

***Компьютерный дизайн
гипотетических генных
сетей***

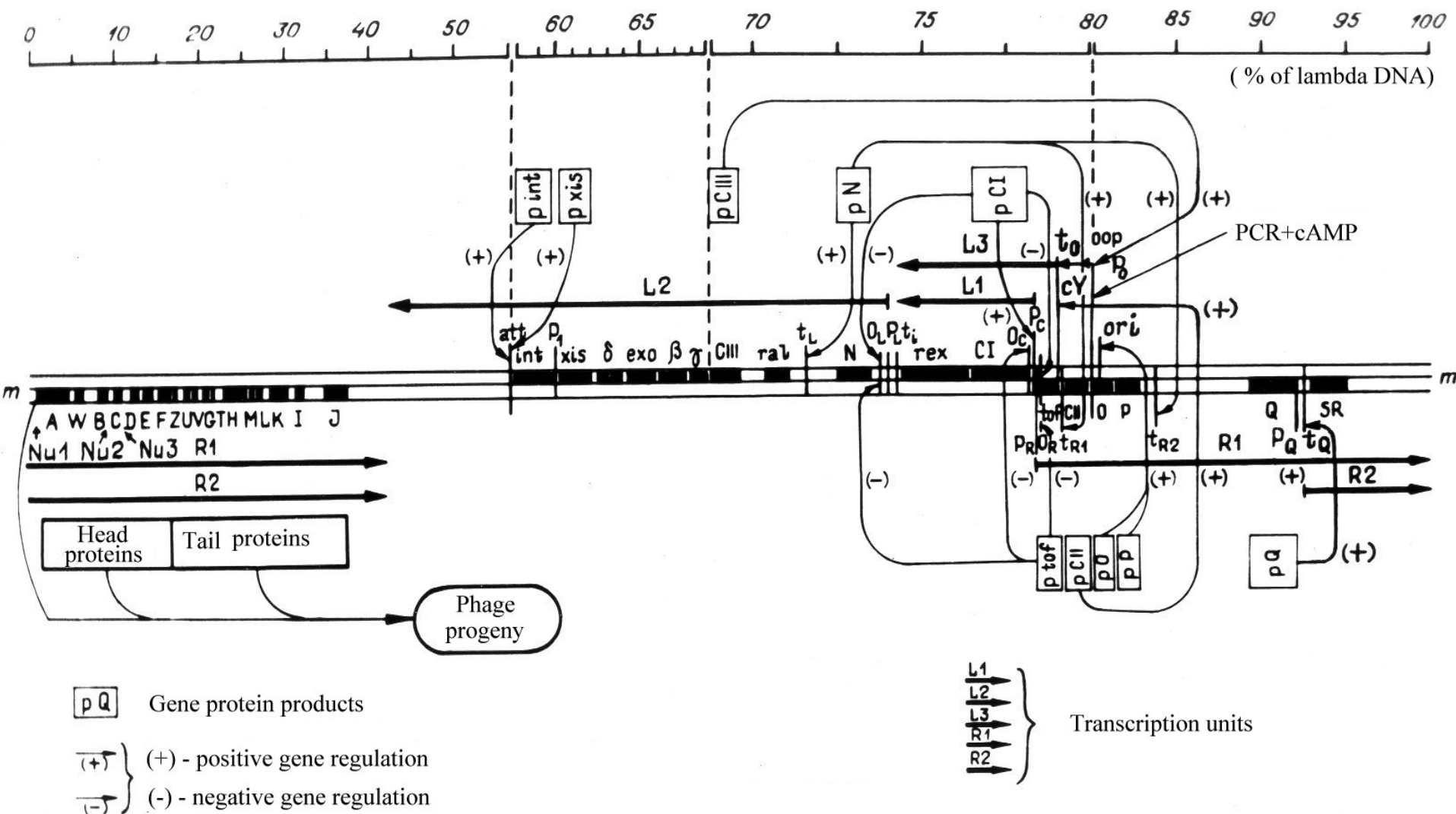
Ю.Г.Матушкин

ИЦиГ СО РАН



Генная сеть:

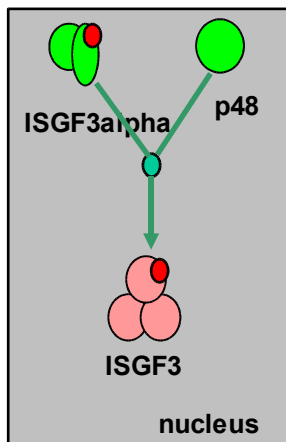
Группа координировано функционирующих генов, контролирующих выполнение определенной молекулярной, биохимической, физиологической и т.д. функции организма.



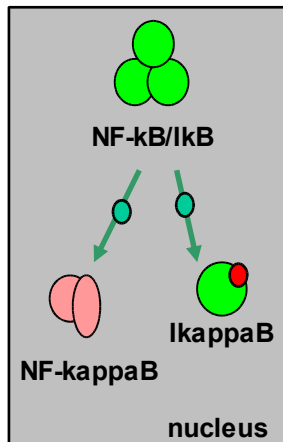
Genetic map of Lambda phage



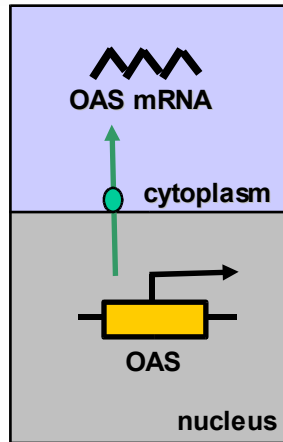
Конструирование и визуализация генных сетей: примеры элементарных структур и событий, значимых для функционирования генных сетей



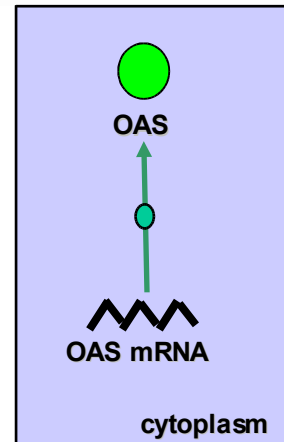
Мультимеризация



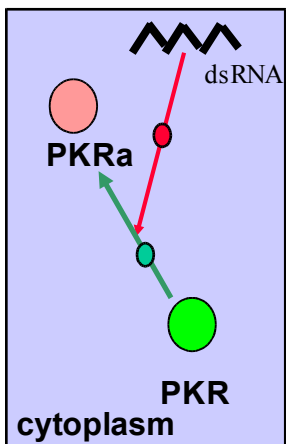
Распад мультимерного комплекса



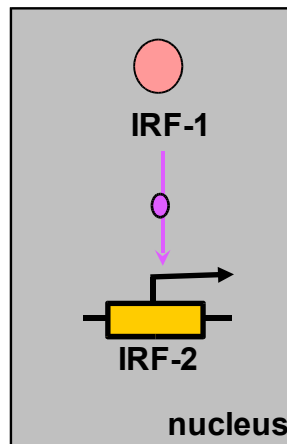
Транскрипция



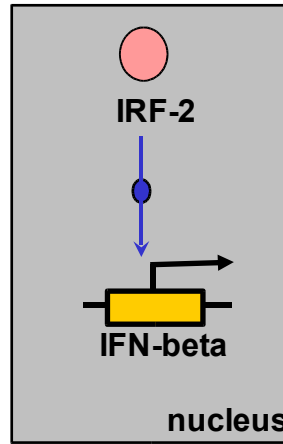
Трансляция



Активация протеинкиназы

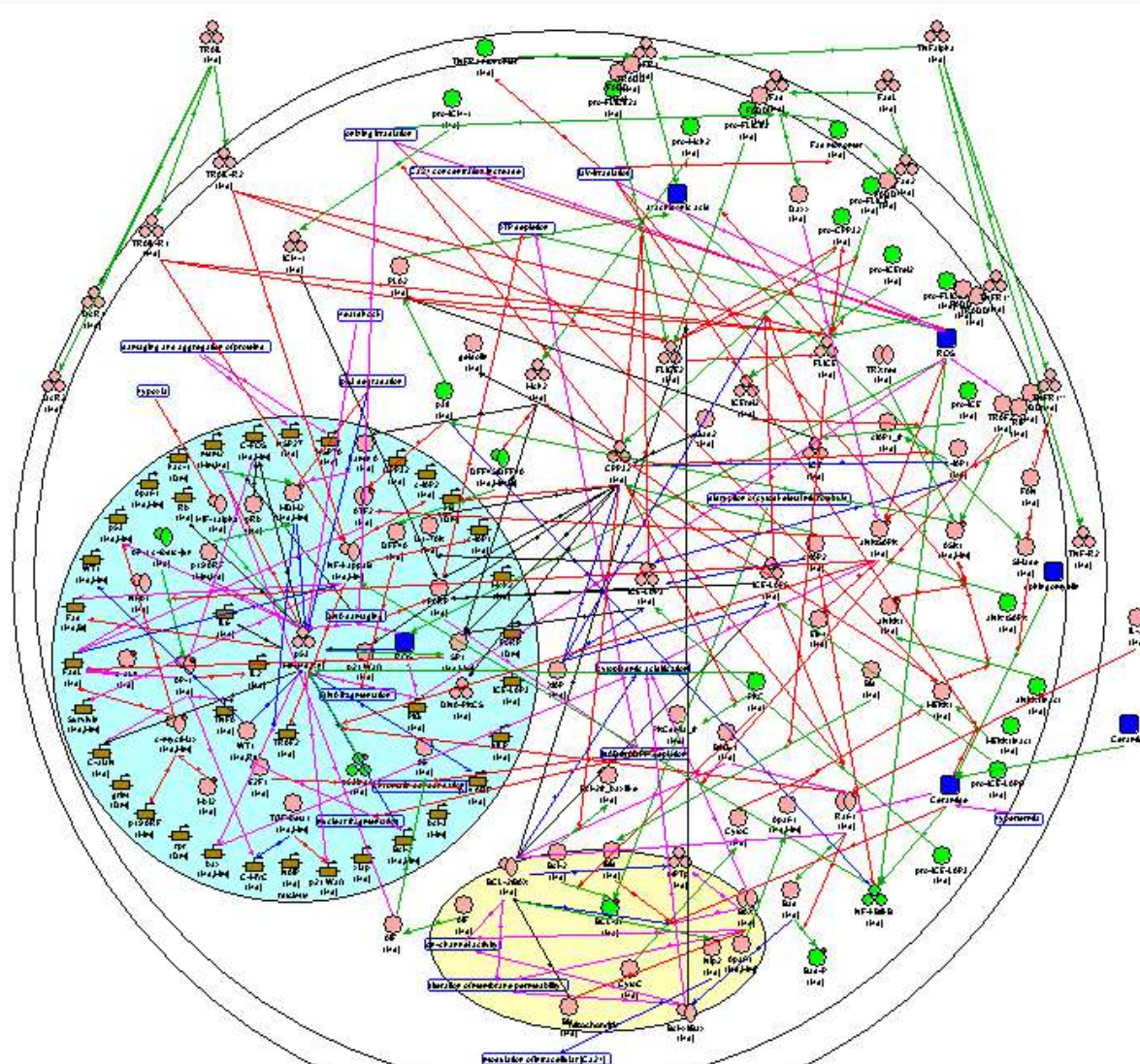


Активация транскрипции



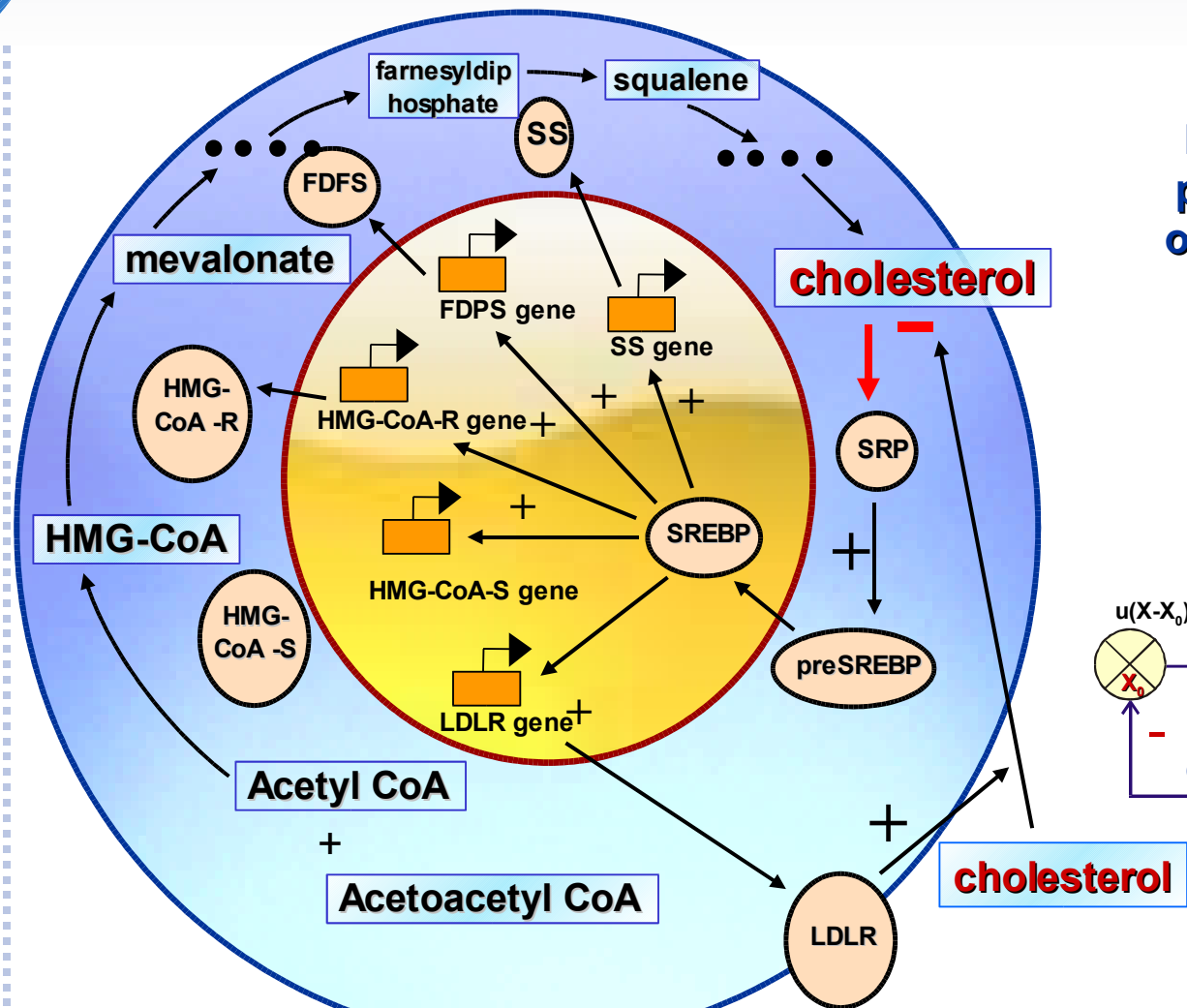
Подавление транскрипции



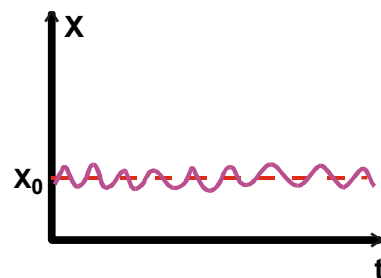
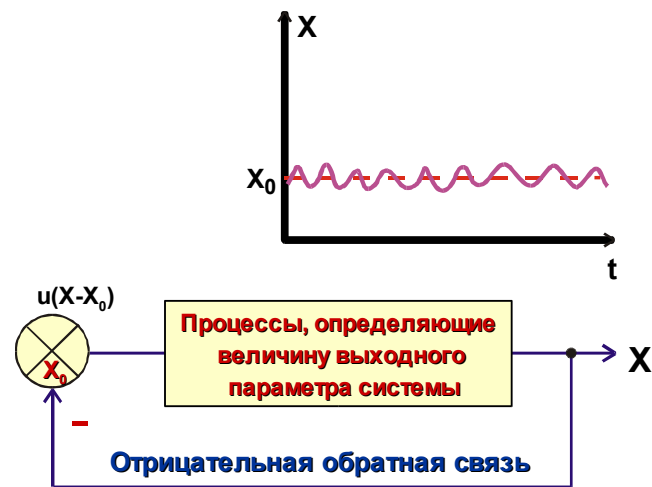




База данных GENENET: центральный фрагмент генной сети биосинтеза холестерина в клетке (регуляция по механизму отрицательной обратной связи)



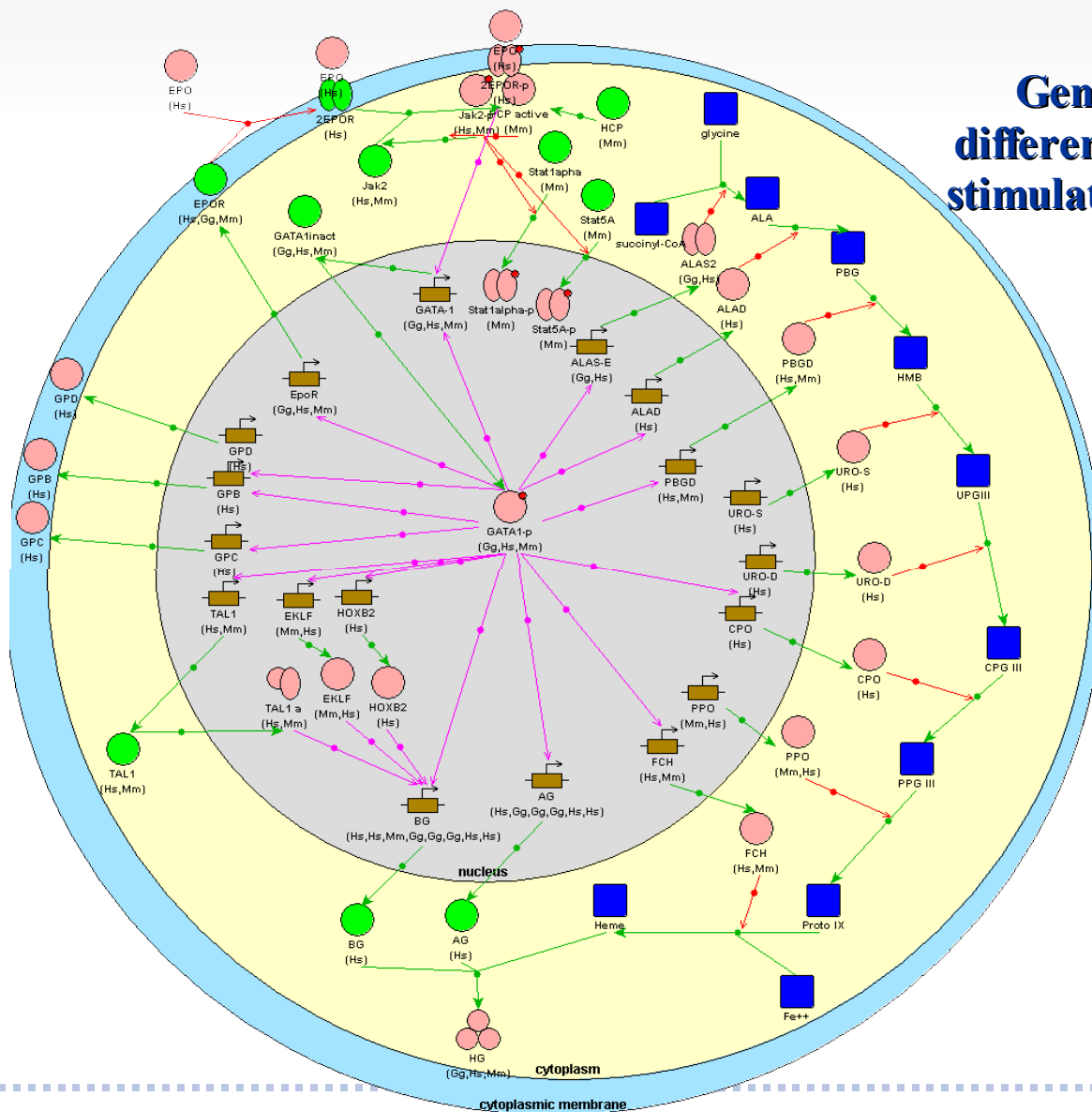
Принципиальная схема регуляторного контура с отрицательной обратной связью

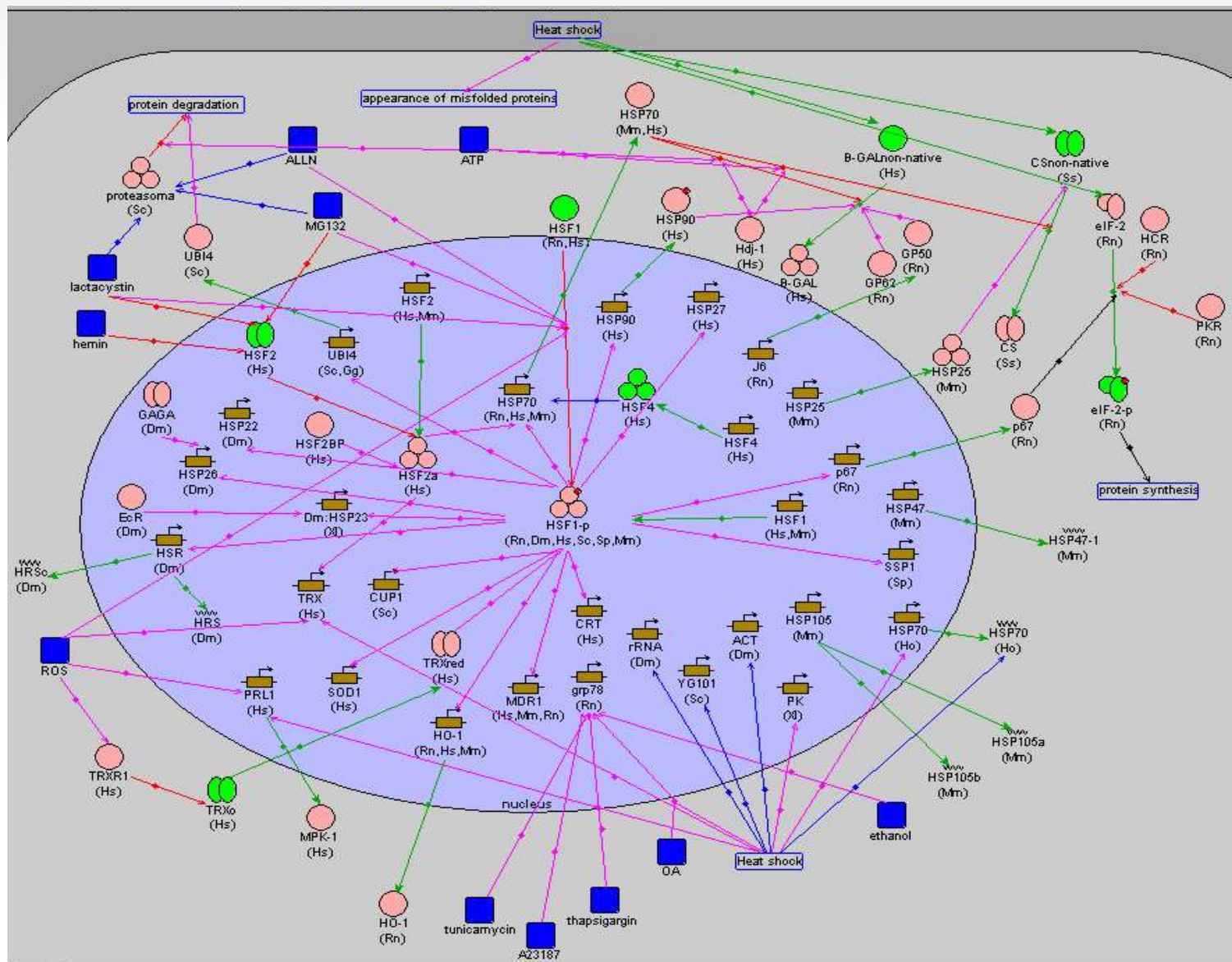




Codes of gene networks functioning

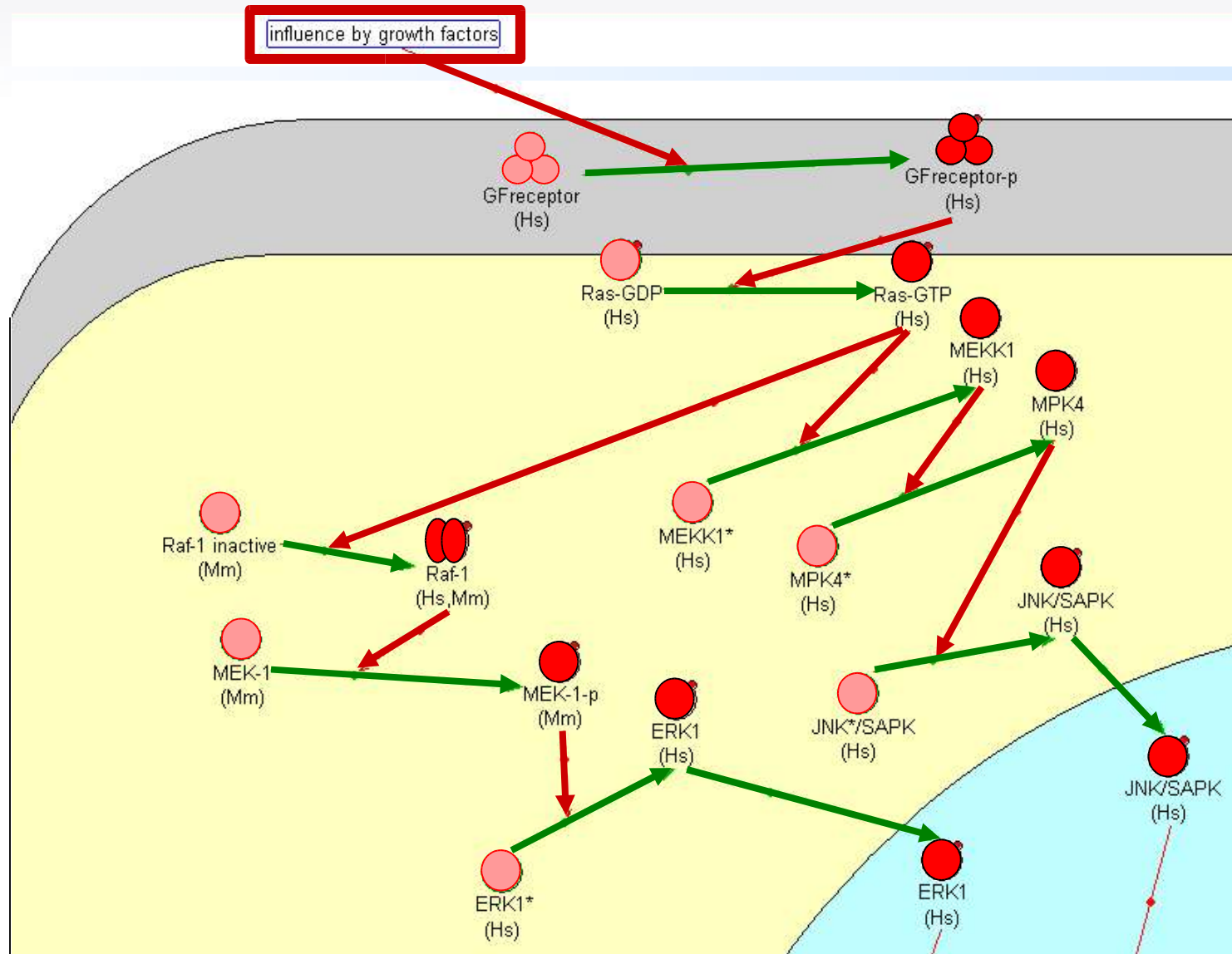
Gene network regulating the differentiation of erythroid cells stimulated by the erythropoietin







MAP-kinase pathway transforming the signal into the gene network of cell cycle regulation





Анализ генных сетей с использованием методов теории графов: сильносвязные вершины соответствуют транскрипционным факторам - центральным регуляторам генных сетей

Gene network
of cell cycle
regulation:
repression of
genes by
factors
E2F1/DP1/pRB

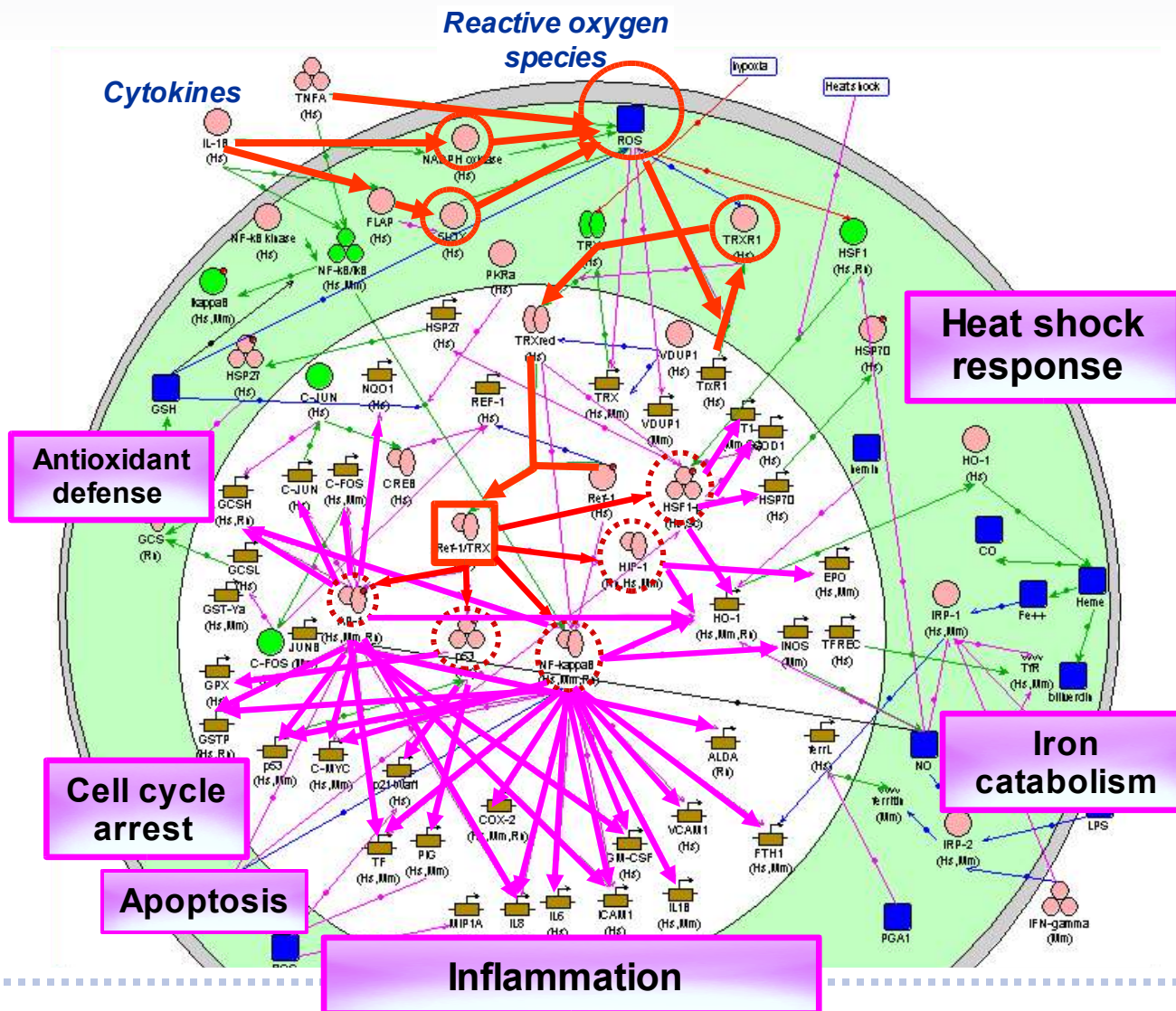
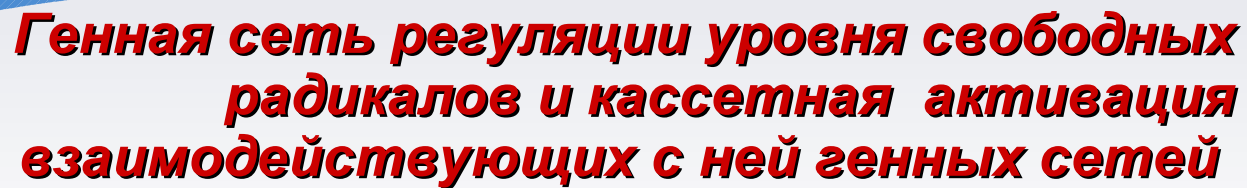
HSF1

Gene
network of
heat shock
response
regulation

Gene
network of
cell cycle
regulation:
activation
of genes
by factors
E2F1/DP1

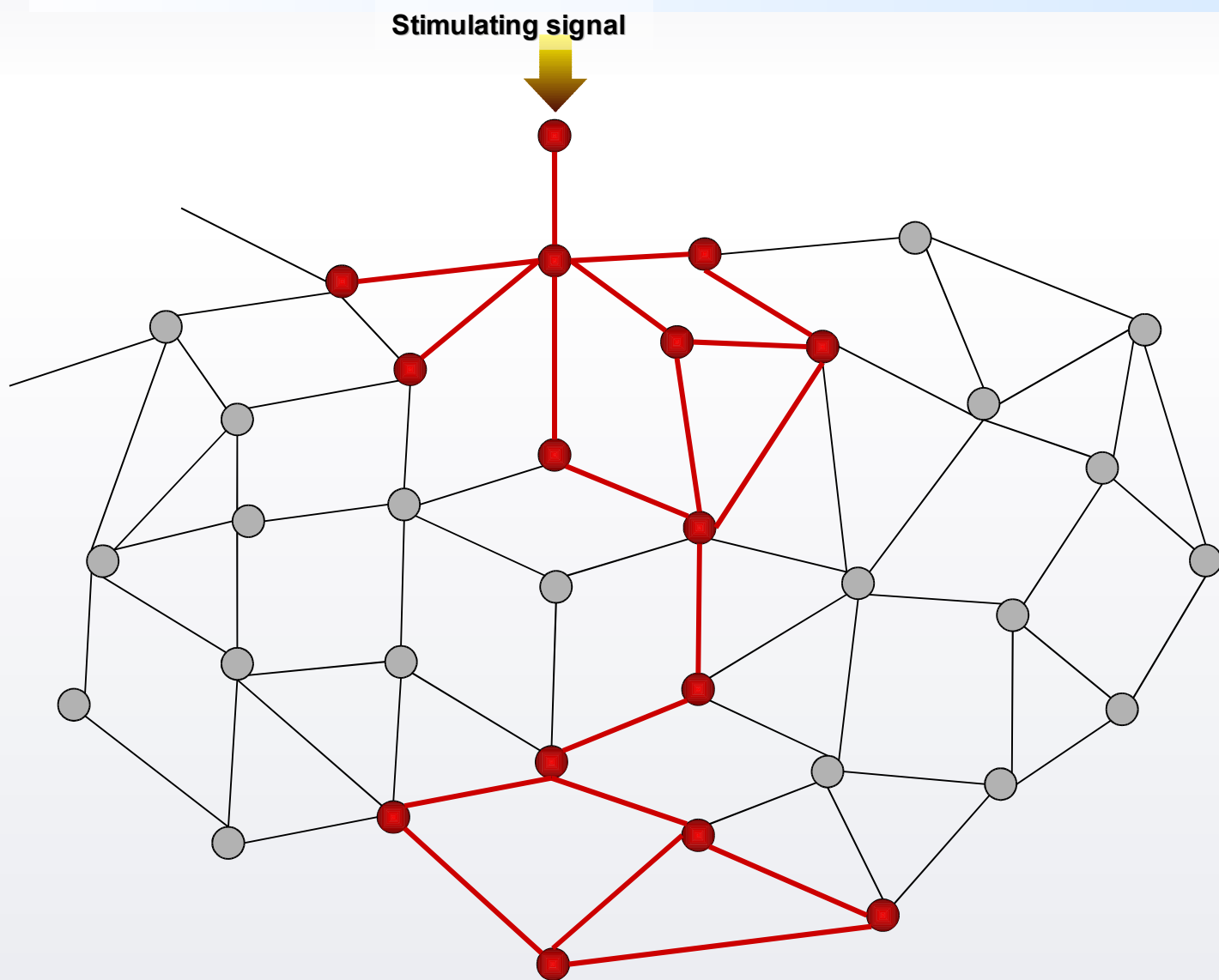
GATA1

Gene
network of
erythrocyt
e
differentia-
tion
regulation



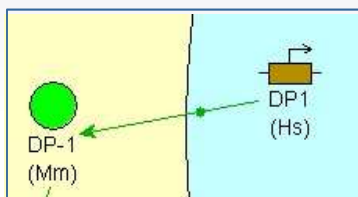


Взаимодействие локальных генных сетей и прохождение волны активации через глобальную генную сеть

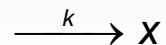




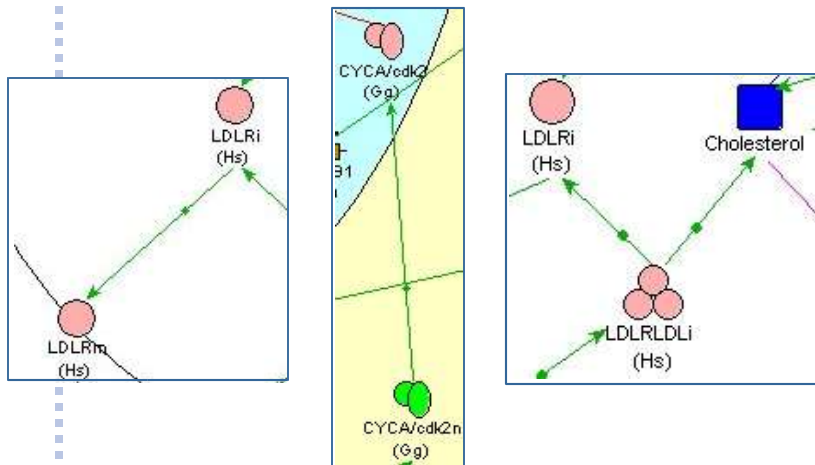
Примеры формального описания элементарных процессов



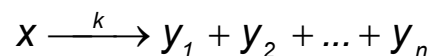
Конститутивный синтез :



$$\bar{X} = (x), \bar{P} = k, F: \frac{dx}{dt} = k \cdot x$$

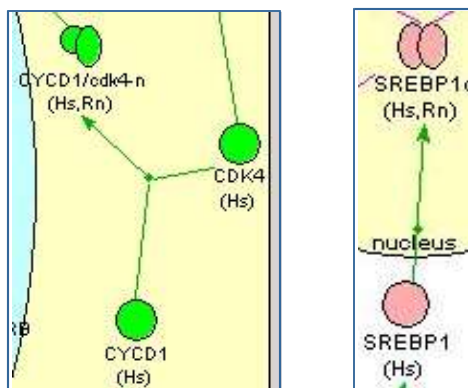


Мономолекулярная необратимая реакция:

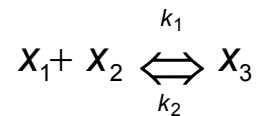


$$\bar{X} = (y_1, y_2, \dots, y_n), \bar{P} = k,$$

$$F: \frac{dx}{dt} = -\frac{dy_1}{dt} = -\frac{dy_2}{dt} = \dots = -\frac{dy_n}{dt} = -k \cdot x, n \geq 0$$



Бимолекулярная обратимая реакция :

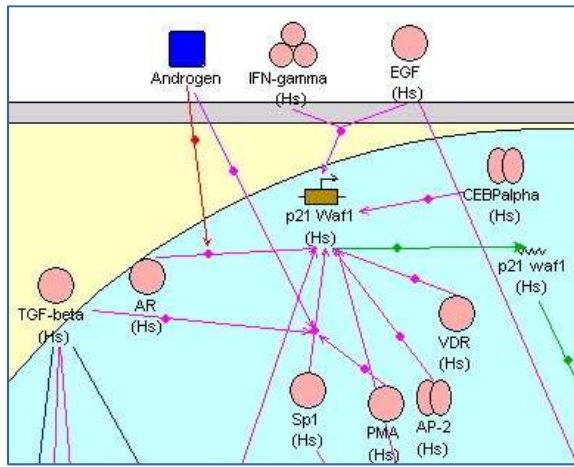
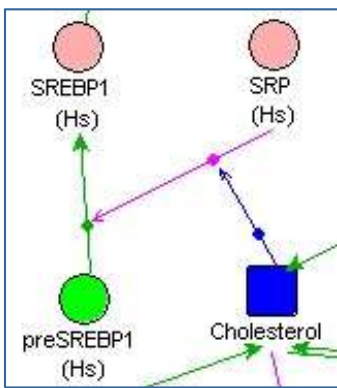
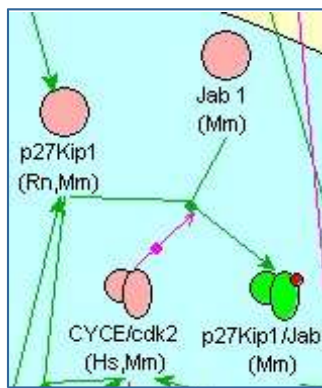
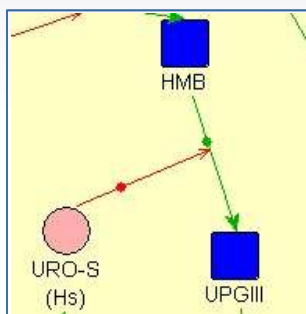
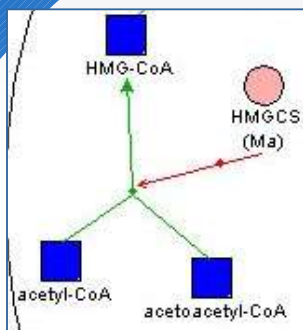


$$\bar{X} = (x_1, x_2, x_3), \bar{P} = (k_1, k_2),$$

$$F: \frac{dx_1}{dt} = \frac{dx_2}{dt} = -\frac{dx_3}{dt} = k_2 \cdot x_3 - k_1 \cdot x_1 \cdot x_2$$



Примеры формального описания элементарных процессов



Обобщенная реакция Михаэлиса – Ментен:

$$\bar{X} = (x_1, x_2, \dots, x_m, y_1, y_2, \dots, y_n),$$

$$\bar{P} = (m, k_i, k_d, a_1, \dots, a_m, b_1, \dots, b_n),$$

$$F: \frac{dx_j}{dt} = -a_j \cdot k_i \cdot Z, j = 1, \dots, m, m \geq 2,$$

$$\frac{dy_l}{dt} = b_l \cdot k_i \cdot Z, l = 1, \dots, n, n \geq 0$$

$$Z = \frac{k_d \cdot x_1 \cdot \dots \cdot x_m}{(k_d + x_1) \cdot \dots \cdot (k_d + x_m) - x_1 \cdot \dots \cdot x_m}$$

Регуляторные процессы:

$$-\frac{dX}{dt} = \frac{dY}{dt} = k \cdot \frac{k_1 + \sum_{i=1}^{n_1} \alpha_{1i} A_i^{h_{1i}}}{k_2 + \sum_{i=1}^{m_1} \beta_i I_i^{y_i} + \sum_{i=1}^{n_1} \alpha_{2i} A_i^{h_{2i}}}.$$

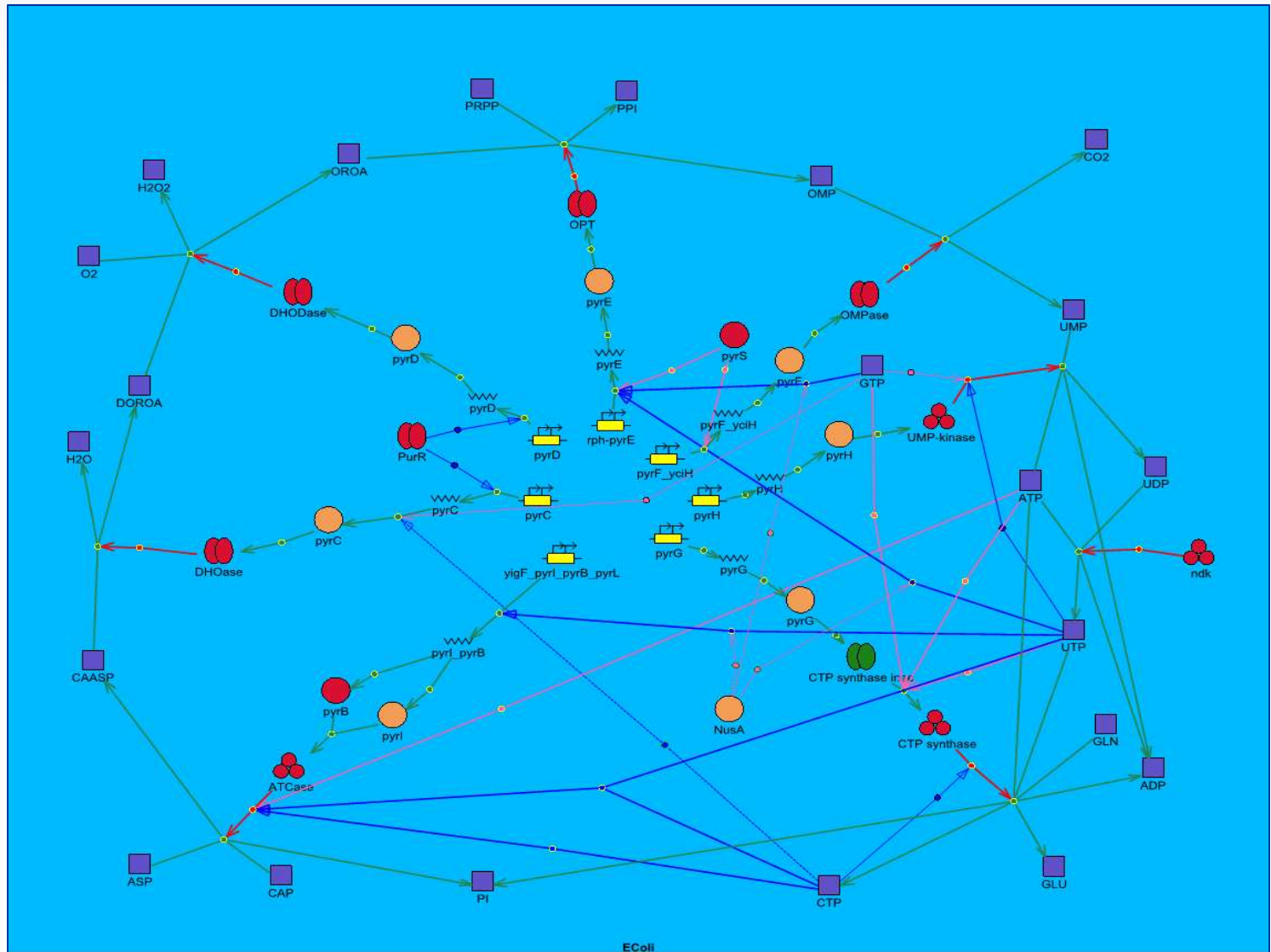
$$\prod_{j=1}^{n_2} \frac{\alpha_{0j} + \alpha_{1j} A_j^{h_{1j}}}{1 + \alpha_{2j} A_j^{h_{2j}}} \cdot \prod_{j=1}^{m_2} \frac{1}{1 + \beta_j I_j^{y_j}} \cdot X,$$

n_1 – активаторов (A_i) и m_1 – ингибиторов (I_i) по аддитивному механизму;

n_2 – активаторов (A_j) и m_2 – ингибиторов (I_j) по мультипликативному механизму



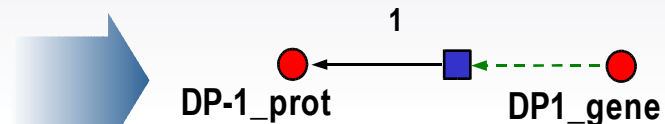
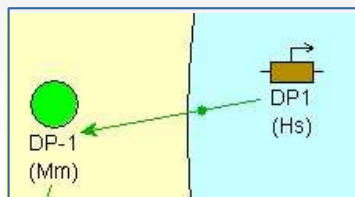
A fragment of the gene net of Pyrimidine Biosynthesis



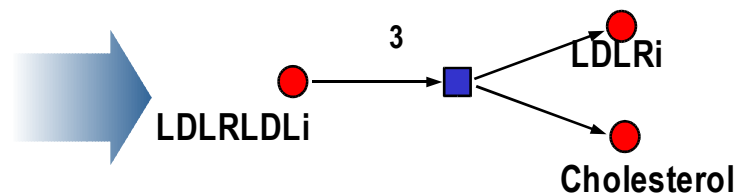
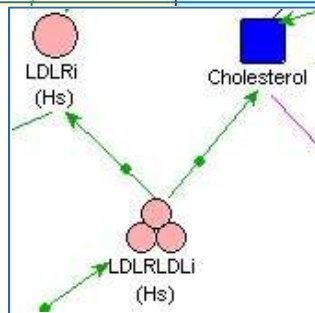


Представление моделей генных сетей в виде двудольных ориентированных графов

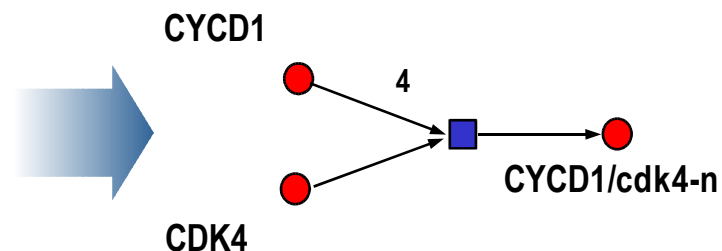
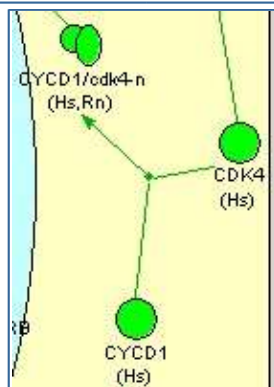
Конститутивный синтез



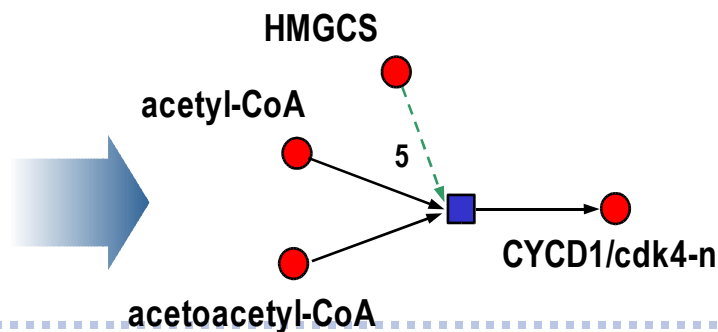
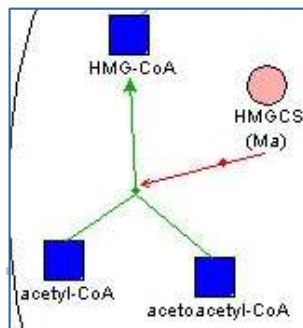
Мономолекулярная реакция



Бимолекулярная реакция

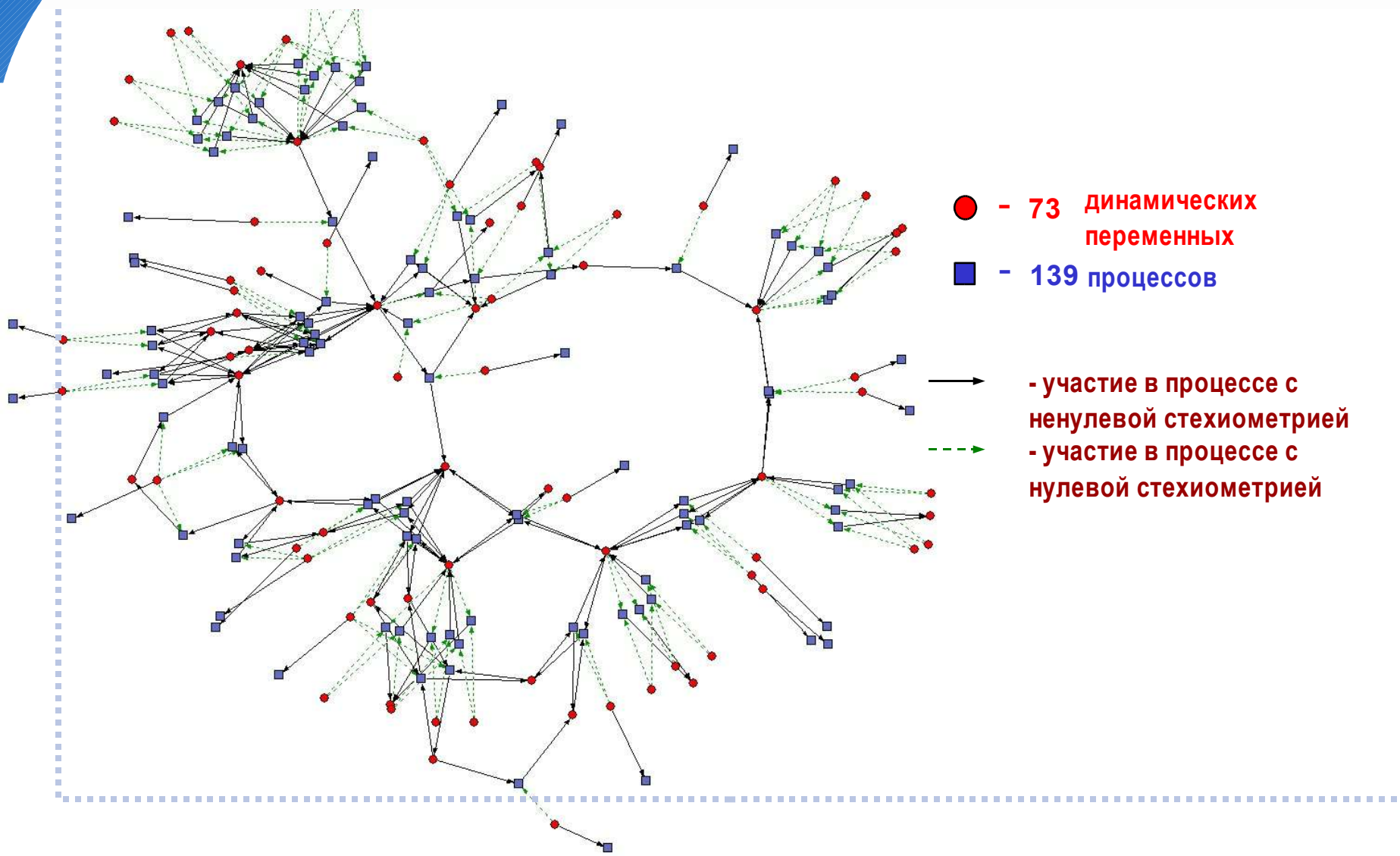


Ферментативная реакция



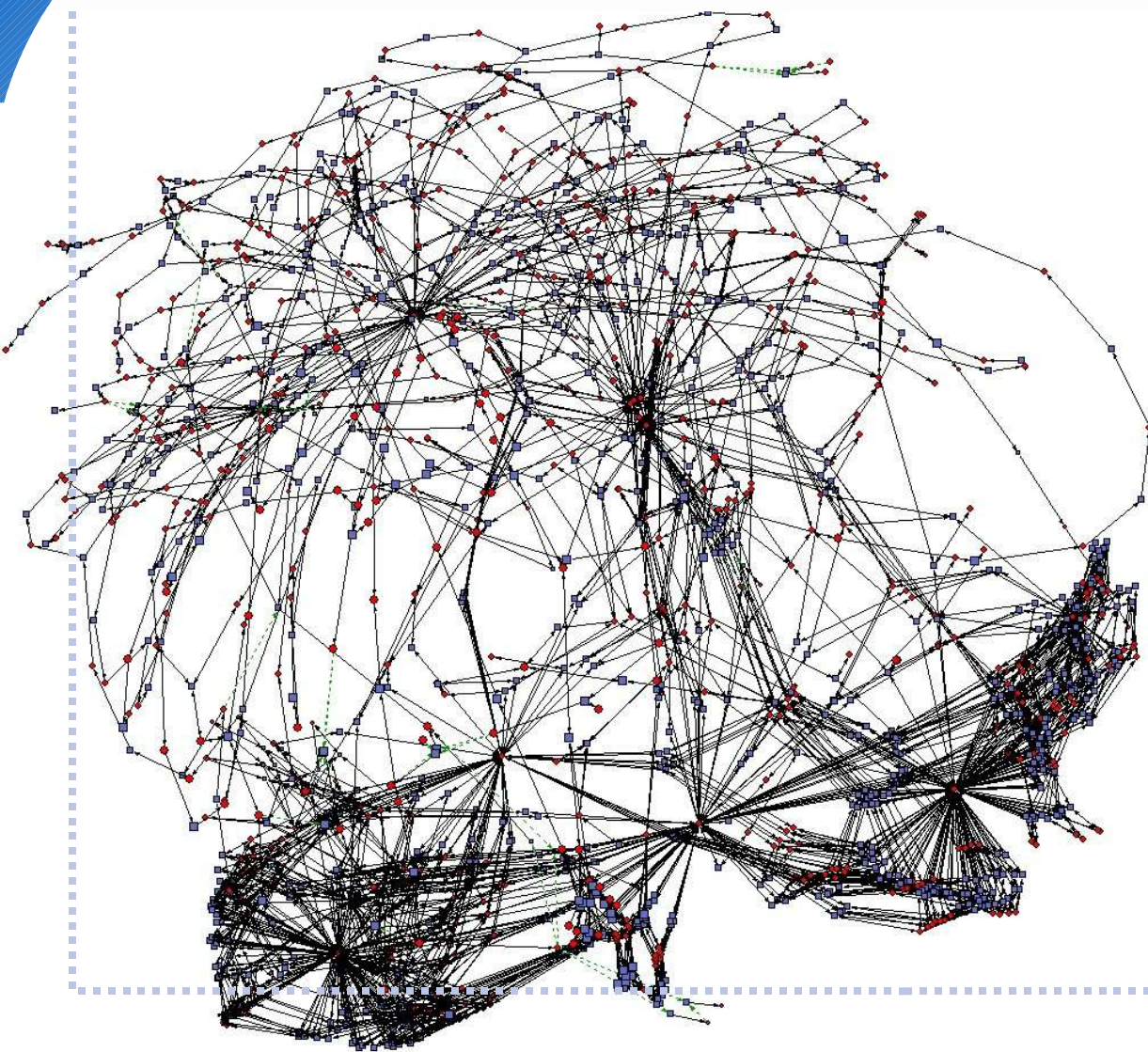


Двудольный граф компьютерной модели цикла трикарбоновых кислот *Escherichia Coli* k-12: метаболическая компонента





Двудольный граф компьютерной модели цикла трикарбоновых кислот *Escherichia Coli* k-12: регуляторная компонента



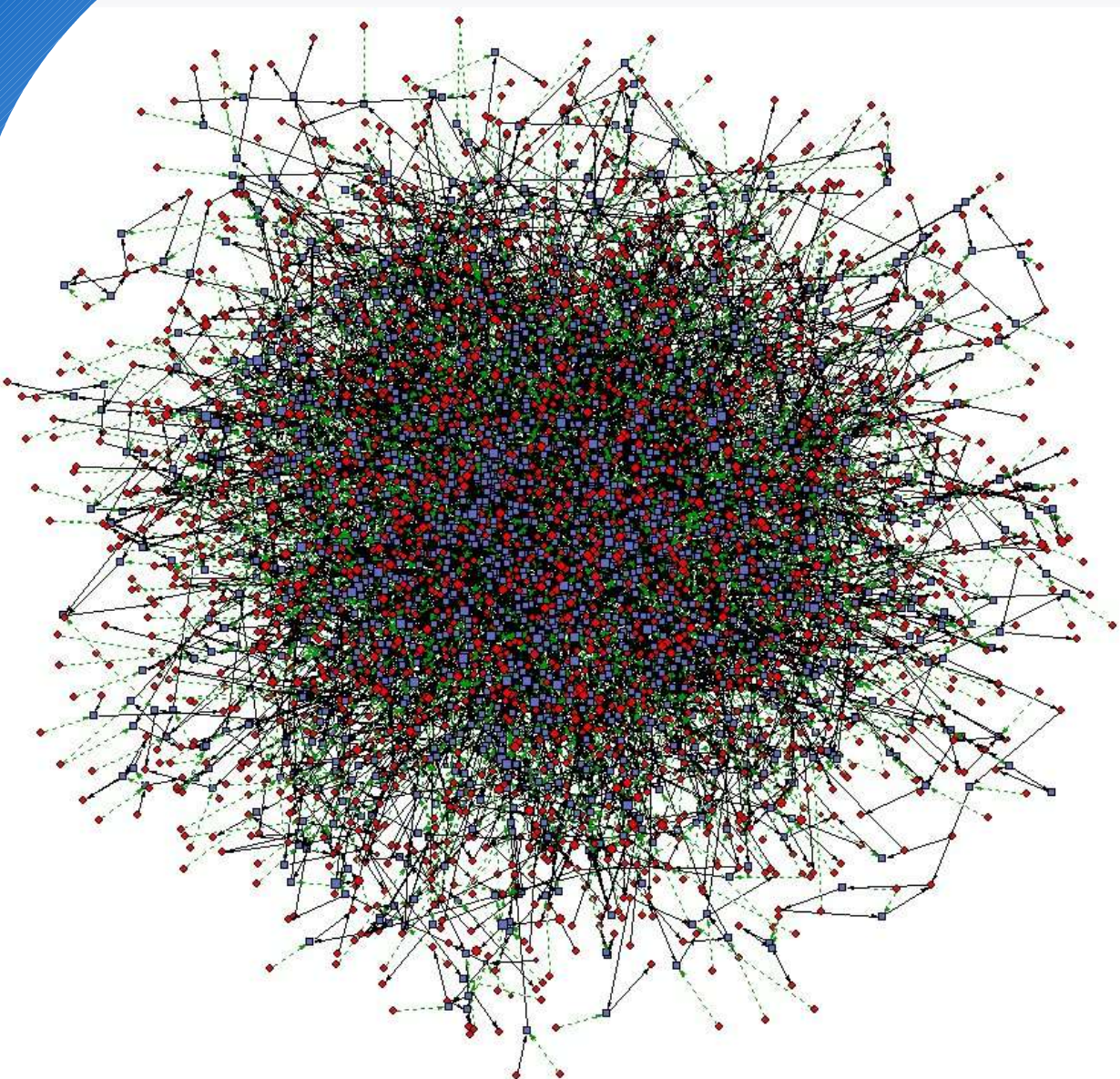
● - 757 динамических переменных

■ - 1882 процесса

→ - участие в процессе с ненулевой стехиометрией
- - - → - участие в процессе с нулевой стехиометрией



Двудольный граф компьютерной модели *Escherichia Coli* k-12: метаболическая компонента



● - 4036 динамических переменных

■ - 3973 процесса

— — — — —
- участие в процессе с
ненулевой стехиометрией

- - - - -
- участие в процессе с
нулевой стехиометрией



Escherichia Coli: электронная клетка

НИЖНИЕ ОЦЕНКИ СЛОЖНОСТИ МОДЕЛИ
(без детального учета этапов матричного биосинтеза): ~ 60 000 – 100 000 процессов

БОЛЕЕ ДЕТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ: ~ 1 000 000
процессов

ПОРТРЕТНАЯ МОДЕЛЬ: не менее 10 000 000
процессов



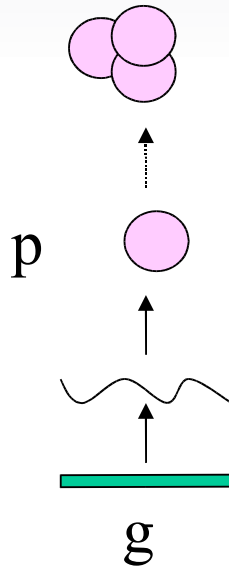
Элементы гипотетических генных сетей

белковый
мультимер

белок

мРНК

ген

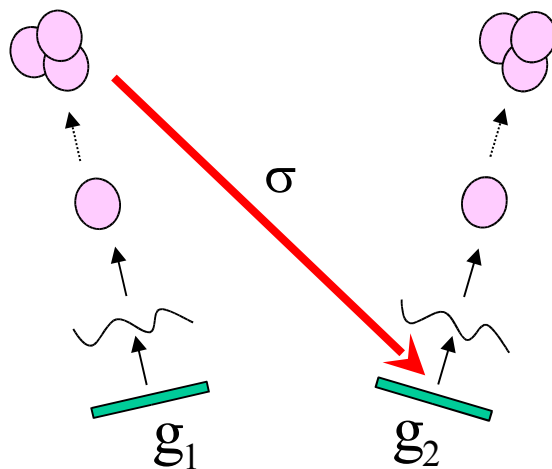


Генетический элемент (g) – элементарная структурная единица ГГС

Функционирование генетического элемента - синтез белка

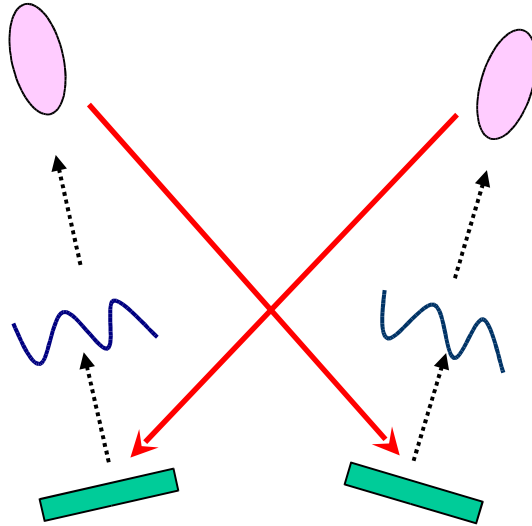
Активность генетического элемента – скорость синтеза белка

Продукт (p) – белок, кодируемый g



Регуляторная связь (σ) - элементарная единица гипотетической генной сети, посредством которой устанавливается регулирование активности одного генетического элемента (g_2), другим генетическим элементом (g_1)

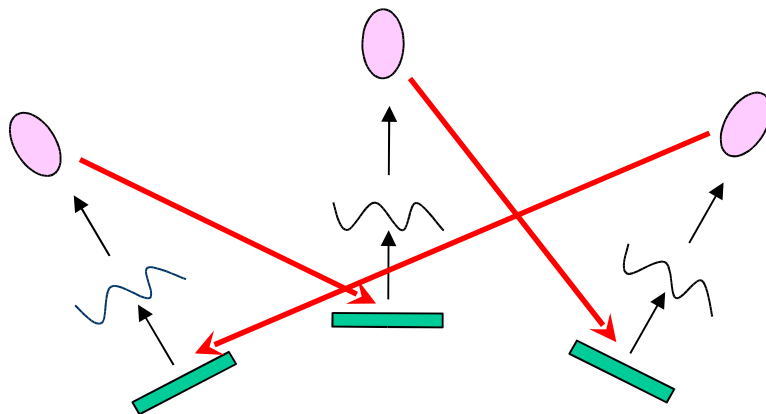
Гипотетическая геновая сеть (ГГС), состоящая из двух генетических элементов и двух регуляторных связей



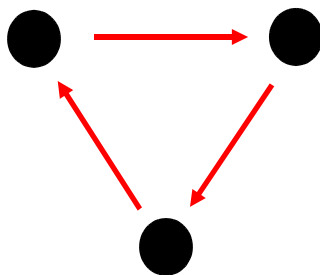
Структурный граф ГГС



ГГС, состоящая из трех генетических элементов и трех регуляторных связей



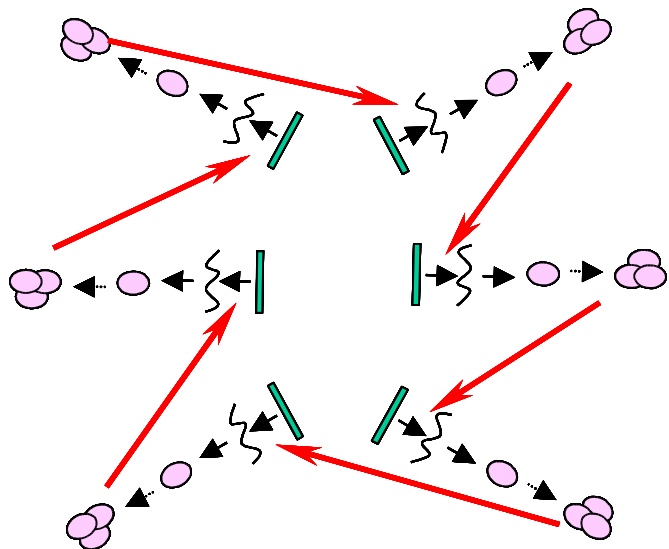
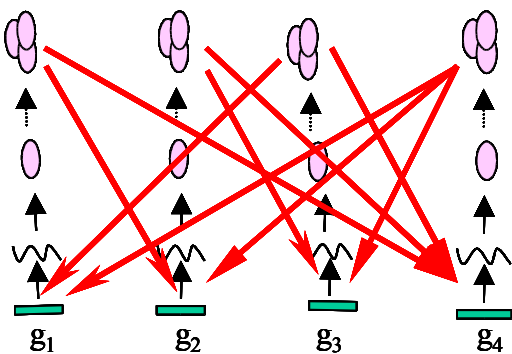
Структурный граф ГГС



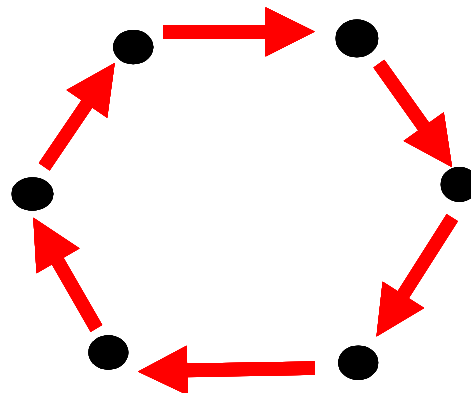
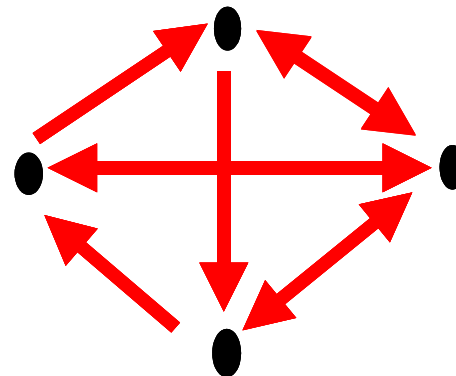


Примеры гипотетических генных сетей первого класса

диаграмма

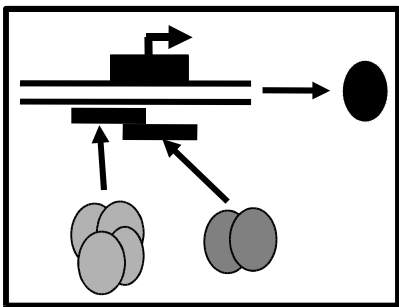


Структурный граф

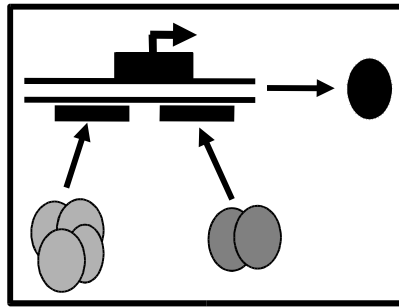


Четыре типа регулирования эффективности экспрессии генетических элементов

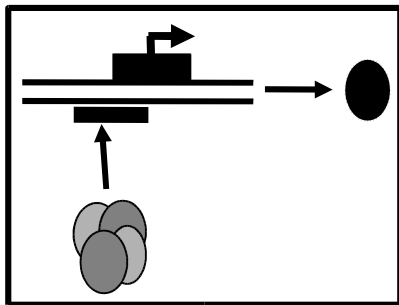
a) Type 1



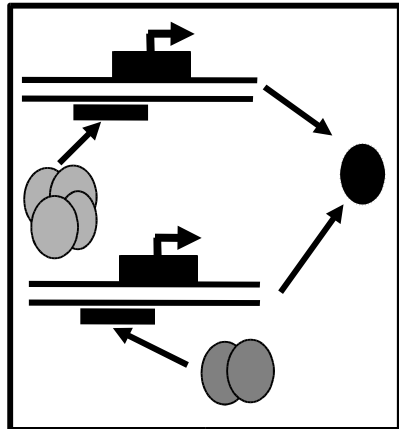
b) Type 2



c) Type 3



d) Type 4



Условные обозначения



-участок инициации экспрессии



- сайт регуляции



- синтезируемый продукт



-гетеромультимер



-гомультимеры

Модели 1-го класса, описывающие ГГС, в которых
регуляция осуществляется по первому типу

$$\frac{dx_i(t)}{dt} = \frac{\alpha_i}{1 + \sum_{k \in D_i} \delta_{i,k} x_k^{\gamma_{i,k}}(t - \tau_i)} - \beta_i x_i(t)$$

Модели 2-го класса, описывающие ГГС, в которых
регуляция осуществляется по второму типу

$$\frac{dx_i(t)}{dt} = \frac{\alpha_i}{\prod_{k \in D_i} (1 + \delta_{i,k} x_k^{\gamma_{i,k}}(t - \tau_i))} - \beta_i x_i(t)$$

Модели 3-го класса, описывающие ГГС, в которых
регуляция осуществляется по третьему типу

$$\frac{dx_i(t)}{dt} = \frac{\alpha_i}{1 + \delta_i \prod_{k \in D_i} x_k^{\gamma_{i,k}}(t - \tau_i)} - \beta_i x_i(t)$$

Модели 4-го класса, описывающие ГГС, в которых
регуляция осуществляется по четвертому типу

$$\frac{dx_i(t)}{dt} = \sum_{k \in D_i} \frac{\alpha_{i,k}}{1 + \delta_{i,k} x_k^{\gamma_{i,k}}(t - \tau_{j,i})} - \beta_i x_i(t)$$

Канонические ГГС классов 1-4 без авторегуляций

$$\tau_{k,i} = \tau_i = \tau, \alpha_i = \alpha_{i,k} = \alpha, \delta_i = \delta_{i,k} = 1, \gamma_{i,k} = \gamma, \beta_i = 1, i \notin D_i$$

$$\frac{dx_i(t)}{dt} = \frac{\alpha}{1 + \sum_{k \in D_i} x_k^\gamma(t - \tau)} - x_i(t)$$

$$\frac{dx_i(t)}{dt} = \frac{\alpha}{\prod_{k \in D_i} (1 + x_k^\gamma(t - \tau))} - x_i(t)$$

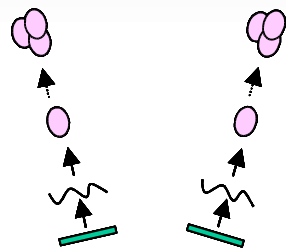
$$\frac{dx_i(t)}{dt} = \frac{\alpha_i}{1 + \prod_{k \in D_i} x_k^\gamma(t - \tau)} - x_i(t)$$

$$\frac{dx_i(t)}{dt} = \sum_{k \in D_i} \frac{\alpha}{1 + x_k^\gamma(t - \tau)} - x_i(t)$$



Гипотетические геновые сети, состоящие из двух генетических элементов

Диаграмма



Структурный граф



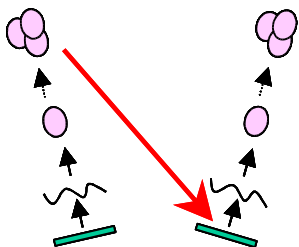
Каноническая система

$$dp_1/dt = \alpha - p_1$$

$$dp_2/dt = \alpha - p_2,$$

Режимы
функционирования

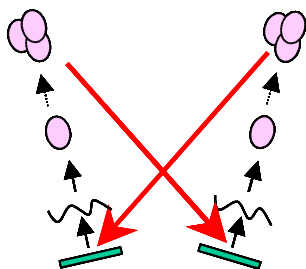
1 устойчивая точка



$$dp_1/dt = \alpha - p_1$$

$$dp_2/dt = \alpha / (1 + p_1^\gamma) - p_2$$

1 устойчивая точка



$$dp_1/dt = \alpha / (1 + p_2^\gamma) - p_1$$

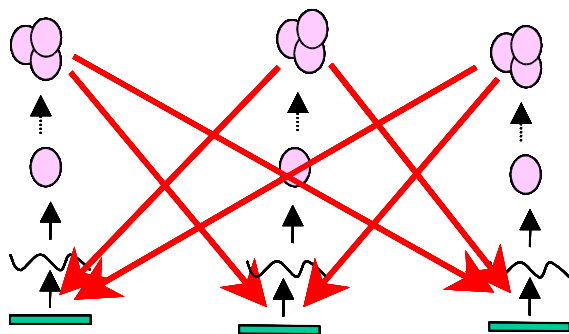
$$dp_2/dt = \alpha / (1 + p_1^\gamma) - p_2$$

2 устойчивых точки

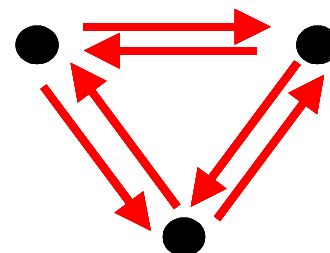


Гипотетическая генная сеть, состоящая из трех генетических элементов с полным структурным графом

Diagram of HGN



Structural graph



Mathematical model

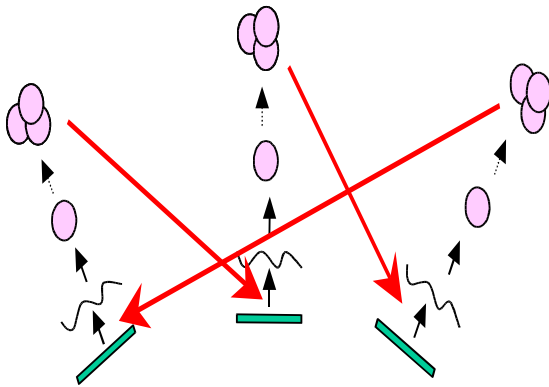
$$\begin{aligned} dp_1/dt &= \alpha / (1 + p_2^\gamma + p_3^\gamma) - p_1 \\ dp_2/dt &= \alpha / (1 + p_1^\gamma + p_3^\gamma) - p_2 \\ dp_3/dt &= \alpha / (1 + p_1^\gamma + p_2^\gamma) - p_3 \end{aligned}$$

Имеется параметрическая область,
в которой существует три устойчивых точки

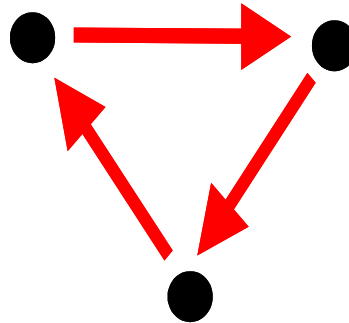


**Простейшая гипотетическая генная сеть,
имеющая область значений параметров с
незатухающими колебаниями**

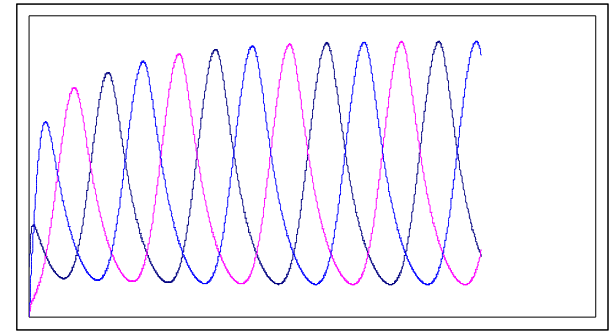
Diagramma of HGN



Structural graph



The stable limit cycle

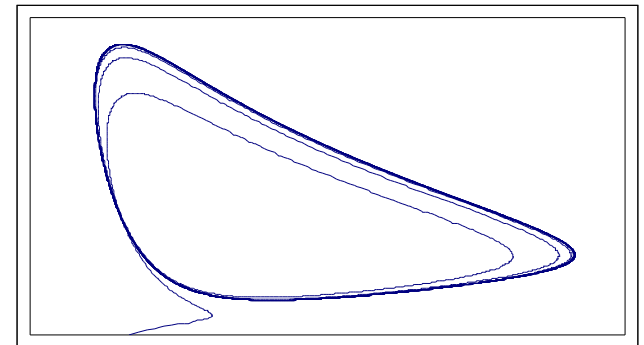


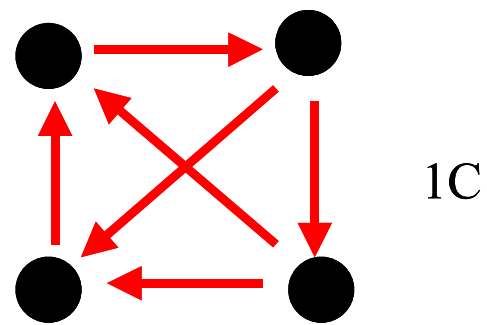
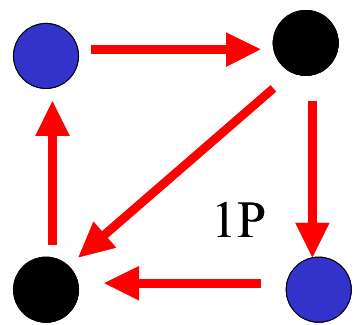
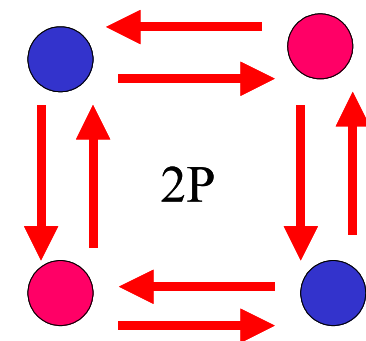
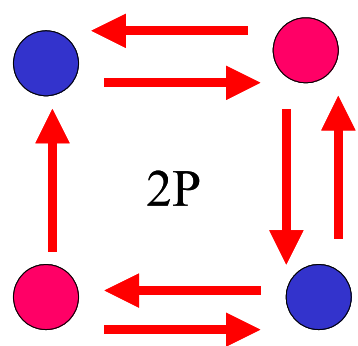
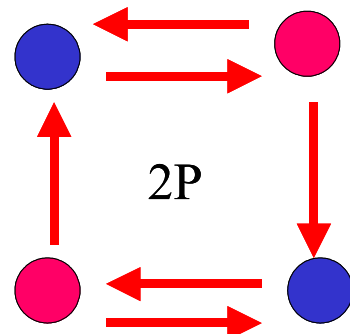
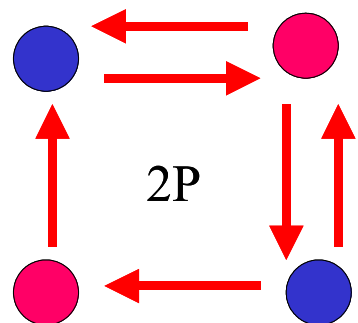
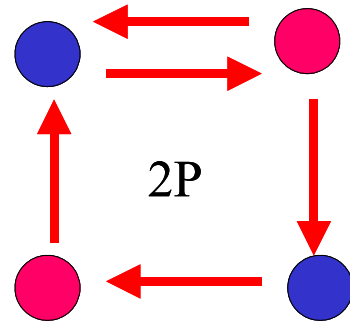
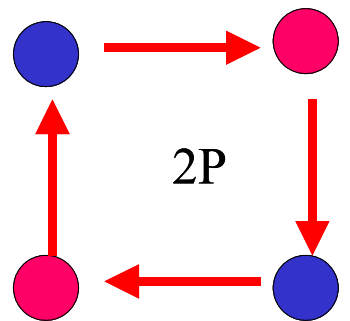
Mathematical model

$$dp_1/dt = \alpha / (1 + p_3^\gamma) - p_1$$

$$dp_2/dt = \alpha / (1 + p_1^\gamma) - p_2$$

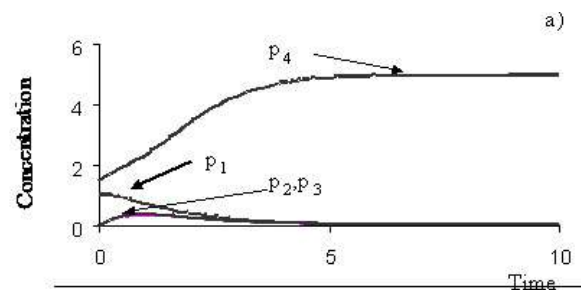
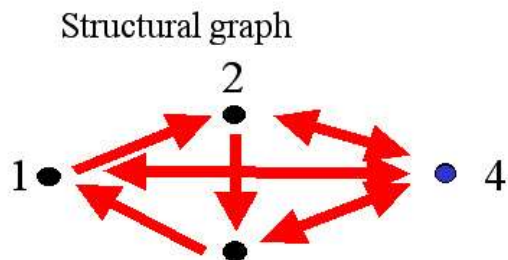
$$dp_3/dt = \alpha / (1 + p_2^\gamma) - p_3$$



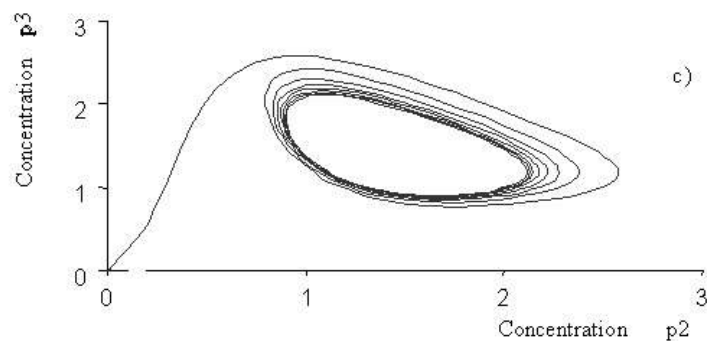
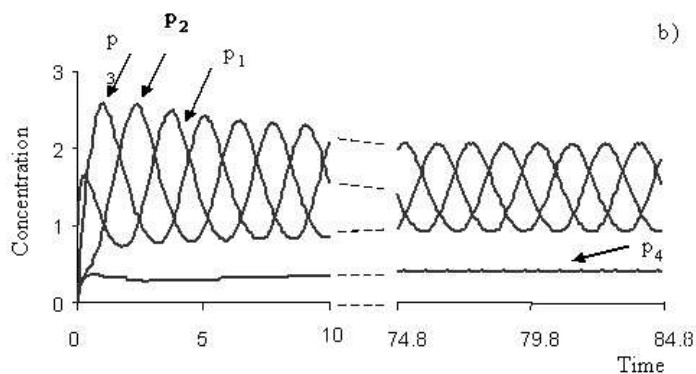




Гипотетическая генная сеть, состоящая из четырех генетических элементов, которая имеет область, в которой существует два качественно различных режима поведения



а) Точка покоя: достигается при задании следующих начальных данных
 $p_1=1, p_2=p_3=0, p_4=1.5$

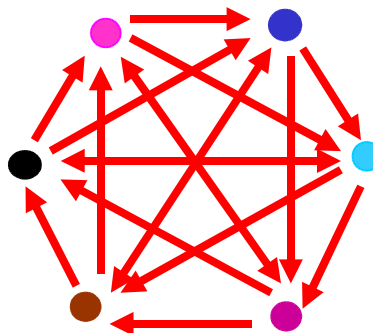


б,с) осцилляция: достигается при задании следующих начальных данных
 $p_1=1, p_2=p_3=p_4=0$

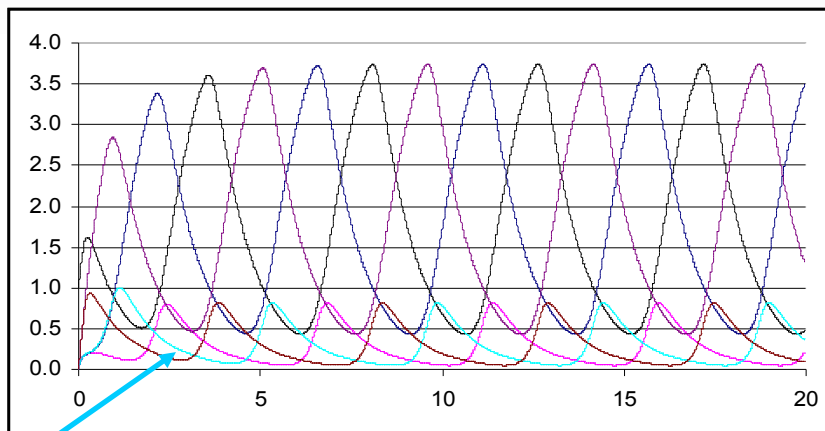


Пример гипотетической генной сети, содержащей 6 генетических элементов, которая имеет 2 стабильных предельных цикла

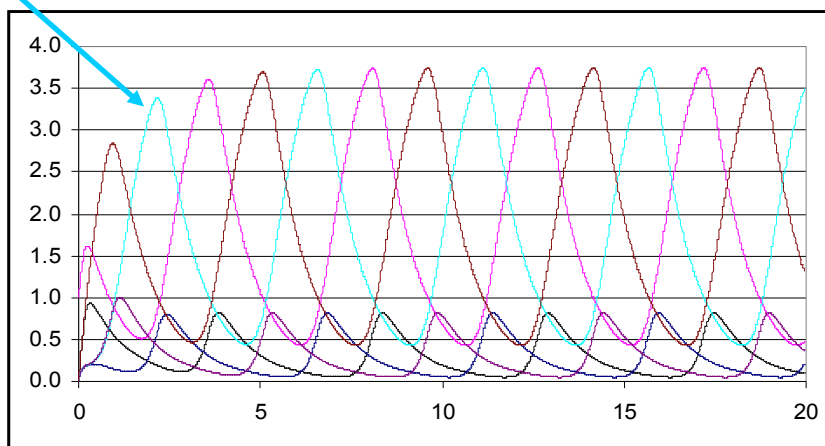
Structural graph



The first stable cycle



The second stable cycle



Mathematical model

$$dp_1/dt = \alpha / (1 + p_4^\gamma + p_5^\gamma + p_6^\gamma) - p_1$$

$$dp_2/dt = \alpha / (1 + p_1^\gamma + p_5^\gamma + p_6^\gamma) - p_2$$

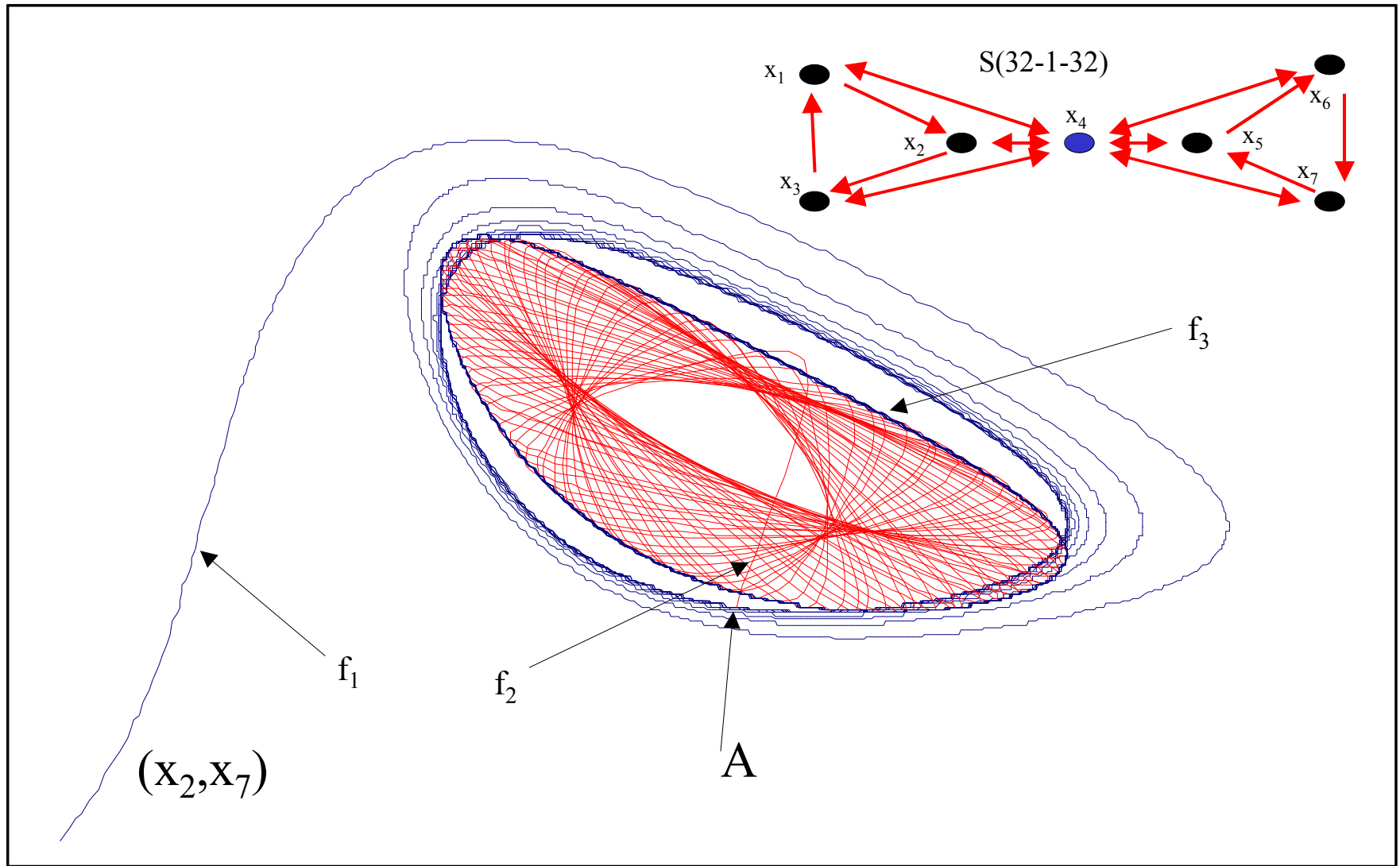
$$dp_3/dt = \alpha / (1 + p_2^\gamma + p_1^\gamma + p_6^\gamma) - p_3$$

$$dp_4/dt = \alpha / (1 + p_3^\gamma + p_2^\gamma + p_1^\gamma) - p_4$$

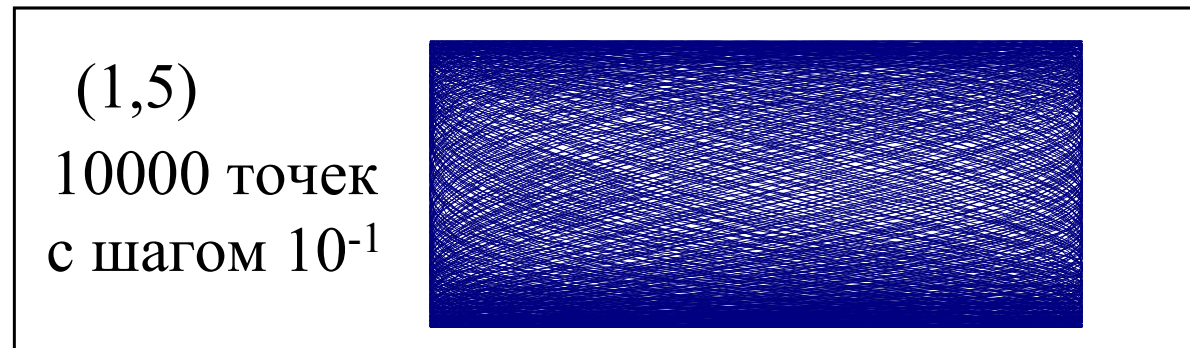
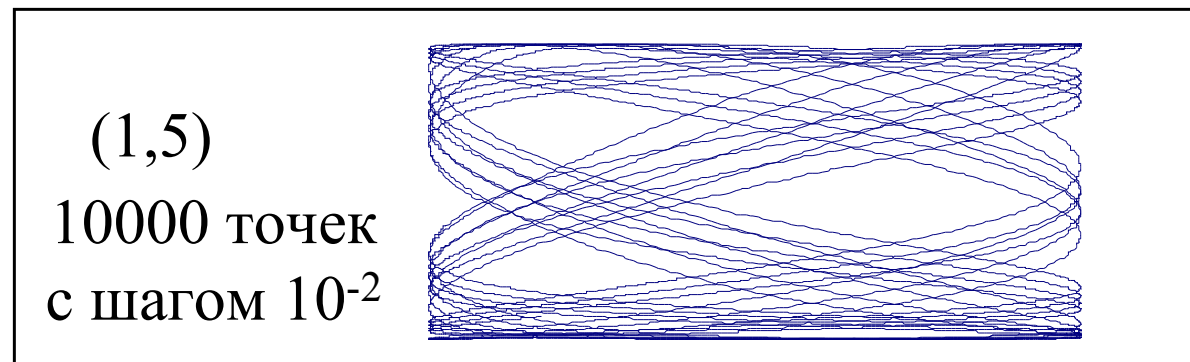
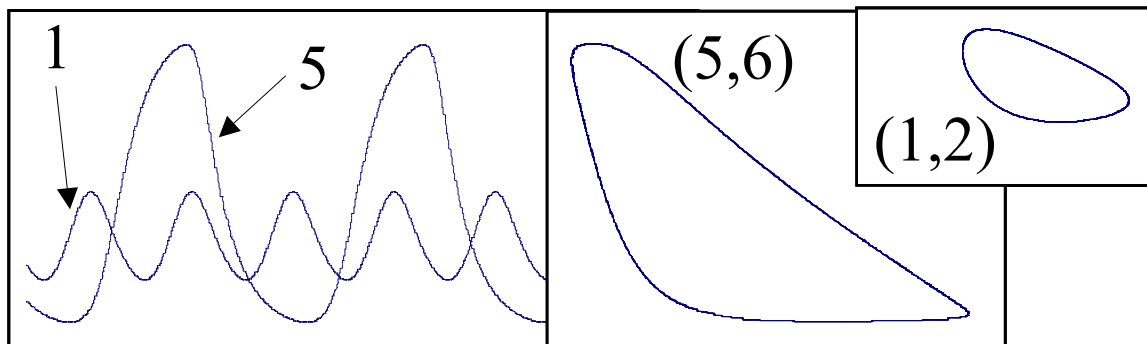
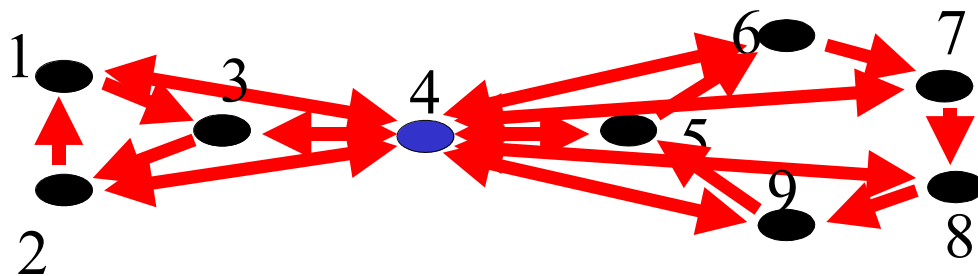
$$dp_5/dt = \alpha / (1 + p_4^\gamma + p_3^\gamma + p_2^\gamma) - p_5$$

$$dp_6/dt = \alpha / (1 + p_5^\gamma + p_4^\gamma + p_3^\gamma) - p_6$$

Одна устойчивая точка покоя, три устойчивых цикла, пять неустойчивых циклов

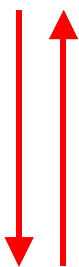
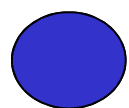


Кривая f_1 стартует и остается в гиперпространстве $x_1=x_5, x_2=x_6, x_3=x_7$, притягиваясь к неустойчивому циклу

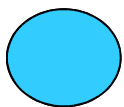




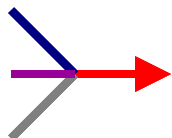
Элемент гипотетической геной сети, предназначенный для суммирования в двоичном числе двух битов младшего разряда



Молекулярный триггер –
элементарная ячейка
памяти



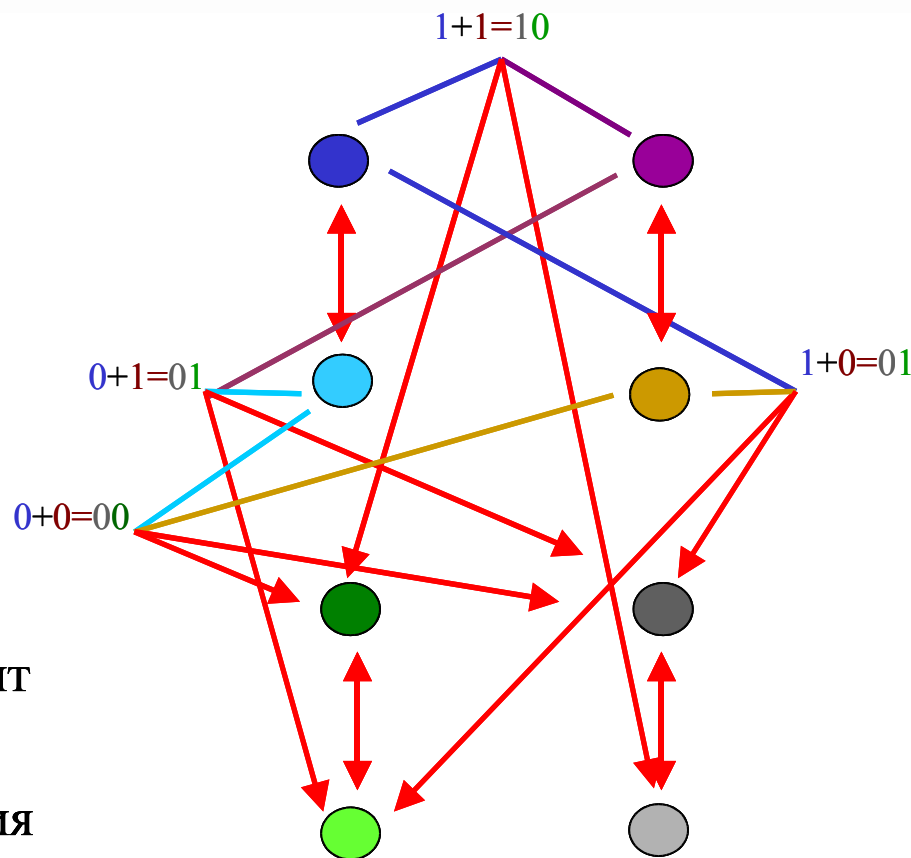
Генетический элемент



Совместная репрессия

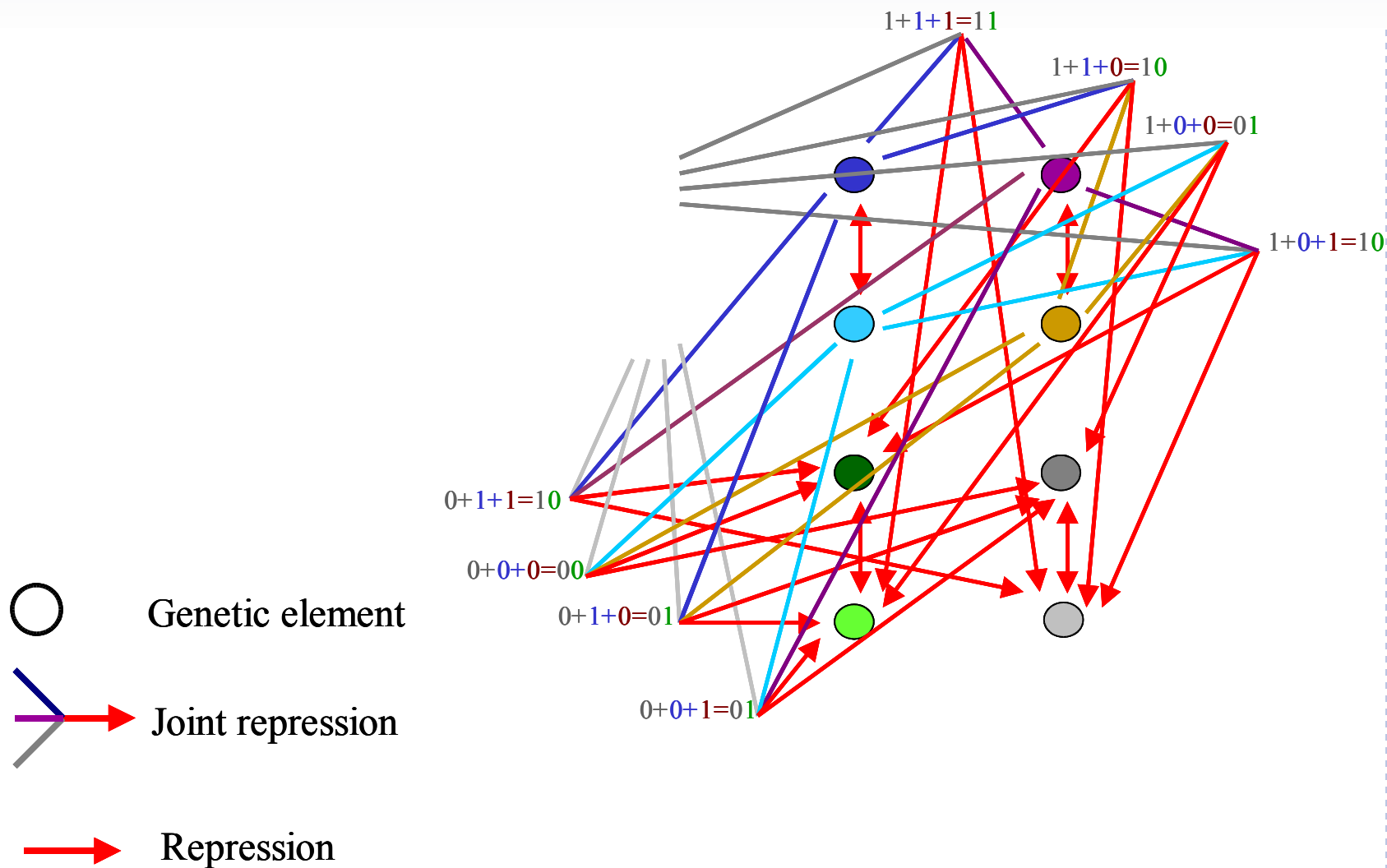


репрессия



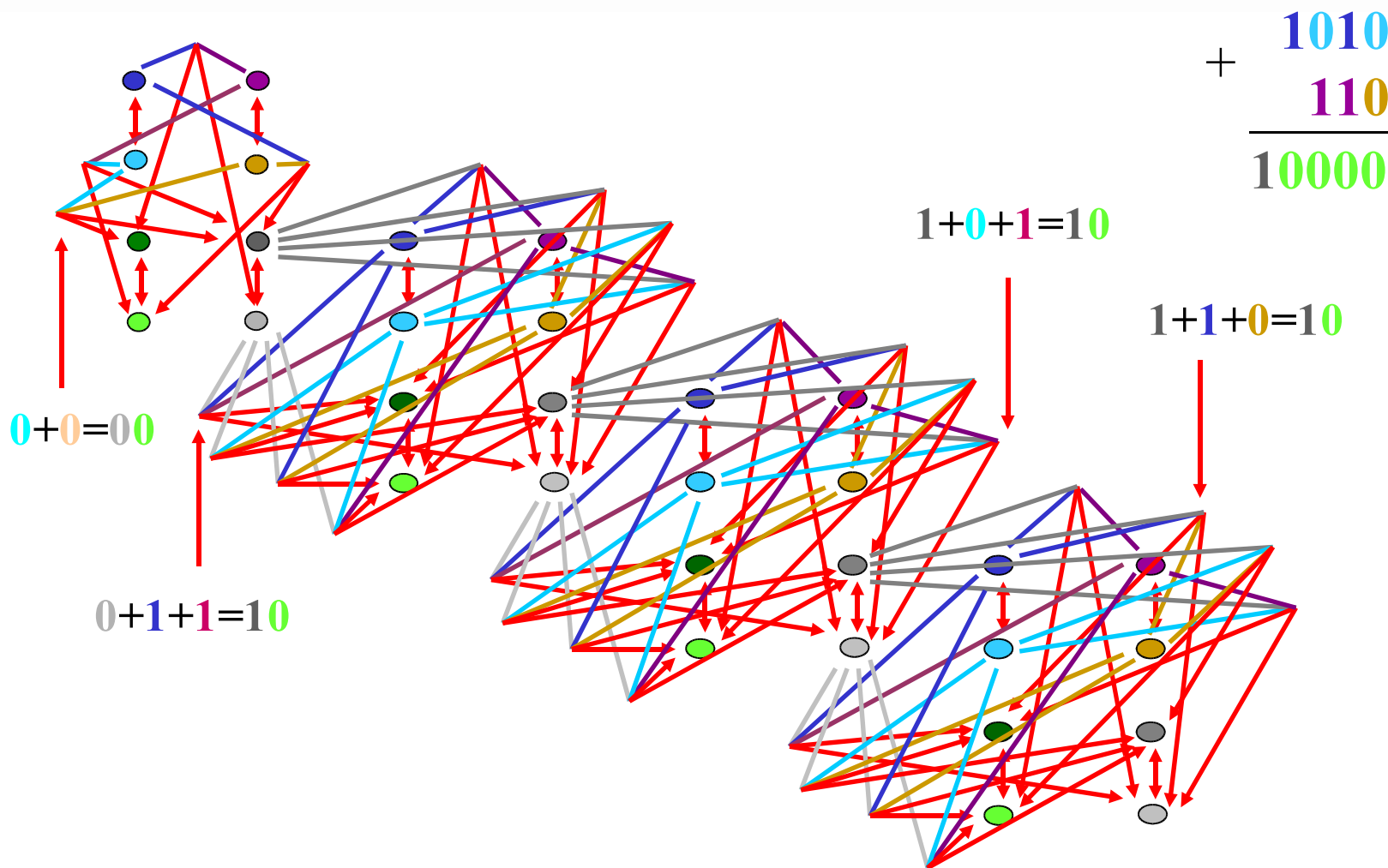


Элемент гипотетической геной сети, предназначенный для суммирования в двоичном числе двух битов старших разрядов





Генетические компьютеры гипотетическая генная сеть, которая суммирует четырех- разрядные двоичные числа

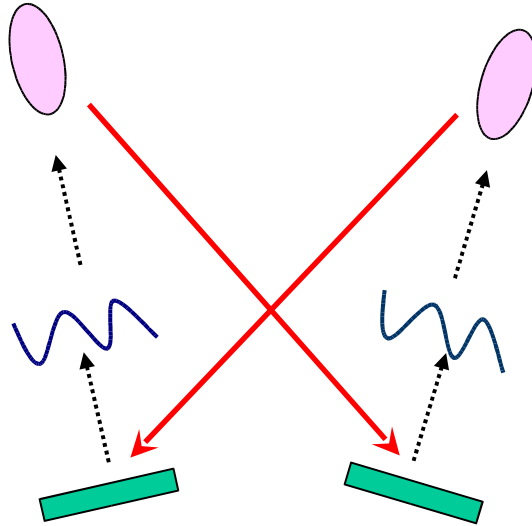


ЭКСПЕРИМЕНТ

В работе использованы гены и их промоторы:

- Ген *LacI E.coli*
- LacI-репрессор контролирует экспрессию лактозного оперона
- Ген *TetR* из тетрациклинустойчивого транспозона *Tn10*
- TetR-репрессор контролирует экспрессию генов, обеспечивающих устойчивость грамотрицательных бактерий к тетрациклину
- Ген *CI* фага λ
- CI-репрессор промоторов литического пути фага. Обеспечивает лизогенное состояние
- Ген *GFP (green fluorescent protein)* из медузы *Aequorea Victoria*.
Зеленый флуоресцентный белок. Длина волны возбуждения 475 нм, испускания – 510 нм.

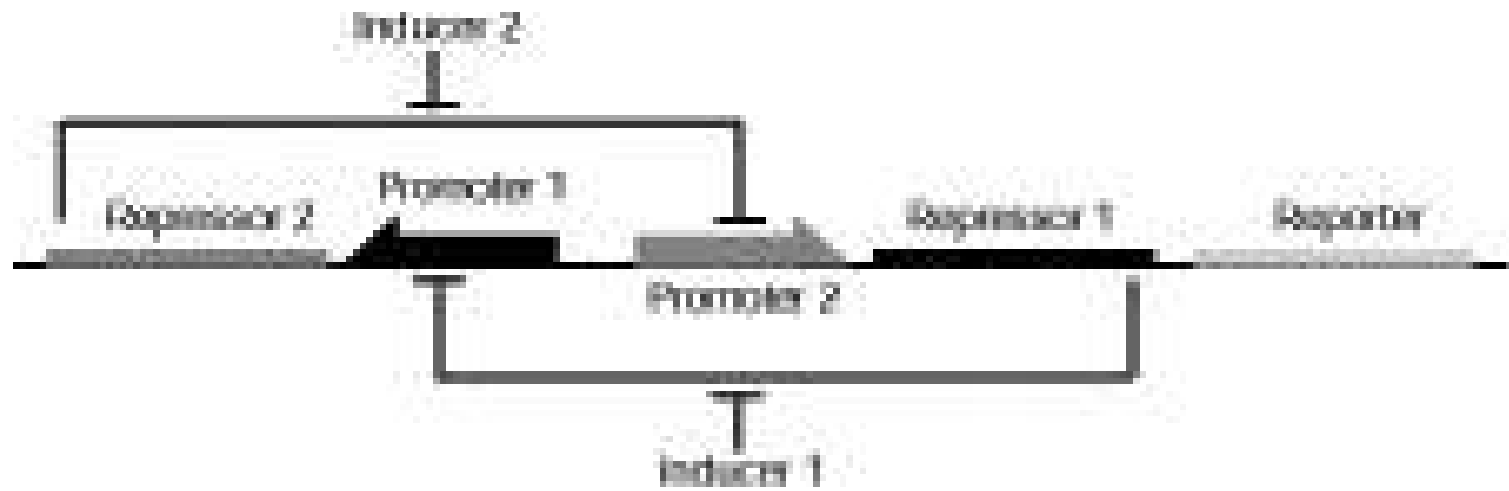
Гипотетическая генная сеть (ГГС), состоящая из двух генетических элементов и двух регуляторных связей



Структурный граф ГГС

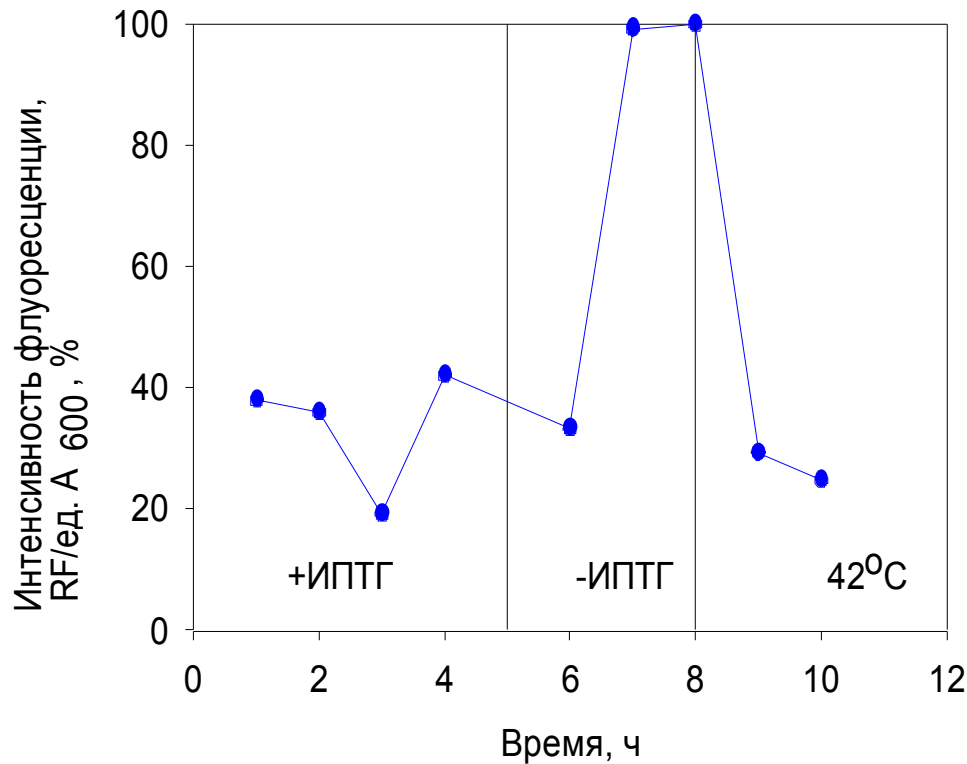


Принципиальная схема организации триггера



- Репрессор 1 ингибирует транскрипцию с промотора 1. Индуцируется индуктором 1.
- Репрессор 2 ингибирует транскрипцию с промотора 2. Индуцируется индуктором 2.

Зависимость относительной флуоресценции GFP от времени и наличия индуктора в плазмиде рТАК

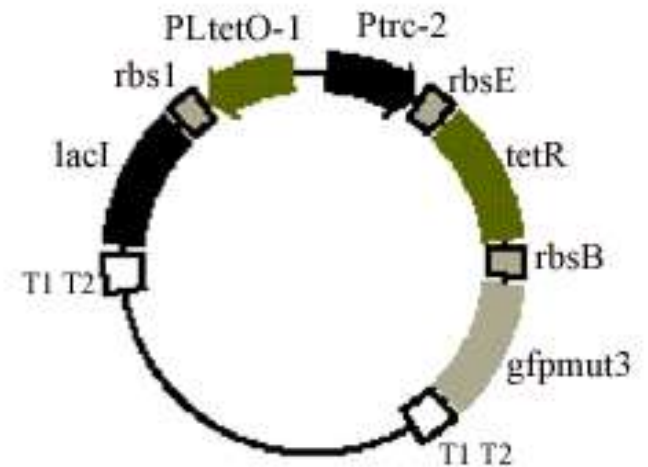
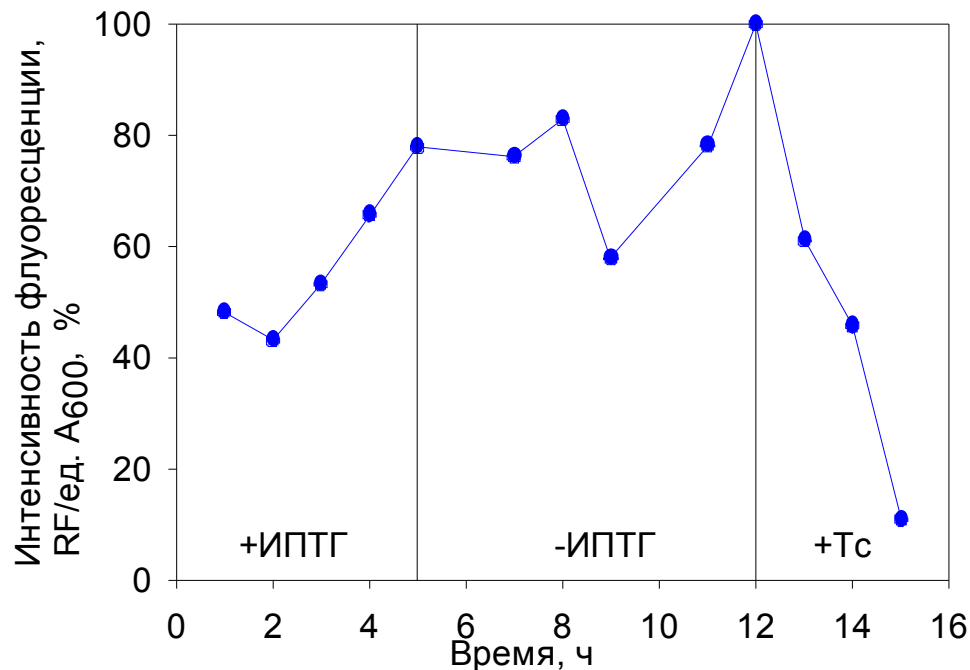


LacI репрессор – CI репрессор

Индукторы: ИПТГ и температура

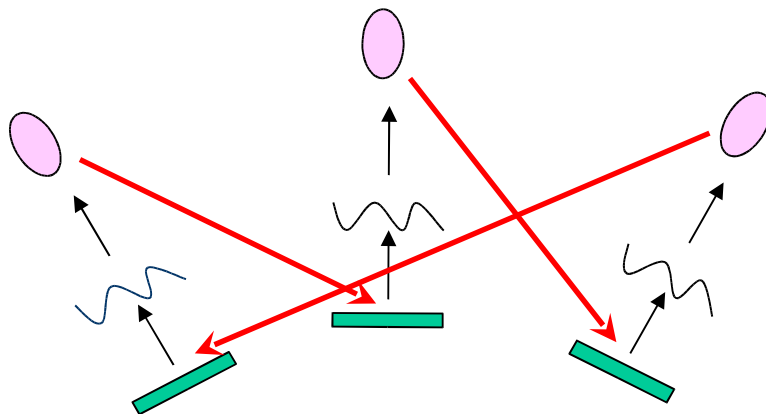
(ИПТГ – изопропил-β-Д-тиогалактопиранозид)

Зависимость относительной флуоресценции GFP от времени и наличия индуктора в плазмиде pIKE

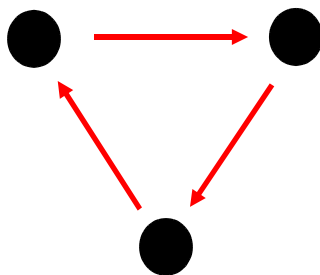


LacI репрессор – TetR репрессор
Индукторы: ИПТГ, тетрациклин

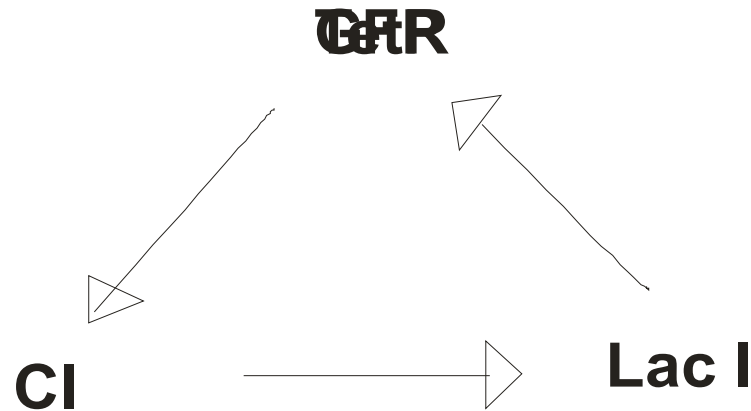
ГГС, состоящая из трех генетических элементов и трех регуляторных связей



Структурный граф ГГС



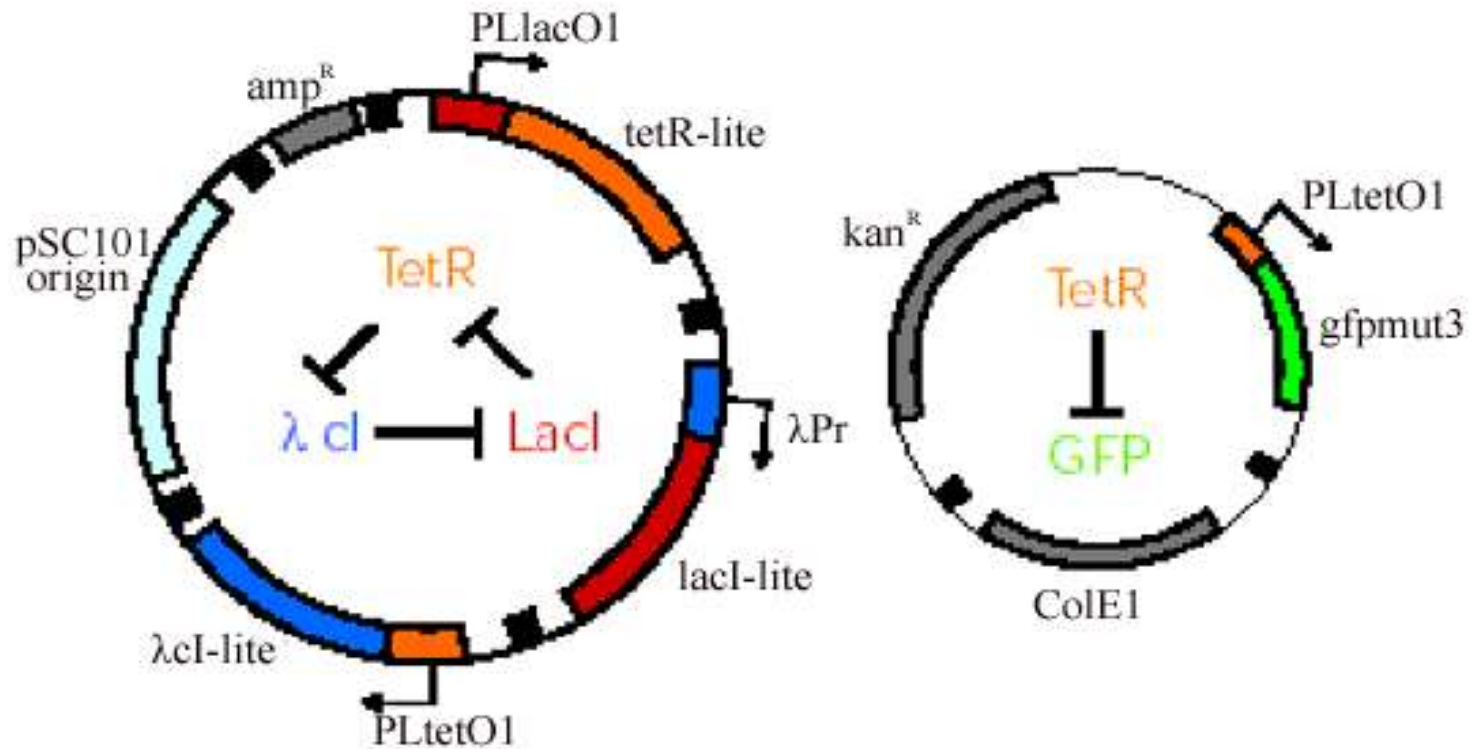
Принципиальная схема организации осциллятора



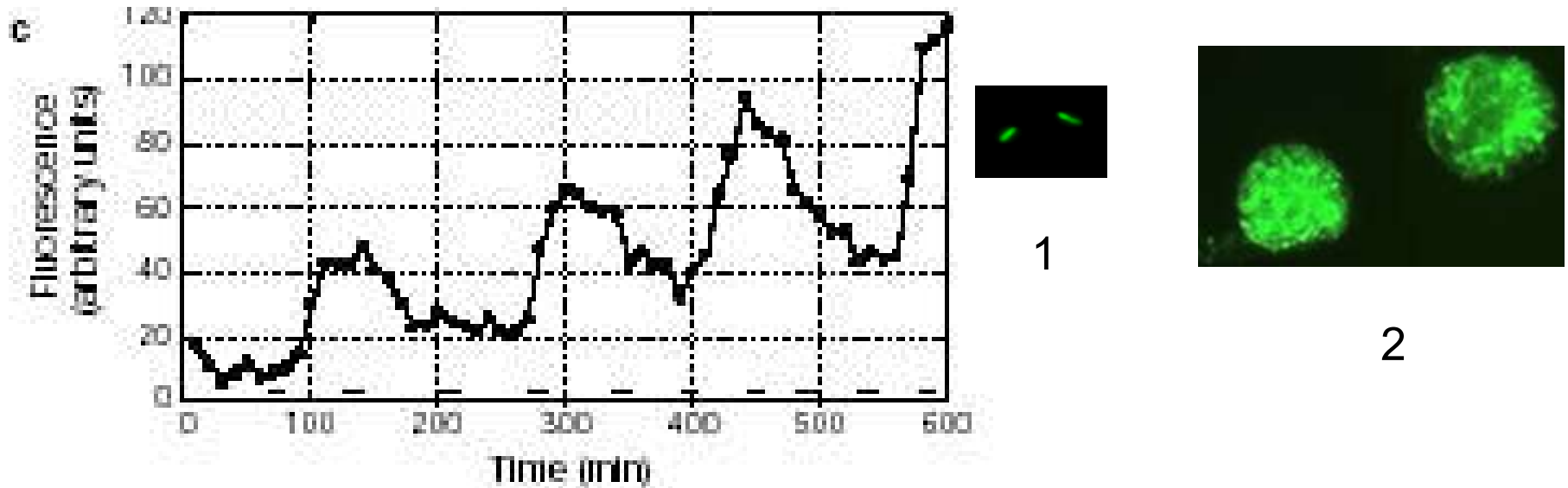
Связываясь каждый со своим промотором

- LacI ингибирует транскрипцию TetR и GFP
- TetR ингибирует транскрипцию CI,
- CI ингибирует транскрипцию LacI

Репрессиллятор и репортерная плазмиды



Осцилляция в живых бактериях

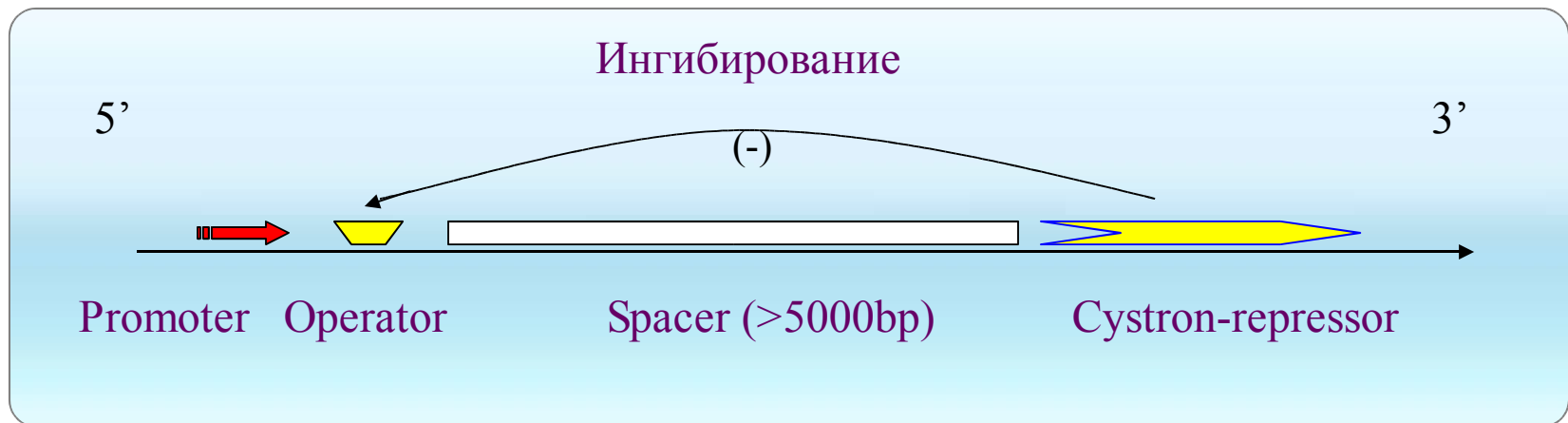


Зависимость относительной флуоресценции GFP от времени в отдельной клетке *E.coli*, содержащей репрессилатор

- 1 – отдельные клетки в начале наблюдения
- 2 – колонии через 20 ч

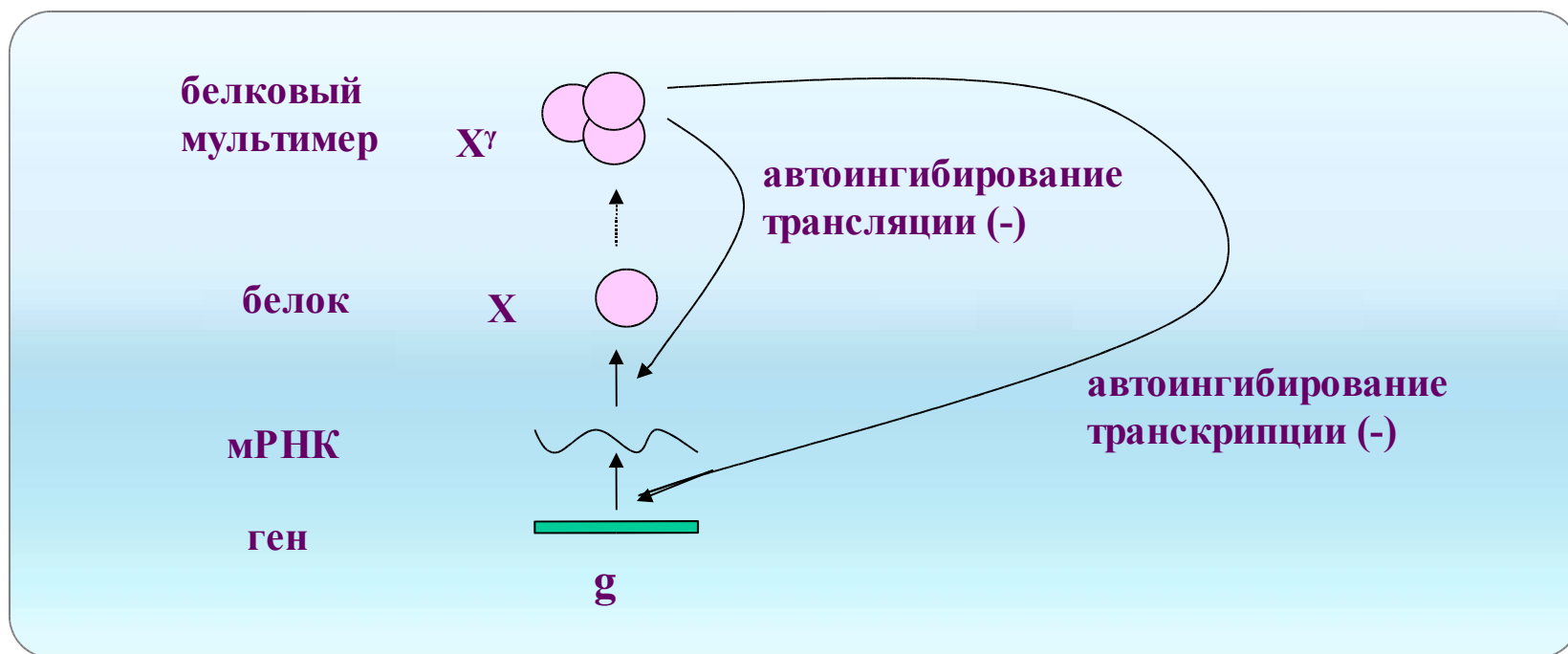


Принципиальная схема авторепрессирующего оперона



При моделировании **без запаздывания** система имеет **устойчивую точку** покоя. При **достаточно большом запаздывании** (размере спейсера более 5000 п.о.) у системы появляется **циклический режим функционирования**

Схема функционирования дважды авторепрессирующего оперона





$$dx / dt = \frac{\alpha}{1 + x^{\gamma} (t - \tau) + x^{\gamma} (t - a\tau)} - x$$

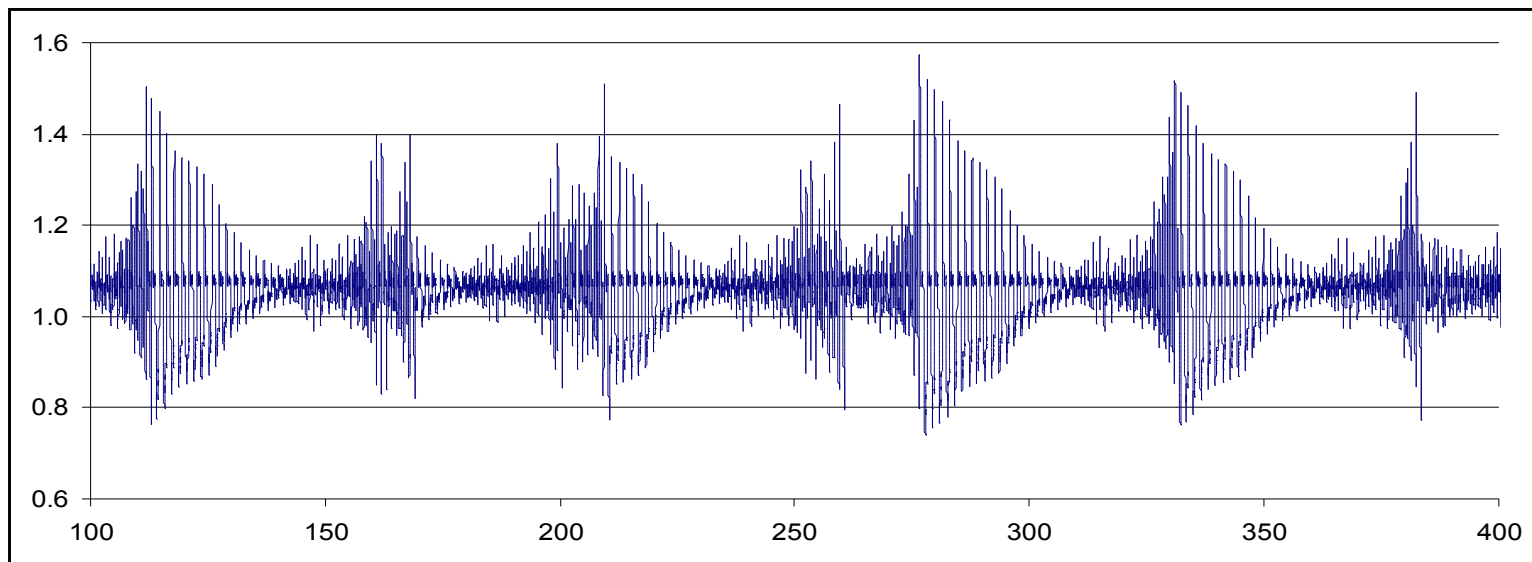
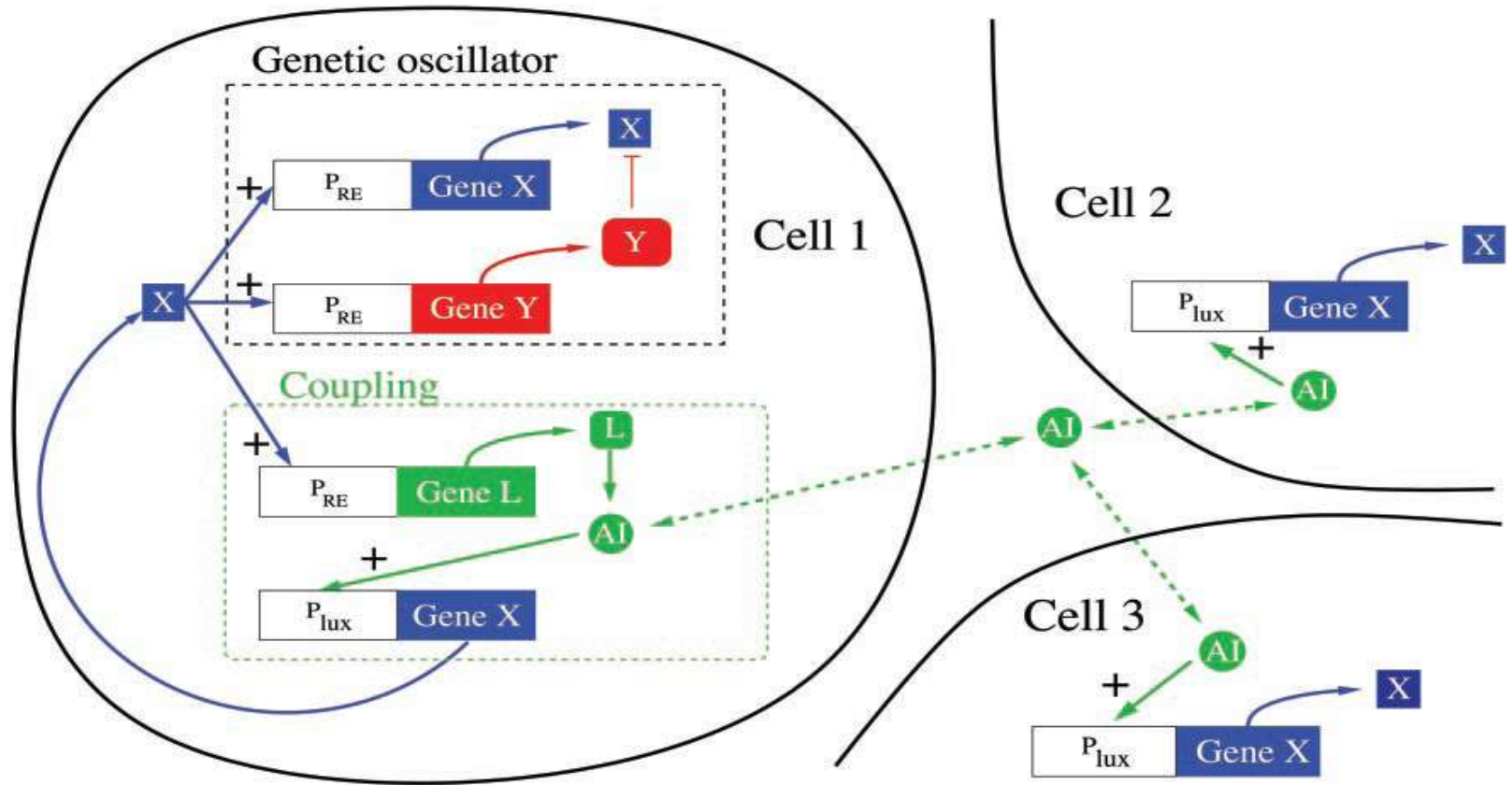


График решения уравнения при $\alpha=50$, $\gamma=50$, $a=25$, $\tau=0.031$ и . По оси абсцисс отложено значение переменной t , по оси ординат – значение функции x в точке t .

Synchronizing genetic relaxation oscillators by intercell signaling



Schematic of the proposed gene network. Proteins X (CII) and Y (FtsH) constitute the relaxation oscillator; protein L (LuxI) synthesizes the diffusible signal molecule called the AI, which passes through the cellular membrane in both directions. AI binds to the *lux* operator region (mediated by protein LuxR, not shown) and stimulates production of X.