

PA054: Formální modely v systémové biologii

David Šafránek

25.4.2012

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



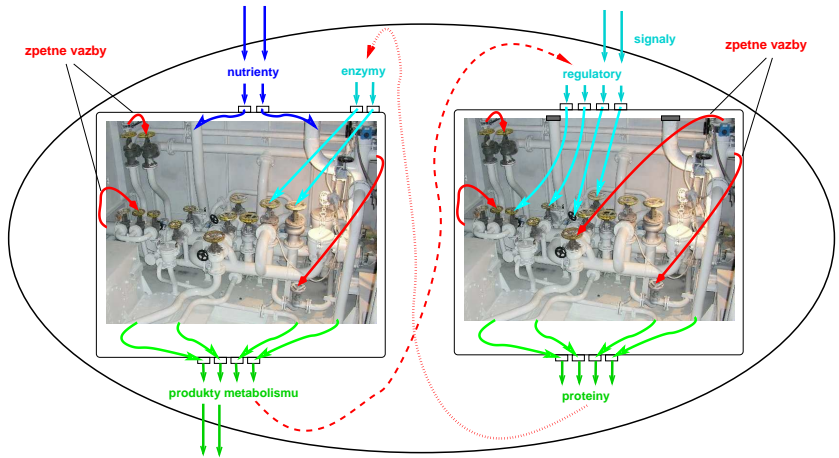
Obsah

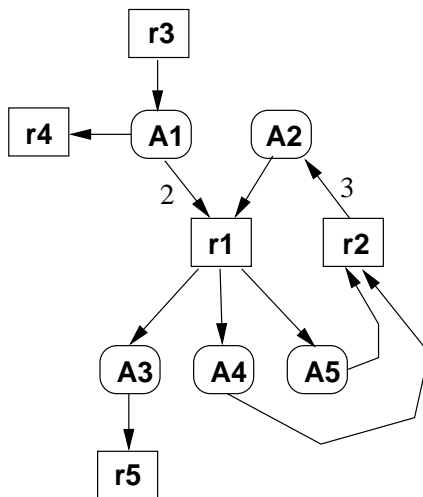
Modelování regulačních sítí

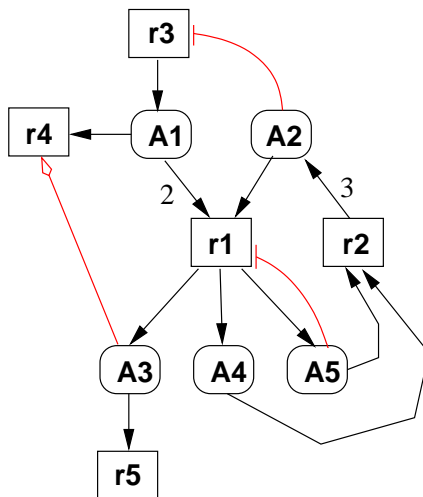
Diskrétní aproximace

Diskrétní modely regulačních interakcí

Model regulační sítě



Model regulační sítě

Model regulační sítě

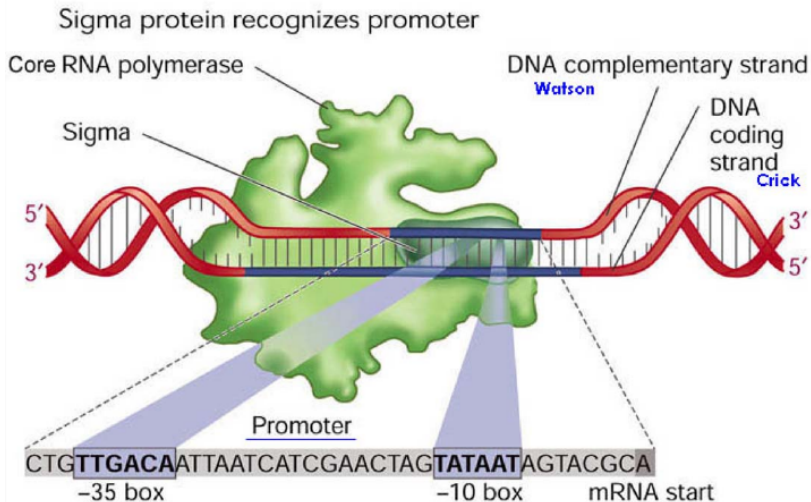
Model regulační sítě

- uvažujeme modely tvaru
 $\mathcal{M} = \langle S, R, \text{reanet}, \text{regnet}, \text{map}, \text{rates} \rangle$, kde $\text{regnet} \neq \emptyset$
- $\text{regnet} \subseteq S \times R \times \{\text{inh}, \text{act}\}$
- každou regulaci lze vyjádřit reakční sítí
- důvod pro zavádění regulací je abstrakce
 - \Rightarrow snížení dimenzionality
 - \Rightarrow zjednodušení modelu
 - \Rightarrow modelování “neznámých” procesů
- regulace lze kvantifikovat parametry
 - omezující podmínky specifikující aktivní konfiguraci regulátoru
 - např. prahová koncentrace regulátoru
- příkladem je regulace proteosyntézy (transkripční regulace)

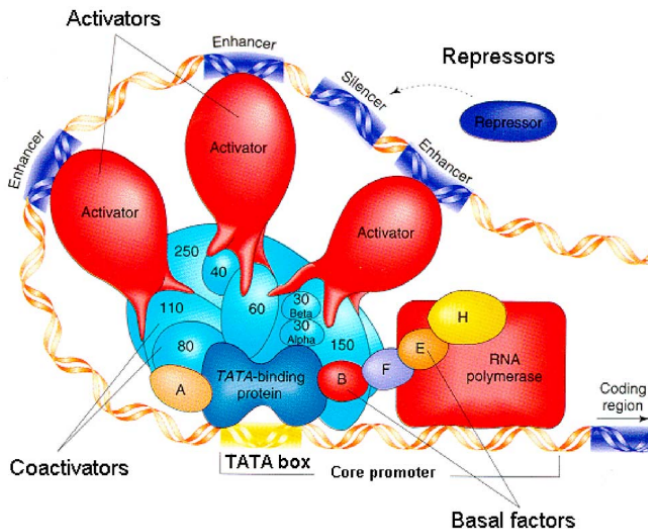
Distribuce časových škál v buňce

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	$\sim 1h$

Transkripce v prokaryotické buňce



Transkripce v eukaryotické buňce



Jak modelovat dynamiku transkripční regulace?

- chceme modelovat změny koncentrace proteinů se zaměřením na jejich syntézu a rozpad v buňce
 - časová škála životnosti proteinů
 - např. v *E. coli* \sim desítky minut - hodiny
 - vs. doba jednoho buněčného cyklu (u *E. coli* min. 30 minut)
 - doba odezvy syntézy jedné molekuly proteinu \sim jednotky minut
- \Rightarrow dynamika proteinů zajímavá v časové škále desítek minut

Transkripční kinetika dle mass action



- uvažujme dynamiku (syntéza, rozpad) proteinu Y

syntéza:



rozpad:

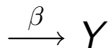


- obě reakce zahrnují mnoho dílčích jevů
 - $r1$ tvorba mRNA, činnost transkripčních faktorů, tvorba tRNA, činnost RNA polymerázy, ...
 - $r2$ rozpad proteinu v buňce, snížení koncentrace vlivem růstu, ...

Transkripční kinetika dle mass action

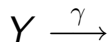
- uvažujme dynamiku (syntéza, rozpad) proteinu Y

syntéza:



β ... produkční koeficient [$M \cdot s^{-1}$]

rozpad:

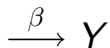


γ ... degradační koeficient [s^{-1}]

Transkripční kinetika dle mass action

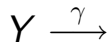
- uvažujme dynamiku (syntéza, rozpad) proteinu Y

syntéza:



β ... produkční koeficient [$M \cdot s^{-1}$]

rozpad:



γ ... degradační koeficient [s^{-1}]

- dle mass action kinetics dostáváme:

$$\frac{dY}{dt} = \beta - \gamma Y$$

Transkripční kinetika dle mass action

- dle mass action kinetics máme:

$$\frac{dY}{dt} = \beta - \gamma Y$$

- $\beta \sim \beta' \cdot p$

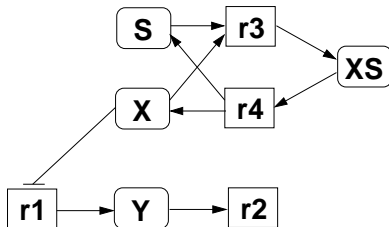
β' ... rychlost transkripce (inflow mRNA) [$\#mRNA \cdot sec^{-1}$]

p ... množství molekul Y vyrobených translací z jedné mRNA

- γ ... rychlost rozpadu proteinu + dilatace buňky

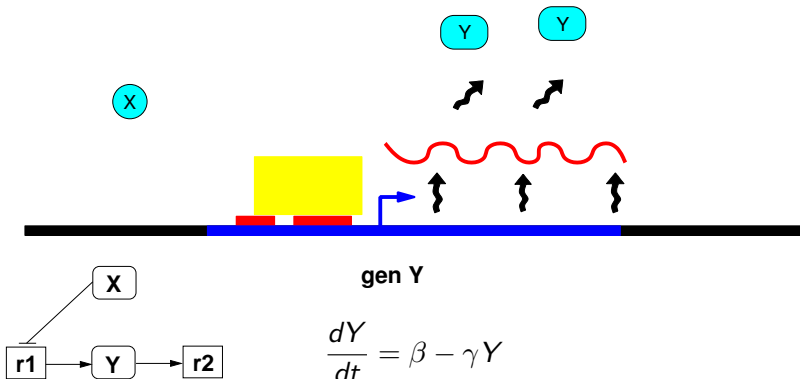
Negativní regulace (represe) transkripce

- transkripční faktor X degraduje transkripci proteinu Y
- řízeno snížením řídicího signálu S (uvolnění X z vazby $X : S$)



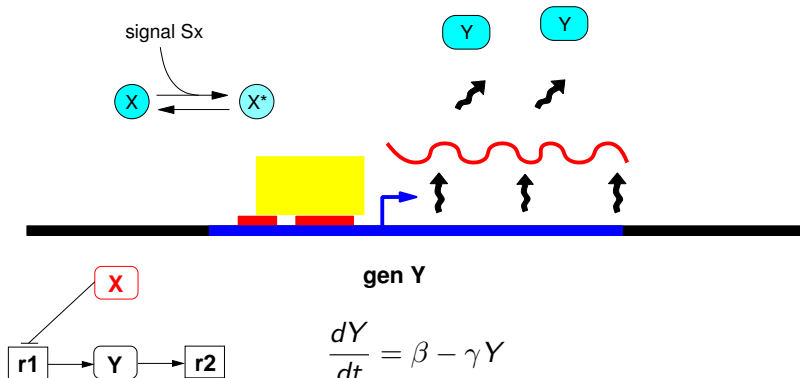
Negativní regulace (represe) transkripce

- transkripční faktor X degraduje transkripci proteinu Y
- řízeno snížením řídicího signálu S (uvolnění X z vazby $X : S$)



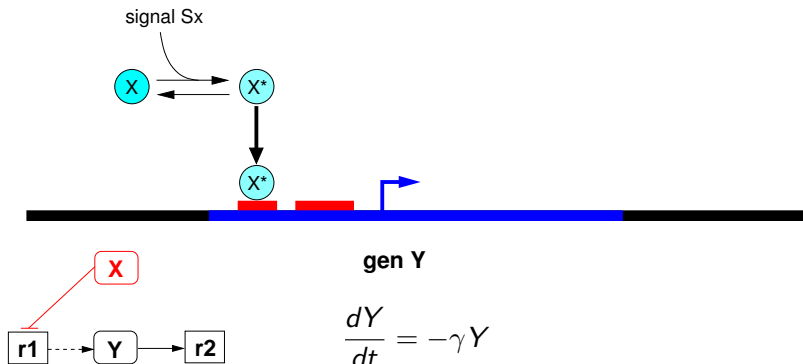
Negativní regulace (represe) transkripce

- transkripční faktor X degraduje transkripci proteinu Y
- řízeno snížením řídicího signálu S (uvolnění X z vazby $X : S$)

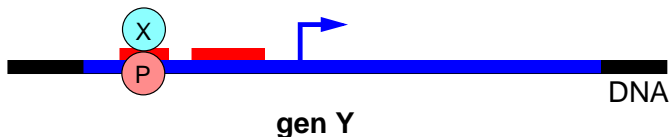


Negativní regulace (represe) transkripce

- transkripční faktor X degraduje transkripci proteinu Y
- řízeno snížením řídicího signálu S (uvolnění X z vazby $X : S$)



Vazba represoru na promotor



- reakční síť:



- totální koncentrace promotoru (P_T) konzervována mezi volné promotory (volné molekuly substrátu P) a vázané promotory (komplexy $[XP]$)

$$P_T = [XP] + P$$

Dynamika vazby represoru na promotor

- dynamika komplexu XP (mass action):

$$\frac{d[XP]}{dt} = k_{on}XP - k_{off}[XP]$$

- kin. konstanta mass action (zde k_{on}) je obecně limitována fyzikálními možnostmi kolize proteinových molekul:

$$k_{on} \sim 10^8 - 10^9 M^{-1} s^{-1}$$

- uvažujeme-li kolize molekuly proteinu X s DNA, je limit vyšší (fyzikální tendence “1-dimenzionálního pohybu” po DNA):

$$k_{on} \sim 10^{10} - 10^{11} M^{-1} s^{-1}$$

- k_{off} [s^{-1}] determinováno vlastnostmi chemické vazby $X : P$

Dynamika vazby represoru na promotor

Kvazistabilní aproximace

- reakční toky v síti $X + P \rightleftharpoons XP$ se ustálí:

$$\frac{d[XP]}{dt} = 0 \Leftrightarrow k_{on}XP - k_{off}[XP] = 0$$

$$\Leftrightarrow \frac{k_{off}}{k_{on}} = \frac{XP}{[XP]}$$

- $K_d = \frac{k_{off}}{k_{on}} [M]$ nazýváme *disociačním prahem*
- čím větší je K_d tím slabší je vazba $X : P$

Dynamika vazby represoru na promotor

- připomeňme $P_T = [XP] + P$
- v buňce je mnoho kopií DNA, tedy mnoho promotorů
- pro procento všech volných (aktivních) promotorů platí:

$$\frac{P}{P_T} = \frac{1}{1 + \frac{X}{K_d}}$$

- většina vazeb represor-promotor splňuje $k_{off} > 1s^{-1}$
 - časová škála $[XP] \sim$ jednotky sekund (vs. transkripce $\sim [min]$)
 - průměr přes mnoho událostí syntézy a rozpadu $[XP]$ v čase
- $\Rightarrow \frac{P}{P_T} \approx$ pravděpodobnost jevu, že P je v daném okamžiku volný

$$\frac{P}{P_T} = 1 \Leftrightarrow X = 0$$

$$\frac{P}{P_T} = \frac{1}{2} \Leftrightarrow X = K_d$$

Aktivita promotoru

- v nepřítomnosti represoru (P volný) se váže RNA-polymeráza
- tato situace určuje *maximální transkripční koeficient* β_{max}

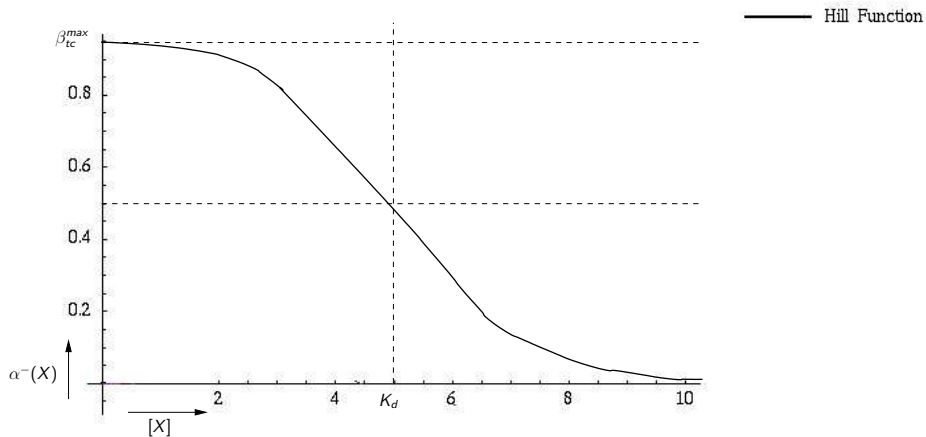
$$\beta_{max} \sim 10^{-4} - 10^0 [\#mRNA \cdot s^{-1}]$$

- β_{max} je dána mnoha biofyzikálními aspekty
 - např. pozice vazebného místa [DNA]:[RNAPolymeráza]
- *aktivita promotoru* P regulovaného represorem X :

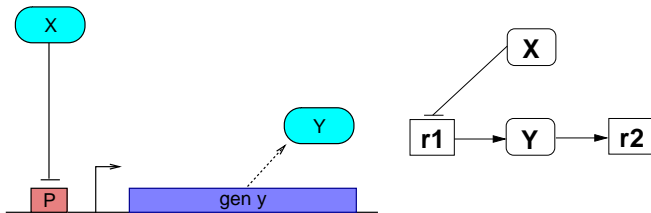
$$\alpha_P^-(X) = \frac{\beta_{max}}{1 + \frac{X}{K_d}}$$

- tzv. Hillova funkce

Aktivita promotoru v závislosti na regulujícím represoru



Expresse genu v závislosti na regulujícím represoru



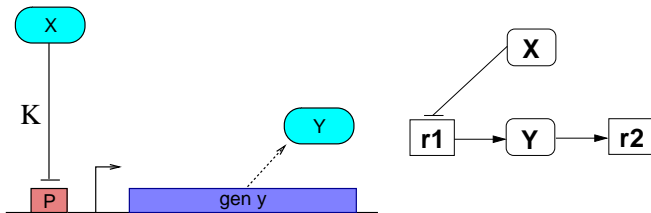
reakční síť:



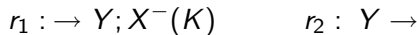
model kinetiky:

$$\frac{dY}{dt} = \alpha_P^-(X) - \gamma Y$$

Expresse genu v závislosti na regulujícím represoru



reakční síť:

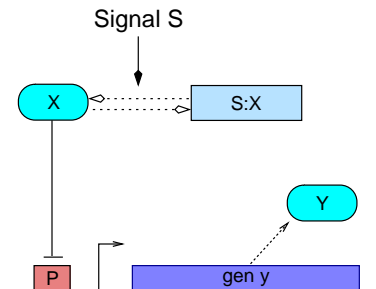


model kinetiky:

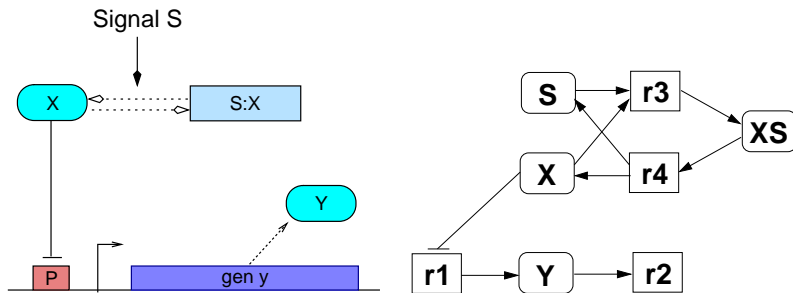
$$\frac{dY}{dt} = \beta_{max} \frac{1}{1 + \frac{X}{K}} - \gamma Y$$

Aktivní vs. pasivní forma represoru

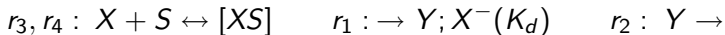
- represor X je účinný pouze ve volné (aktivní) formě (X^*)
- vazba se signální molekulou S
- neaktivní forma represoru je zcela v komplexu $[XS]$



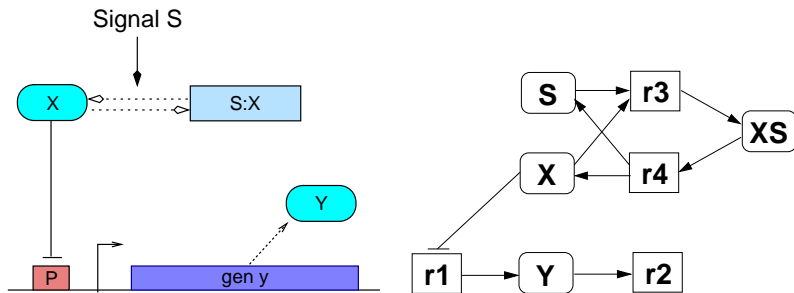
Aktivní vs. pasivní forma represoru



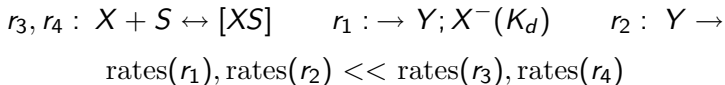
reakční síť:



Aktivní vs. pasivní forma represoru

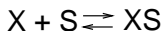


reakční síť:



Aktivace represoru

- reakční síť:



- totální koncentrace represoru v buňce (X_T) konzervována mezi X (volné výskyty) a $[XS]$ (vázané výskyty)

$$X_T = [XS] + X$$

- dynamika komplexu $[XS]$ (mass action):

$$\frac{d[XS]}{dt} = k_{on}XS - k_{off}[XS]$$

Aktivace represoru

- ve stabilním stavu platí:

$$\frac{k_{off}}{k_{on}} [XS] = XS$$

- $K_s = \frac{k_{off}}{k_{on}} [M]$ je tzv. *disociační konstanta*

$$[XS] = \frac{X_T S}{S + K_s}$$

- koncentrace aktivního represoru:

$$X = X_T - [XS]$$

$$X = \frac{X_T}{1 + \frac{S}{K_s}}$$

Represní vstupní funkce promotoru

- předpokládáme promotor P a represor X aktivovaný signálem S
- dána aktivitou P regulovanou **aktivním** represorem X :

$$f_P^-(X) = \alpha_P^-(X) = \frac{\beta_{max}}{1 + \frac{X}{K_d}}$$

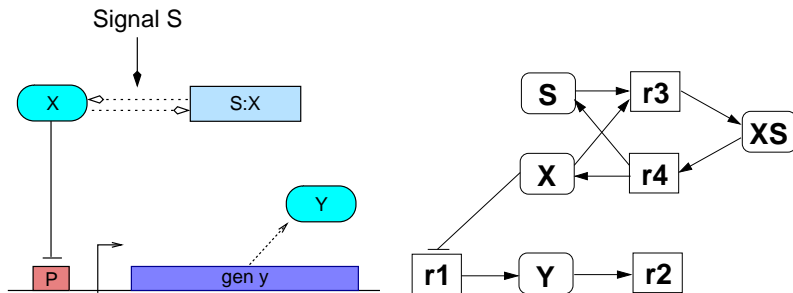
- závislost na vstupním signálu (konst. koncentrace X_T):

$$f_P^-(S) = \frac{\beta_{max}}{1 + \frac{X_T}{K_d + \frac{K_d S}{K_s}}}$$

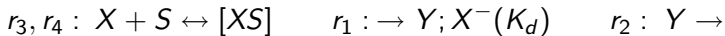
- závislost na vstupním signálu a koncentraci aktivního represoru:

$$f_P^-(X, S) = \frac{\beta_{max}}{1 + \frac{X + [XS]}{K_d + \frac{K_d S}{K_s}}}$$

Model regulace represoru



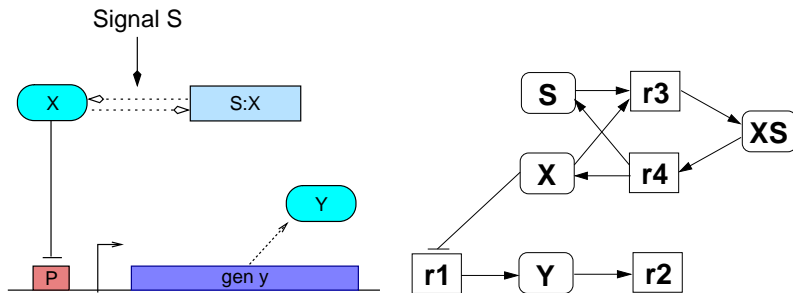
reakční síť:



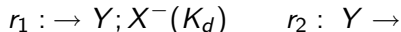
model dynamiky:

$$\frac{dY}{dt} = f^-(S, X) - \gamma Y$$

Model regulace represoru



reakční síť:

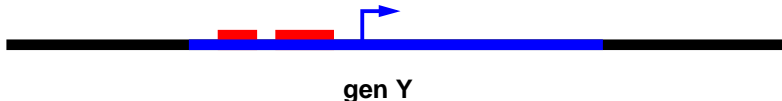


zjednodušený model dynamiky (pro S konstantní):

$$\frac{dY}{dt} = f^-(X) - \gamma Y$$

Pozitivní regulace (aktivace) transkripce

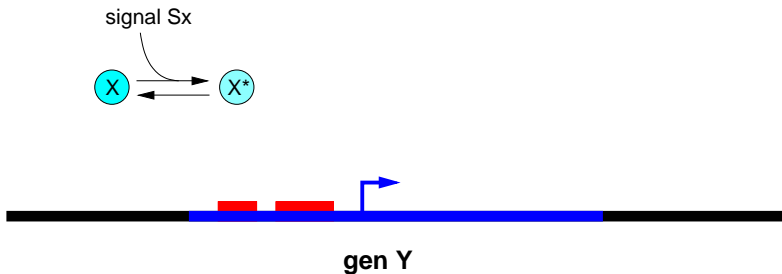
- transkripční faktor X aktivuje transkripci proteinu Y
- řízeno zvýšením řídicího signálu S (X vázáno v $X : S$)



$$\frac{dY}{dt} = -\gamma Y$$

Pozitivní regulace (aktivace) transkripce

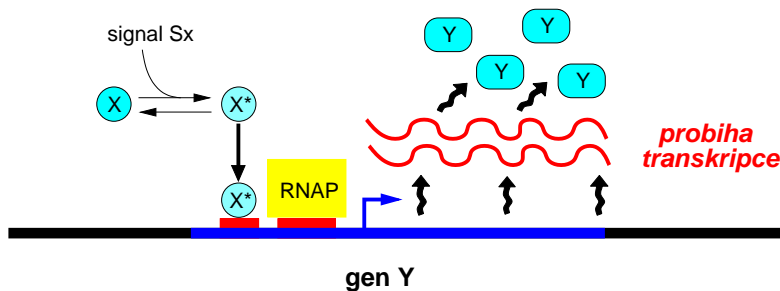
- transkripční faktor X aktivuje transkripci proteinu Y
- řízeno zvýšením řídicího signálu S (X vázáno v $X : S$)



$$\frac{dY}{dt} = -\gamma Y$$

Pozitivní regulace (aktivace) transkripce

- transkripční faktor X aktivuje transkripci proteinu Y
- řízeno zvýšením řídícího signálu S (X vázáno v $X : S$)



$$\frac{dY}{dt} = \beta - \gamma Y$$

Aktivační vstupní funkce promotoru

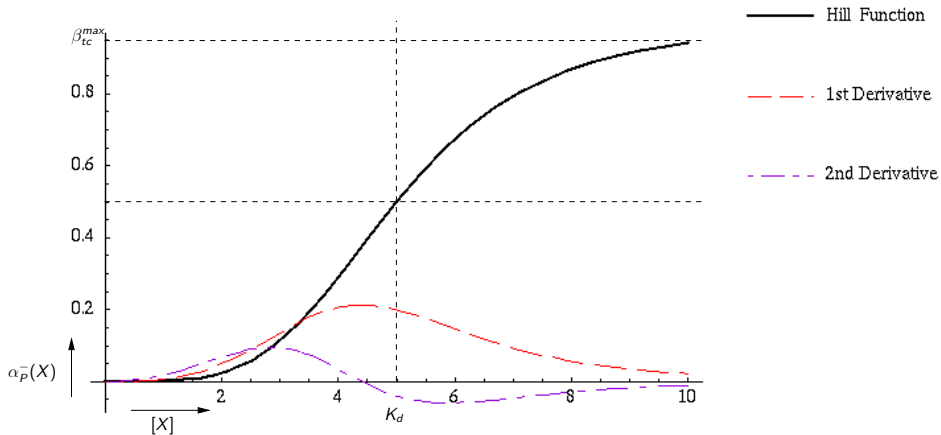
- předpokládáme promotor P a aktivátor X aktivovaný signálem S
- aktivita přímo úměrná koncentraci komplexu $X : P$
- *aktivita promotoru P regulovaného aktivátorem X :*

$$\alpha_P^+(X) = \frac{\beta_{max} X}{K_d + X}$$

- dána aktivitou P regulovanou **aktivním** aktivátorem X :

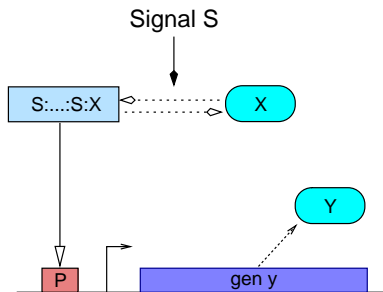
$$f_P^+(X^*) = \alpha_P^+(X^*) = \frac{\beta_{max} X^*}{K_d + X^*}$$

Aktivita promotoru v závislosti na regulujícím aktivátoru



Aktivace aktivační vstupní funkce

- aktivátor X je účinný pouze ve **vázané** (aktivní) formě (X^*)
- vazba se signálním komplexem S
- aktivní forma represoru je zcela v komplexu $[XS]$



Aktivace aktivační vstupní funkce

- aktivátor X je účinný pouze ve **vázané** (aktivní) formě (X^*)
- vazba se signálním komplexem S
- aktivní forma represoru je zcela v komplexu $[XS]$

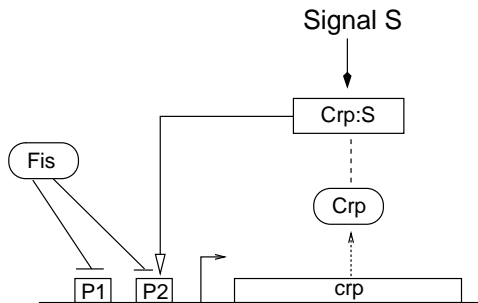
$$f^+(S) = \frac{\beta_{max} X^*}{K_d + X^*}$$

$$X^* = [XS] = \frac{X_T S}{K_x + S}$$

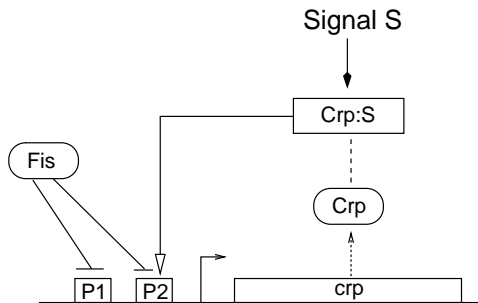
Aproximace pro konstantní S :

$$f_P^+(X) \approx \frac{\beta_{max} X}{K_d + X}$$

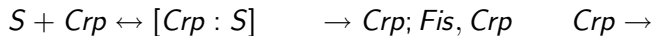
Příklad modelu regulace



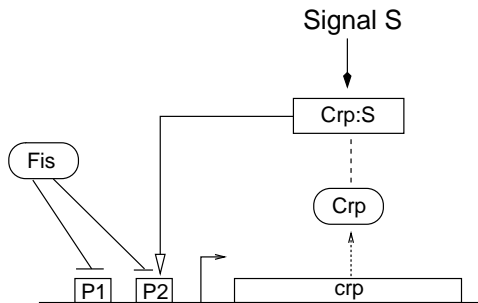
Příklad modelu regulace



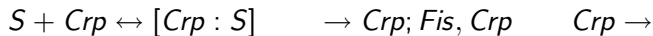
- reakční síť:



Příklad modelu regulace



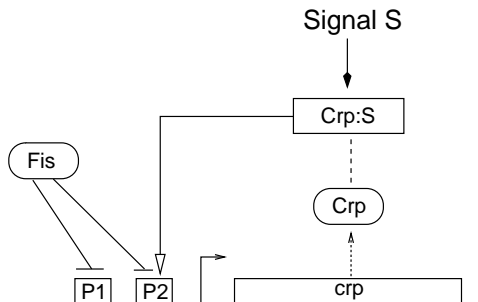
- reakční síť:



- model:

$$\frac{d[Crp]}{dt} = \beta_{P1}^{max} f^-(Fis) + \beta_{P2}^{max} f^-(Fis) f^+(Crp : S) - \gamma[Crp]$$

Příklad modelu regulace



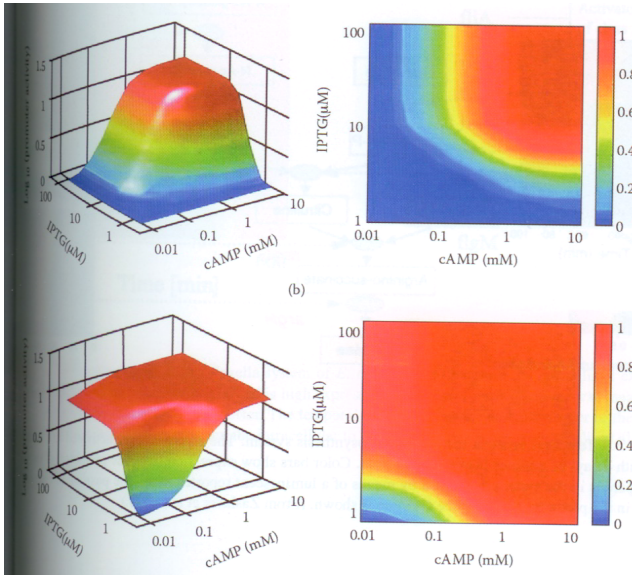
- reakční síť:



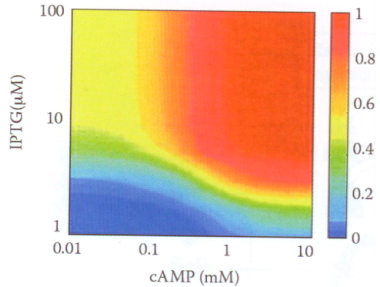
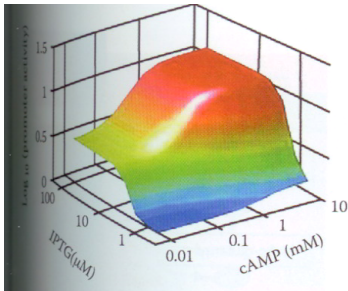
- zjednodušený model (S konstantní):

$$\frac{d[Crp]}{dt} = \beta_{P1}^{max} f^{-}(Fis) + \beta_{P2}^{max} f^{-}(Fis) f^{+}(Crp) - \gamma[Crp]$$

Vícerozměrné vstupní funkce (AND, OR)



Vícerozměrné vstupní funkce



Obsah

Modelování regulačních sítí

Diskrétní aproximace

Diskrétní modely regulačních interakcí

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

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

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

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

Aproximace vstupních funkcí

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

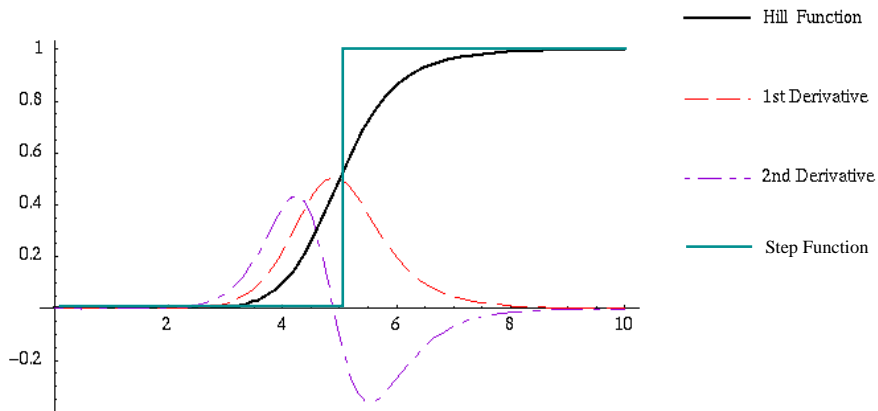
$$f^+(X) \sim \beta s^+(X, K)$$

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

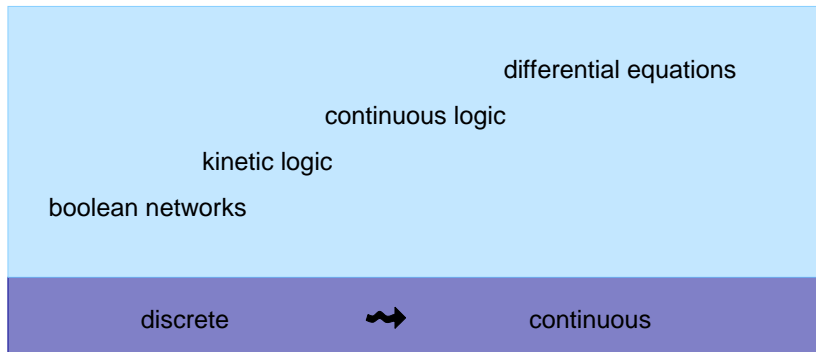
$$s^+(X, K) = \begin{cases} 1, & \text{if } X > K, \\ 0, & \text{if } X < K, \end{cases} \quad s^-(X, K) = 1 - s^+(X, K)$$

- aproximace odpovídá zavedení tzv. “kinetické logiky”

Diskretizace vstupní funkce (aktivátor)



Diskrétní aproximace in silico modelů – přehled



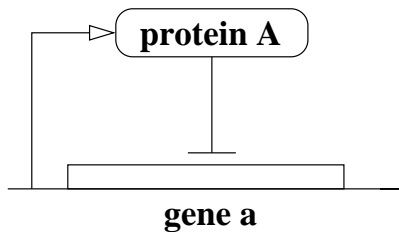
Obsah

Modelování regulačních sítí

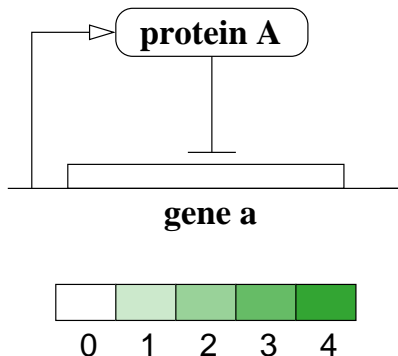
Diskrétní aproximace

Diskrétní modely regulačních interakcí

Příklad modelu – autoregulace

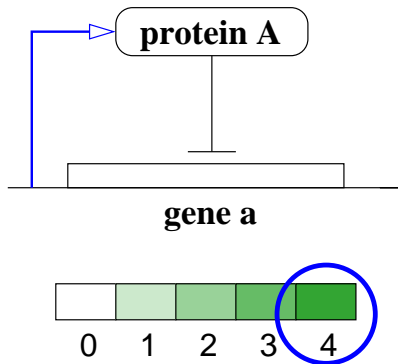


Příklad modelu – autoregulace



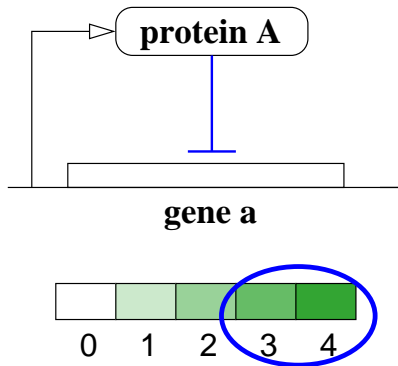
- identifikace diskretních úrovní exprese

Příklad modelu – autoregulace



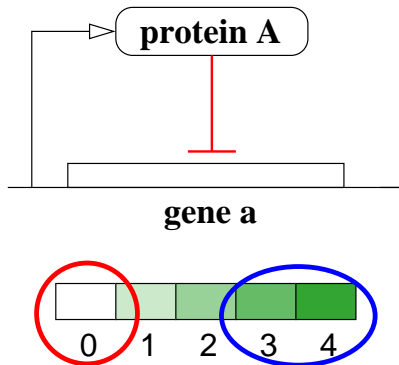
- spontánní (tzv. bázová) transkripce: $A \rightarrow 4$

Příklad modelu – autoregulace



- místo projevu regulace ($A \in \{3, 4\} \Rightarrow$ regulace aktivní)

Příklad modelu – autoregulace



- cílový bod regulace ($A \in \{3, 4\} \Rightarrow A \rightarrow 0$)

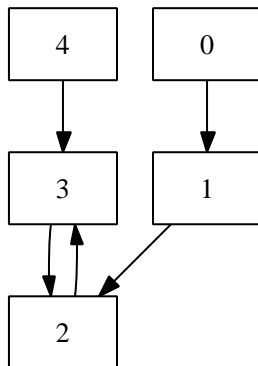
Stavový prostor – autoregulace

- přechodový systém $\langle S, T, S_0 \rangle$
 - S množina stavů, $S \equiv \{0, 1, 2, 3, 4\}$
 - $S_0 \subseteq S$ množina počátečních stavů
 - $T \subseteq S \times S$ přechodová relace:

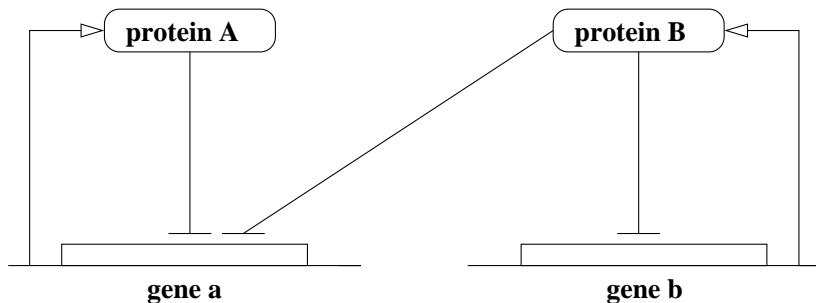
zdrojový stav	aktivní regulace	cílový stav
0	$\emptyset; [A \rightarrow 4]$	1
1	$\emptyset; [A \rightarrow 4]$	2
2	$\emptyset; [A \rightarrow 4]$	3
3	$A \rightarrow^- A; [A \rightarrow 0]$	2
4	$A \rightarrow^- A; [A \rightarrow 0]$	3

Stavový prostor – autoregulace

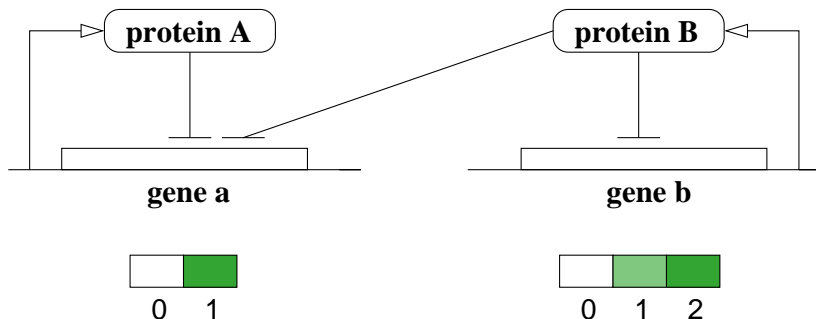
přechodový systém pro negativní autoregulaci $\langle S, T, S_0 = S \rangle$:



Příklad modelu složené regulace

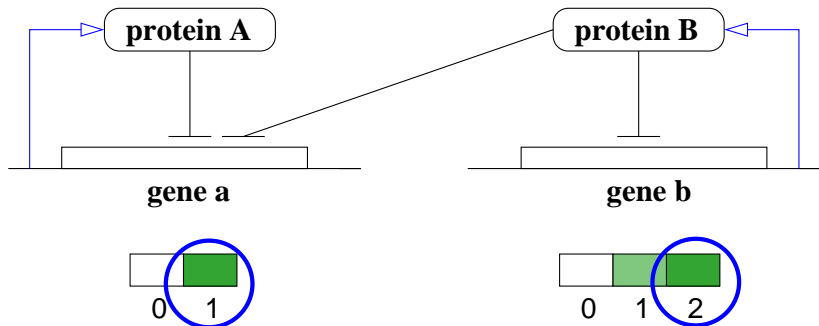


Diskrétní charakteristika dynamiky



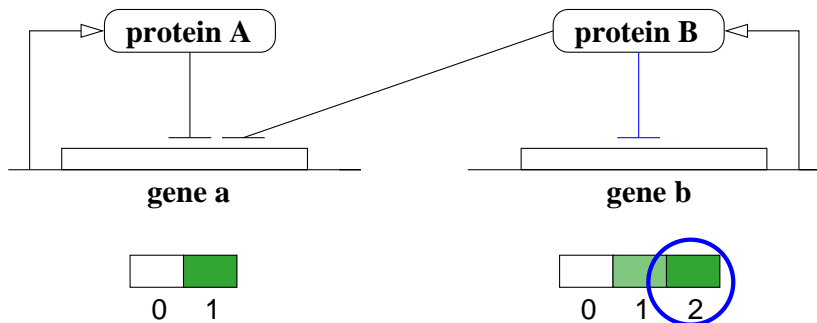
- identifikace diskretních úrovní exprese

Diskrétní charakteristika dynamiky



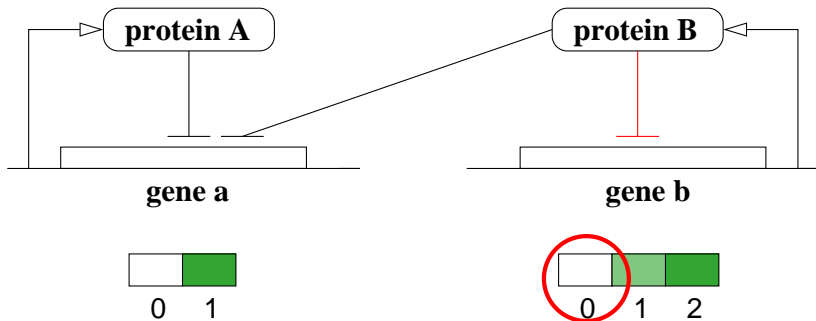
- spontánní (tzv. bázová) transkripce: $A \rightarrow 1$, $B \rightarrow 2$

Charakteristika regulace – autoregulace



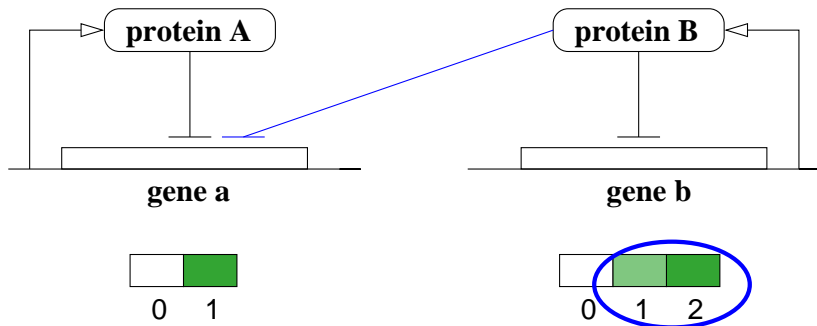
- místo projevu regulace $B \rightarrow^- B$ ($B = 2 \Rightarrow$ regulace aktivní)

Charakteristika regulace – autoregulace



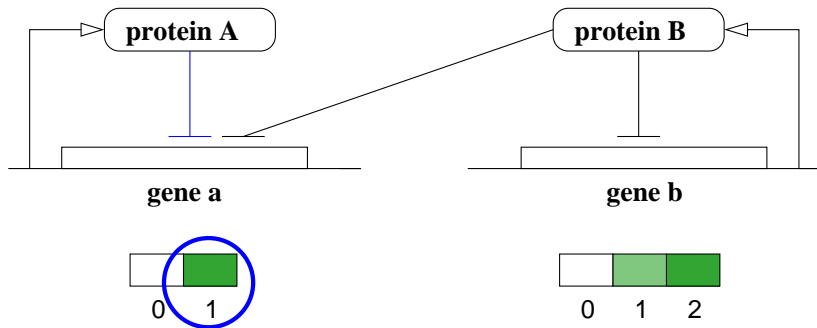
- cílový bod regulace $B \rightarrow^- B$ ($B = 2 \Rightarrow B \rightarrow 0$)

Charakteristika regulace – vstupní funkce



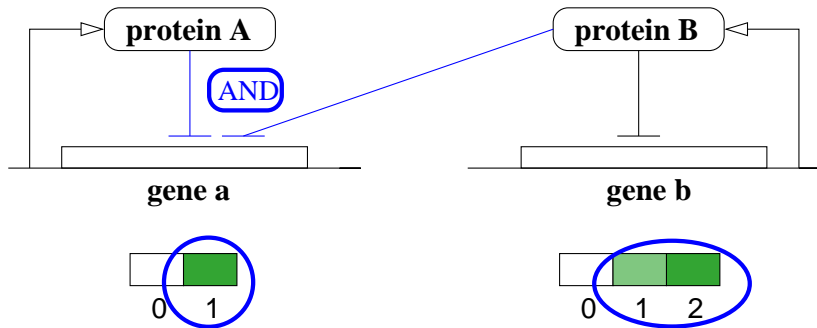
- místo projevu regulace $B \rightarrow^- A$ ($B \in \{1, 2\} \Rightarrow$ reg. aktivní)

Charakteristika regulace – vstupní funkce



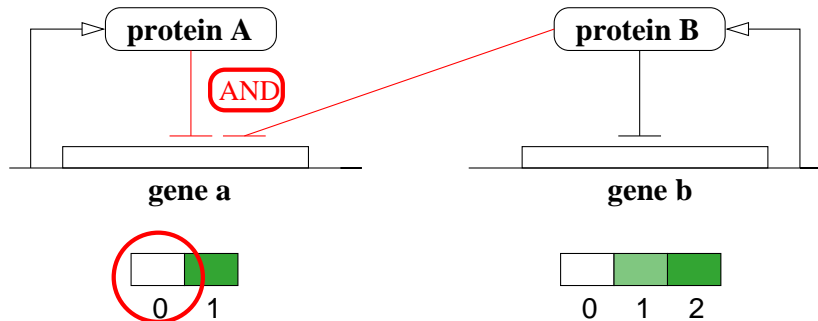
- místo projevu regulace $A \rightarrow^- A$ ($A = 1 \Rightarrow$ reg. aktivní)

Charakteristika regulace – vstupní funkce



- AND-kompozice regulací $A \rightarrow^- A \wedge B \rightarrow^- A$:
 $A = 1 \wedge B \in \{1, 2\} \Rightarrow$ regulace aktivní

Charakteristika regulace – vstupní funkce



- cílový bod složené regulace $A \rightarrow^- A \wedge B \rightarrow^- A$:
 $A = 1 \wedge B \in \{1, 2\} \Rightarrow A \rightarrow 0$

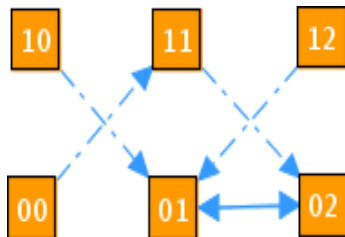
Stavový prostor – synchronní sémantika

- přechodový systém $\langle S, T, S_0 \rangle$
 - $S \equiv \{0, 1\} \times \{0, 1, 2\}$
 - $S_0 \subseteq S$, uvažujeme $S_0 = S$
 - $T \subseteq S \times S$ přechodová relace (zobrazení):

zdrojový stav	aktivní regulace	cílový stav
[0, 0]	\emptyset ; $[A \rightarrow 1, B \rightarrow 2]$	[1, 1]
[0, 1]	$B \rightarrow^- A$; $[A \rightarrow 0, B \rightarrow 2]$	[0, 2]
[0, 2]	$B \rightarrow^- B \wedge B \rightarrow^- A$; $[A \rightarrow 0, B \rightarrow 0]$	[0, 1]
[1, 0]	$A \rightarrow^- A$; $[A \rightarrow 0, B \rightarrow 2]$	[0, 1]
[1, 1]	$A \rightarrow^- A \wedge B \rightarrow^- A$; $[A \rightarrow 0, B \rightarrow 2]$	[0, 2]
[1, 2]	$A \rightarrow^- A \wedge B \rightarrow^- A \wedge B \rightarrow^- B$; $[A \rightarrow 0, B \rightarrow 0]$	[0, 1]

Stavový prostor – synchronní sémantika

přechodový systém $\langle S, T, S_0 = S \rangle$:



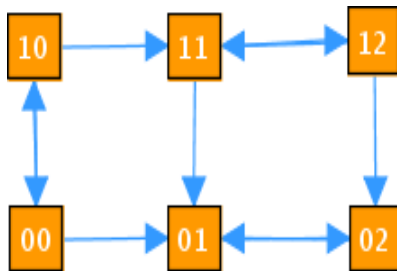
Stavový prostor – asynchronní sémantika

- přechodový systém $\langle S, T, S_0 \rangle$
 - $S \equiv \{0, 1\} \times \{0, 1, 2\}$
 - $S_0 \subseteq S$, uvažujeme $S_0 = S$
 - $T \subseteq S \times S$ přechodová relace:

zdroj. stav	aktivní regulace	cílové stavy
[0, 0]	$\emptyset; [A \rightarrow 1, B \rightarrow 2]$	[1, 0], [0, 1]
[0, 1]	$B \rightarrow^- A; [A \rightarrow 0, B \rightarrow 2]$	[0, 2]
[0, 2]	$B \rightarrow^- B \wedge B \rightarrow^- A; [A \rightarrow 0, B \rightarrow 0]$	[0, 1]
[1, 0]	$A \rightarrow^- A; [A \rightarrow 0, B \rightarrow 2]$	[0, 0], [1, 1]
[1, 1]	$A \rightarrow^- A \wedge B \rightarrow^- A; [A \rightarrow 0, B \rightarrow 2]$	[0, 1], [1, 2]
[1, 2]	$A \rightarrow^- A \wedge B \rightarrow^- A \wedge B \rightarrow^- B; [A \rightarrow 0, B \rightarrow 0]$	[0, 2], [1, 1]

Stavový prostor – asynchronní sémantika

přechodový systém $\langle S, T, S_0 = S \rangle$:







Vlastnosti diskrétních sémantik

- synchronní sémantika
 - efekt aktivních regulací uplatněn pro všechny proteiny ve stejný okamžik
 - nerealistická aproximace, dává však deterministický přechodový systém
- asynchronní sémantika
 - efekt aktivních regulací uplatněn pro každý protein individuálně (interleaving)
 - nutno uvažovat všechny možné souběhy
 - věrnější aproximace, dává však nedeterministický přechodový systém
 - možnost definovat priority

Nástroj GINsim

- nástroj Gene Interaction Network simulation (GINsim)
<http://gin.univ-mrs.fr/GINsim/accueil.html>
- umožňuje asynchronní i synchronní simulaci transkripční regulace
- inherentně diskrétní model (vícehodnotová logika)
 - místo přesné hodnoty koncentrace rozlišujeme několik diskrétních úrovní
 - s každou regulací spjat aktivační interval diskrétních úrovní specifikující kdy je regulující protein aktivní
 - u každého proteinu je specifikován individuální/kompozitní projev vstupních regulací
 - možnost neregulované (bázové) transkripce
- grafové algoritmy pro transkripční síť i přechodový systém

Literatura

-  de Jong. *Modeling and simulation of genetic regulatory systems: A literature review*. Journal of Computational Biology (2002), 9(1):69-105
-  Bower, J.M. & Bolouri, H. *Computational Modeling of Genetic and Biochemical Networks*. Bradford Book, 2001.
-  A.G. Gonzalez, A. Naldi, L. Sánchez, D.Thieffry, C. Chaouiya. *GINsim: a software suite for the qualitative modelling, simulation and analysis of regulatory networks*. Biosystems (2006), 84(2):91-100
-  Kauffman, S. A. (1969). Metabolic stability and epigenesis in randomly constructed genetic nets. Journal of Theoretical Biology, 22:437-467