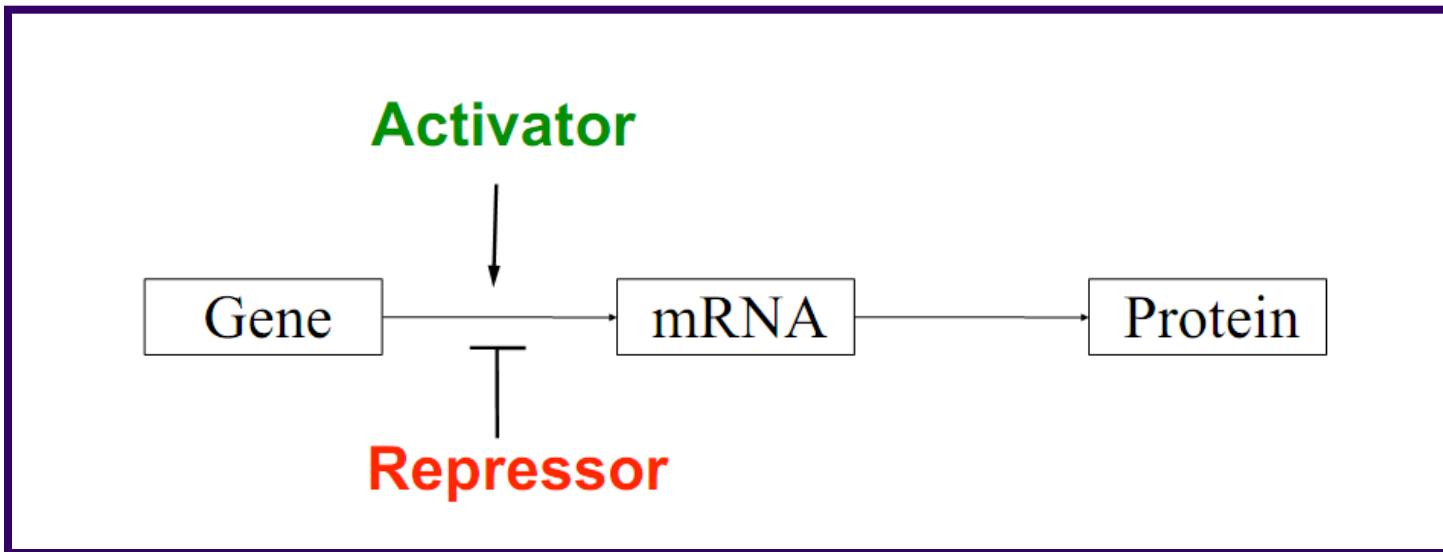
Сложные системы:

- 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



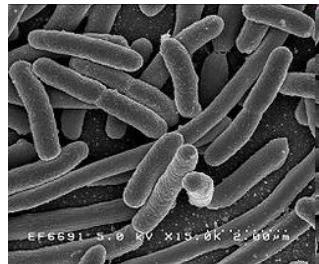
Динамика

Экспрессия генов никогда не стационарна:

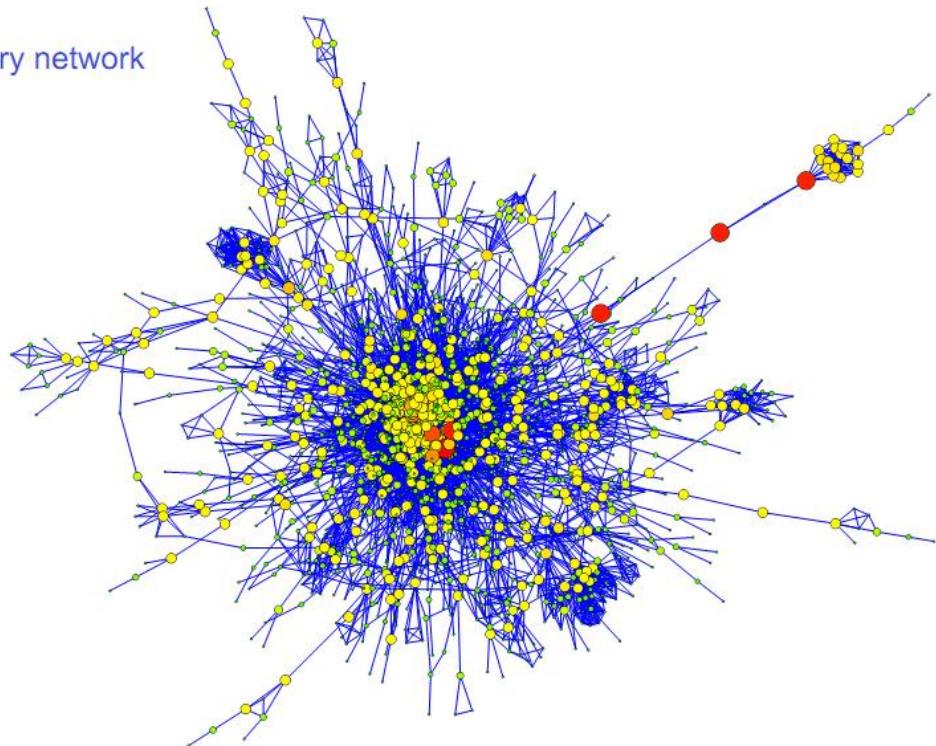
- Внешние сигналы
- Внешний шум
- Внутренний шум
- Колебания (циркадные и ультрадианные ритмы, клеточный цикл, ...)



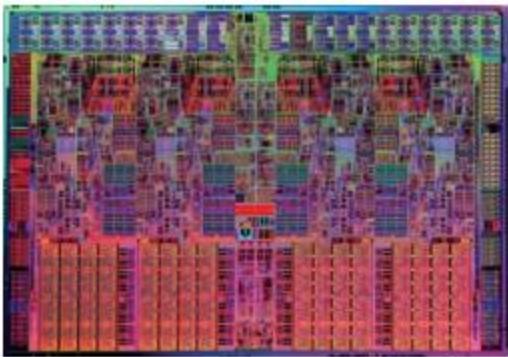
Сети генной регуляции



E.Coli regulatory network

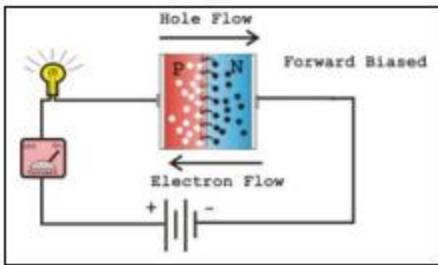
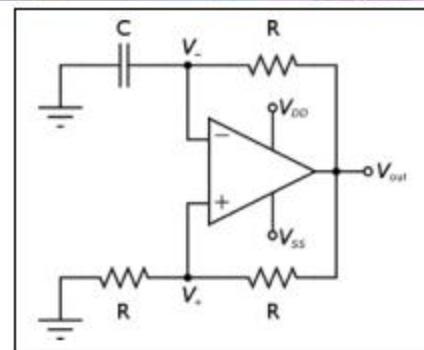
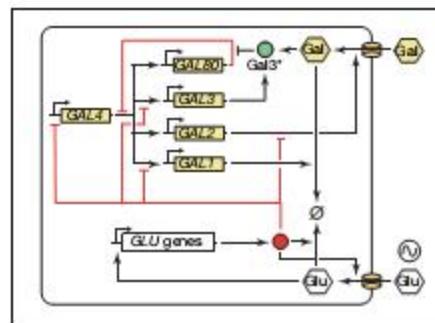
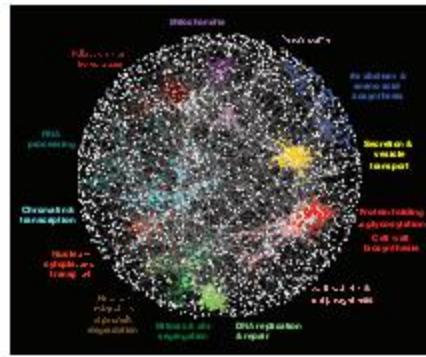


- «прочитать» все гены (геномика)
- определить взаимодействие генов и протеинов (реконструкция сети)
- исследовать динамику сети (теория сложных систем)

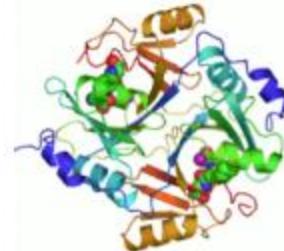


Systems Biology

↑
scale



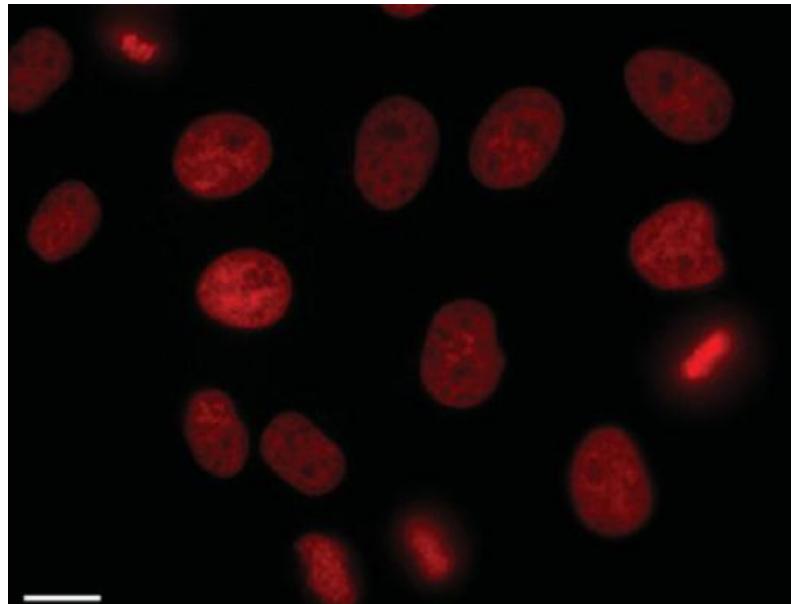
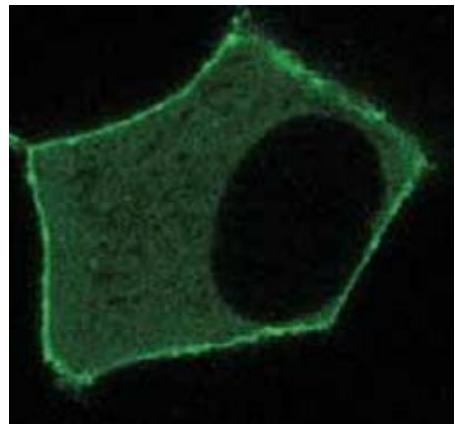
Synthetic Biology





Синтетическая биология: встраиваем новые гены и конструируем регуляторные сети

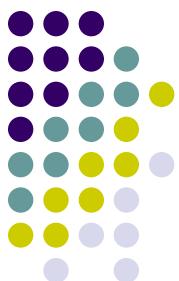
- новые функции
- «ортогональные» сигналы = возможность исследовать динамику в хорошей степени изолированных сетей
- визуализация экспрессии генов флуоресцентными белками





Математические модели генной регуляции

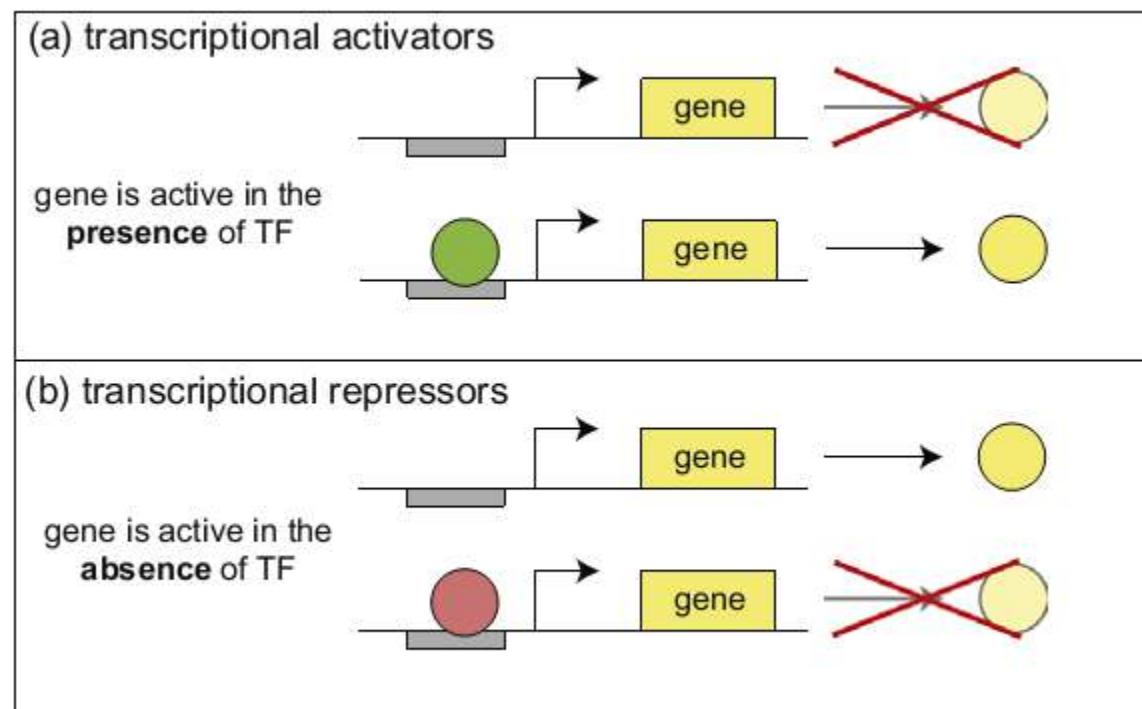
Транскрипционная регуляция и динамика белков



- Пусть ТФ активен только в состоянии димера.
- Пусть Р — концентрация мономера ТФ, Р₂ — концентрация его димера, О_u — концентрация несвязанных операторов, О_b — связанных.
- Тогда при постоянных концентрациях ДНК и ТФ имеем:

$$P + P \xrightleftharpoons[k_{-d}]{k_d} P_2,$$

$$O_u + P_2 \xrightleftharpoons[k_{-b}]{k_b} O_b,$$





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

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

уравнения Хилла

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

константа Хилла

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

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

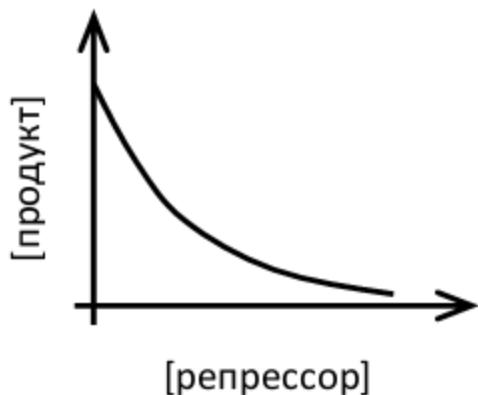


Транскрипционная регуляция и динамика белков

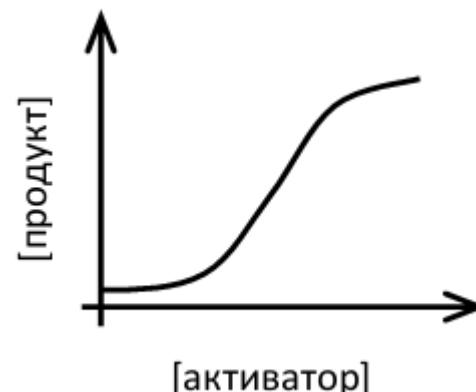
Если промоутер срабатывает с коэффициентом α_u , когда он не связан ТФ, и с коэффициентом α_b , когда связан, то выражение для кинетического коэффициента срабатывания имеет вид

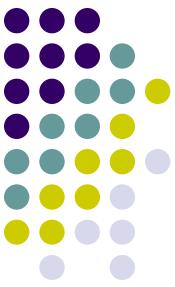
$$v_{init}(P) = \alpha_u O_u + \alpha_b O_b = \alpha_u \frac{N}{1 + (P/K)^2} + \alpha_b \frac{N(P/K)^2}{1 + (P/K)^2}.$$

$$\alpha_b = 0$$



$$\alpha_u = 0$$





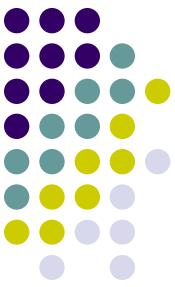
Транскрипционная регуляция и динамика белков

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

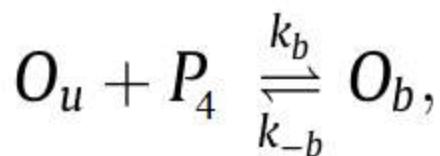
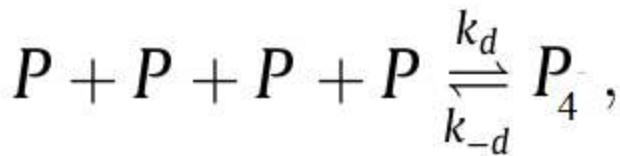
Полученная зависимость усложняется если:

- Промоутер имеет составную структуру из нескольких операторов (например, в tandem 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

Отсюда

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

Раз суммарная концентрация ДНК постоянна,

Отсюда

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

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

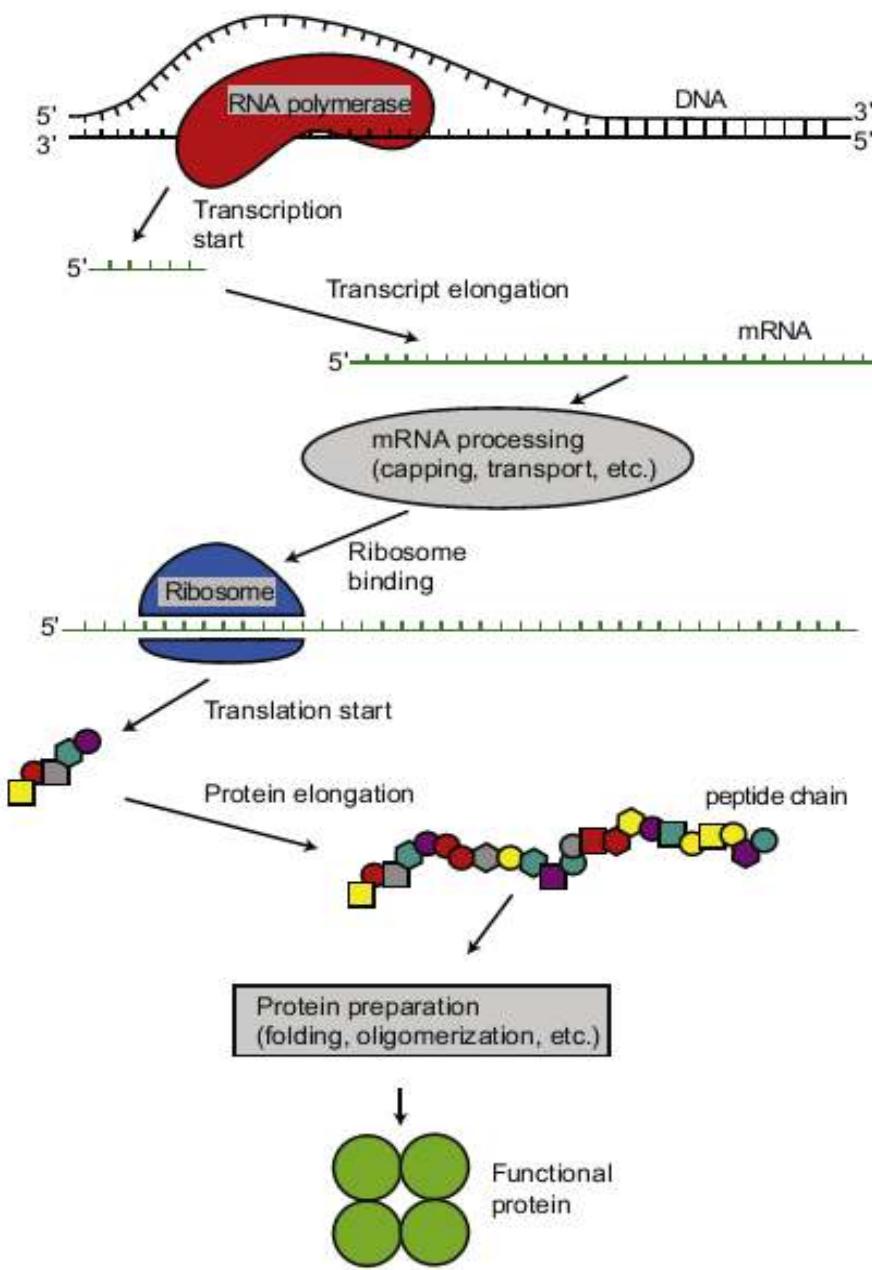
и аналогично $O_b = \frac{N(P/K)^2}{1 + (P/K)^2} .$

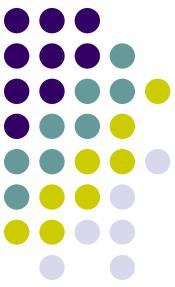
$$O_u + O_b = N$$

$$r_{deg}(x)$$



Полный цикл синтеза белка





Более детальные модели

учет процесса производства мРНК

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

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)

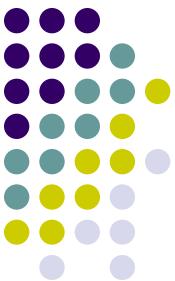
$$r_{deg,enz} = \frac{V_{max}x}{K_m + x}$$

- В общем случае нескольких деградируемых белков имеем

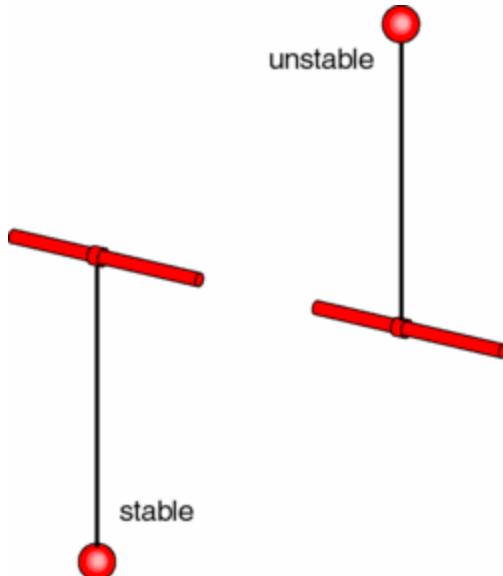
$$r_{deg,i}(x_i, T) = \frac{V_{max,i}x_i}{K_m + \sum_j x_j} - \gamma x_i$$



Динамика генных сетей



Нелинейная динамика: состояния равновесия



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

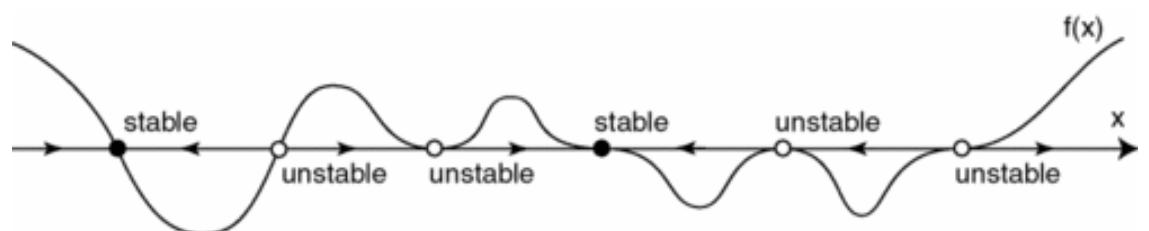
1D динамическая система

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

условие равновесия

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

Условие устойчивости





Нелинейная динамика: состояния равновесия

2D динамическая система

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

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

Условие равновесия

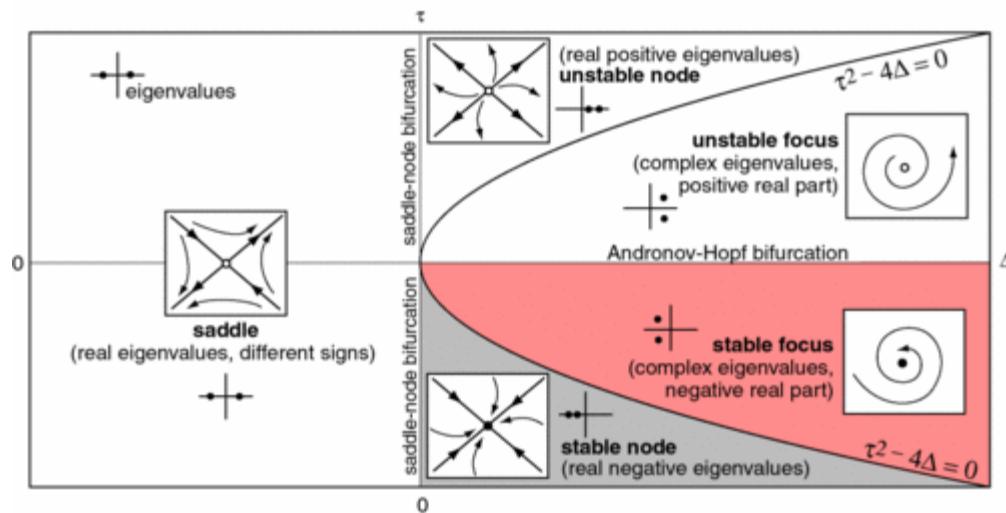
$$f_1(x_1, x_2) = 0$$

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

Условие устойчивости

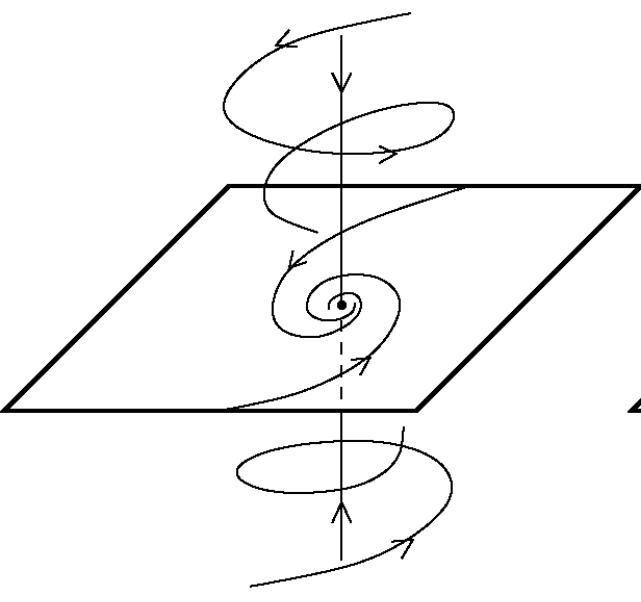
$$\text{Det} \begin{pmatrix} \partial_{x_1} f_1 - \lambda & \partial_{x_2} f_1 \\ \partial_{x_1} f_2 & \partial_{x_2} f_2 - \lambda \end{pmatrix} = 0$$

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

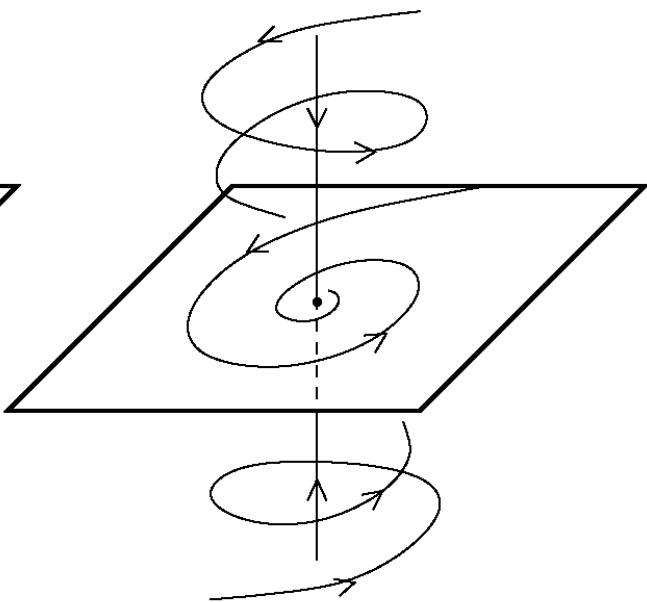




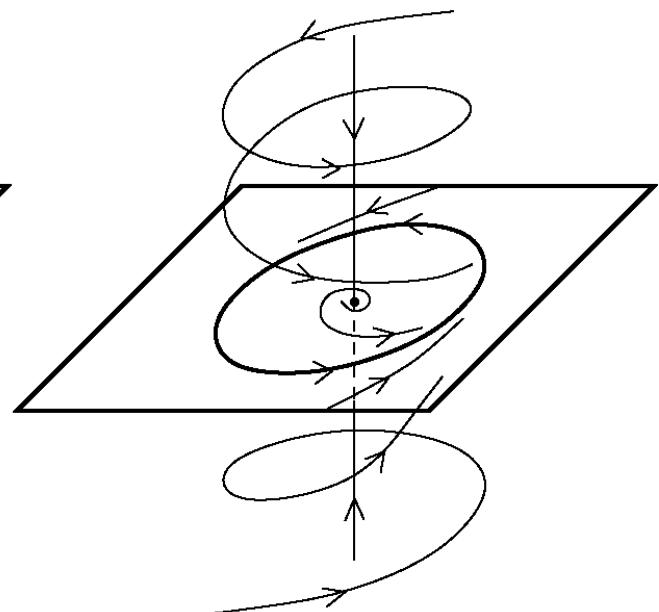
Нелинейная динамика: автоколебания



$$\beta < 0$$



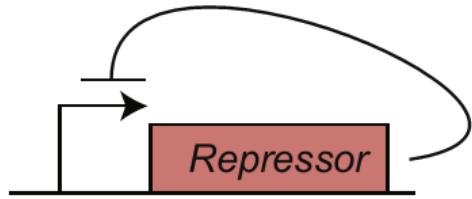
$$\beta = 0$$



$$\beta > 0$$



Задача 2: авторепрессор



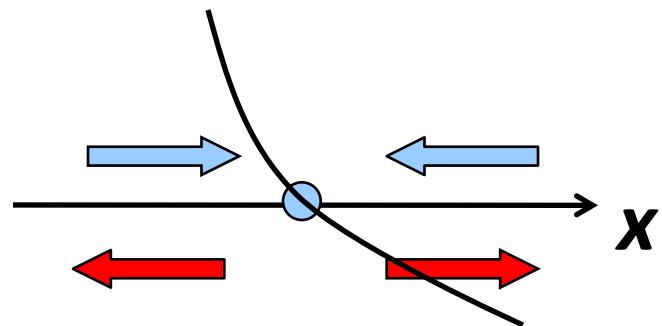
Дифференциальное уравнение

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

Состояние равновесия

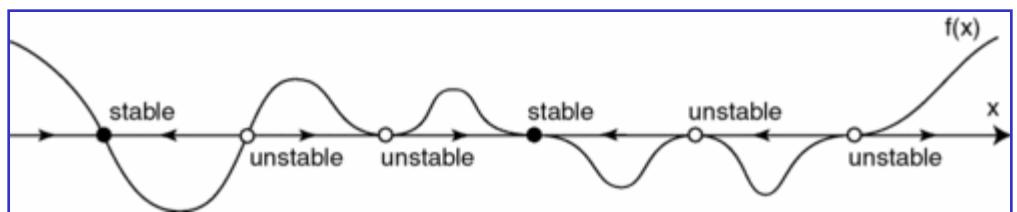
$$\gamma x = \frac{\alpha}{1 + (x/K)^n}$$

Устойчивость



?

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



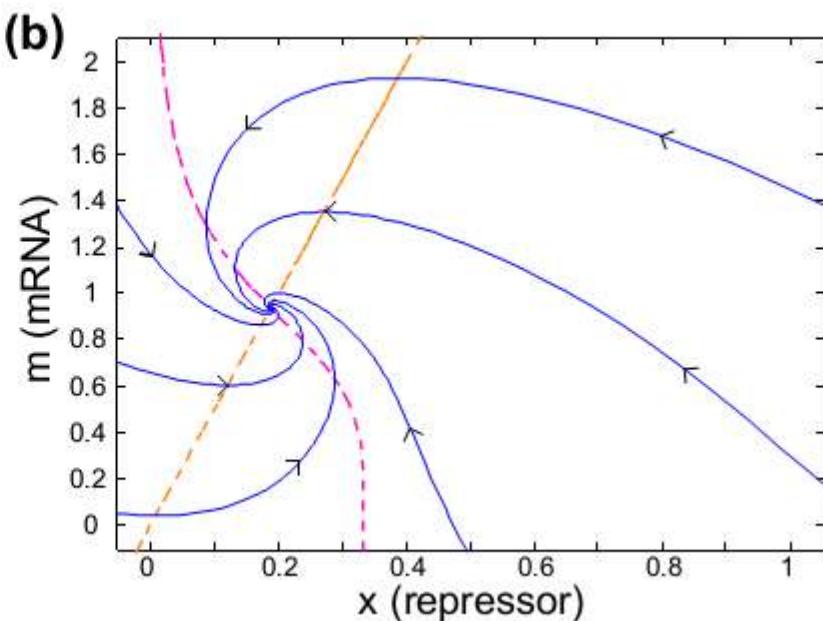
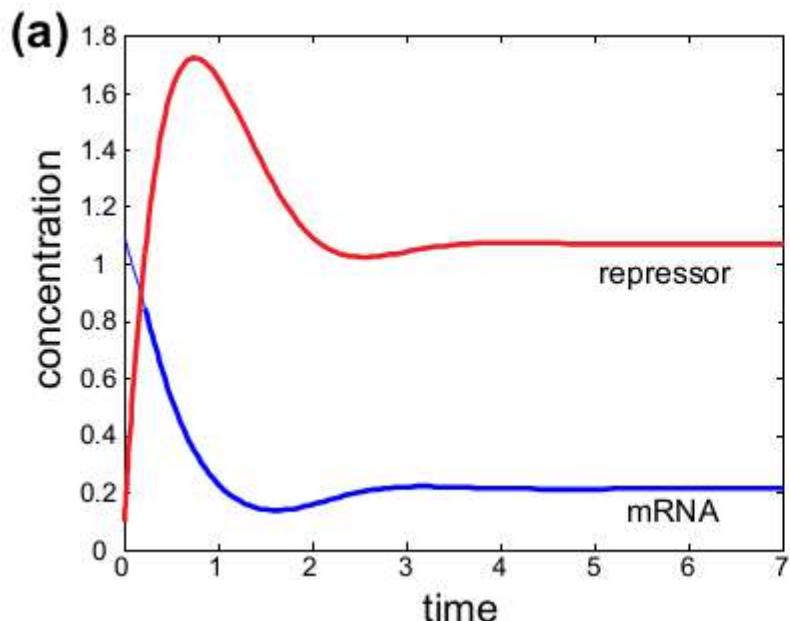


Авторепрессор: более сложная динамика?

- 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

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

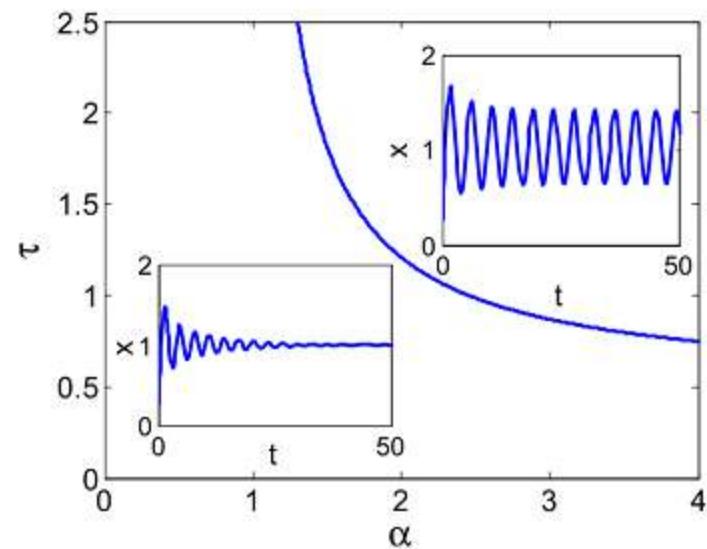
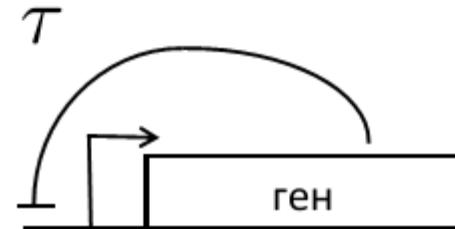
$$\dot{\xi}(t) \approx n \left(\frac{x_0}{\alpha} - 1 \right) \xi(t - \tau) - \xi(t)$$

- Характеристические показатели

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

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

- Неустойчивость:** $\operatorname{Re} \lambda > 0$



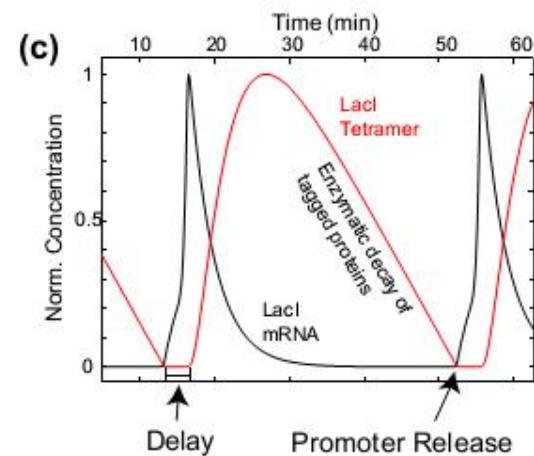
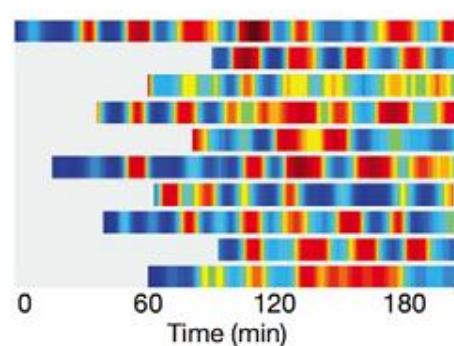
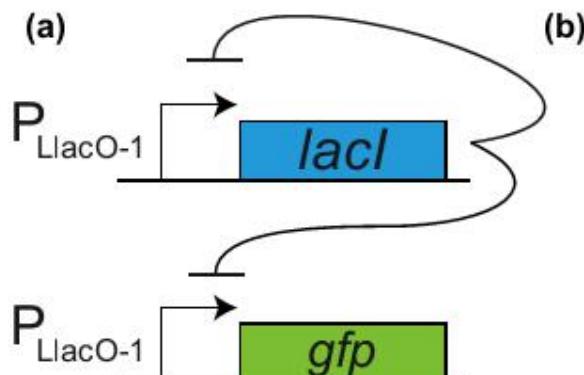


Авторепрессор с задержкой: автоколебания!

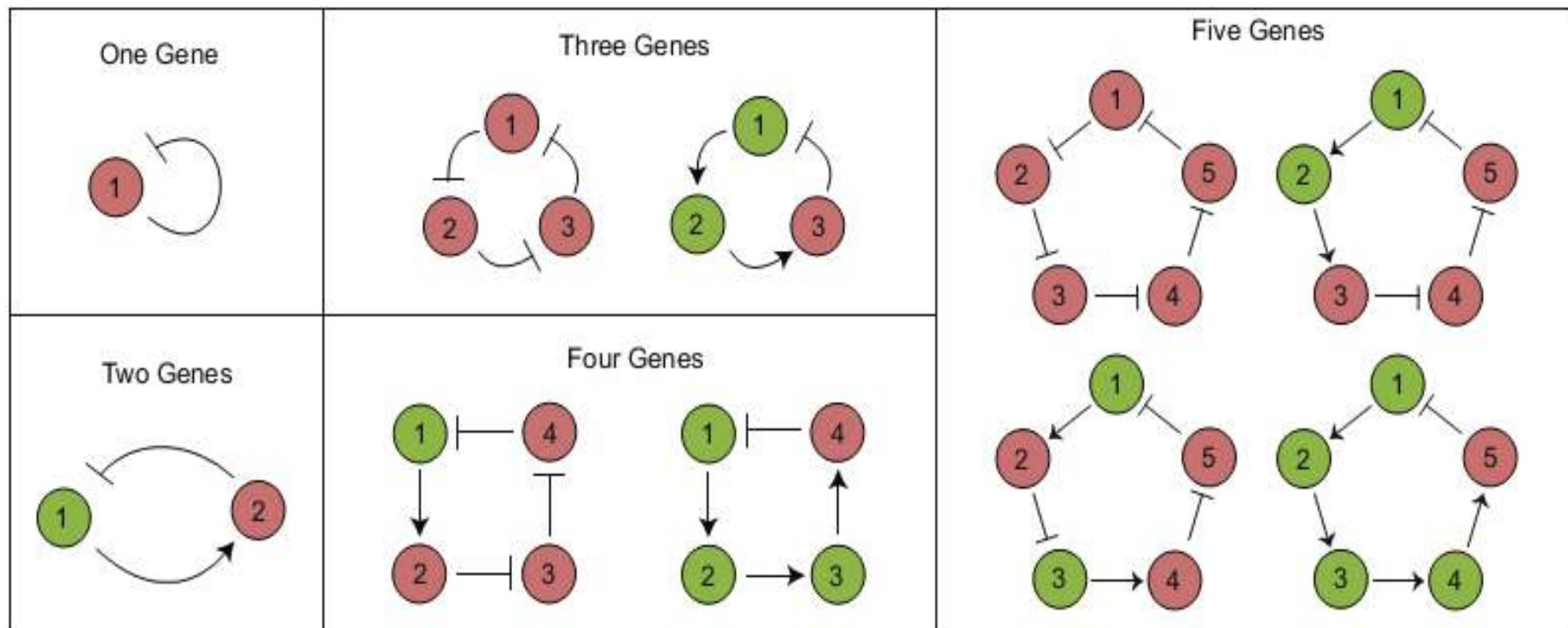
- математическая модель и биологический эксперимент
(*Striker et al., Nature, 2008*)

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

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



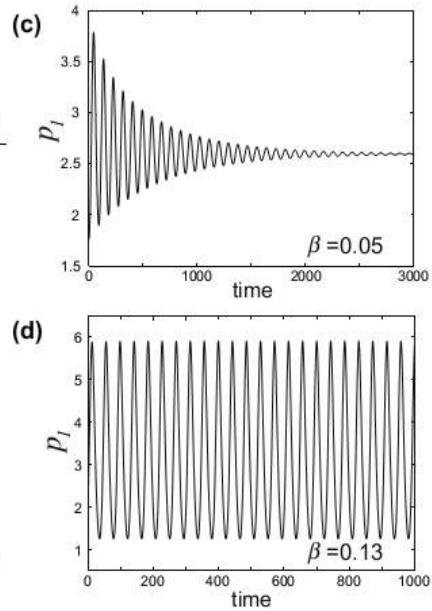
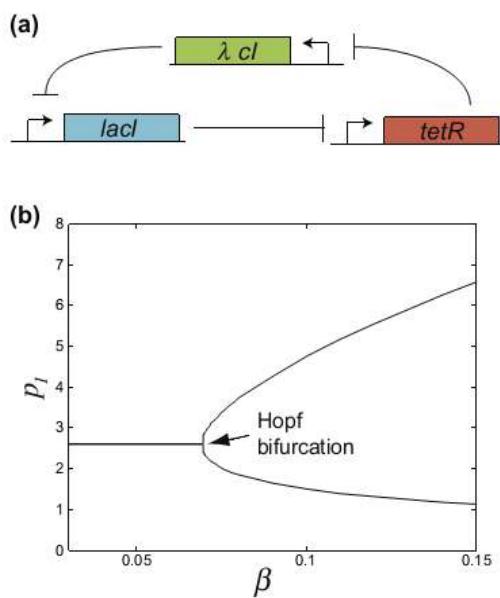
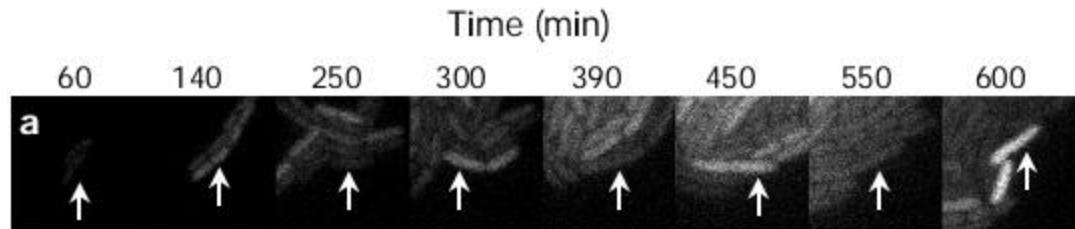
Генные сети с отрицательной обратной связью





Синтетические осцилляторы.

Репресселятор

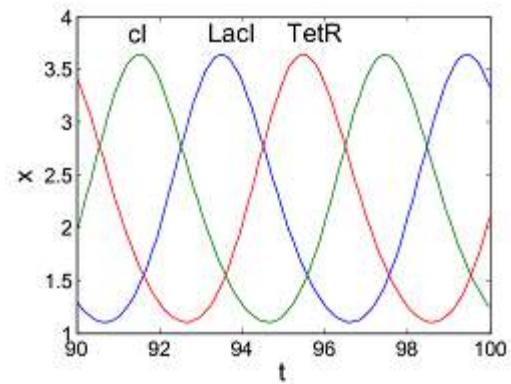


$$\dot{m}_i = \frac{\alpha}{1 + x_j^n} - m_i,$$

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

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

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



Elowitz & Leibler, Nature, 2000



Синтетические осцилляторы. Репресселятор

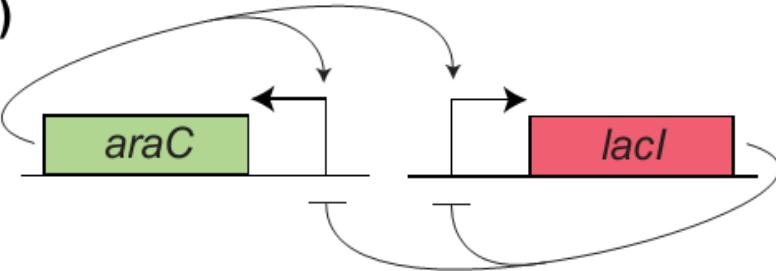


Elowitz & Leibler, Nature, 2000

Осциллятор с репрессией и активацией

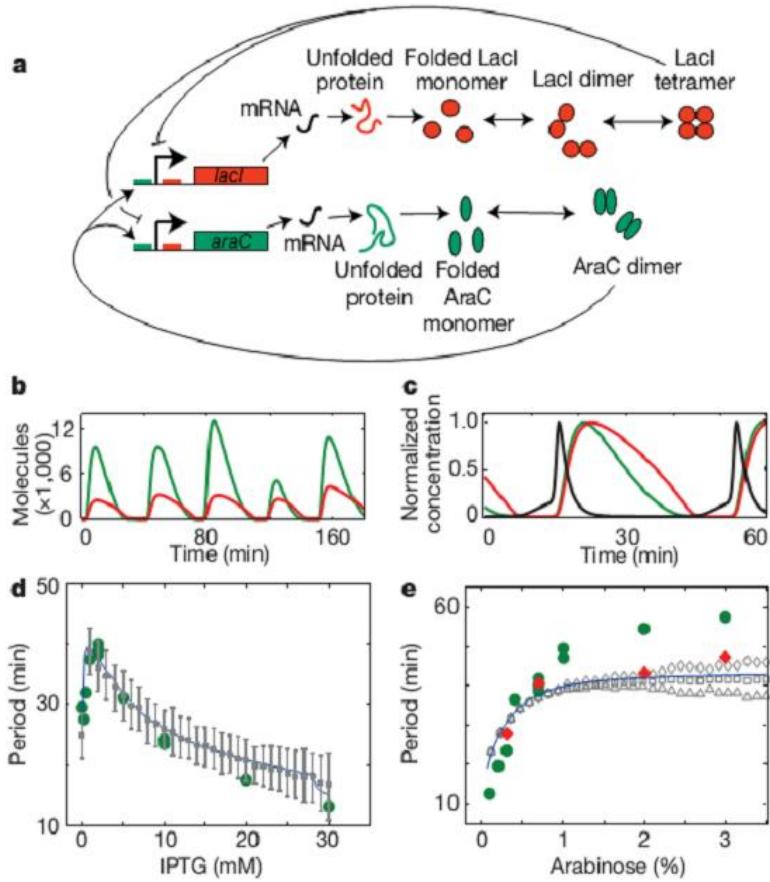


(a)

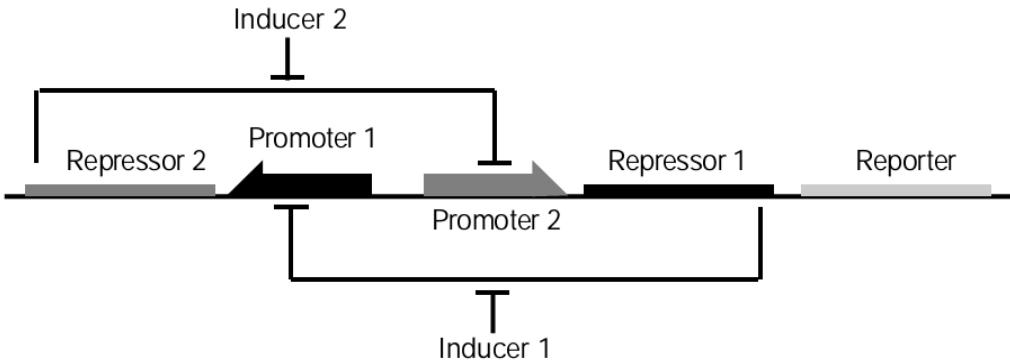


$$\dot{a} = p_a \frac{1 + \alpha a^2}{(1 + a^2)(1 + r^4)} - \gamma_a a,$$
$$\dot{r} = p_r \frac{1 + \alpha a^2}{(1 + a^2)(1 + r^4)} - \gamma_r r,$$

Stricker et al., Nature, 2008

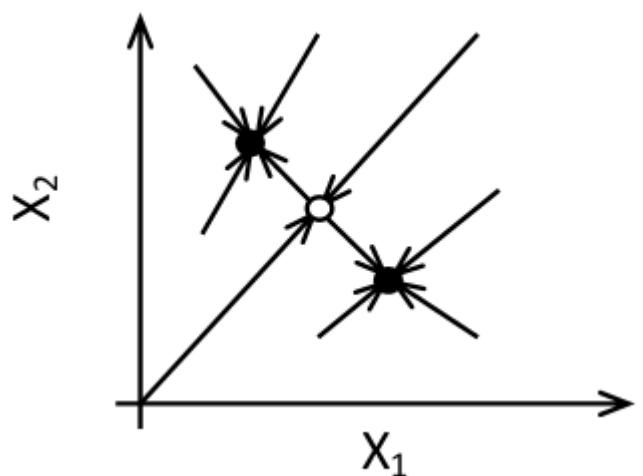
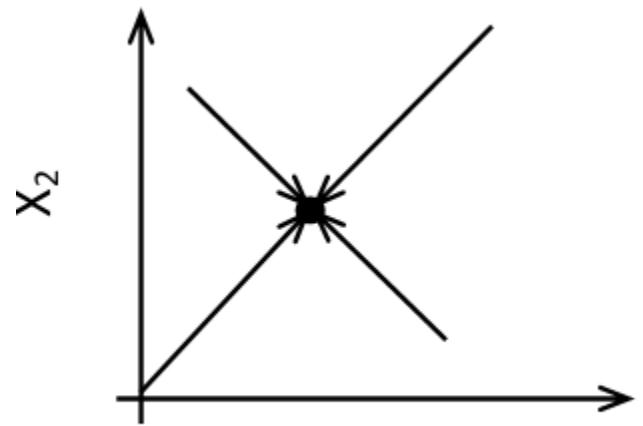


Бистабильный элемент



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

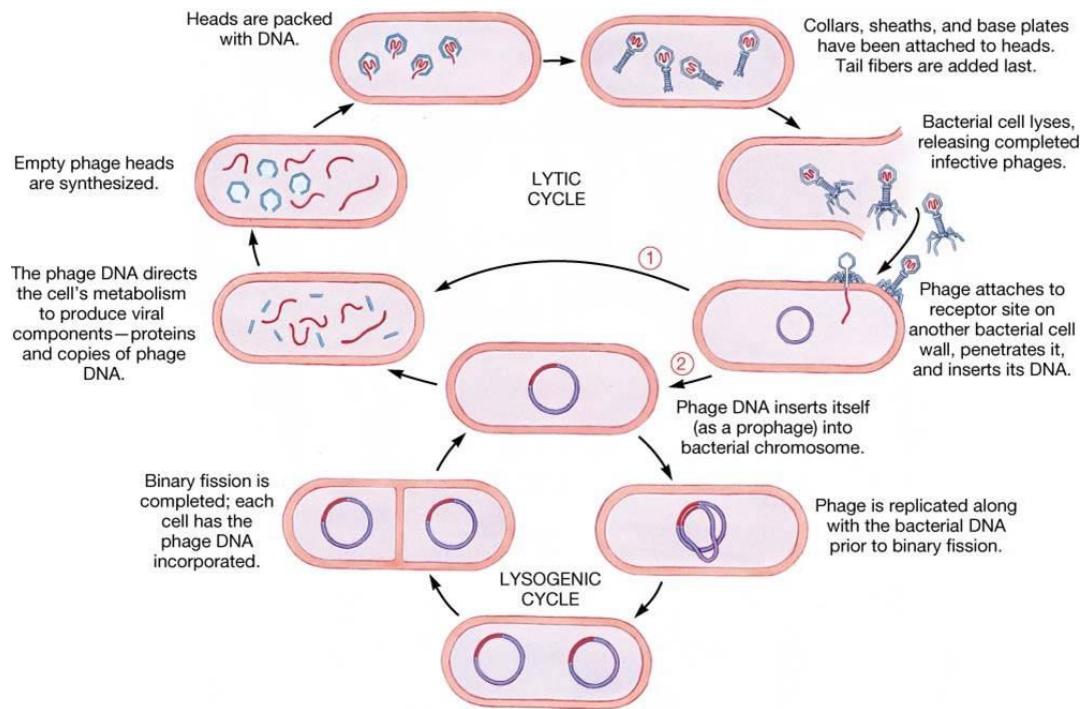
$$\dot{x}_2 = \frac{K_2}{1 + x_1^{n_1}} - x_2$$



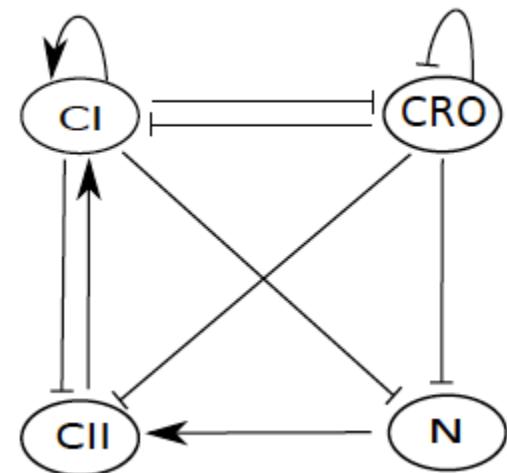
(Gardner, Kantor & Collins, *Nature*, 2000)



Бактериофаг λ свитч



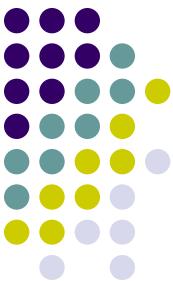
Lytic



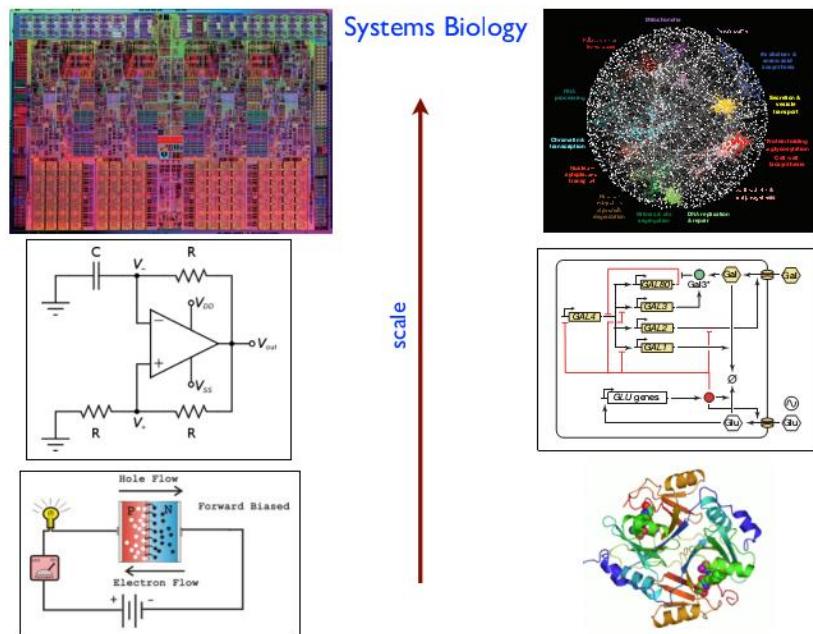
Lysogenic



Коллективная динамика



К распределенным взаимодействиям



Ограничения одной клетки:

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

Решение:

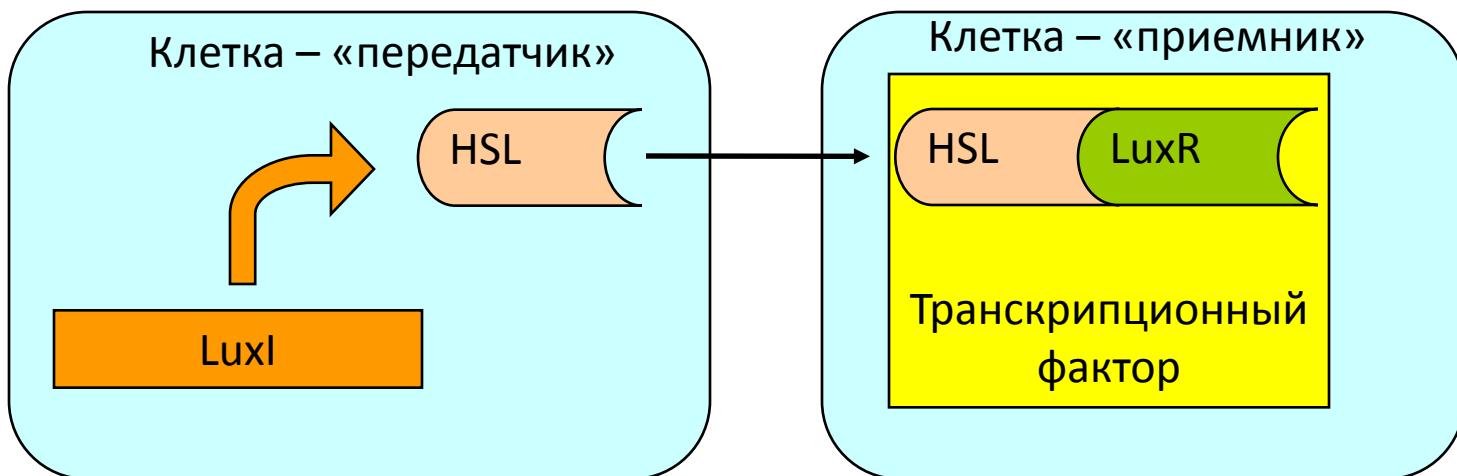
- Распределенные контуры и межклеточная коммуникация



Межклеточная коммуникация

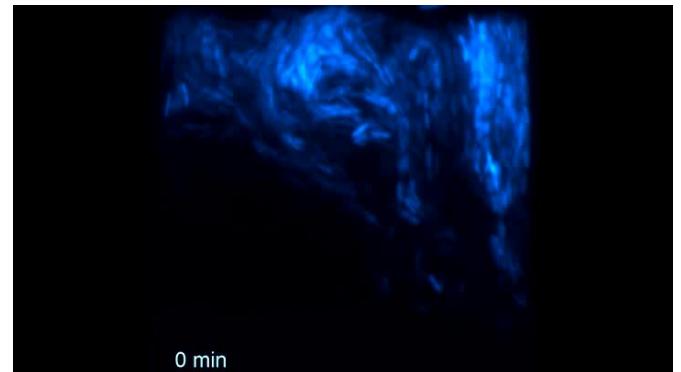
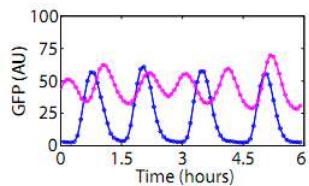
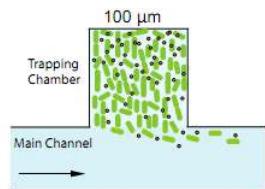
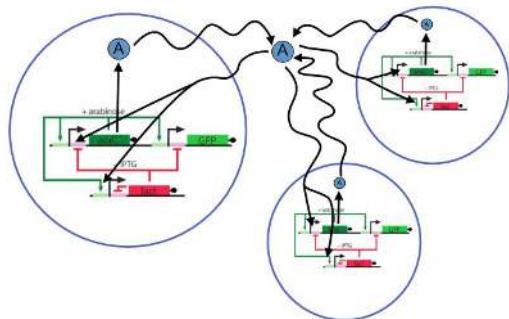
Кворум-сенсинг:

Семейство HSL (хомосерин-лактон) лиганд





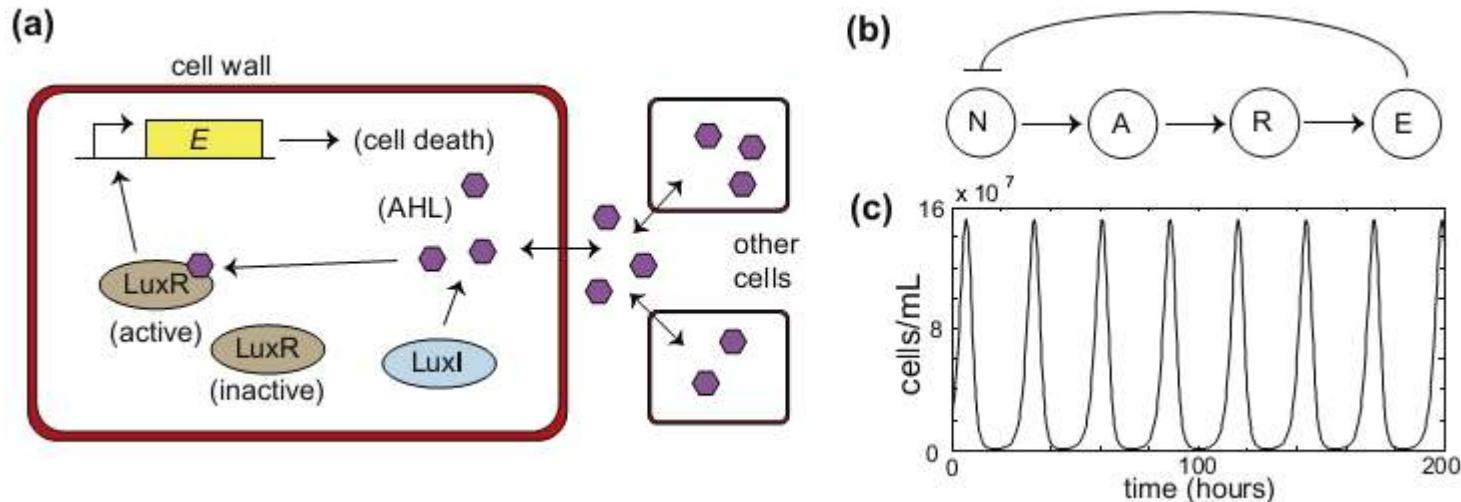
Межклеточная коммуникация: синхронизация



Danino et al., *Nature*, 2010



Популяции генных сетей. Управление численностью



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

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

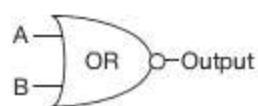
$$\dot{R} = k_R A - d_R R,$$

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

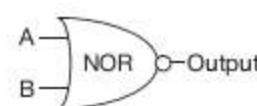
(Ballagade et al., 2005)



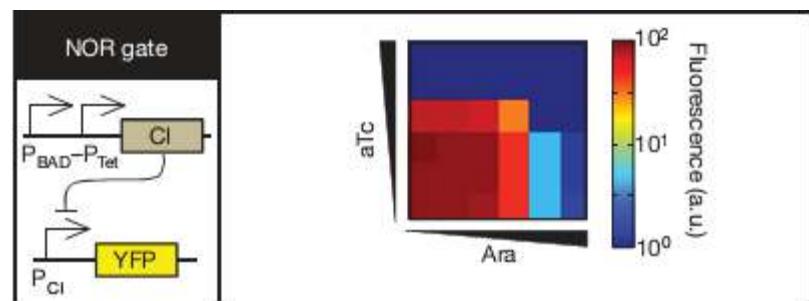
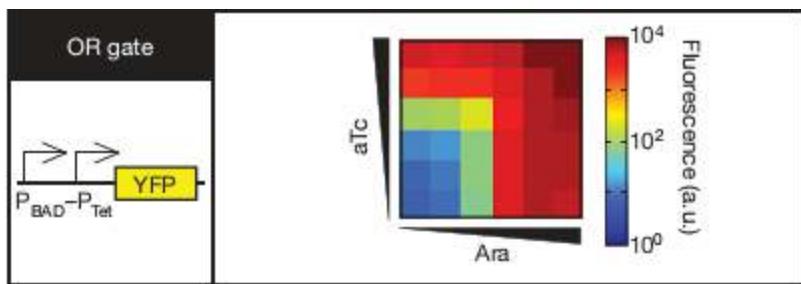
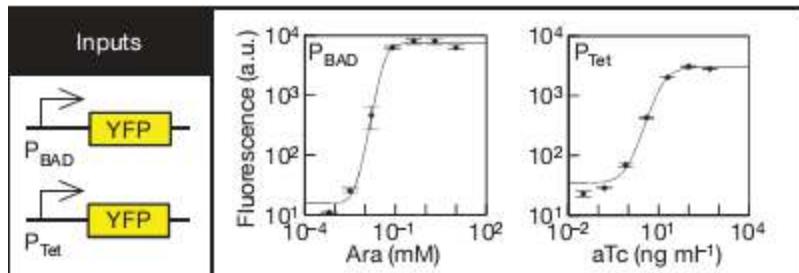
Задача 3. Логические элементы



Inputs		
in1	in2	Output
0	0	0
0	1	1
1	0	1
1	1	1



Inputs		
in1	in2	Output
0	0	1
0	1	0
1	0	0
1	1	0

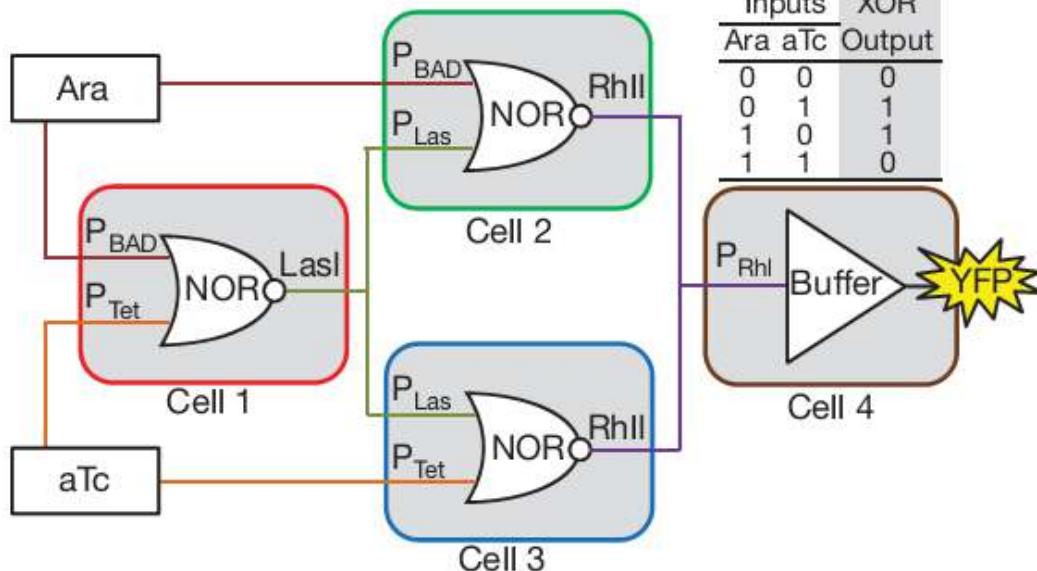


Tamsir, Tabor & Voigt, Nature, 2011

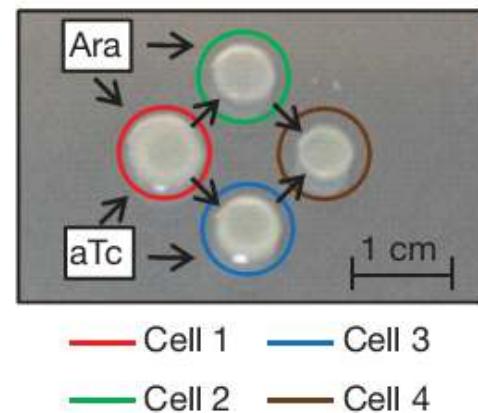


Сложные логические операции

a



b



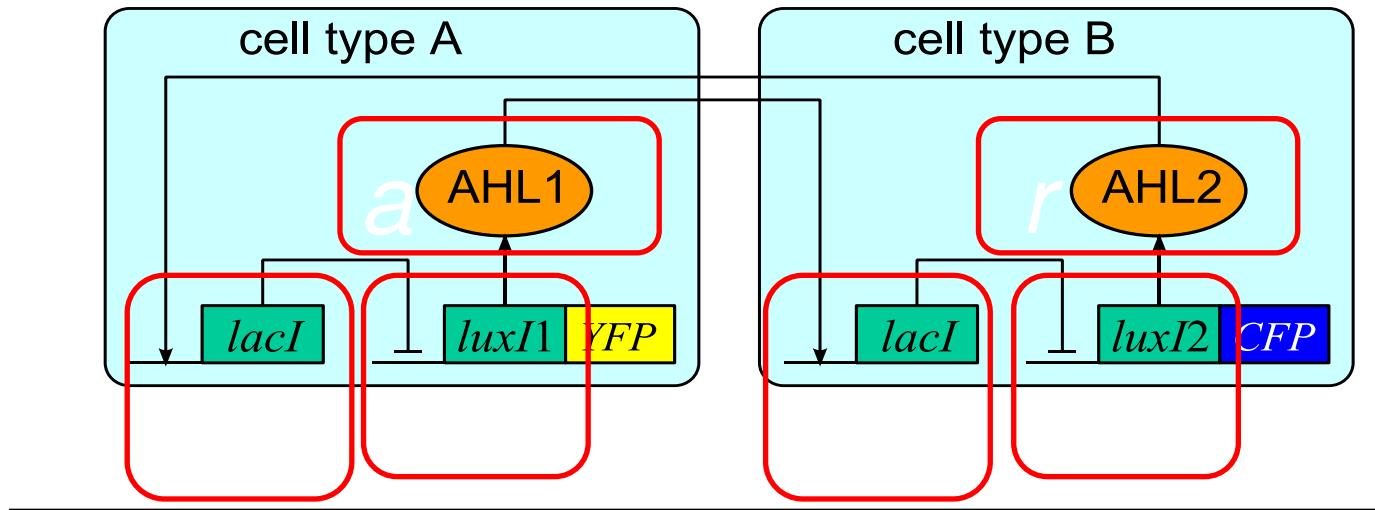
Tamsir, Tabor & Voigt, *Nature*, 2011



Распределенная конкуренция



Две конкурирующих популяции



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

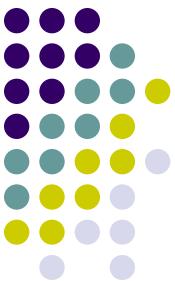
$$\partial_t y = \frac{1}{1 + l_2^m} - y$$

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

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

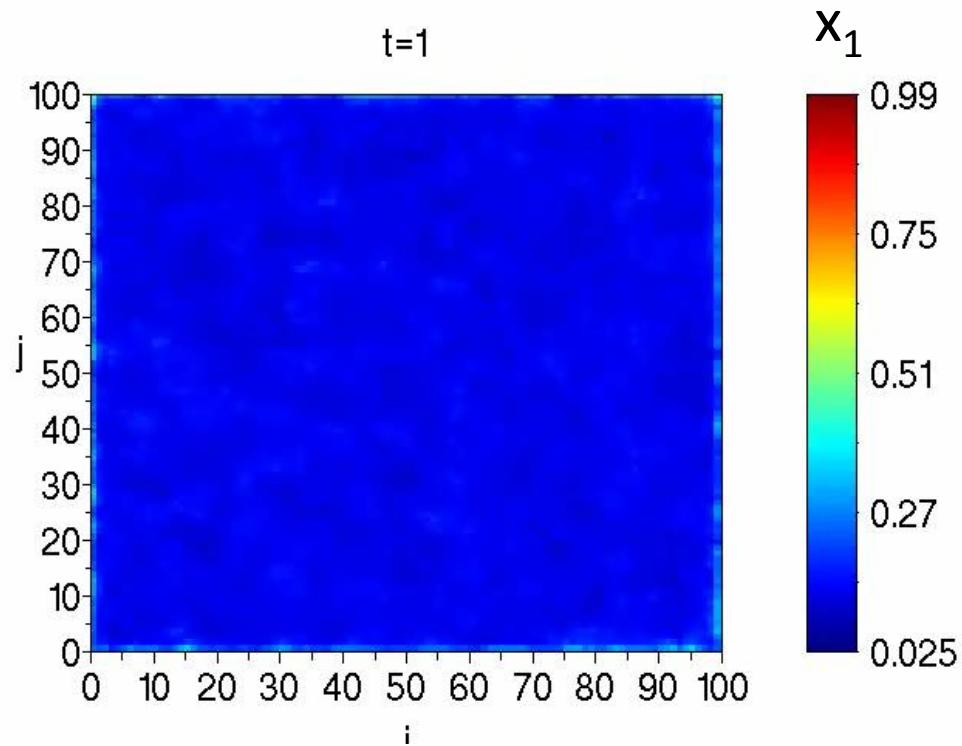
$$\partial_t a = b_3 x - \gamma_3 a + D \Delta a$$

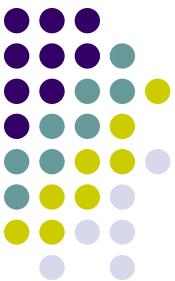
$$\partial_t r = b_3 y - \gamma_3 r + D \Delta r,$$



Конкуренция на плоскости

Мобильные фронты, всегда есть победитель





Связь с популяционной динамикой

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

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

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

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

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

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

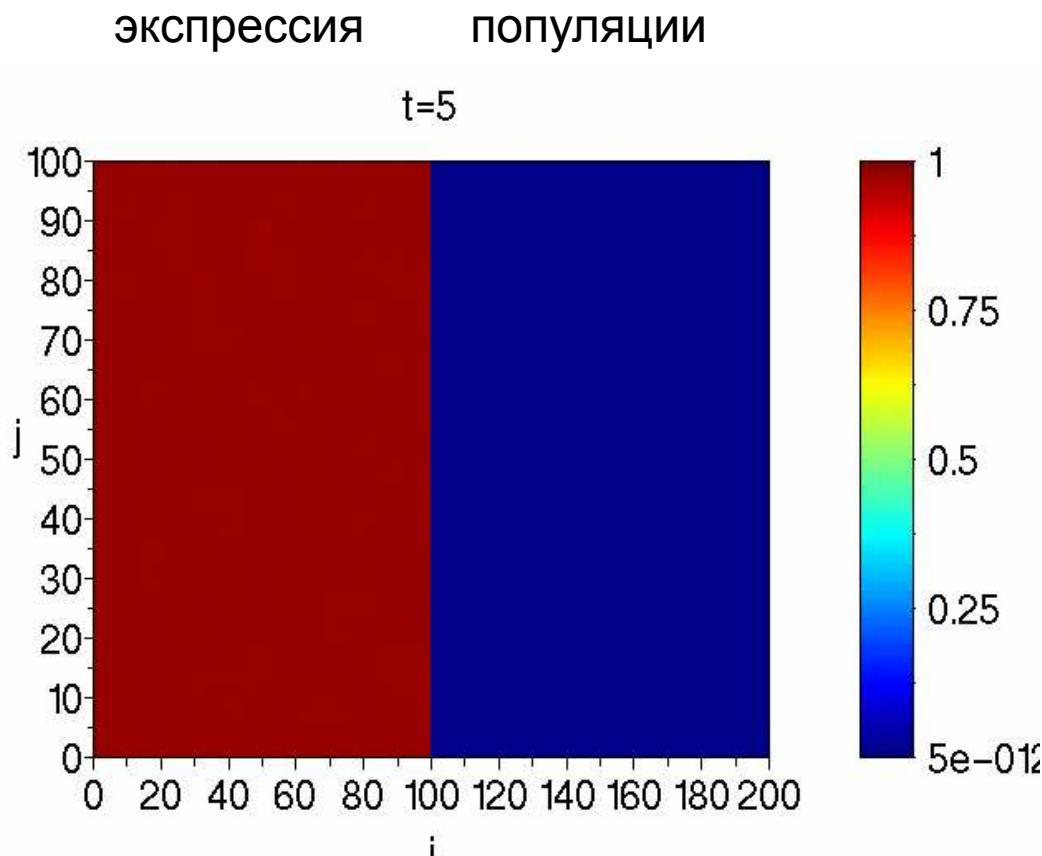
$$\partial_t r = b_3 n_2 y - \gamma_3 r + D \Delta r$$

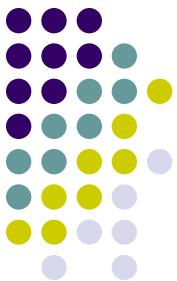
$$\partial_t n_2 = p n_2 \left(\frac{y}{k+y} - (n_1 + n_2) \right) + D_n \Delta n_2.$$

Резистентность к антибиотикам под репрессией конкурента



Стабилизация фронтов





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