

PA052: Úvod do systémové biologie

David Šafránek

6.10.2011



Obsah

Modelové organismy

Základní principy

Obsah

Modelové organismy

Základní principy

Escherichia Coli

- často studovaný prokaryotický organismus
- objeven Theodorem Escherichem roku 1885
 - *Escherichia Coli* (*E. coli*)
- bakterie žijící v trávicím ústrojí savců
- většina kmenů neškodných
 - součástí střevní flóry
 - zabraňuje usazení patologických bakterií
 - produkuje vitamin K_2
- některé kmeny mohou způsobit otravu
 - O157:H7, O121 a O104:H21
 - produkují toxin
 - mají dobré rezistentní schopnosti vůči lékům
- kompletní genom sekvenován 1997 (4288 genů)
<http://www.genome.wisc.edu/>

E. coli jako modelový organismus

- kultivované kmeny (např. *E. coli* K12)
 - dobře adaptovatelné pro laboratorní prostředí
 - postrádají schopnost uchycení v zažívacím traktu
- detailní znalosti dostupné
- možnost experimentální manipulace v laboratořích
- experimenty s *E. coli* vedly k založení biotechnologie
 - technologie rekombinantní DNA (Lobban a Kaiser 1972)
 - výroba rekombinantních proteinů pomocí *E. coli* (např. insulin)
 - kompetentní (“plasmid friendly”) bakterie lze v ČR pořídit např. na www.generi-biotech.com
- systémové studie *E. coli* zobecnitelné na složitější organismy

E. coli – zajímavá fakta

- délka (lineárního) řetězce DNA je cca 1 mm
- velikost bakterie je cca 1 μm
- rozdíl 1000 \times
- komprese v prostorovém uspořádání DNA
- hierarchická organizace genetického materiálu

Shluk kolonie E. coli

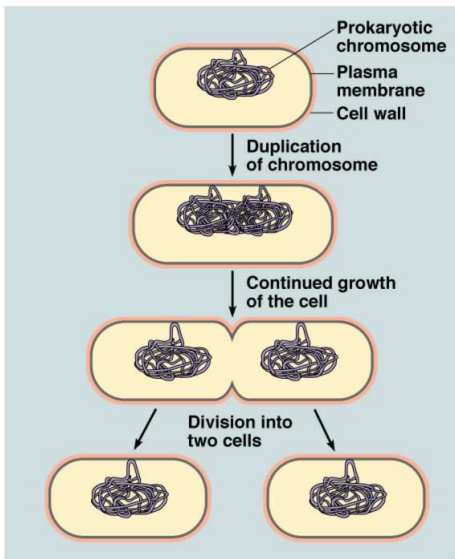
Kvantitativní parametry E.coli

Experimentálně zjištěný parametr	Hodnota v E.Coli
Velikost buňky	$1\mu m^3$
Počet molekul proteinů v buňce	$4 \cdot 10^6$
Velikost molekuly proteinu	$5nm$
Koncentrace jednoho proteinu v buňce	$1nM$
Podíl proteinů v obsahu buňky	18%
Doba difúze proteinu v buňce	0,1s
Doba difúze ostatních molekul	1msec
Počet genů v buňce	4500

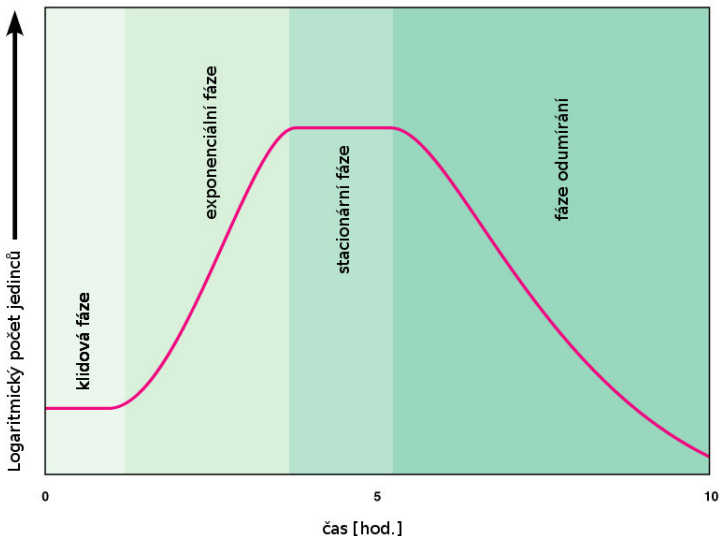
Časové dimenze v životě *E.coli*

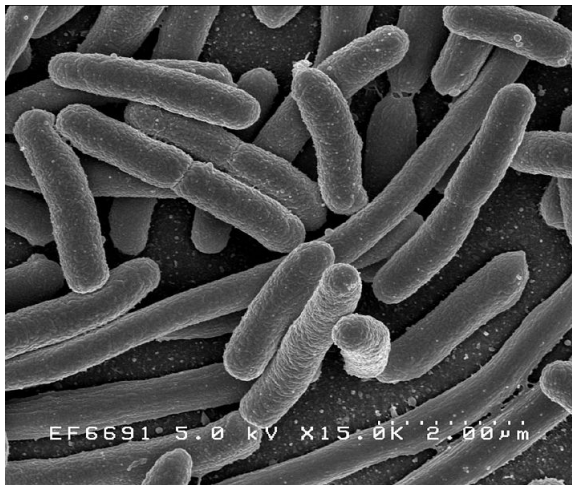
Experimentálně zjištěný parametr	E.Coli
Vazba molekuly signálu na transkripční faktor vedoucí ke změně aktivity faktoru	1msec
Vazby aktivního faktoru na operon DNA	1sec
Transkripce	1min
Translace	2min
Životnost mRNA	2-5min
Trvání jedné generace buňky	min. 30min

Životní cyklus *E. coli* (mitotické dělení)

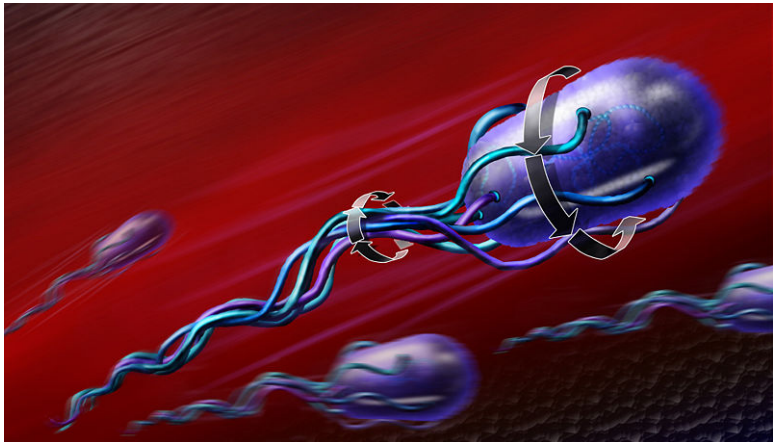


Životní cyklus *E. coli* – fáze růstu

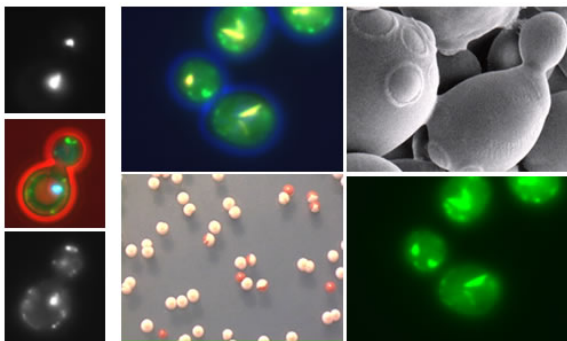


E. coli biofilm

E. coli – pohybové ústrojí (bičík)



Kvasinka pивní – Saccharomyces cerevisiae



- jednoduchý eukaryotický organismus (jedna buňka)
- nepohlavní mitotické dělení (pučení), v horších podmínkách pohlavní dělení (sporulace)
- používaný v potravinovém průmyslu (proces kvašení):
 - přeměna glukózy na ethanol + CO_2 + glycerol

Kvasinka pивní – Saccharomyces cerevisiae

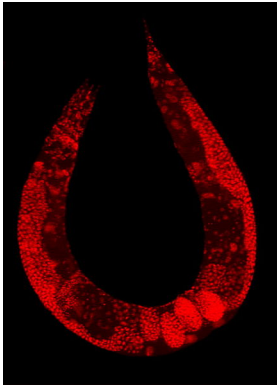
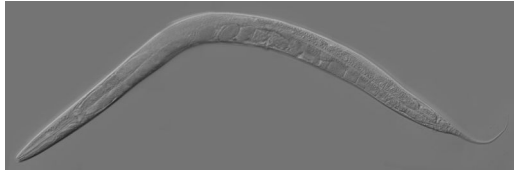
- velikost buňky 3 – 4 μm^3
- pravděpodobně první domestikovaný organismus (starověký Egypt)
- proces fermentace kvasinkami prokázán Louisem Pasteurem 1857
- produkce lihu rozkladem jednoduchých cukrů
- buňky nepotřebují k růstu sluneční světlo – získ energie z organických sloučenin
- anaerobické i aerobické dýchání (metabolický proces produkce ATP z nutrientů)
- kompletní genom sekvenován 1996:
<http://www.yeastgenome.org/>

Kvasinka pивní – Saccharomyces cerevisiae

- jednoduchá manipulace v laboratorním prostředí
- nejjednodušší a dostupný systém eukaryotické buňky
- rychlá kultivace (za 2 hodiny lze populaci zdvojnásobit)
- množení dělením usnadňuje rekombinaci

Caenorhabditis elegans

- háďátko obecné
- volně žijící půdní helmint z kmene hlístic
- první mnohobuněčný eukaryotický organismus s plně osekvenovaným genomem (1998)
http://www.sanger.ac.uk/Projects/C_elegans/
- vhodný k modelovému výzkumu
 - buněčná diferenciac
 - hermafroditní rozmnožování
 - jednoduchá nervová soustava

Caenorhabditis elegans

Caenorhabditis elegans

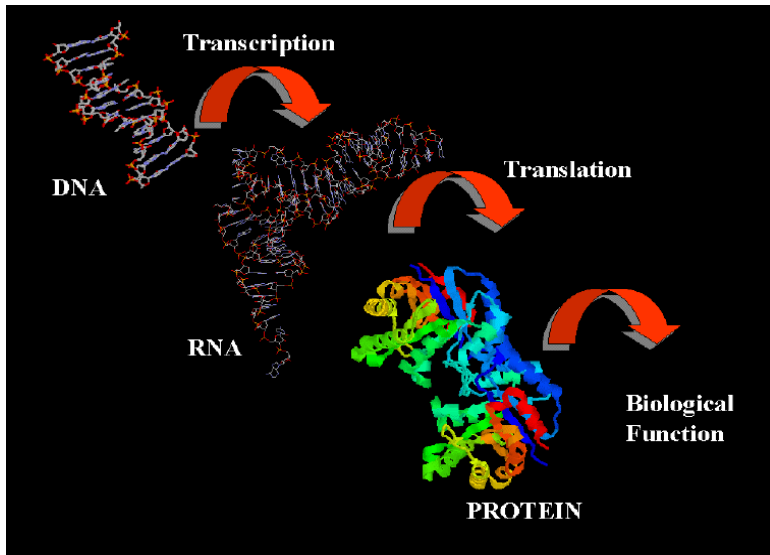
- genom obsahuje 97 miliónů nukleotidů
- 18841 genů kódujících různé proteiny
- geny mají v DNA *C. elegans* singulární výskyty
- většina genů podobných lidským
- organismus složen z necelého tisíce buněk
- třetina buněk tvoří nervový systém

Obsah

Modelové organismy

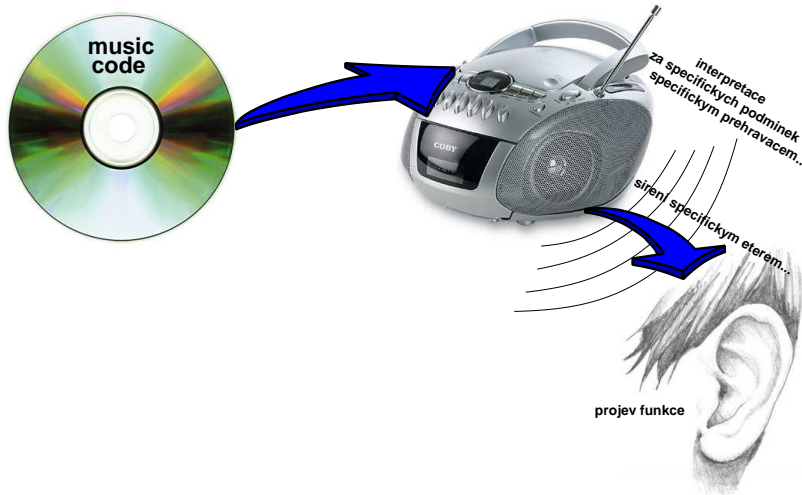
Základní principy

Centrální dogma



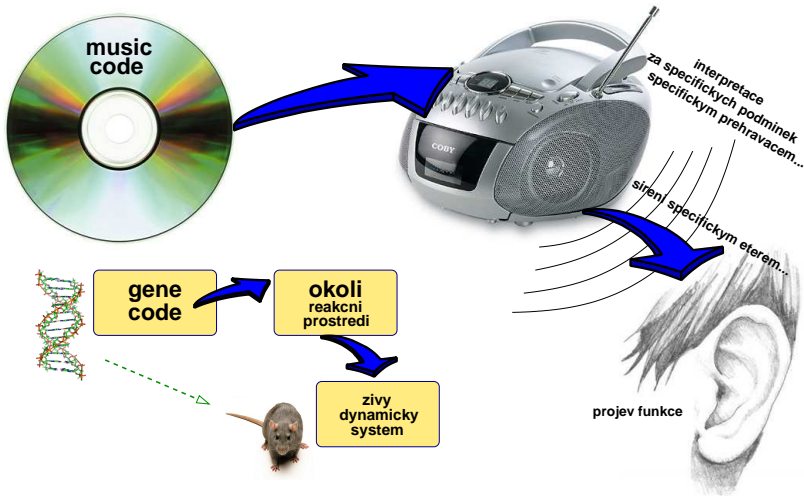
Hudba života – Genome CD

Denis Noble: Music of Life



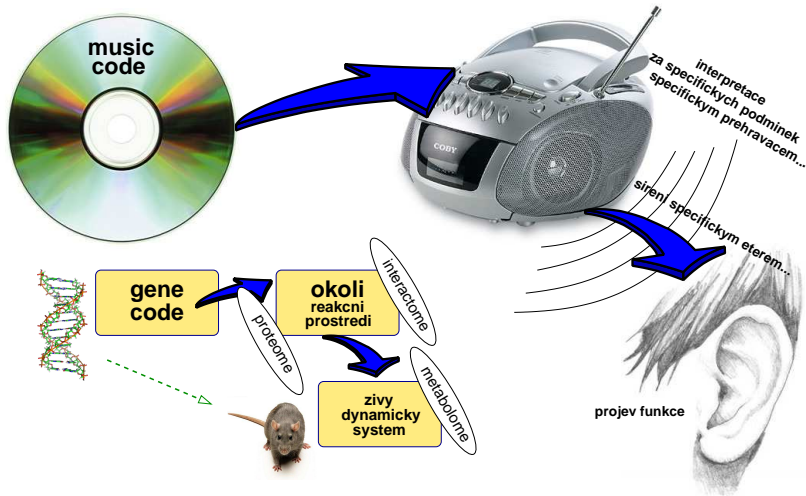
Hudba života – Genome CD

Denis Noble: Music of Life



Hudba života – Genome CD

Denis Noble: Music of Life



Hudba života – Komplexní systém

- komplexní dynamický jev v čase a prostoru
- např. kvadrofonní zvukový záznam z deštného pralesa...
 - zvuky se vzájemně ovlivňují...emergují v komplexní souzvuky...
 - pohled 1 (lékař): jak odstranit nezdravé disharmonie?
 - pohled 2 (biotechnolog): jak upřednostnit určité souzvuky před jinými?
- předpovídat a pochopit emergentní vlastnosti
 - identifikovat a pochopit jednotlivé interakce
 - identifikovat a pochopit vzájemnou součinnost interakcí

Systémová biologie

- nový vědecký směr v biologii s podporou neživých věd
- paradigma: komplexní pohled (opak redukcionismu)
- organismus chápán jako komplexní systém (biologický systém)
- předmětem studia jsou interakce mezi jeho komponentami
- kořeny v živých i neživých vědách
 - biochemie a molekulární biologie (kinetika enzymů)
 - matematická simulace a teorie řízení
- intenzivní výzkum od roku 2000
- vyžaduje úzkou kooperaci: biolog – matematik – informatik

Úrovně pohledu na biologický systém

- Kitano H. “Looking beyond the details: a rise in system-oriented approaches in genetics and molecular biology”. Curr Genet. 2002
1. zachycení struktury systému
- interakce látek v buňce definované chemickými reakcemi
 - obtížné získat kvantitativní informace (parametry reakcí)

Úrovně pohledu na biologický systém

- Kitano H. “Looking beyond the details: a rise in system-oriented approaches in genetics and molecular biology”. Curr Genet. 2002
1. zachycení struktury systému
 - interakce látek v buňce definované chemickými reakcemi
 - obtížné získat kvantitativní informace (parametry reakcí)
 2. analýza chování systému
 - intra vs. intercelulární pohled
 - záleží na míře kvantitativních znalostí
 - různé metody – experimentální a výpočetní (simulace)
 - chování v extrémních podmínkách (hladovění, tlak, . . .)

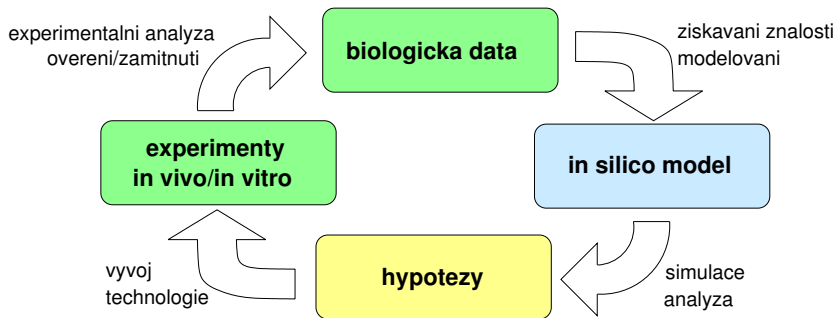
Úrovně pohledu na biologický systém

- Kitano H. “Looking beyond the details: a rise in system-oriented approaches in genetics and molecular biology”. Curr Genet. 2002
1. zachycení struktury systému
 - interakce látek v buňce definované chemickými reakcemi
 - obtížné získat kvantitativní informace (parametry reakcí)
 2. analýza chování systému
 - intra vs. intercelulární pohled
 - záleží na míře kvantitativních znalostí
 - různé metody – experimentální a výpočetní (simulace)
 - chování v extrémních podmínkách (hladovění, tlak, . . .)
 3. řízení systému
 - vývoj léčiv, genetické modifikace

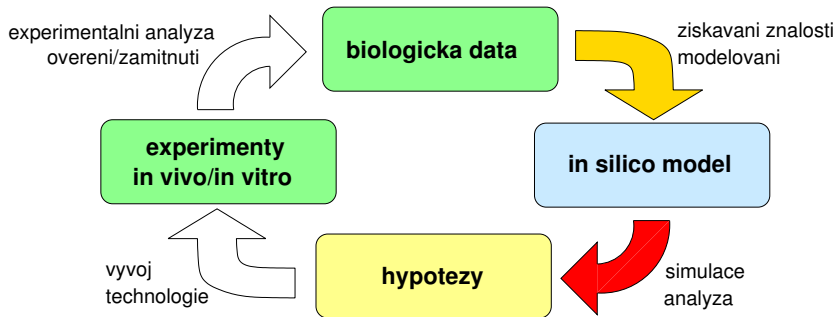
Úrovně pohledu na biologický systém

- Kitano H. “Looking beyond the details: a rise in system-oriented approaches in genetics and molecular biology”. Curr Genet. 2002
1. zachycení struktury systému
 - interakce látek v buňce definované chemickými reakcemi
 - obtížné získat kvantitativní informace (parametry reakcí)
 2. analýza chování systému
 - intra vs. intercelulární pohled
 - záleží na míře kvantitativních znalostí
 - různé metody – experimentální a výpočetní (simulace)
 - chování v extrémních podmínkách (hladovění, tlak, . . .)
 3. řízení systému
 - vývoj léčiv, genetické modifikace
 4. konstrukce biologického systému

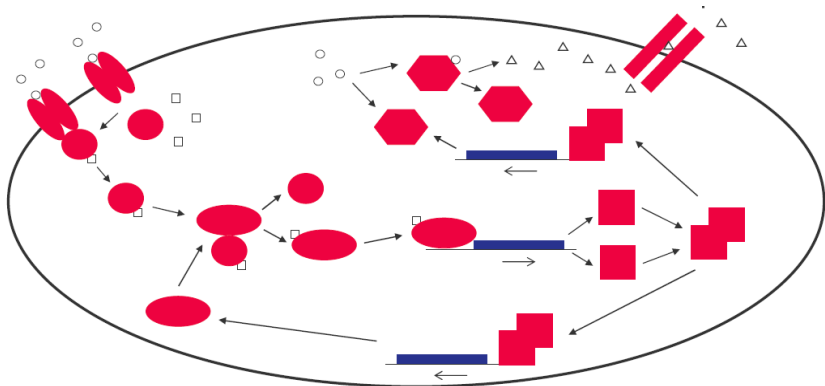
Průběh výzkumu v systémové biologii



Průběh výzkumu v systémové biologii

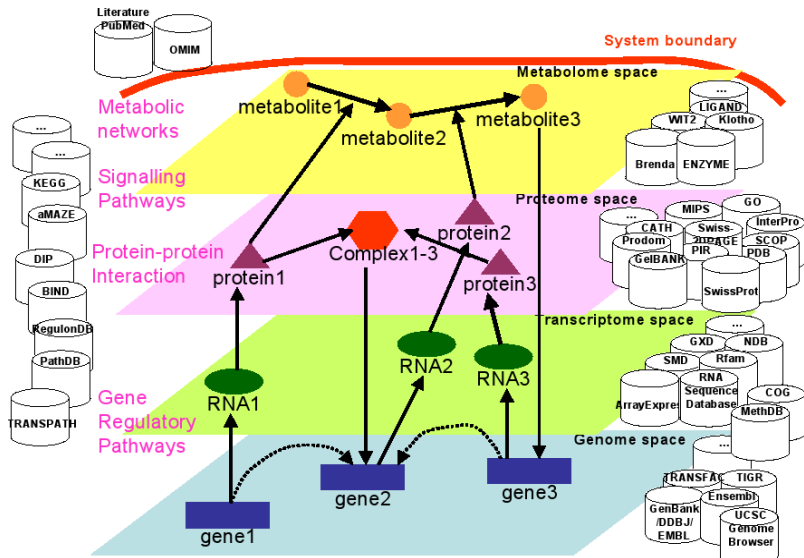


Biochemické procesy v buňce



- molekulární komponenty – proteiny, DNA, RNA,...
- interakce na různých úrovních (transkripce, metabolismus,...)
- příjem signálů na membráně

Funkční vsrtyvy buňky



Funkční vrstvy buňky

vrstva metabolismu

- rozsáhlý soubor katalytických (enzymových) reakcí
- příjem a zpracování energie v buňce
- rozklad a syntéza látek

transdukce signálů

- kaskády reakcí zpravovávající externí/interní signál
- receptory externích signálů na membráně

interakce proteinů

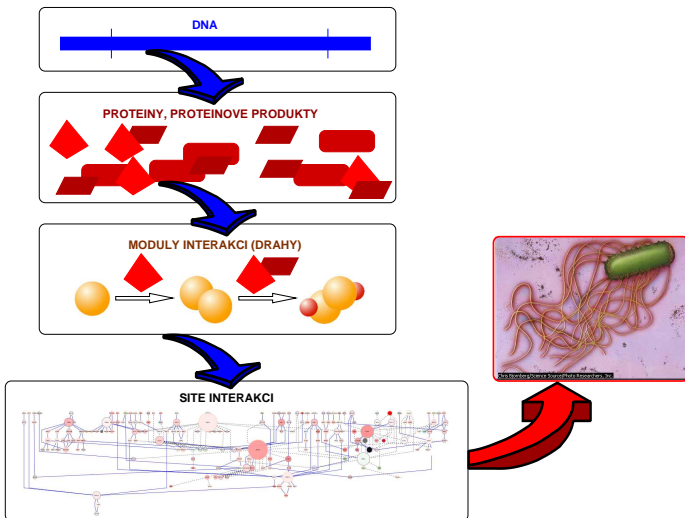
- tvorba proteinových komplexů
 - transkripční faktory a enzymy metabolismu

transkripční regulace

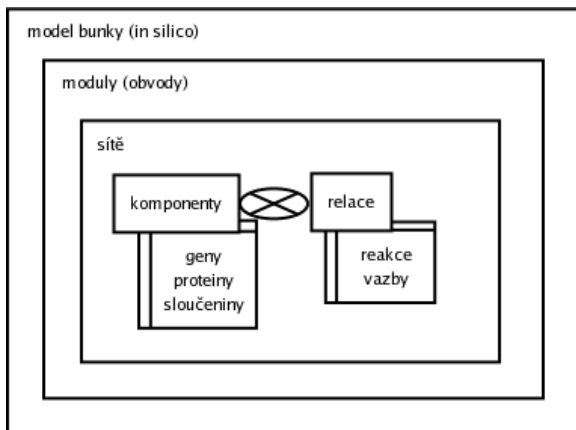
- řízení proteosyntézy

Genotyp \longrightarrow Fenotyp

Hierarchie interakcí

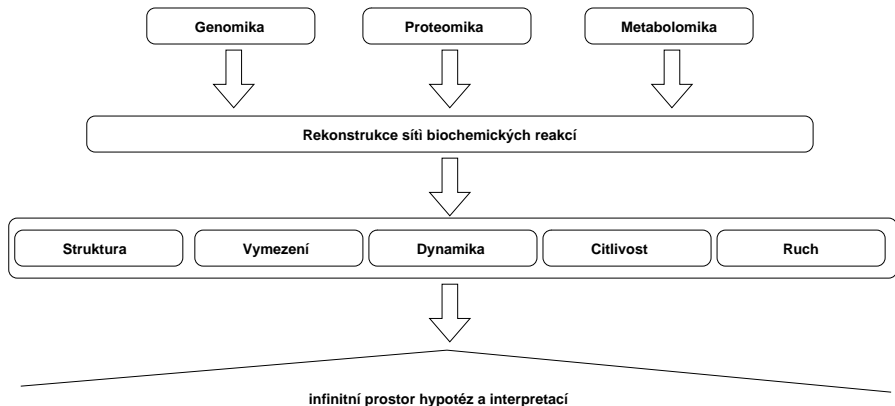


Koncept hierarchie



srovnej bottom-up vs. top-down pohled na systém

Od komponent k hypotézám



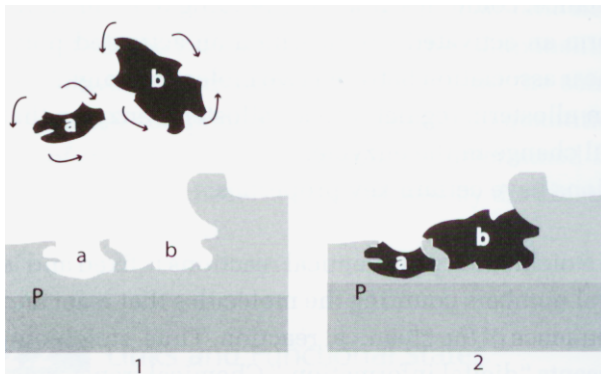
Komponenty vs. systémy

- biologické komponenty mají konečnou životnost
 - výměna molekul v buňce (hodiny až dny)
 - obnova kožních buněk (jednotky až desítky dní)
 - obnova buněk v ledvinách (rok)
 - ...
- na organismus nahlížíme nezávisle na životnosti komponent
- interakce mezi komponentami umožňují tento pohled

Původ interakcí

- v buňce determinovány chemicky: reakce a asociační vztahy mezi komponentami
- v mezibuněčném kontextu determinovány složitými vztahy vyššího řádu
- prototypové interakce na úrovni buňky jsou bilineární:
 - kovalentní vazby (makromolekuly, metabolické reakce)
 - nekovalentní vazby (např. vodíková vazba mezi proteiny, struktura proteinů, DNA, vazby DNA:protein, ...)
- katalýza (interakce determinovaná enzymaticky, tzv. “absolutně”)
- termodynamické podmínky (“relativní” původ)

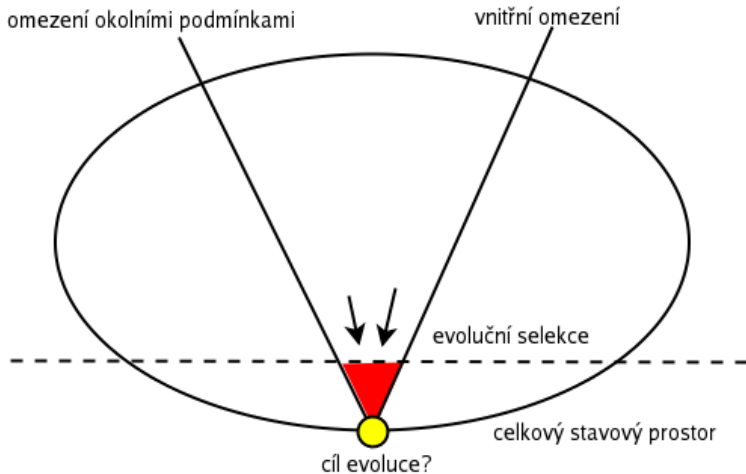
Determinace interakce enzymaticky



Vliv prostředí na projev interakcí

- projev interakcí je ovlivněn charakterem prostředí v buňce
 - viskozita
 - osmotický tlak
 - elektrický potenciál
 - struktura média (srovnej membrána vs. cytoplazma)
 - ...
- významná role 3D prostoru
- kombinatorická exploze funkčních stavů interakčních sítí

Koncept vymezení podprostoru funkčních stavů



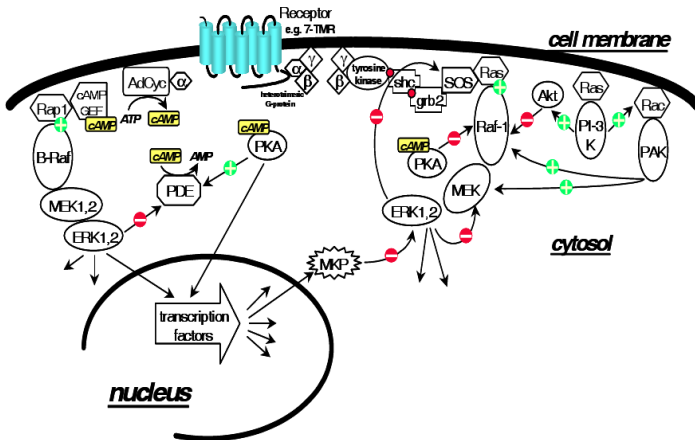
Biologické sítě a dráhy

- biochemická interakce molekul popsaná grafem
- uzly
 - molekuly/komplexy biochemických látek
 - biochemické reakce
- hrany
 - regulace (aktivace, represe, katalýza)
 - příslušnost k reakci (produkt, zdroj)
- dráhy — zaměřené na určitá specifika (látky, reakce)
 - typicky signální dráhy
- sítě — komplexní interakce
- různé úrovně abstrakce, různé notace, např. Kohn's diagrams
<http://www.nature.com/msb/journal/v2/n1/full/msb4100044.html>

Biologické sítě a dráhy

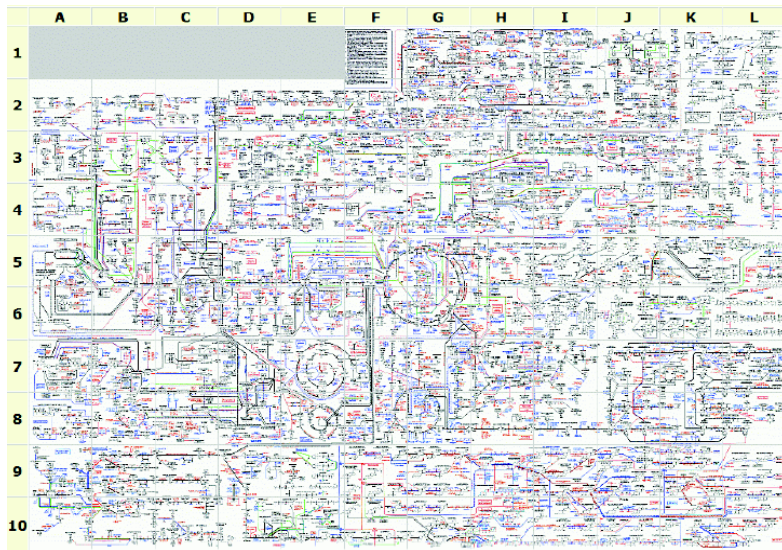
- komplexy vzájemně interagujících chemických reakcí
- klíčem ke studiu fyziologie organismu
- představují základní informaci pro tvorbu in silico modelu
- v průběhu evoluce může docházet k přidávání/ubírání hran

Biologické sítě a dráhy

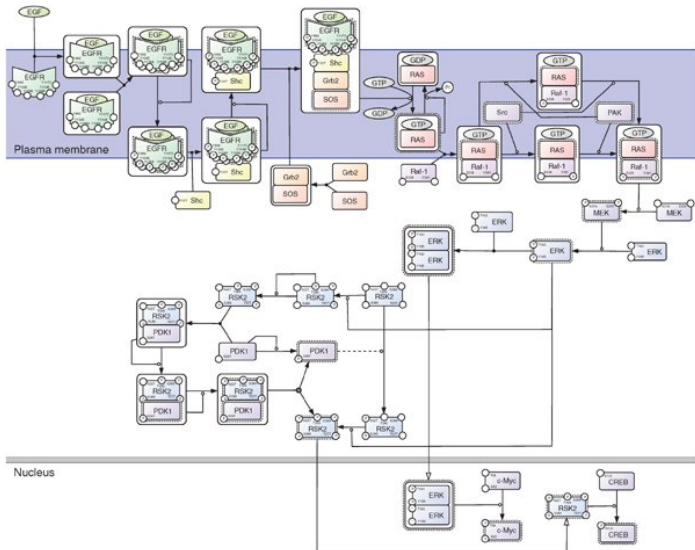


- neformální notace
- vyvíjejí se standardy — SBGN (podporuje např. CellDesigner)

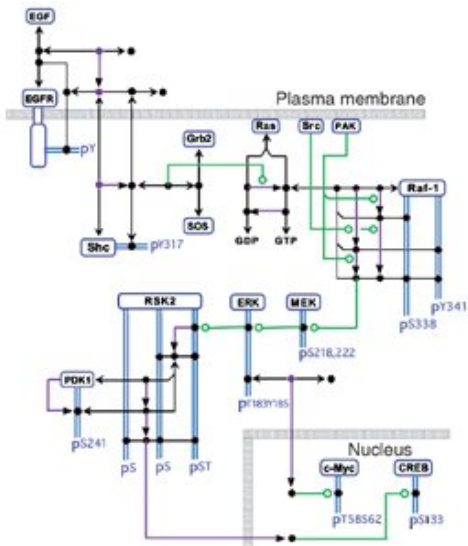
Metabolická síť – ad hoc diagram







Signální síť – SBGN



Signální síť – Kohnova mapa



Literatura

-  Kitano, H. *Looking beyond the details: a rise in system-oriented approaches in genetics and molecular biology.* Curr Genet., 2002.
-  Kitano, H. *Foundations of Systems Biology.* MIT Press, 2001.
-  Palsson, B. *Systems Biology: Properties of Reconstructed Networks.* Cambridge University Press, 2006.
-  Noble, D. *The Music of Life: Biology Beyond the Genome* Oxford University Press, 2006.