

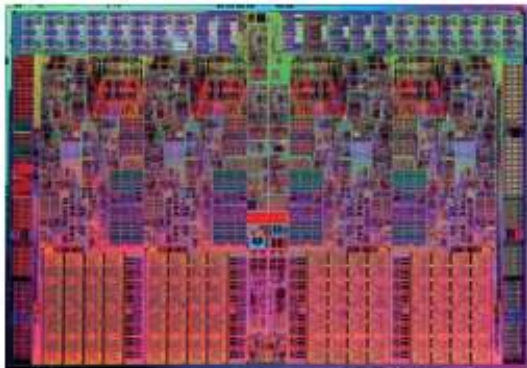
# Распределенный синтетический генный осциллятор



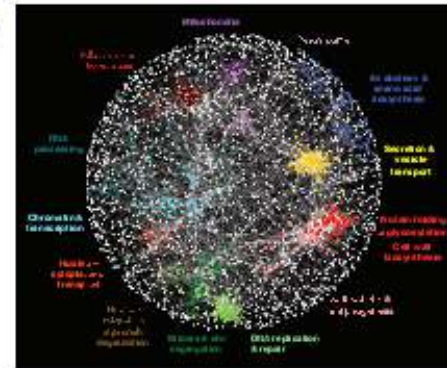
М.В. Иванченко<sup>1</sup>, Т.В. Лаптева<sup>1</sup>, Л. Цимринг<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Нижегородский государственный университет

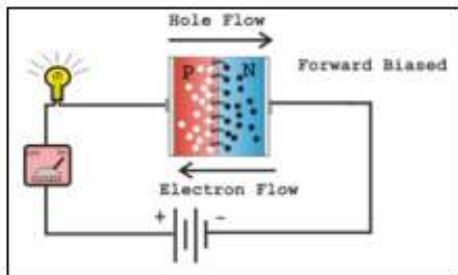
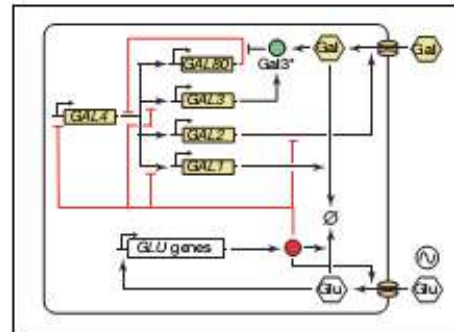
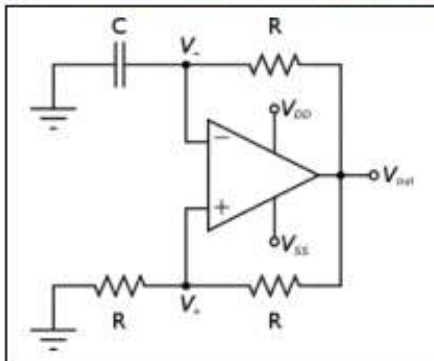
<sup>2</sup>Biocircuits Institute, USCD, USA



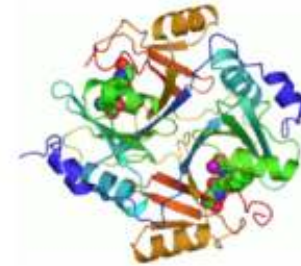
# Systems Biology

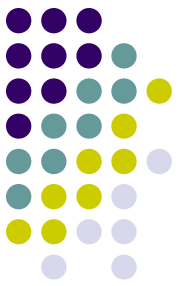


↑  
scale



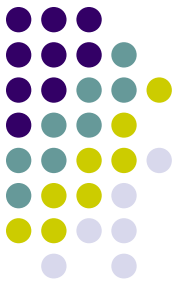
# Synthetic Biology





# Колебания экспрессии генов

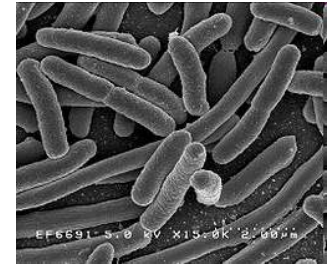
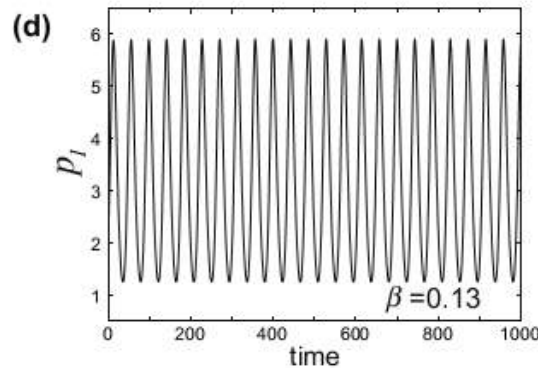
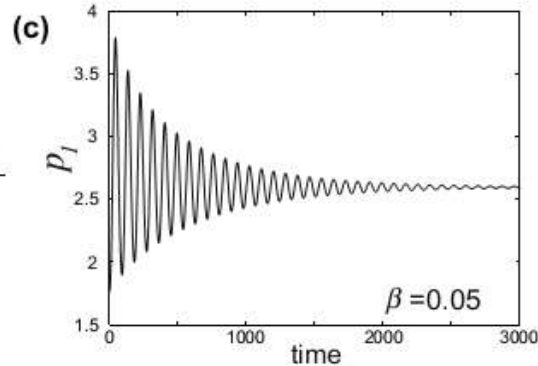
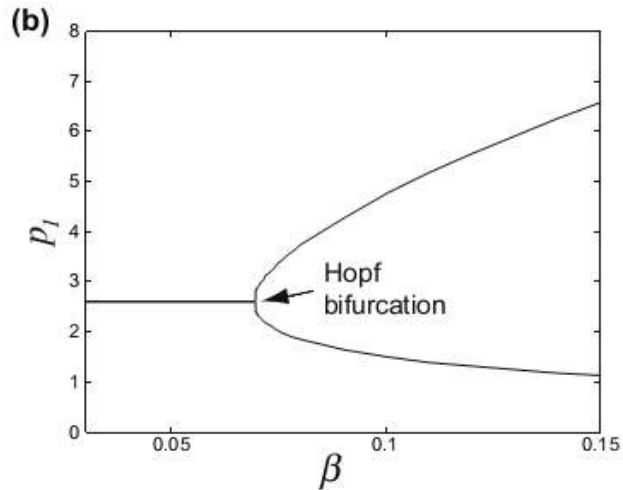
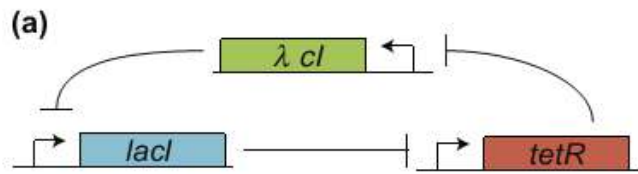
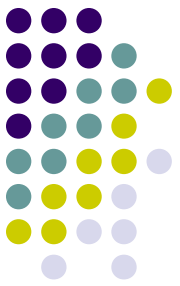
- Циркадные осцилляторы (генные часы)
- Развитие клеток (колебания Nanog и Hes1 – управление дифференциацией, гетерогенностью, часы сегментации)
- Биосенсоры (детектирование химических веществ)
- Биотехнологии (периодическое производство белка, управление численностью популяции)
- ...



# Колебания экспрессии генов

- Циркадные осцилляторы (генные часы)
- Развитие клеток (колебания Nanog и Hes1 – управление дифференциацией, гетерогенностью, часы сегментации)
- Биосенсоры (детектирование химических веществ)
- Биотехнологии (периодическое производство белка, управление численностью популяции)
- ...

# Синтетические осцилляторы. Репресселлятор



E. Coli

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

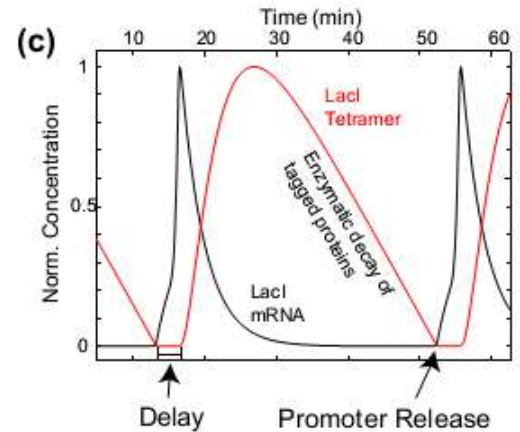
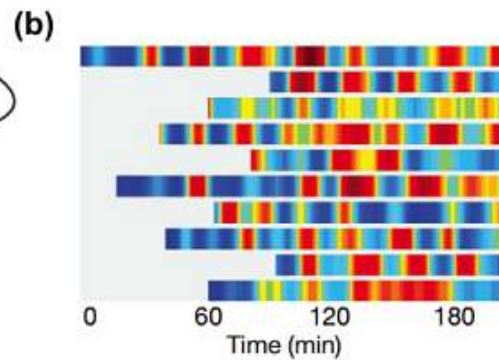
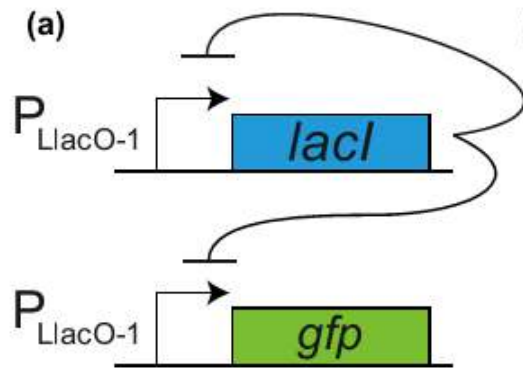
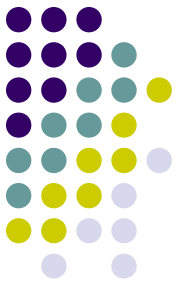
$$\dot{x}_i = -\beta(x_i - m_i),$$

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

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

Elowitz & Leibler, Nature, 2000

# Синтетические осцилляторы. Авторепрессор



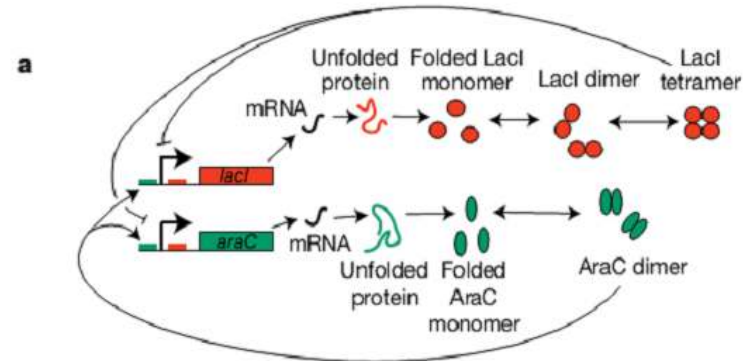
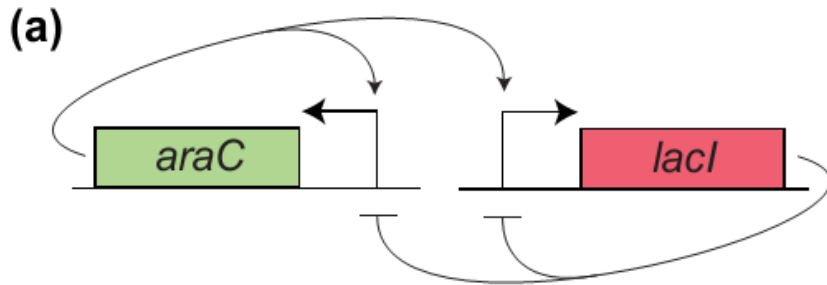
$$\dot{x} = \frac{\alpha'}{1 + (x_\tau/K)^\beta} - \frac{Vx}{K_m + x} - \gamma x$$

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

*Striker et al., Nature, 2008*



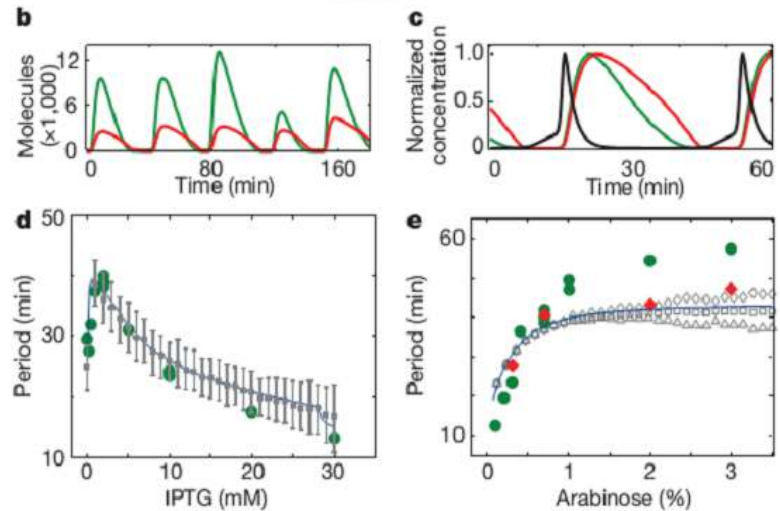
# Осциллятор с репрессией и активацией

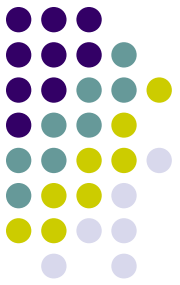


$$\dot{a} = p_a \frac{1 + \alpha a^2}{(1 + a^2)(1 + r^4)} - \gamma_a a,$$

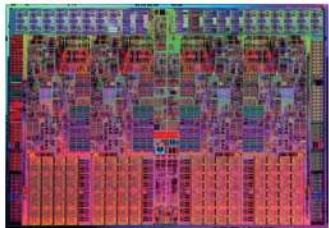
$$\dot{r} = p_r \frac{1 + \alpha a^2}{(1 + a^2)(1 + r^4)} - \gamma_r r,$$

Stricker et al., Nature, 2008

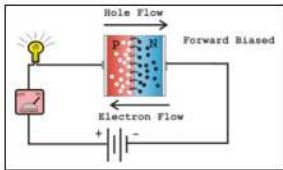
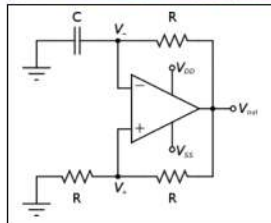
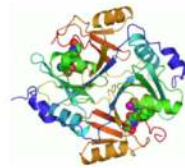
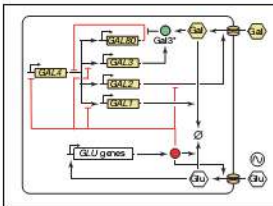
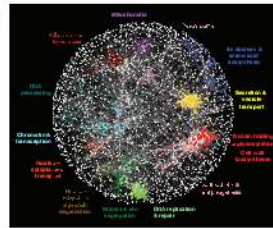




# К распределенным взаимодействиям



Systems Biology



↑  
scale

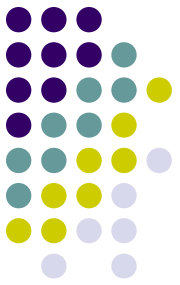
## Ограничения одной клетки:

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

## Решение:

- Распределенные контуры и межклеточная коммуникация

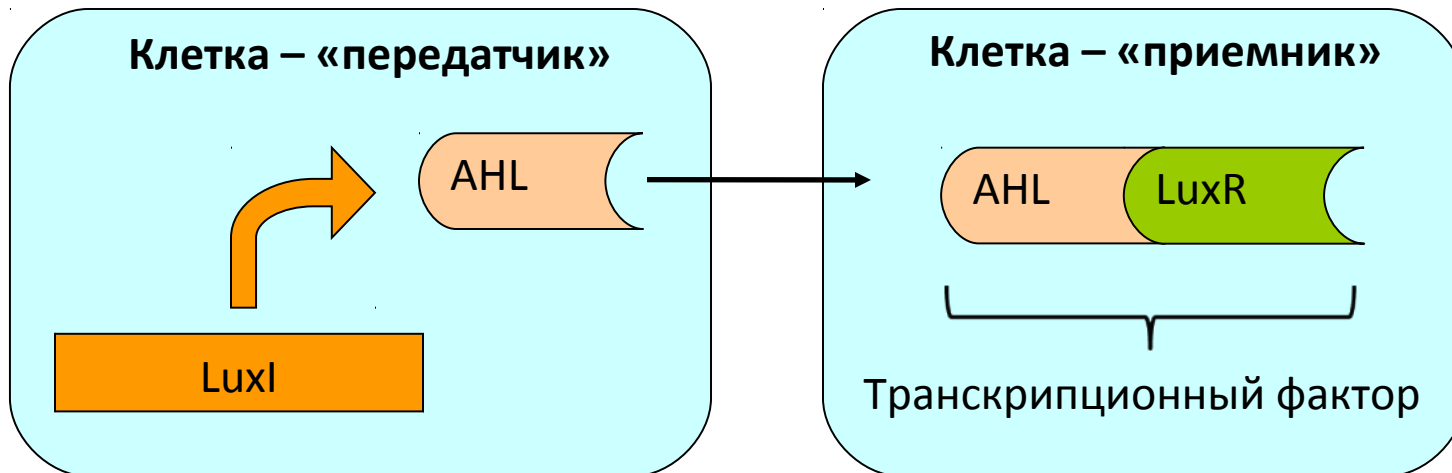




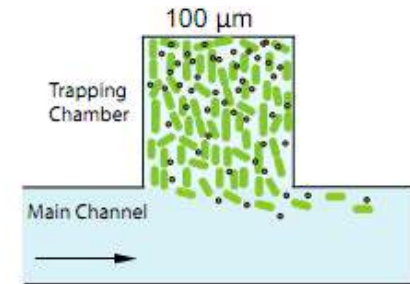
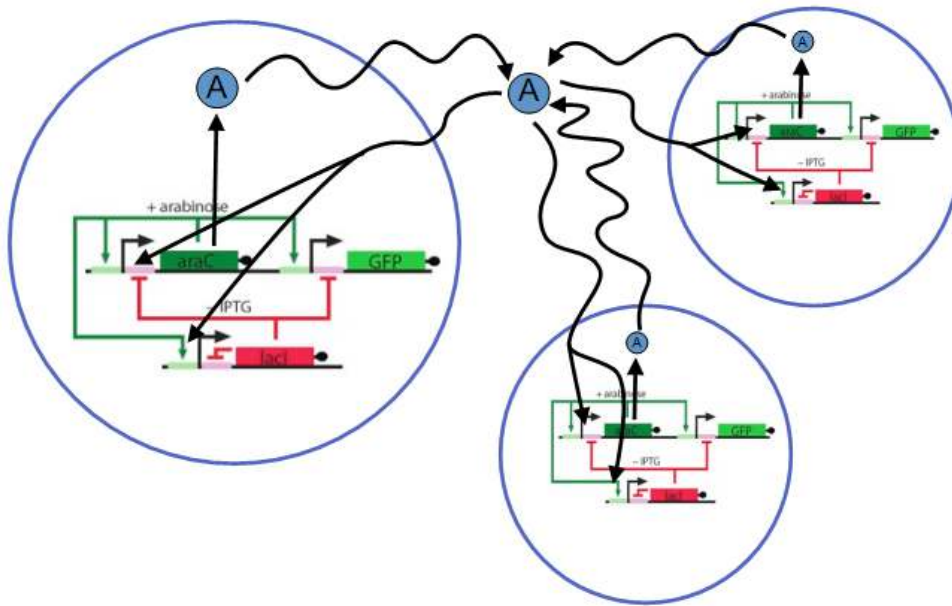
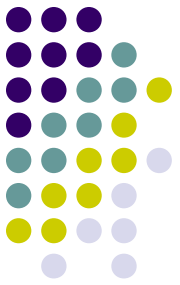
# Межклеточная коммуникация

Кворум-сенсинг:

Семейство AHL (ацил-хомосерин-лактон) лиганд



# Межклеточная коммуникация: синхронизация



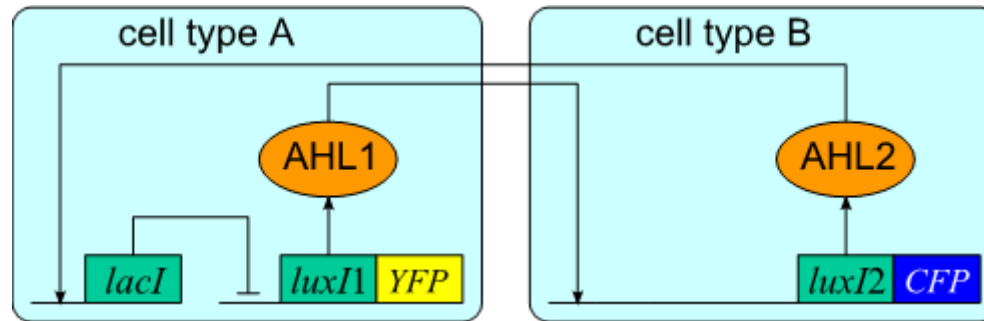
*Danino et al., Nature, 2010*

# Распределенный генный осциллятор



Клетки-активаторы

Клетки-репрессоры



[LuxI1]

[LacI]

[AHL1]

$$\begin{aligned} \partial_t x &= \frac{1}{1 + (l_1/L)^m} - \frac{x}{1 + f(x + l_1)} \\ \partial_t l_1 &= \gamma_2 \left[ l_0 \frac{\mu + r_\tau}{1 + r_\tau} - \frac{l_1}{1 + f(x + l_1)} \right] \\ \partial_t a &= n_1 b_3 x - \gamma_3 a + D \Delta a \end{aligned}$$

$$\partial_t y = l_0 \frac{\mu + a_\tau}{1 + a_\tau} - \frac{y}{1 + f y}$$

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

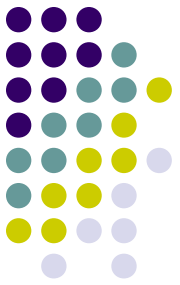
[LuxI2]

[AHL2]

IPTG, индуктор

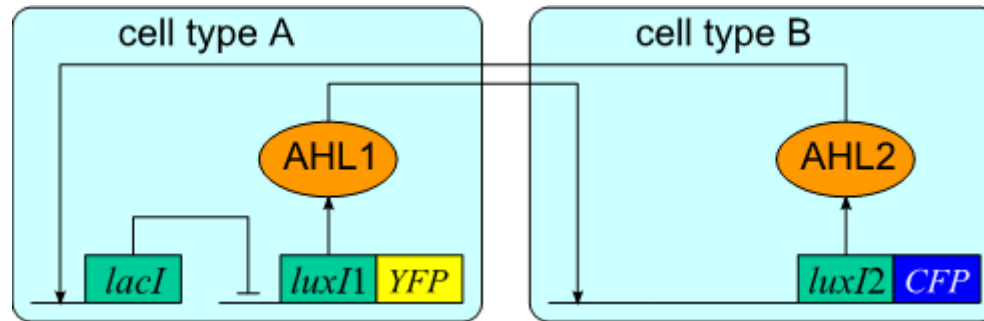
Диффузия

# Распределенный генный осциллятор



Клетки-активаторы

Клетки-репрессоры



[LuxI1]

[LacI]

[AHL1]

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

$$\partial_t l_1 = \gamma_2 \left[ l_0 \frac{\mu + r_\tau}{1 + r_\tau} - \frac{l_1}{1 + f(x + l_1)} \right]$$

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

$$\partial_t y = l_0 \frac{\mu + a_\tau}{1 + a_\tau} - \frac{y}{1 + f(y)}$$

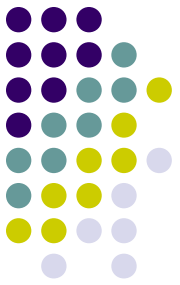
$$\partial_t r = n_2 b_3 y - \gamma_3 r + D \Delta r$$

[LuxI2]

[AHL2]

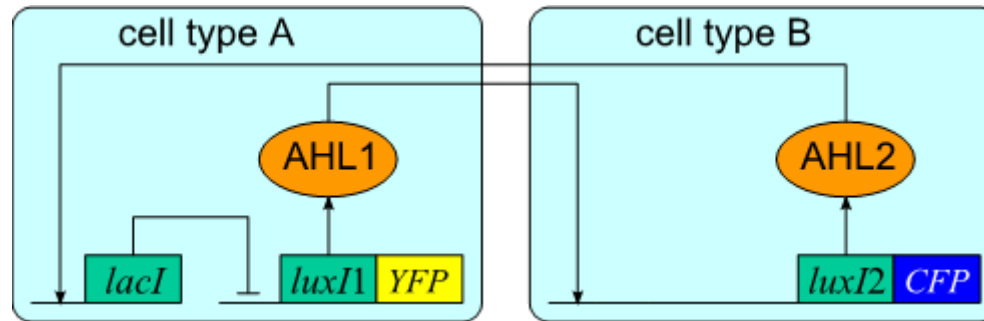
Энзимная деградация

# Распределенный генный осциллятор



Клетки-активаторы

Клетки-репрессоры



[LuxI1]

[LacI]

[AHL1]

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

$$\partial_t l_1 = \gamma_2 \left[ l_0 \frac{\mu + r_\tau}{1 + r_\tau} - \frac{l_1}{1 + f(x + l_1)} \right]$$

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

$$\partial_t y = l_0 \frac{\mu + a_\tau}{1 + a_\tau} - \frac{y}{1 + f y}$$

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

[LuxI2]

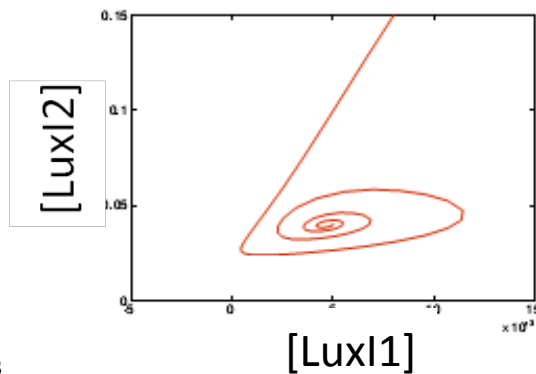
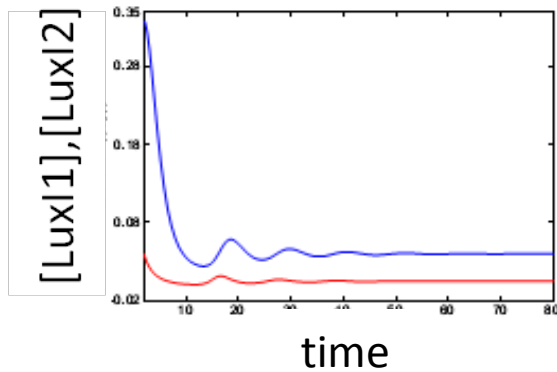
[AHL2]

Задержка по времени



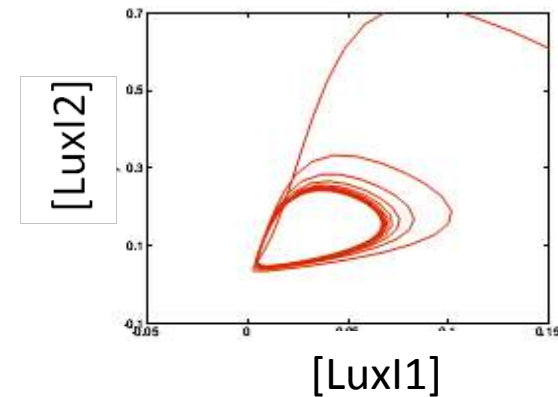
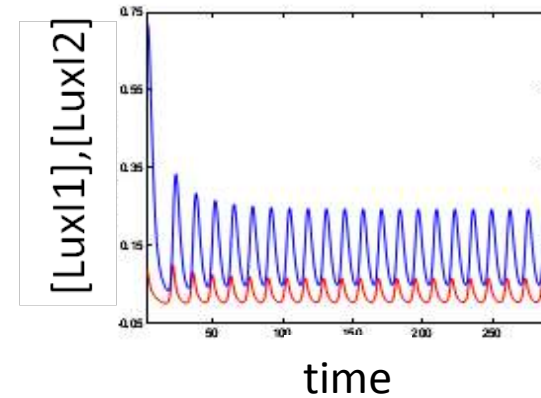
# Локальная динамика (без диффузии)

## Равновесие



## Колебания

- Насыщение энзимной деградации
- Эффективная задержка по времени

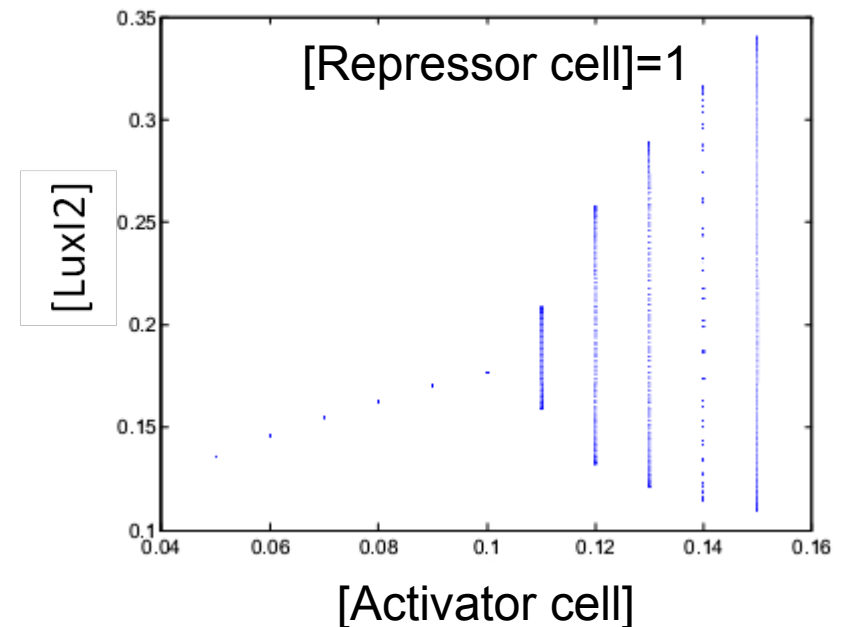
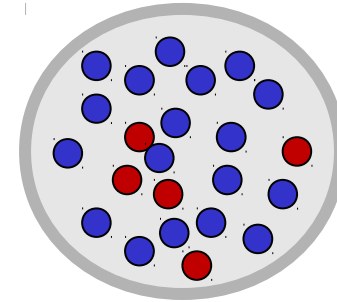


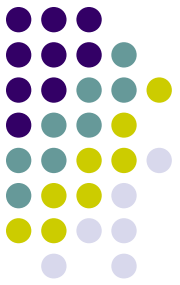


# Пространственно-неоднородные популяции



- Большая популяция репрессоров
- Локальные в пространстве колонии активаторов могут вызывать локальные колебания
- Относительно малые плотности активаторов – чувствительность
- Биосенсор фенотипа

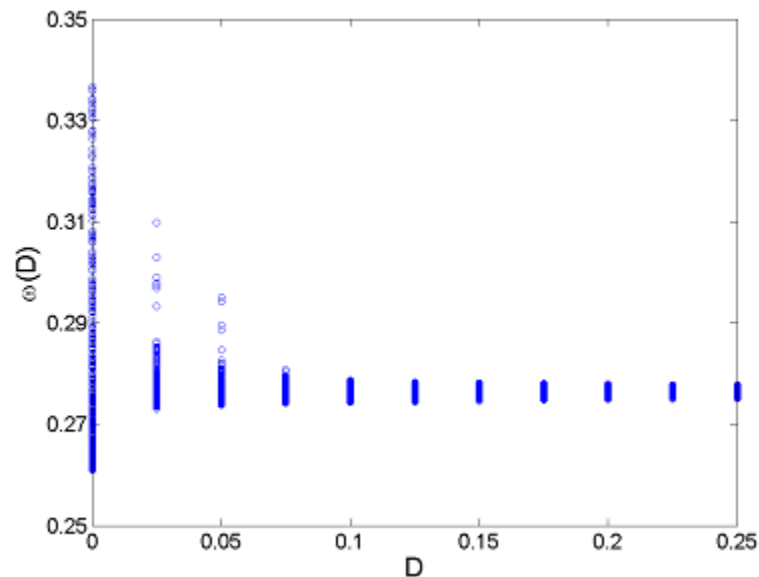


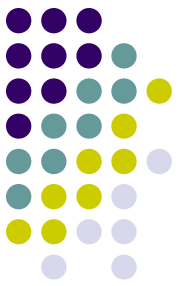


# Синхронизация

Пространственно-неоднородные колонии:

- Низкочастотные области выигрывают
- Результирующая частота синхронизации устойчива к локальным неоднородностям





# Выводы

- Распределенный генный осциллятор может быть реализован на базе клеток двух типов: активаторов и репрессоров, которые взаимодействуют посредством ортогональных сигналов кворум-сенсинга
- Кворум-сенсинг синхронизирует локально разночастотные колебания
- Синхронизация происходит на низкой частоте
- Дает устойчивость общей частоты колебаний относительно локальных неоднородностей популяций
- Потенциальная применимость как биосенсора клеточных фенотипов