



**Феноменология управления в природных генных сетях:
онтогенез и клеточный цикл**

Константин Владимирович Гунбин, асп. ЛТГ ИЦиГ

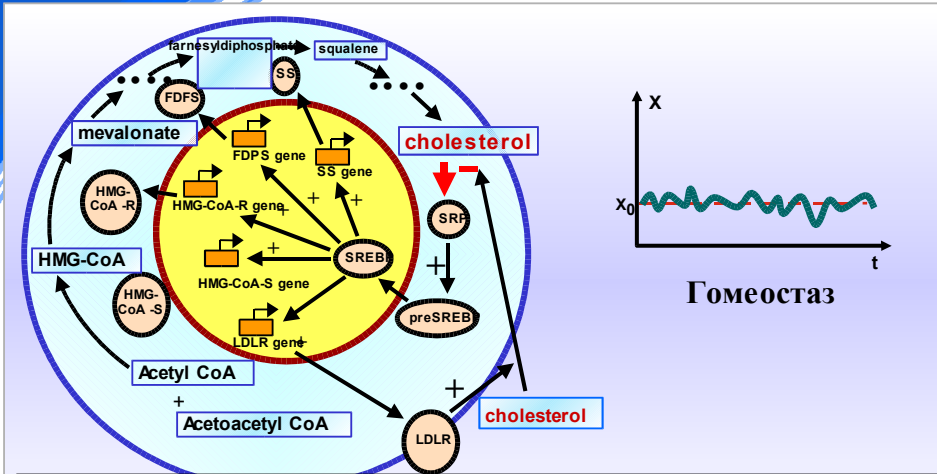


Режимы функционирования генных сетей

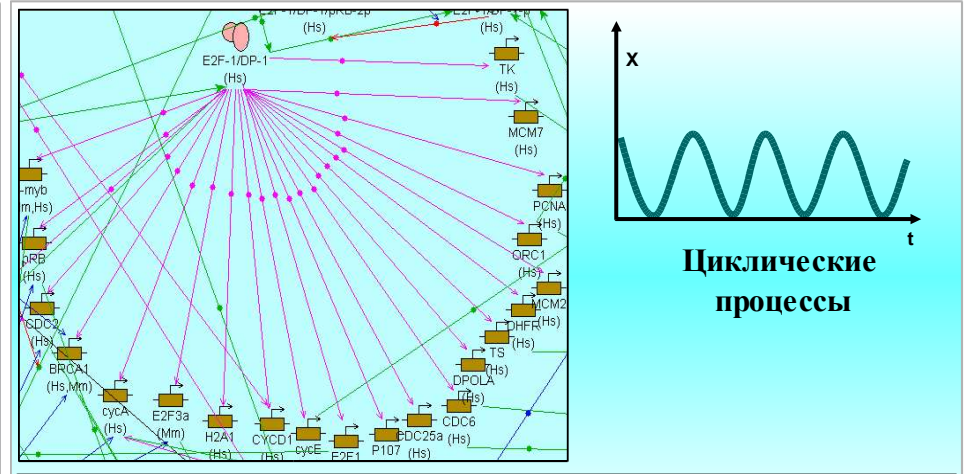
**Режим функционирования ГС в организме (выполняемая ею программа)
определяется:**

- набором элементарных структур (генов, мРНК, белков, метаболитов и т.д.);**
- совокупностью элементарных процессов (взаимодействий между элементарными структурами);**
- графом ГС, вершины которого соответствуют элементарным структурам, а ребра – элементарным процессам;**
- начальным состоянием переменных этой ГС.**

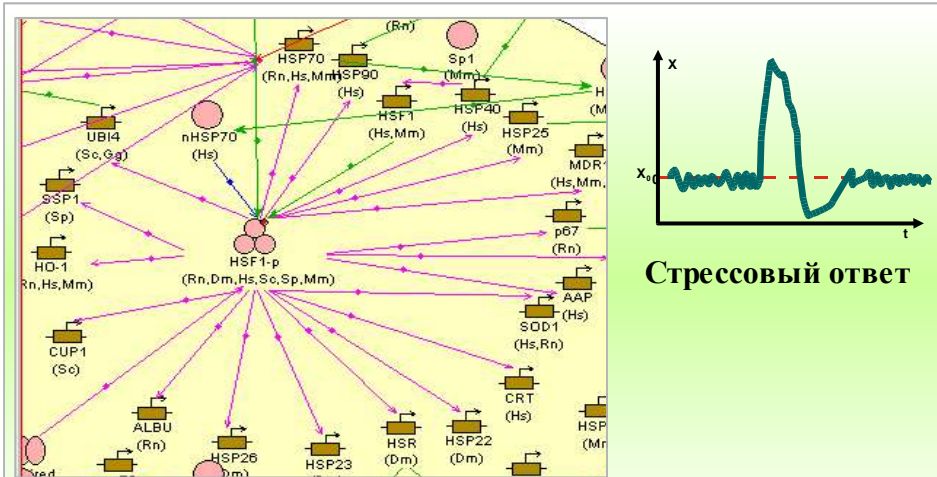
Типы генных сетей и их режим функционирования



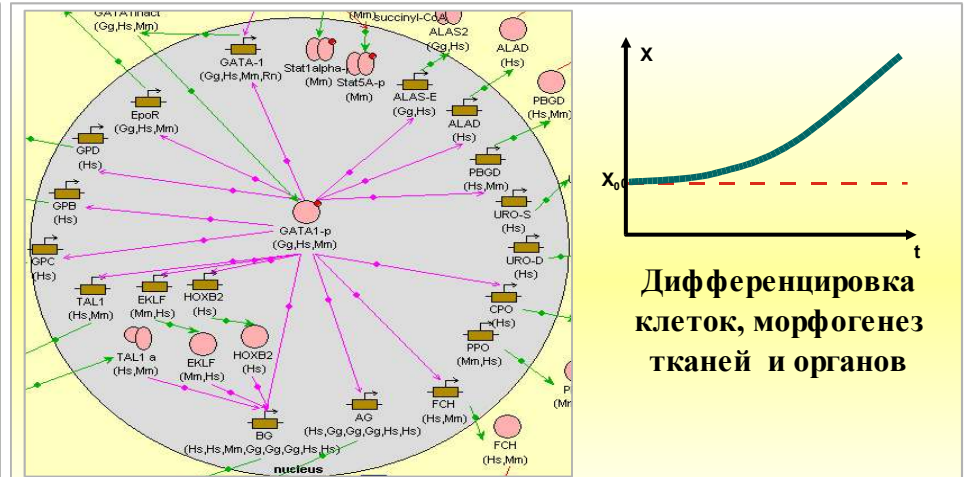
Генная сеть биосинтеза холестерина (SREBP)



Генная сеть клеточного цикла (E2F1/DP1)



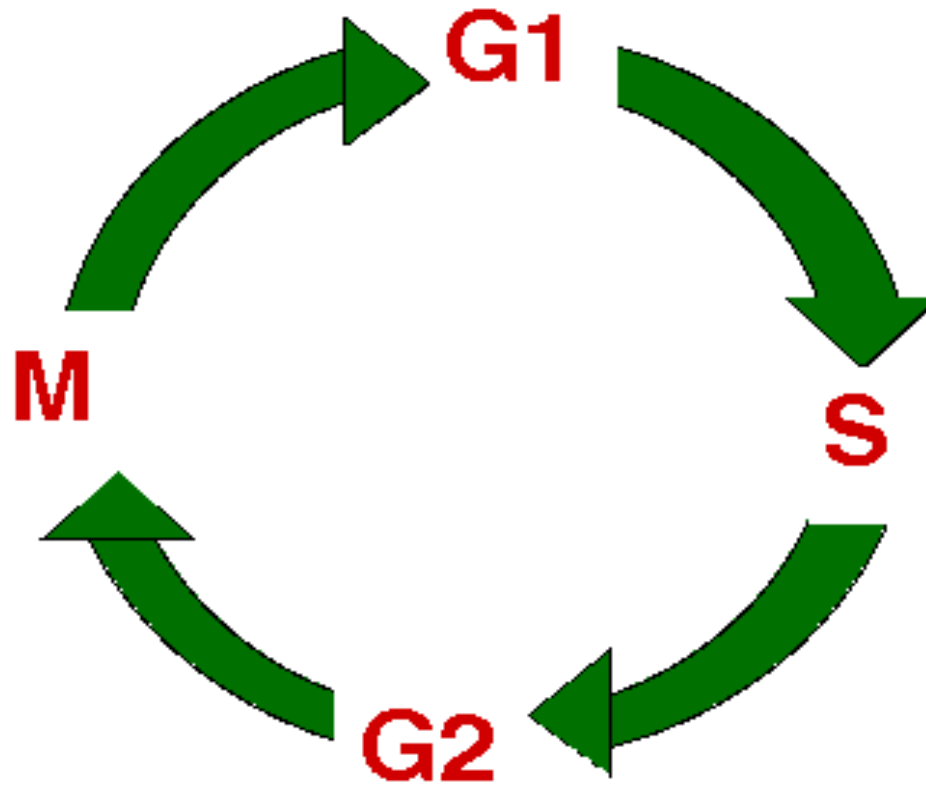
Генная сеть теплового шока (HSF1)



Генная сеть дифференцировки эритроцита (GATA1)



**Циклические биологические процессы на примере
клеточного цикла**





Главные требования к клеточному циклу: ЕДИНСТВЕННАЯ (проведенная лишь 1 раз) репликация молекул ДНК и правильная их сегрегация в ходе цитокинеза.

Основные вехи клеточного цикла:

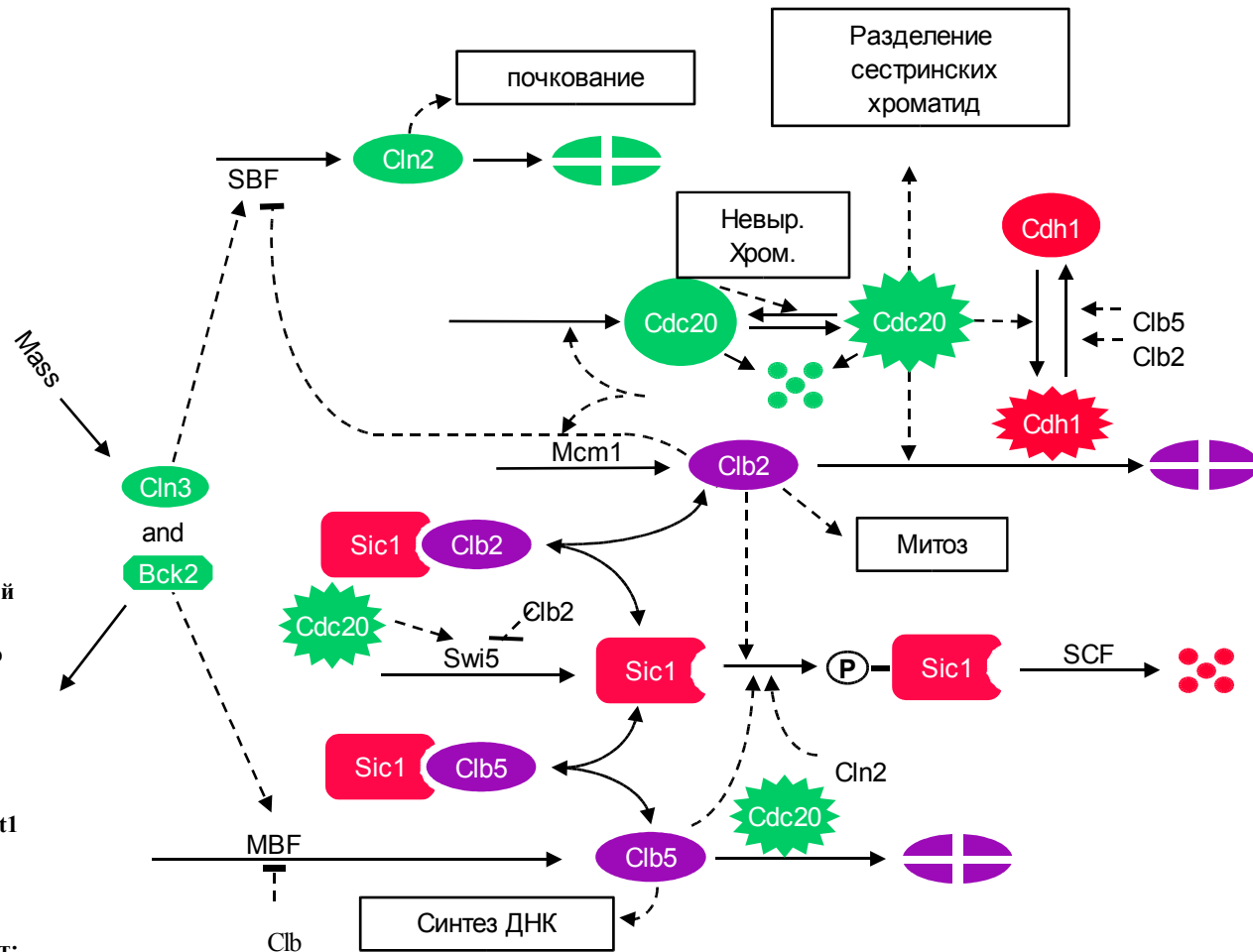
2. В промежуток между М и началом S лицензионные факторы связываясь с ДНК становятся затравкой для дальнейшей инициации репликации.
3. На границе фаз G1/S циклин-зависимые киназы становятся активны и начинают репликацию с лицензированных ориджинов, одновременно ингибируя лицензионные факторы (поэтому новый цикл репликации становится невозможным).
4. Завершение синтеза ДНК - требование для входа в фазу М
5. Выравнивание хромосом - требование для активации Anaphase-promoting complex (APC) который инициирует деградацию ингибиторов расхождения сестринских хроматид (когезинов) и митотических циклинов, что позволяет накапливаться лицензионному фактору на ориджинах хромосом.

Система контроля клеточного цикла у budding yeast (почкующиеся дрожжи)

В начале клеточного цикла имеется малая концентрация циклинов так как транскрипционные факторы (SBF, MBF, и Mcm1) регулирующие синтез циклинов пока не активны. Clb-зависимые киназы помимо этого в начале клеточного цикла супрессируются ингибитором Sic1 и подвергаются протеолизу. Cln3/Cdc28, запускает последовательность событий приводящих в конечном счете к клеточному делению. Когда клетка достигает до определенного размера Cln3/Cdc28 и Bck2 активируют SBF и MBF, что приводит к накоплению Cln2 и Clb5. Повышение активности Cln2/Cdc28 запускает: 1) формирование почки, 2) фосфорилирование Sic1, запускающее дальнейшую убиквитинизацию и деградацию Sic1 на протеосоме, 3) инактивирует Hct1 который совместно с APC ответственен за деградацию Clb2 в G1 фазе. Когда пул белка Sic1 полностью распадается активность Clb5/Cdc28 резко возрастает, что приводит к переходу в S фазу.

Активность Clb2-зависимых киназ возрастает с небольшой задержкой так как Clb2/Cdc28 активирует свой транскрипционный фактор Mcm1. В добавок Clb2/Cdc28 неполностью репрессирует SBF, так что активность Cln2-зависимых киназ начинает падать как только синтез Cln2 прекращается. Через определенное время MBF инактивируется и концентрация Clb5 начинает снижаться. Повышение активности Clb2/Cdc28 индуцирует переход в митоз.

Переход из метафазы в анафазу регулируется с помощью Cdc20 и Hct1 которые маркируют субстраты для убиквитинизации посредством APC. Во время метафазы эти белки неактивны, но когда происходит полная репликация ДНК и все хромосомы выравниваются на метафазной пластинке тогда Cdc20 активируется. Cdc20 способствует: 1) диссоциации сестринских хроматид, 2) активации Hct1, который впоследствии захватывает Clb2 в APC, инициируя тем самым разделение клеток, 3) активации Swi5 - транскрипционного фактора гена Sic1. Когда активность CDK становится нулевой, Sic1 подвергается деградации на протеосоме в фазе G1.





Моделирование клеточного цикла почкующихся дрожжей



mass

$$\frac{d[\text{Cln2}]}{dt} = \underbrace{k_1 + k_1'[\text{SBF}]}_{\text{synthesis}} - \underbrace{k_2}_{\text{degradation}} [\text{Cln2}]$$

Sic1

Cln2

$$\frac{d[\text{Clb2}]}{dt} = \underbrace{k_3 + k_3'[\text{Mcm1}]}_{\text{synthesis}} - \underbrace{(k_4 + k_4'[\text{Cdh1}])}_{\text{degradation}} [\text{Clb2}] - \underbrace{k_5[\text{Sic1}]}_{\text{binding}} [\text{Clb2}]$$

synthesis

degradation

binding



Cdh1

Clb2

$$\frac{d[\text{Cdh1}]}{dt} = \underbrace{\frac{(k_6 + k_6'[\text{Cdc20}])([\text{Cdh1}]_T - [\text{Cdh1}])}{J_6 + [\text{Cdh1}]_T - [\text{Cdh1}]}}_{\text{activation}} - \underbrace{\frac{(k_7 + k_7'[\text{Clb5}])[\text{Cdh1}]}{J_7 + [\text{Cdh1}]}}_{\text{inactivation}}$$

activation

inactivation

Cdc20

Time (min)

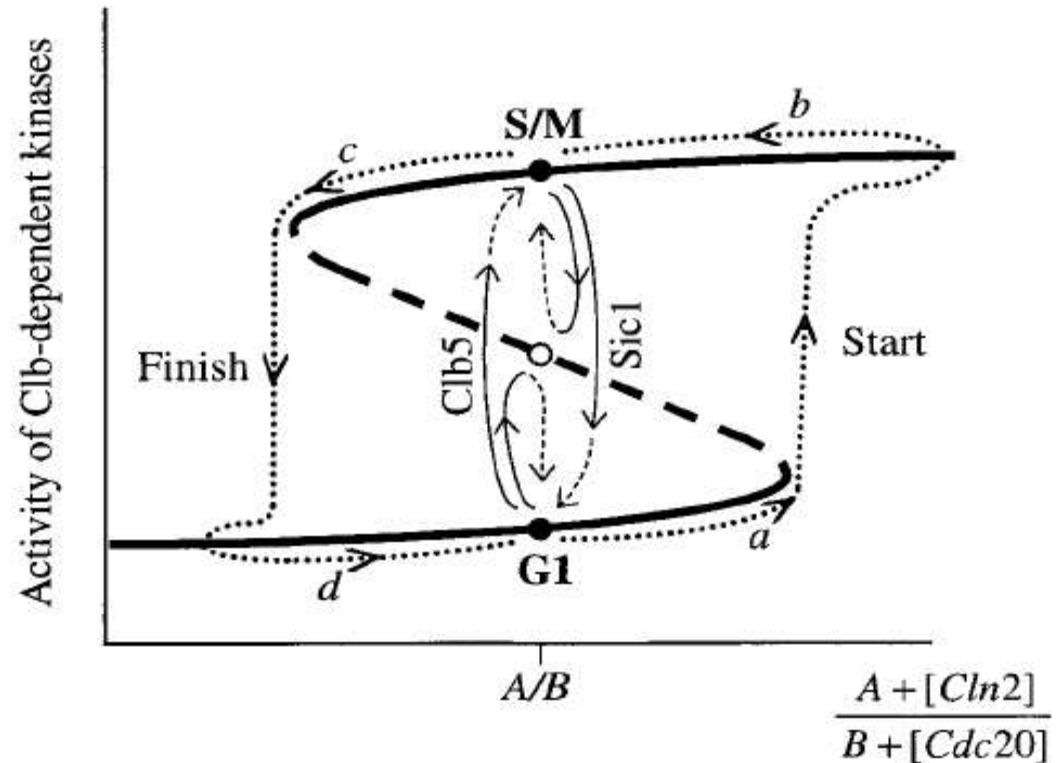


Главная идея модели клеточного цикла почкующихся дрожжей – бистабильность и гистерезис системы

Равновесный уровень активности зависит от экспрессии *CLN2* и *CDC20*. Когда концентрация *Cln2* высока а концентрация *Cdc20* мала, система *Clb1–6* находится в состоянии высокой активности (S/M)

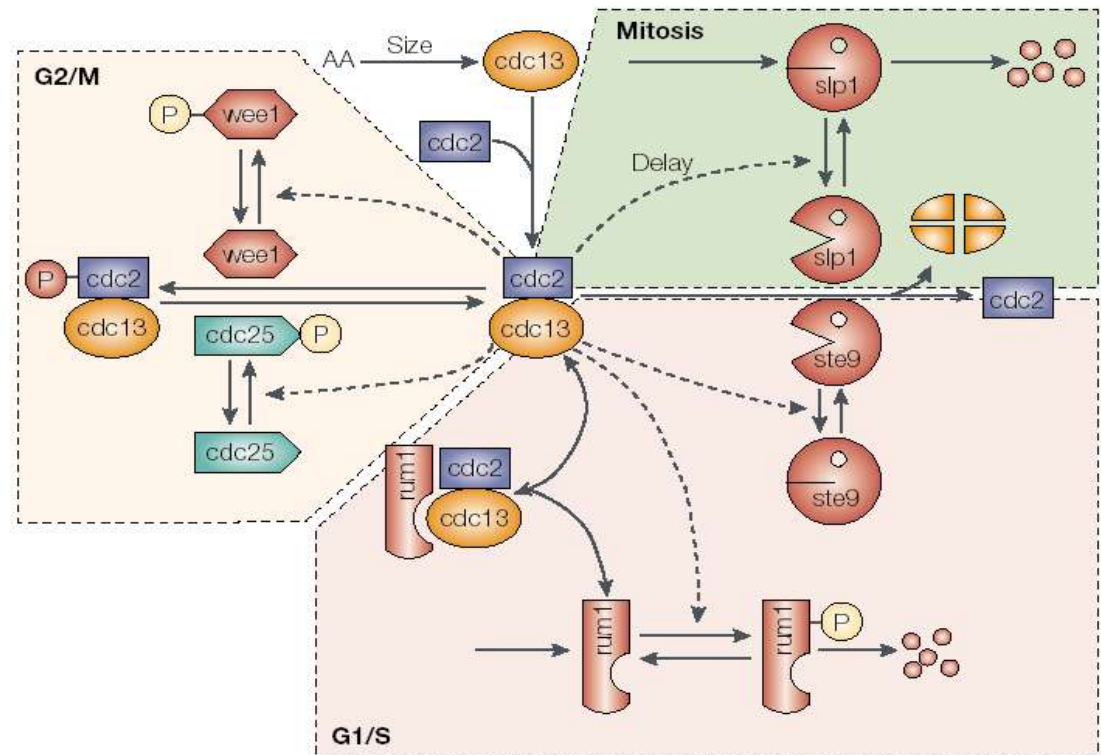
На “другой стороне медали” процесса активность *Clb*-зависимых киназ остается низкой (G1).

Когда концентрации как *Cln2* так и *Cdc20* малы система находится в нейтральном состоянии в котором оба состояния активности *Clb* сосуществуют (бистабильность). Система ходит по кругу петли гистерезиса за счет пульсирования активностей *Cln2* (стадии *a* и *b*) и *Cdc20* (стадии *c* и *d*).



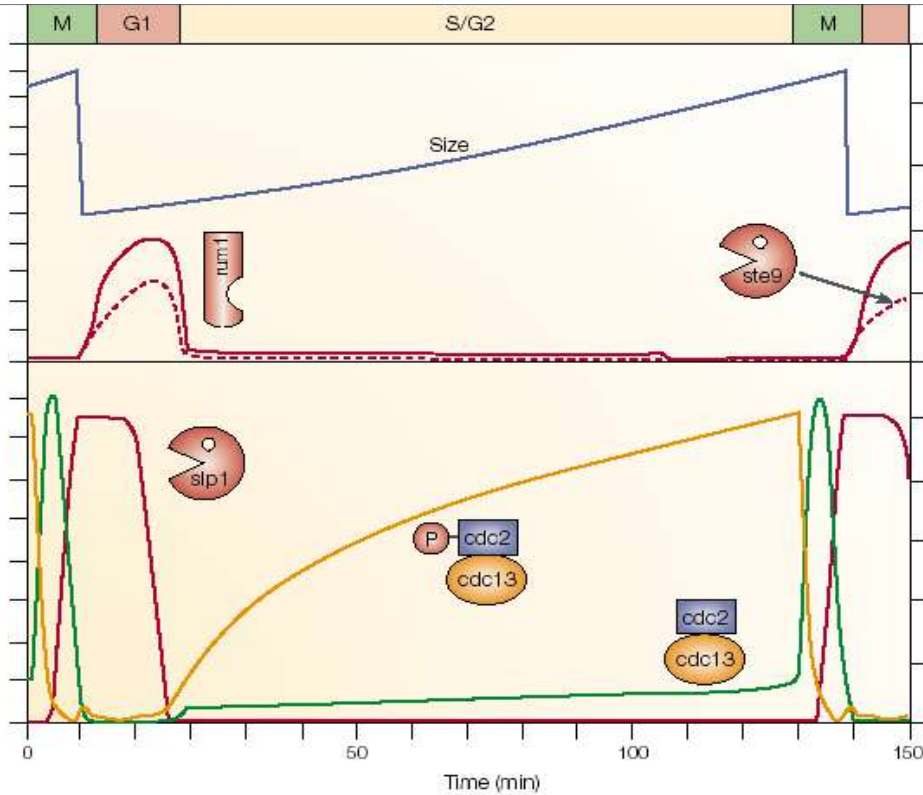
Активность Cdc2/Cdc13 (MPF) контролируется антагонистическими воздействиями различных компонентов клеточного цикла:

- 1) Ste9 (Srw1) опосредует убиквитинизацию и деградацию Cdc13 за счет APC в G1 фазе. Однако фосфорилирование Ste9 за счет MPF ингибирует ассоциацию Cdc13 с APC,
- 2) Rum1 связывается с Cdc2/Cdc13 ингибируя его активность. Однако фосфорилирование Rum1 посредством MPF ведет к убиквитинизации Rum1,
- 3) Молекулы -помощники стартового перехода G1 -> S - “starter”-киназы (менее чувствительны к ингибированию посредством Rum1 и Ste9) помогают Cdc2/Cdc13 превзойти активность Rum1 и Ste9. Молекулы -помощники финишного перехода M -> G1 - Slp1/APC комплекс, этот комплекс способствует деградации Cdc13 и активации Ste9.
- 4) Длительность G2 регулируется энзиматическим ингибированием MPF. Две тирозинкиназы инактивируют Cdc2 - Wee1 и Mik1. Однако MPF может фосфорилировать и инактивировать их. Антагонизм: S/G2 - обилие фосфорилированного Cdc2/Cdc13 с достаточной активностью для синтеза ДНК но не для входа в митоз и M - неактивные Wee1 и Mik1 при обилии высокоактивного Cdc2/Cdc13 - вход в митоз.
- 5) G2/M переход усиливается с помощью петли положительной обратной связи. Ингибиторный фосфат на Cdc2 отщепляется фосфотазой Cdc25. Cdc25 фосфорилируется за счет MPF, что способствует повышению активности Cdc25.



В модели принимается что: 1) синтез “starter”-киназ косвенно ингибируется посредством MPF, 2) Slp1/APC косвенно активируется посредством MPF (косвенные процессы позволяют ввести запаздывание одного процесса относительно другого), 3) комплексы Cdk/cyclin накапливаются в ядре пропорционально скорости их синтеза в цитоплазме, то есть пропорционально росту объема цитоплазмы (как G1/S так и G2/M переход регулируются за счет титрования объема клетки)

**Результаты моделирования:
изменение во времени
концентрации белков
регуляторов клеточного
цикла.**



Novak, B., Z. Pataki, A. Ciliberto and J.J. Tyson, Mathematical model of the cell division cycle of fission yeast Chaos 11, 1 (March, 2001), 277-286.

$$\frac{d[\text{Cdc13}_T]}{dt} = k_1 M - (k'_2 + k''_2[\text{Ste9}] + k'''_2[\text{Slp1}])([\text{Cdc13}_T]), \quad (1)$$

$$\frac{d[\text{preMPF}]}{dt} = k_{\text{wee}}([\text{Cdc13}_T] - [\text{preMPF}]) - k_{25}[\text{preMPF}] - (k'_2 + k''_2[\text{Ste9}] + k'''_2[\text{Slp1}])([\text{preMPF}], \quad (2)$$

$$\frac{d[\text{Ste9}]}{dt} = (k'_3 + k''_3[\text{Slp1}]) \frac{1 - [\text{Ste9}]}{J_3 + 1 - [\text{Ste9}]} - (k'_4[\text{SK}] + k_4[\text{MPF}]) \frac{[\text{Ste9}]}{J_4 + [\text{Ste9}]}, \quad (3)$$

$$\frac{d[\text{Slp1}_T]}{dt} = k'_5 + k''_5 \frac{[\text{MPF}]^4}{J_5 + [\text{MPF}]^4} - k_6[\text{Slp1}_T], \quad (4)$$

$$\frac{d[\text{Slp1}]}{dt} = k_7[\text{IEP}] \frac{[\text{Slp1}_T] - [\text{Slp1}]}{J_7 + [\text{Slp1}_T] - [\text{Slp1}]} - k_8 \frac{[\text{Slp1}]}{J_8 + [\text{Slp1}]} - k_6[\text{Slp1}], \quad (5)$$

$$\frac{d[\text{IEP}]}{dt} = k_9[\text{MPF}] \frac{1 - [\text{IEP}]}{J_9 + 1 - [\text{IEP}]} - k_{10} \frac{[\text{IEP}]}{J_{10} + [\text{IEP}]}, \quad (6)$$

$$\frac{d[\text{Rum1}_T]}{dt} = k_{11} - (k_{12} + k'_{12}[\text{SK}] + k''_{12}[\text{MPF}])([\text{Rum1}_T]), \quad (7)$$

$$\frac{d[\text{SK}]}{dt} = k_{13}[\text{TF}] - k_{14}[\text{SK}], \quad (8)$$

$$\frac{dM}{dt} = \mu M, \quad (9)$$

$$[\text{Trimer}] = \frac{2[\text{Cdc13}_T][\text{Rum1}_T]}{\Sigma + \sqrt{\Sigma^2 - 4[\text{Cdc13}_T][\text{Rum1}_T]}}, \quad (10)$$

$$[\text{MPF}] = \frac{([\text{Cdc13}_T] - [\text{preMPF}])([\text{Cdc13}_T] - [\text{Trimer}])}{[\text{Cdc13}_T]}, \quad (11)$$

$$[\text{TF}] = G(k_{15}M, k'_{16} + k''_{16}[\text{MPF}], J_{15}, J_{16}), \quad (12)$$

where

$$k_{\text{wee}} = k'_{\text{wee}} + (k''_{\text{wee}} - k'_{\text{wee}})G(V_{\text{awe}}e, V_{\text{iwee}}e[\text{MPF}], J_{\text{awe}}e, J_{\text{iwee}}e),$$

$$k_{25} = k'_{25} + (k''_{25} - k'_{25})G(V_{a25}[\text{MPF}], V_{i25}, J_{a25}, J_{i25}),$$

$$\Sigma = [\text{Cdc13}_T] + [\text{Rum1}_T] + K_{\text{diss}},$$

$$G(a, b, c, d) = \frac{2ad}{b - a + bc + ad + \sqrt{(b - a + bc + ad)^2 - 4ad(b - a)}}.$$



Результаты моделирования: бифуркации состояний клеточного цикла.

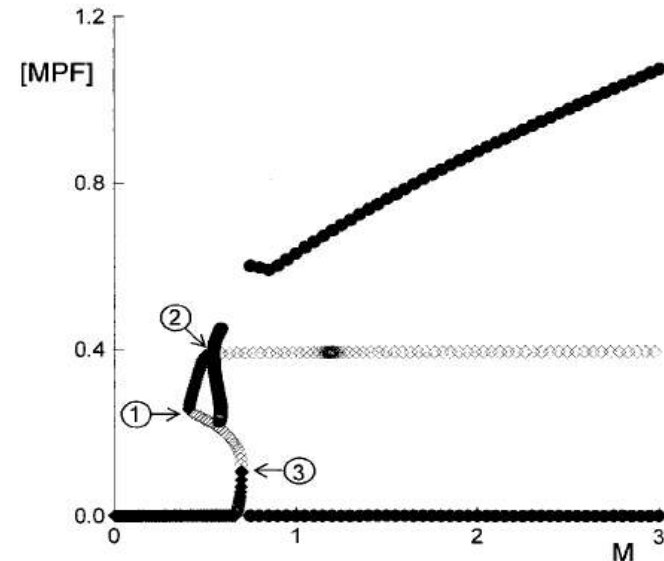
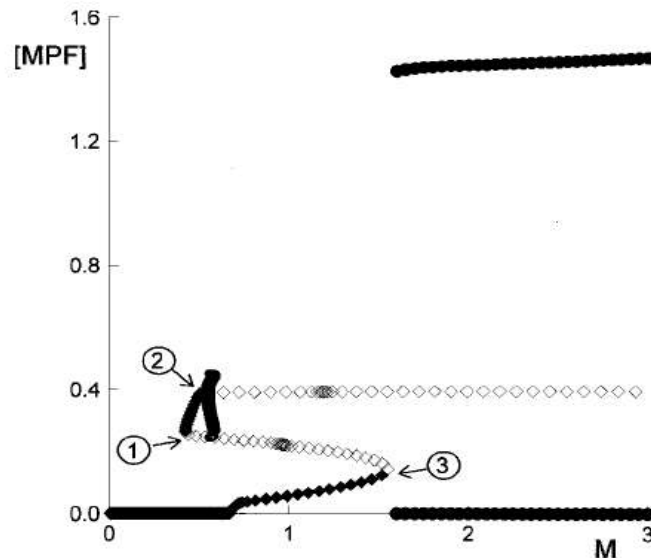
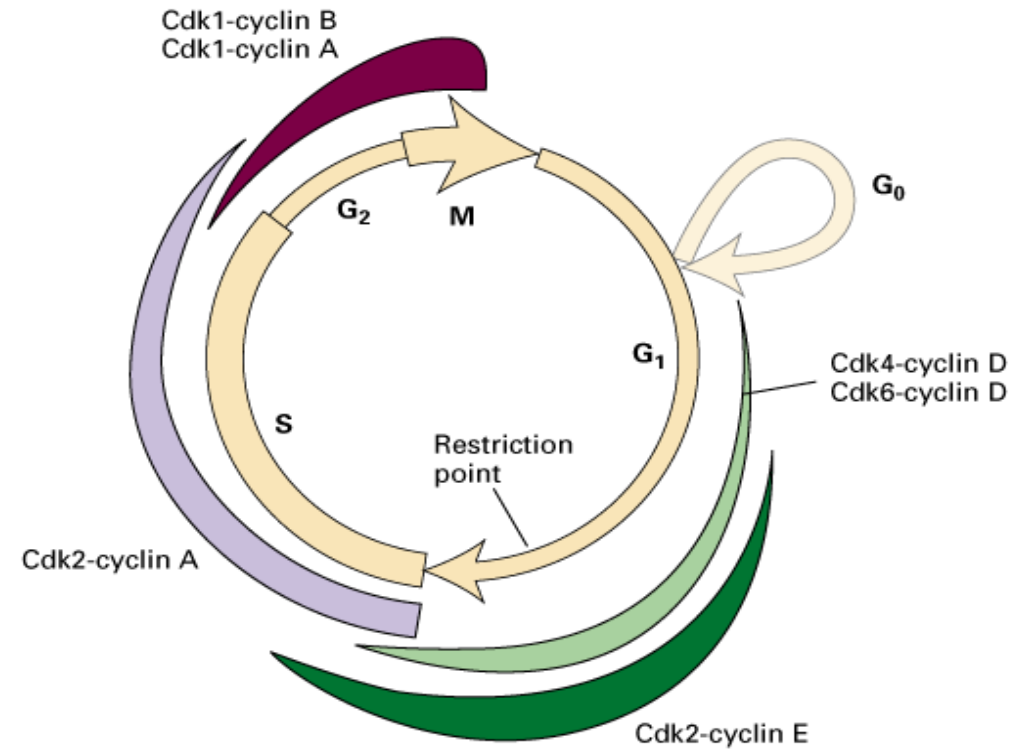
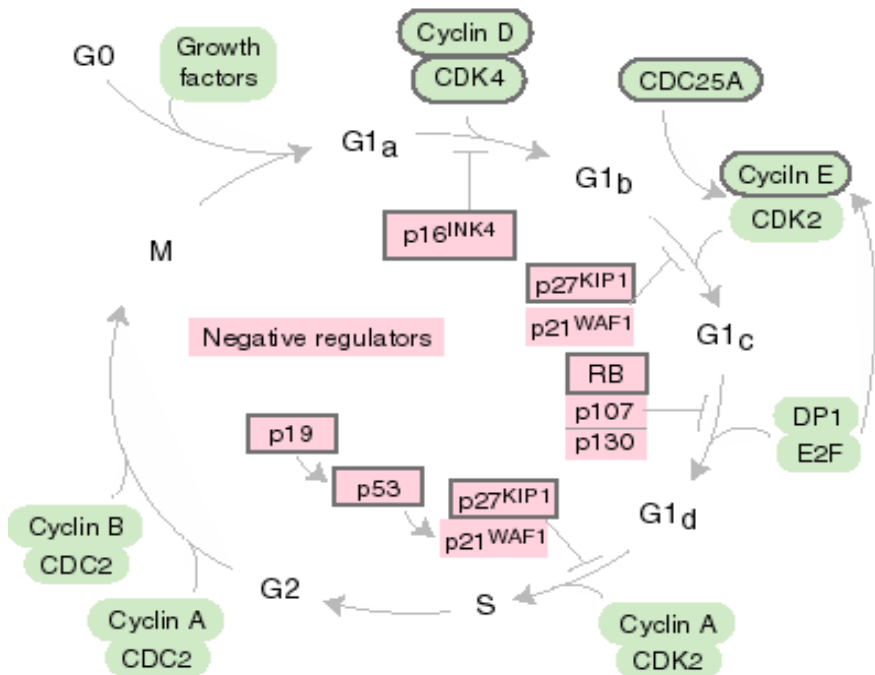


Диаграмма бифуркации по одному параметру для клеток дикого типа (А) и *wee*-мутантов (В). Активность MPF (ось y) как функция массы клетки (ось x), измеряется как бифуркационный параметр. Обозначения: закрашенные ромбики - стабильное равновесное состояние, незакрашенные ромбики - нестабильное равновесное состояние, закрашенные кружки - стабильные предельные циклы (при максимуме и минимуме MPF), незакрашенные кружки - нестабильные предельные циклы.

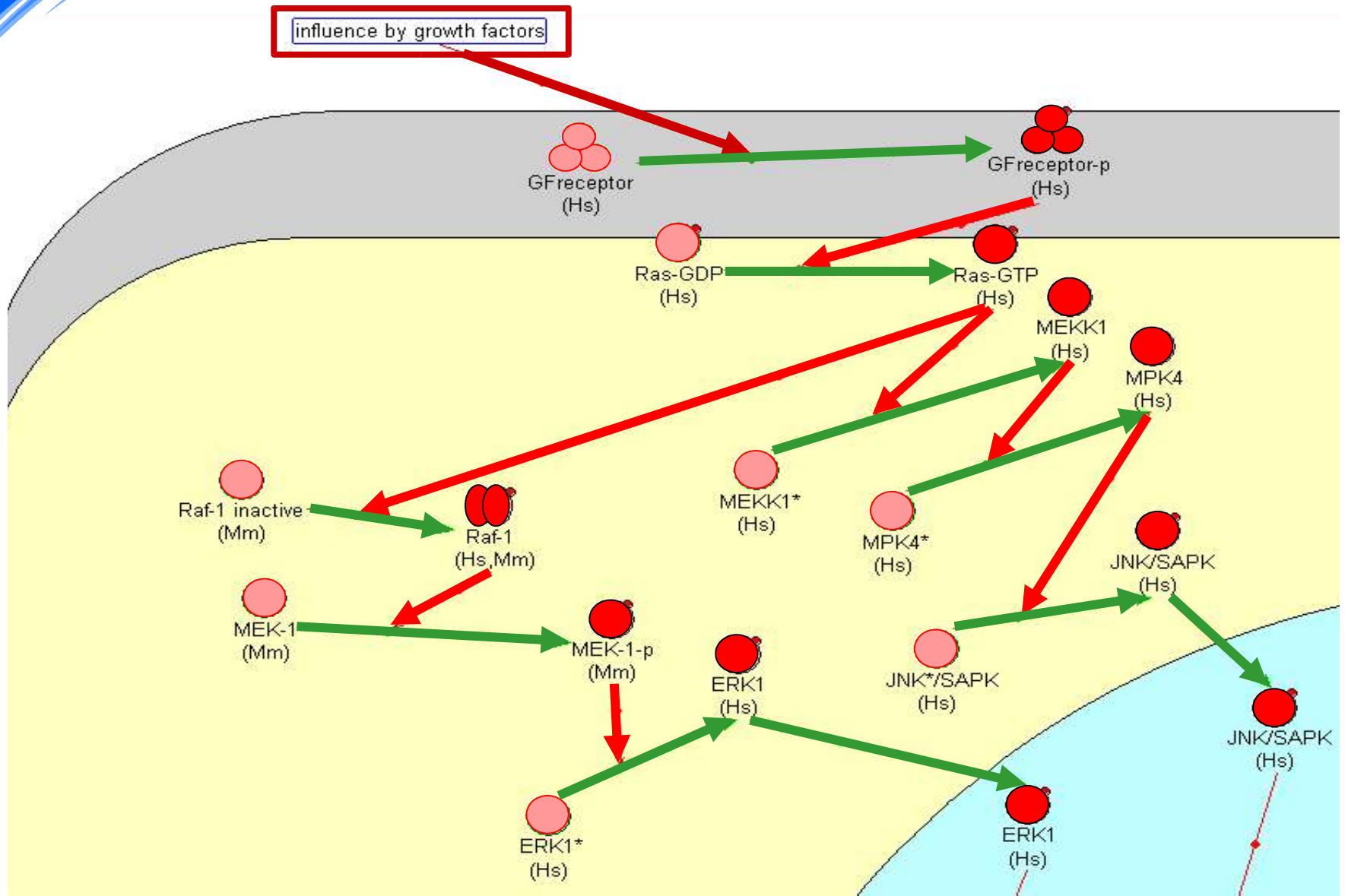
А. Точки бифуркации (бифуркационные границы, на которых происходит изменение числа и типа стационарных решений): 1) седло $M \sim 0.423$, 2) бифуркация Хопфа (ответвление цикла) $M \sim 0.548$, 3) цикл в седловой точке $M \sim 1.55$. Ветвь стабильных предельных циклов оканчивается при $M \sim 13.4$.

В. Точки бифуркации: 1) седло $M \sim 0.412$, 2) бифуркация Хопфа $M \sim 0.547$, 3) цикл в седловой точке $M \sim 0.701$.

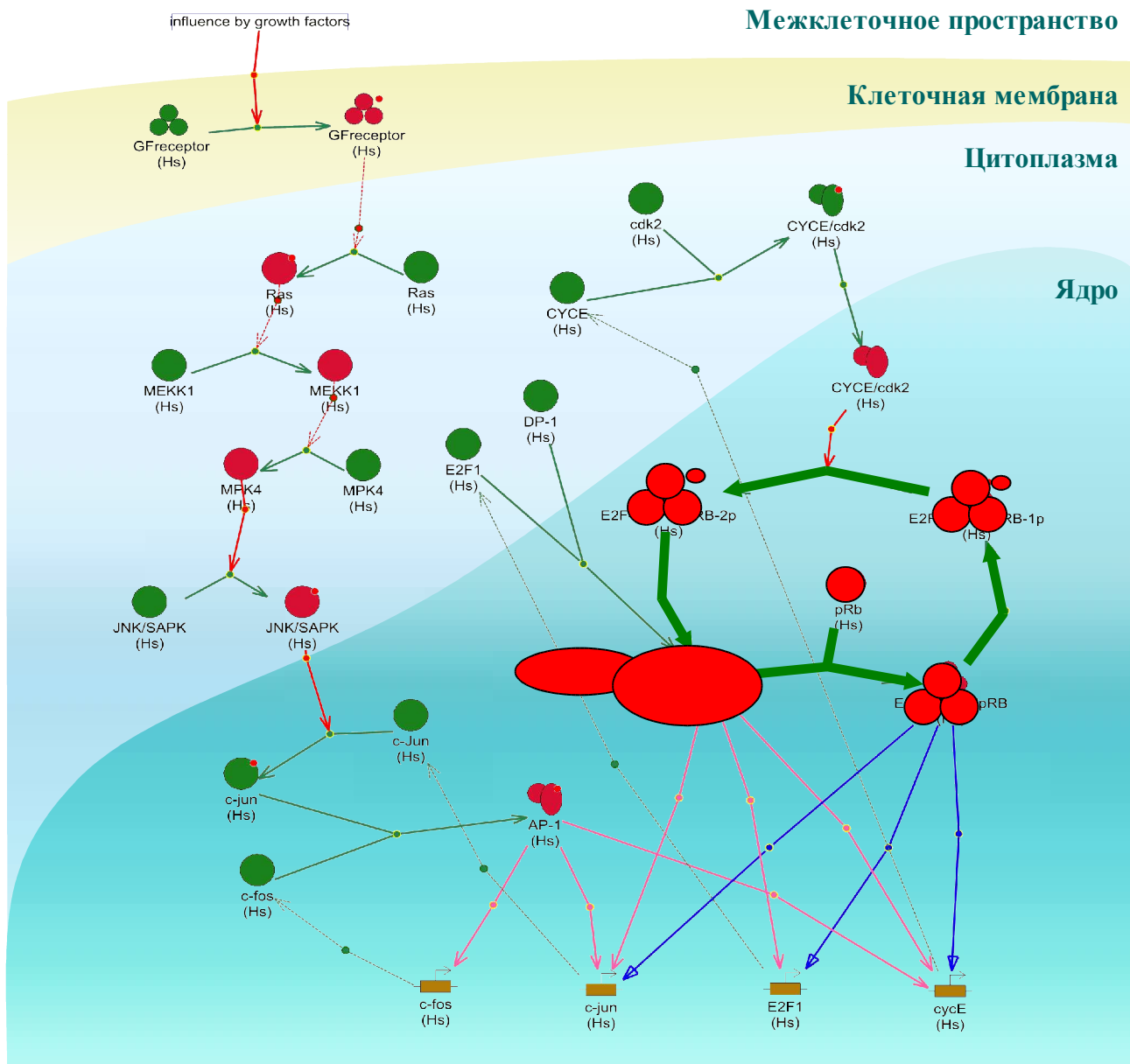
Cyclin-CDKs в клеточном цикле млекопитающих



Ras, Raf- каскады сигналов



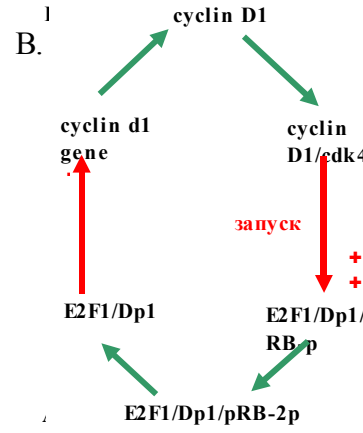
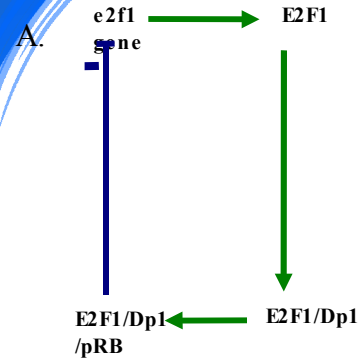
Циклические превращения E2F-1-содержащих транскрипционных факторов



Ананько Е.А.,
Подколотная О.А.,
Турнаев И.И.



Примеры обратных связей в клеточном цикле млекопитающих



A. Петля отрицательной ОС.
B. Петля положительной ОС.

Петли положительных обратных связей:

- 1) $c-Jun(g) \rightarrow c-Jun \rightarrow c-Jun-p \rightarrow c-Jun/c-Fos$
 \rightarrow^{+}
- 2) $c-fos(g) \rightarrow c-Fos \rightarrow c-Jun/c-Fos \rightarrow^{+} cMyc(g) \rightarrow cMyc \rightarrow Myc/Max \rightarrow^{+} p53(g) \rightarrow p53$
 \rightarrow^{+} E2f1/Dp1/pRB ← pRB ← pRB(mRna) ← $prb(g) \rightarrow^{+}$
- 3) $e2f1(g) \rightarrow E2F1 \rightarrow E2F1/Dp1$
 \rightarrow^{+}
- 4) $cyc\ d1(g) \rightarrow cyc\ D1 \rightarrow cyc\ D1/cdk4 \rightarrow^{++} E2f1/Dp1/pRB-p \rightarrow^{++} E2f1/Dp1/pRB-2p \rightarrow E2F1/Dp1$
 \rightarrow^{+}

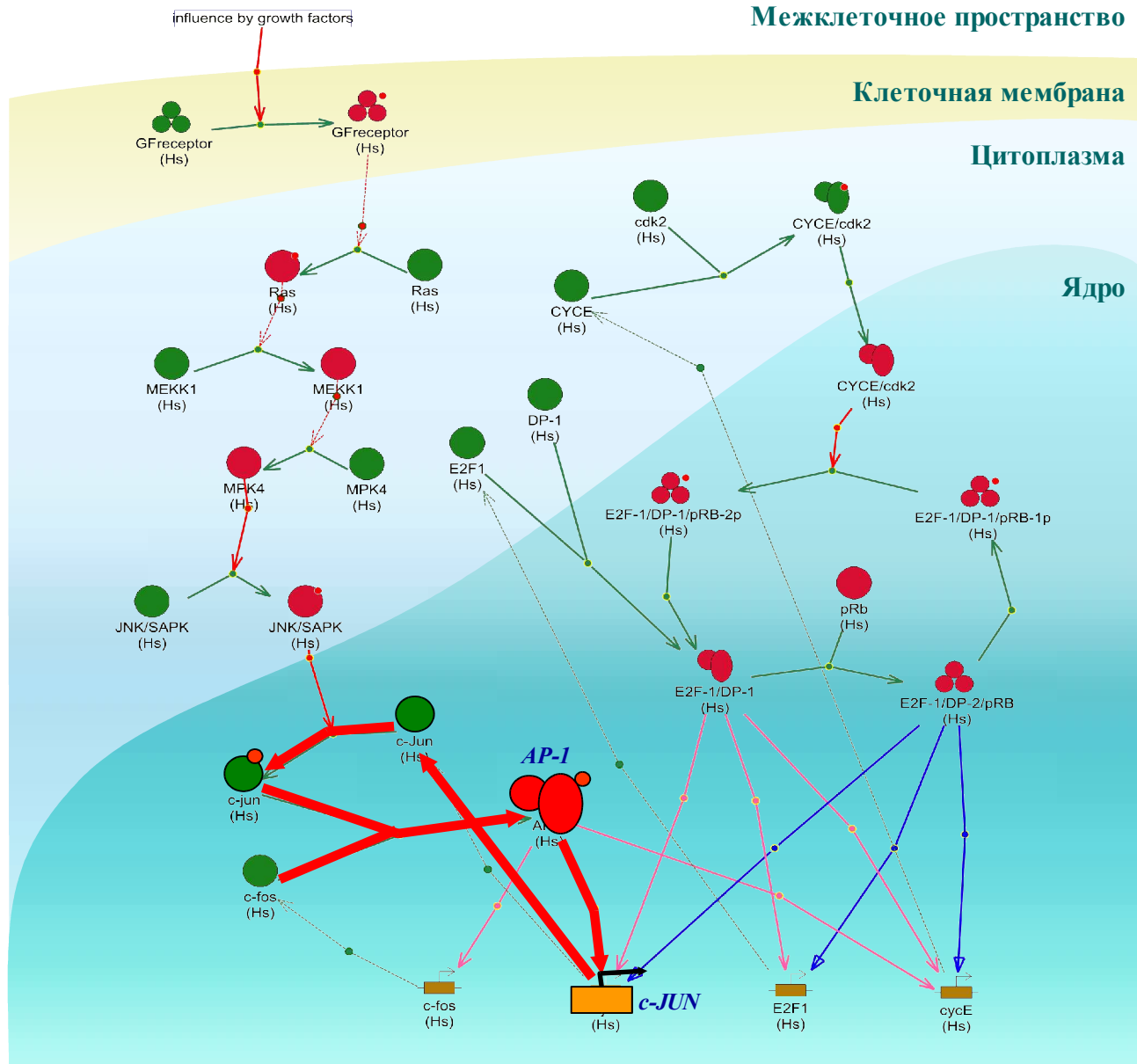
Петли отрицательных обратных связей:

- 5) $e2f1(g) \rightarrow E2F1 \rightarrow E2F1/Dp1 \rightarrow e2f1/dp1/pRB$
 \rightarrow^{-}
- 6) $prb(g) \rightarrow pRB \rightarrow e2f1/dp1/pRB$
 \rightarrow^{-}
- 7) $c-Jun(g) \rightarrow c-Jun \rightarrow c-Jun-p \rightarrow c-Jun/c-Fos \rightarrow^{+} cMyc(g) \rightarrow cMyc \rightarrow Myc/Max \rightarrow^{+} p53(g) \rightarrow p53$
 \rightarrow^{-}
- 8) $e2f1(g) \rightarrow E2F1 \rightarrow E2F1/Dp1 \rightarrow^{+} cyc\ A(g) \rightarrow cyc\ A \rightarrow cyc\ A/cdk2 \rightarrow^{-} E2f1/Dp1$
 \rightarrow^{+}

→ - transition of an object to another state;
 →⁺ - increase;
 →⁻ - decrease;
 →⁺⁺ - switching on;
 →⁻ - switching off

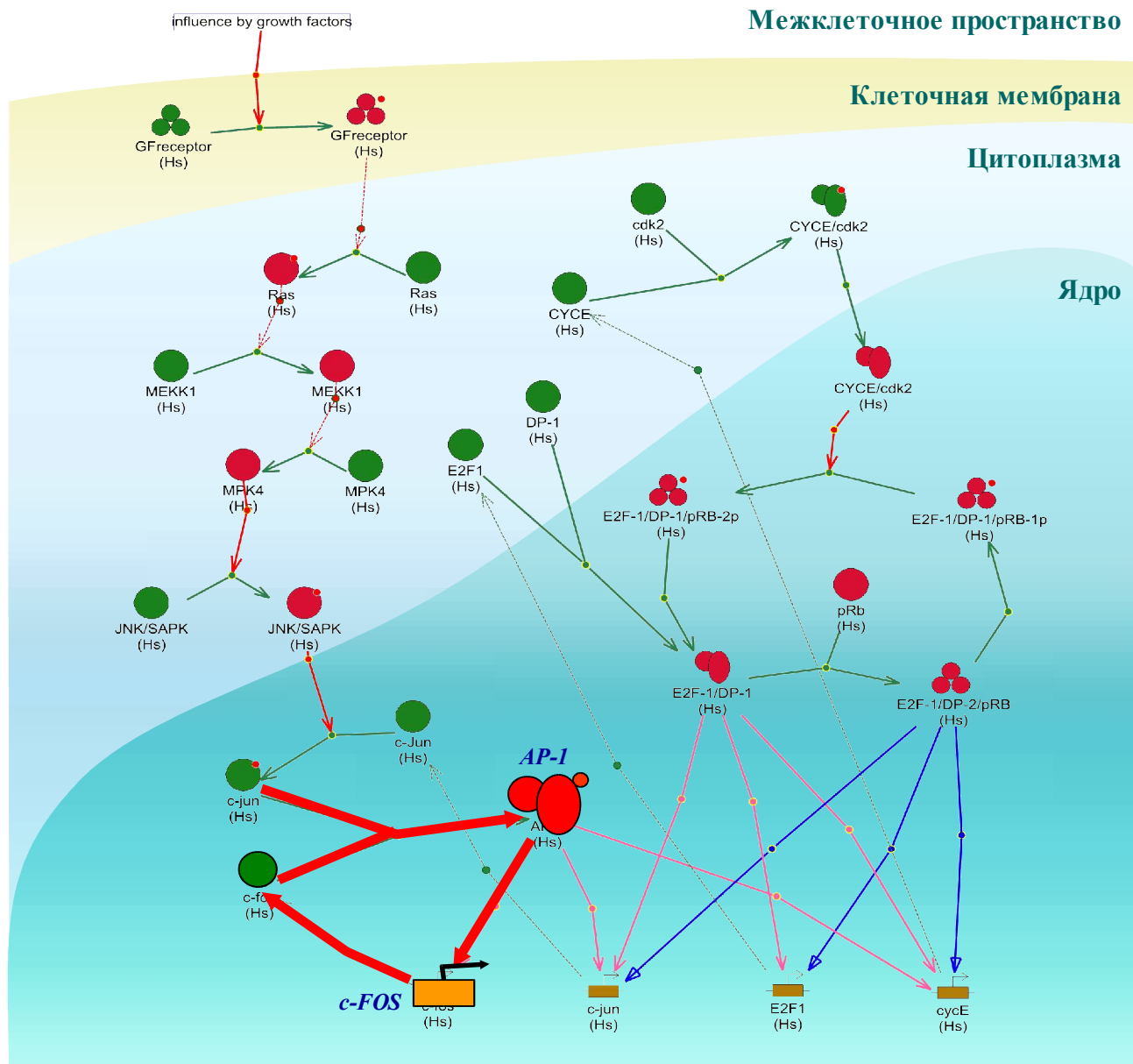
Регуляторные циклы AP-1:

1. Усиление транскрипции гена *c-JUN*:



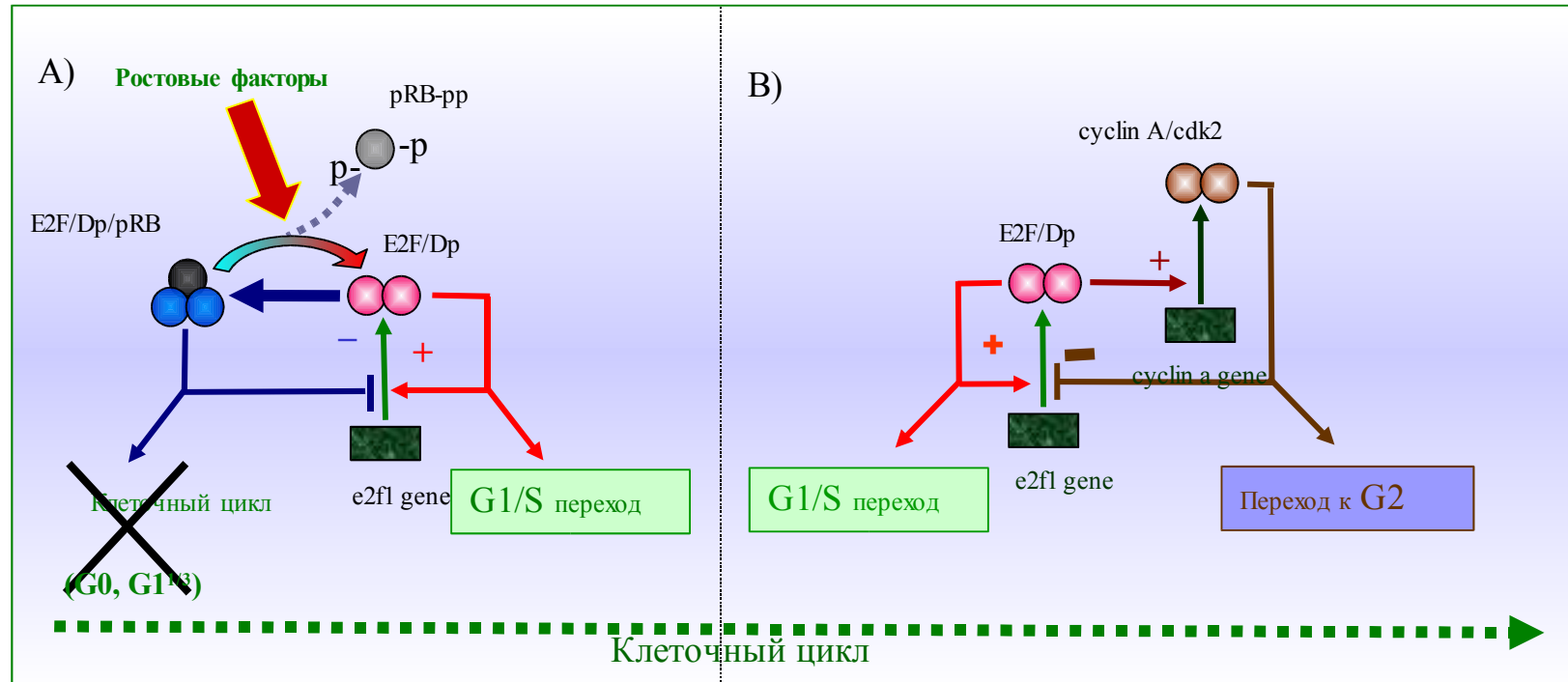
Ананько Е.А.,
Подколodная О.А.,
Турнаев И.И.

Регуляторные циклы AP-1:



2. Усиление транскрипции гена c-FOS:

Ананько Е.А.,
Подколдная О.А.,
Турнаев И.И.



Tumaev I.I.,
Ananko E.A.,
Podkolodnaya
O.A.

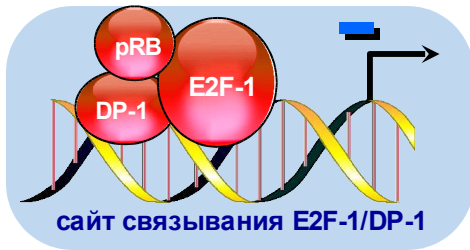
A. E2F/Dp/pRB \Leftrightarrow E2F/Dp. Петля положительной ОС связана с петлей отрицательной ОС. Эта взаимосвязь представляет собой молекулярный триггер. MAP-киназный каскад а также комплексы cyclin D1/cdk4 и cyclin E/Cdk2 переключает триггер из одного состояния в другое. Фосфорилирование pRB через cyclin D1/cdk4 и cyclin E/Cdk2 приводит к потере способности этих комплексов связываться с E2F1/Dp1.

B. E2F/Dp \Leftrightarrow cyclin A/cdk2. Транскрипционный фактор E2F1/Dp1 активирует гены *e2f1* и *cyclin A*. Комплекс cyclin A/cdk2 фосфорилирует E2F1/Dp1 ингибирует петлю положительной ОС E2F1/Dp1. В результате такого переключения клетка переходит из S в G2 фазу.

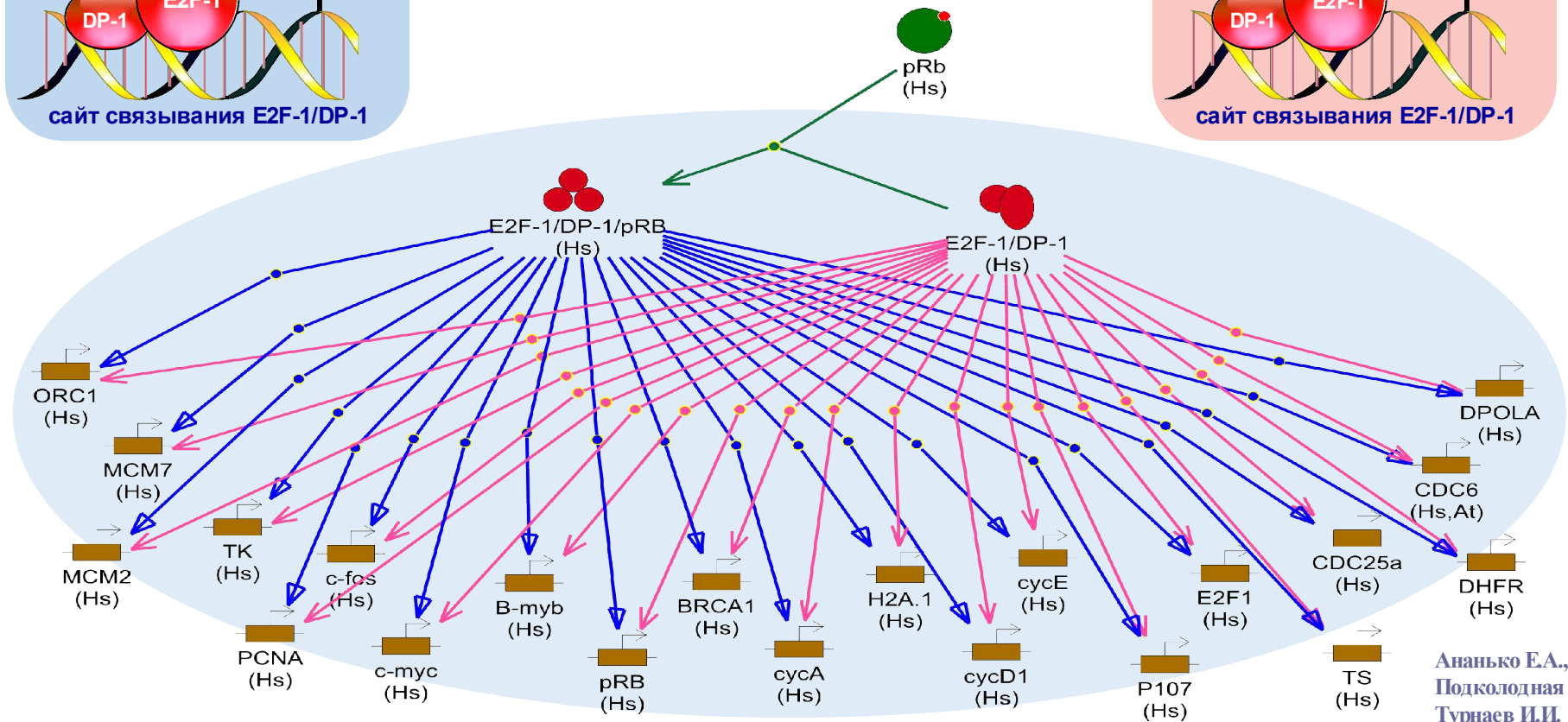
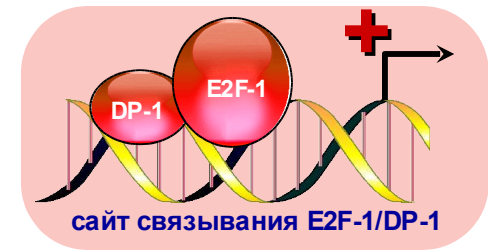
Генная сеть клеточного цикла клетки млекопитающих

В зависимости от функционального состояния организма одна и та же генная сеть обеспечивает комбинаторную активацию различных каскадов генов.

Подавление транскрипции



Усиление транскрипции

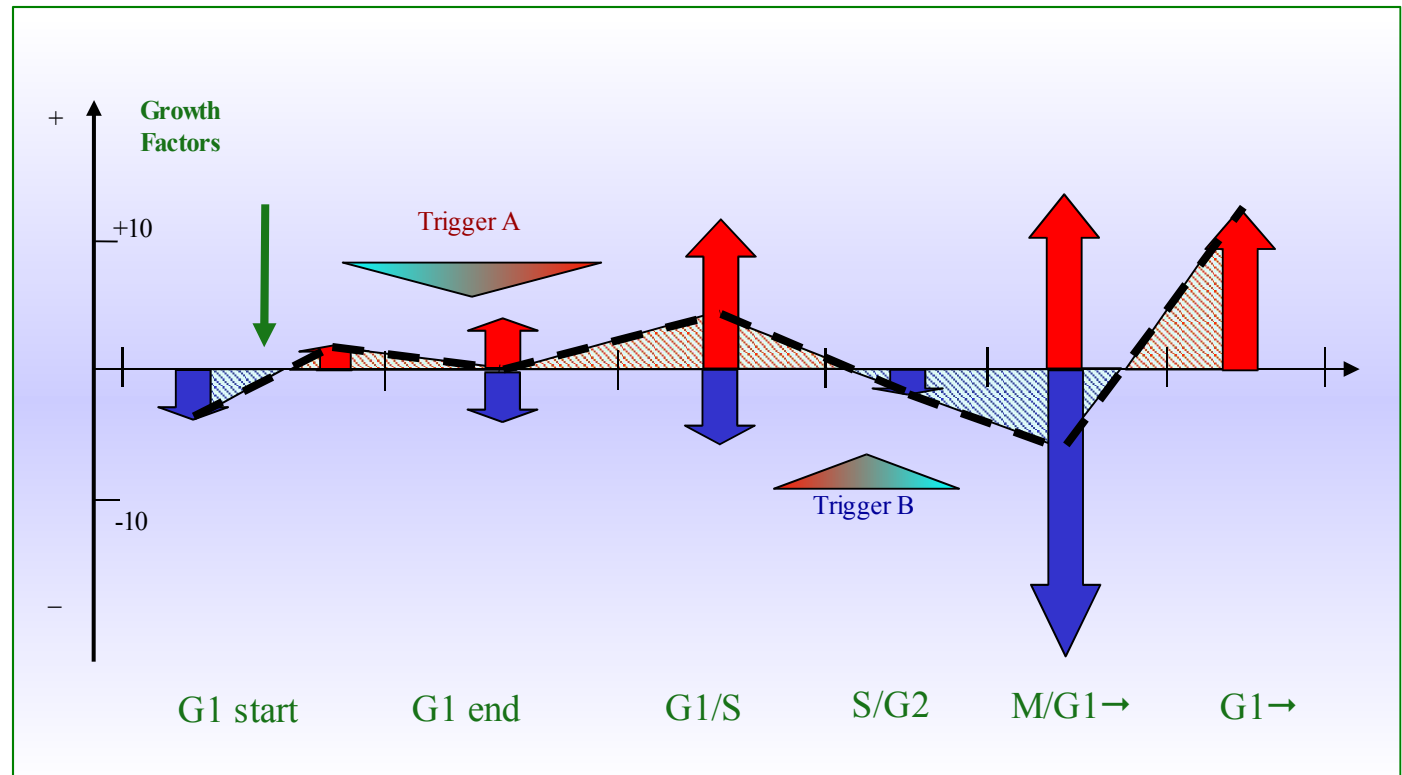


Ананько Е.А.,
Подколдная О.А.,
Турнаев И.И.



Распределение функционирования петель ОС во времени в течение клеточного цикла

Число **положительных ОС** показано в положительной области оси ординат, число **отрицательных ОС** показано в отрицательной области оси ординат. Пунктирной линией показана разница между количеством положительных и отрицательных ОС.





Математическое моделирование клеточного цикла: ОЖКММ

Компоненты метода: формальные блоки элементарных процессов составляющие элементарные подсистемы.

Формального блок:

список формальных динамических переменных
(концентрации продуктов реакции) X :

$$X = (e_1, \dots, e_p, x_1, \dots, x_m, y_1, \dots, y_n)$$

список формальных параметров (константы прямых и обратных реакции) P :

$$P = (l, m, k, s_p, \dots, s_m, a_0, a_1, \dots, a_m, b_1, \dots, b_n), m \geq 1, n \geq 0$$

закон преобразования информации (диф. ур. описывающии мгновенные скорости изменения X) F :

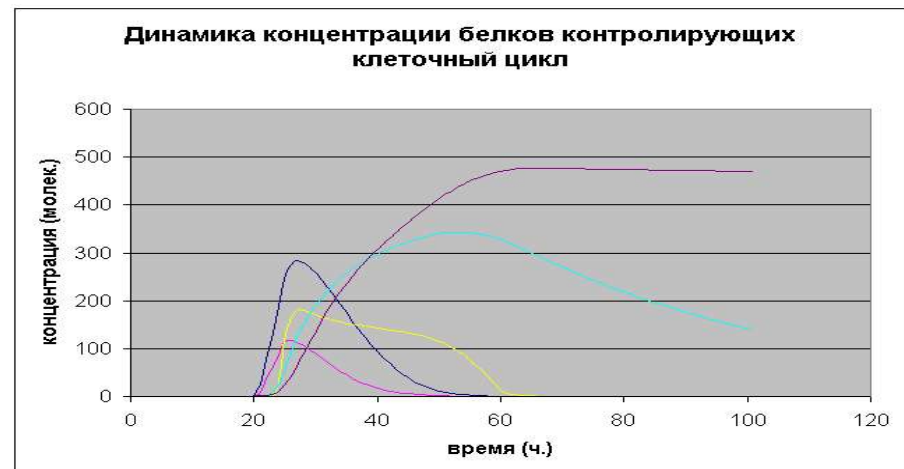
$$\frac{de}{dt} = a_0 Z, \quad \frac{dx_j}{dt} = -a_j Z, \quad j=1, \dots, m \quad \frac{dy_l}{dt} = b_l k Z \quad l=1, \dots, n, \text{ где}$$

$$Z = \frac{ke_1 \dots e_1 x_1 \dots x_m}{(s_1 + x_1) \dots (s_m + x_m)}$$

```
/* d(prot)/dt =B1*KI*mRNA*Ribosoma/(KM+mRNA+Ribosoma)
/* KI = 0.1 - shod ribosomy(no>0.3/1.00max), pri Km= 1mln 1/2 ribos
otdihaet =>
/* dlia otd prot mb men'she (500000 i daje 300000).
/* block nomer= 20
(bb) <B(XMOV),J(4)>.
(pp) <I(mRNA)> <I(Ribosoma)E#(<>> <I(protein),C(cytoplasmic)>.
(ee) <E(g1s),Z0(+)> <E(cyclin_e)> <E(cyclin_a)>.
(cc) <sp(N)> <K(KI)> <K(KM)> <sp(A1)> <sp(A2)> <sp(B1)>.
      2.0 0.1 500000.0 0.00E+00 0.00E+00 1.0
(ee) <E(++++)>.

/* d(prot)/dt =B1*KI*mRNA*Ribosoma/(KM+mRNA+Ribosoma)
/* KI = 0.1 - shod ribosomy(no>0.3/1.00max), pri Km= 1mln 1/2 ribos
otdihaet =>
/* dlia otd prot mb men'she (500000 i daje 300000).
/* block nomer= 20
(bb) <B(XMOV),J(4)>.
(pp) <I(mRNA)> <I(Ribosoma)E#(<>> <I(protein),C(cytoplasmic)>.
(ee) <E(g1s),Z0(+)> <E(prb)> <E(dp1)> <E(cdk4)> <E(cdk2)>
<E(e2f1)> <E(max)>.
(cc) <sp(N)> <K(KI)> <K(KM)> <sp(A1)> <sp(A2)> <sp(B1)>.
      2.0 0.1 500000.0 0.00E+00 0.00E+00 1.0
(ee) <E(++++)>.

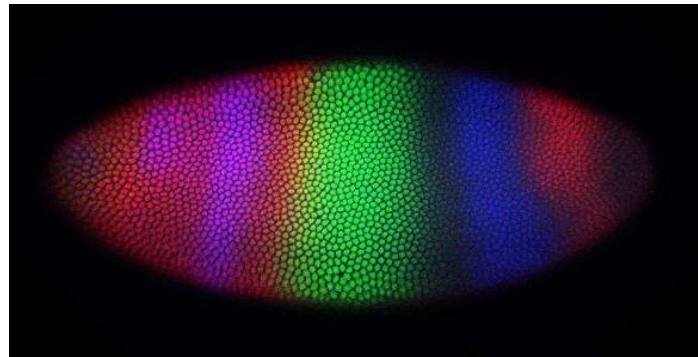
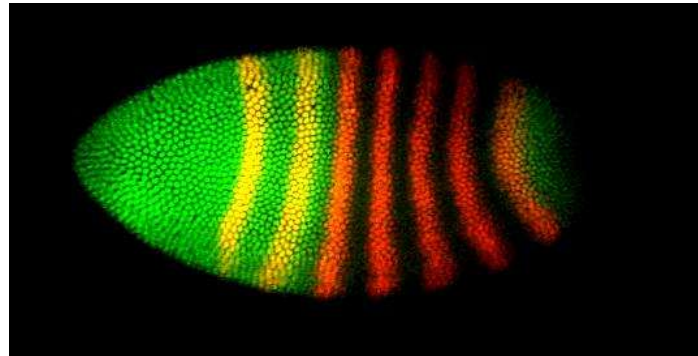
/* d(prot)/dt =B1*KI*mRNA*Ribosoma/(KM+mRNA+Ribosoma)
/* KI = 0.1 - shod ribosomy(no>0.3/1.00max), pri Km= 1mln 1/2 ribos
otdihaet =>
/* dlia otd prot mb men'she.
/* block nomer= 20
(bb) <B(XMOV),J(4)>.
```





Процессы онтогенеза на примере развития *Drosophila*

Hunchback, Even-skipped



Hunchback, Krüppel, Giant



Основные молекулярно-биологические составляющие ГС онтогенеза

Основные вехи процесса онтогенеза

- **Образование градиентов морфогенов.**
- **Реагирование на градиент морфогена (пути передачи сигналов).**
- **Запечатление детерминированного состояния клеток.**

Реагирование на градиент морфогена:

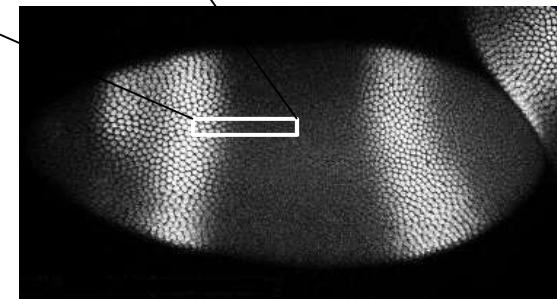
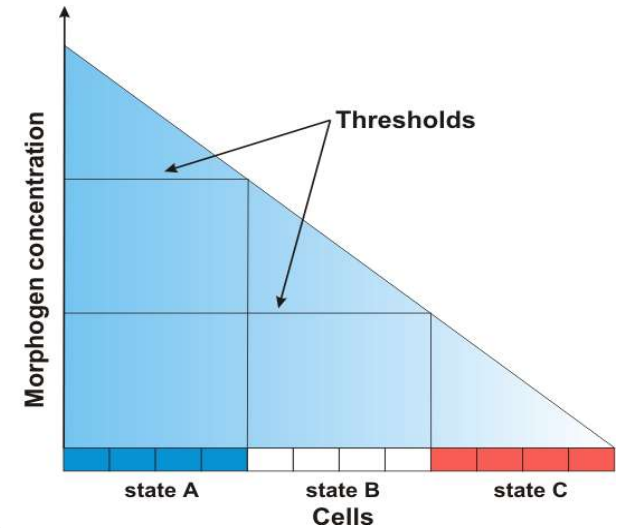
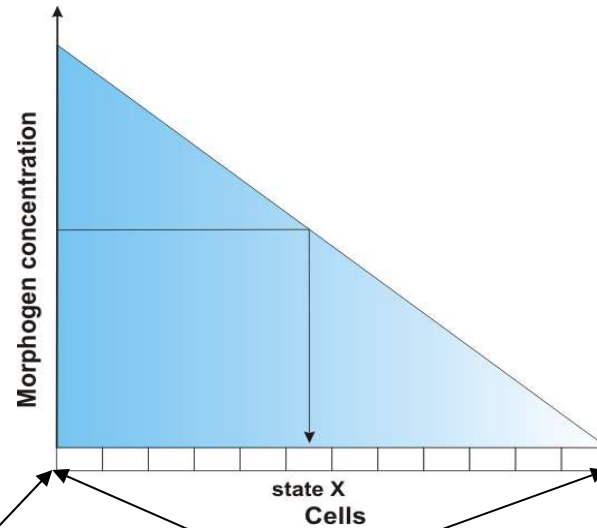
- **Гипотеза полярных координат**
- **Гипотеза “вскарабкивания”**

Границы компартментов – раздел фаз или пограничная линия?

Гипотеза позиционной информации

Каждая клетка имеет потенциал к развитию в клетку ткани А, В или С. Положение каждой клетки определяется концентрацией морфогена.

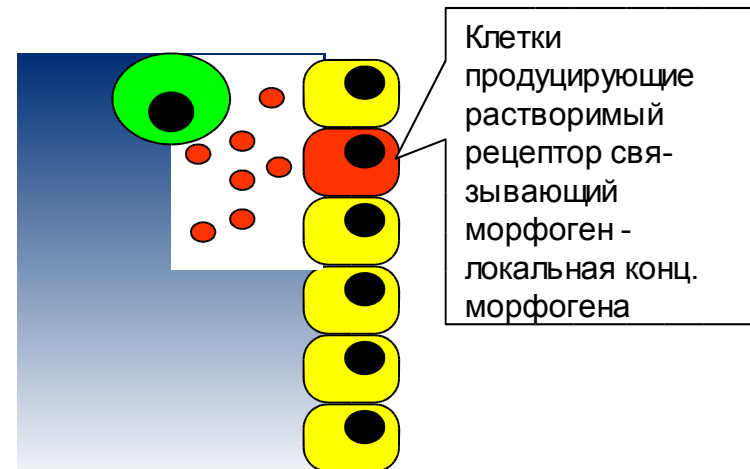
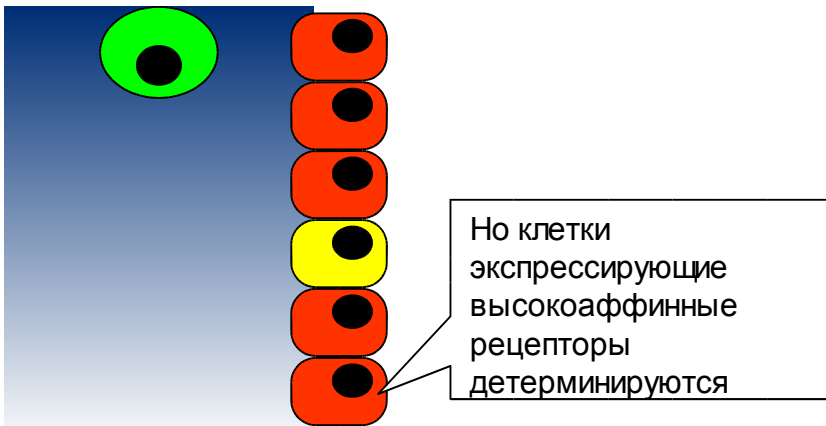
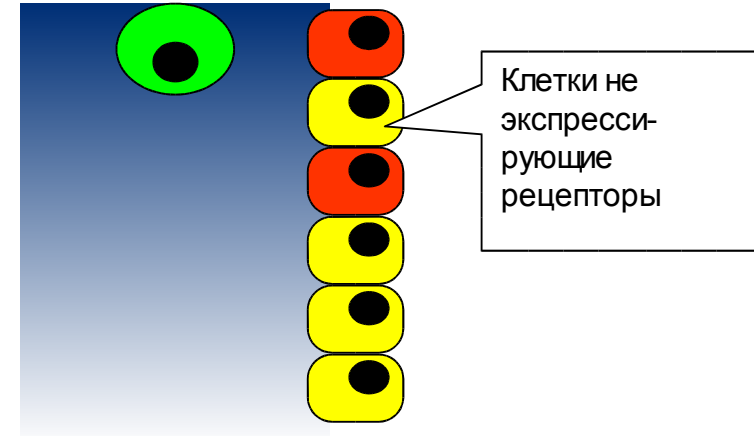
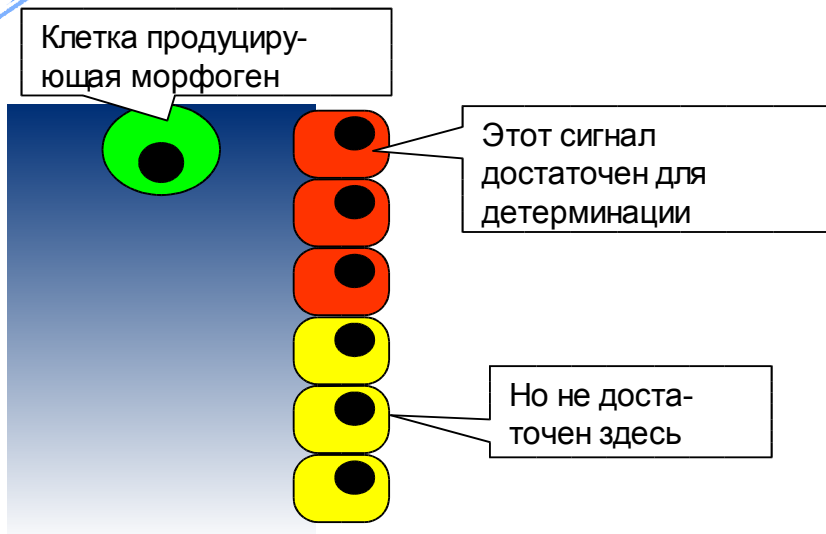
Позиционная информация (градиент концентрации морфогена) интерпретируется дифференцирующимися клетками.



Wolpert L. (1969)
Positional information and
the spatial pattern of
cellular differentiation. *J.
Theor. Biol.* **25**, 1-47.

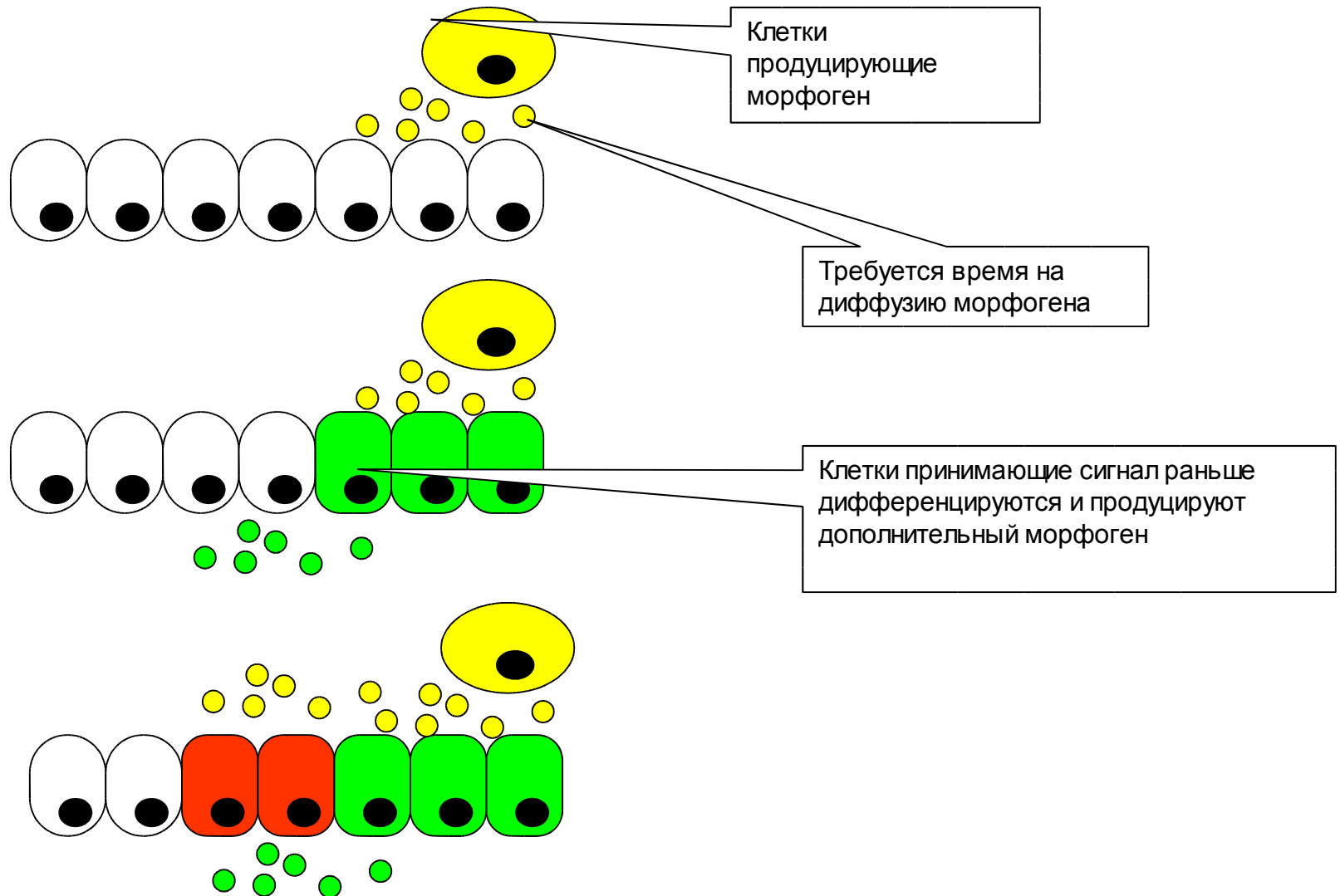


Общие характеристики регуляции в генных сетях развития многоклеточных структур: градиенты морфогенов (сигнальные градиенты)





Общие характеристики регуляции в генных сетях развития многоклеточных структур: ответ клетки на морфоген



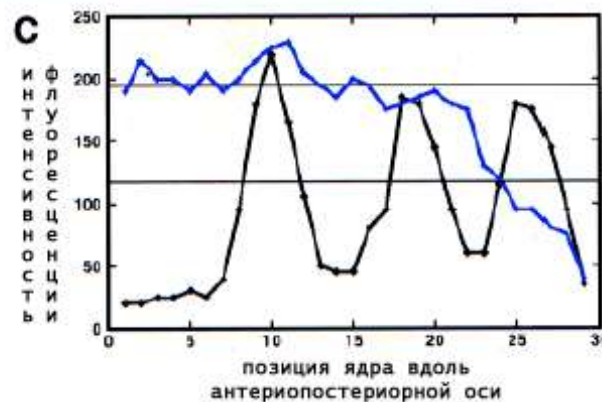
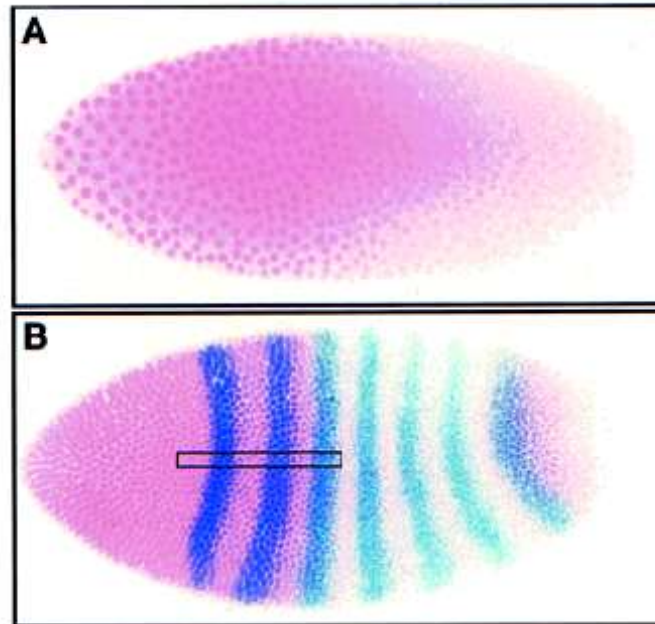
Подходы математического моделирования ранних стадий развития *Drosophila melanogaster*: Gene Circuits

Экспрессия генов *eve* и *hb*.

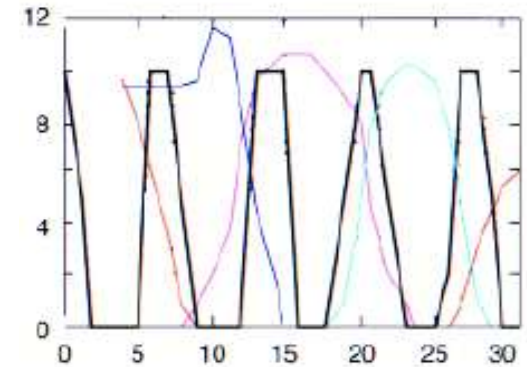
А. Эмбрион стадии 12-ого деление ядра зиготы покрашенный на белок Hb

В. Эмбрион стадии поздних делений ядра зиготы окрашенный на *Eve* (синий) и Hb (розовый) белки.

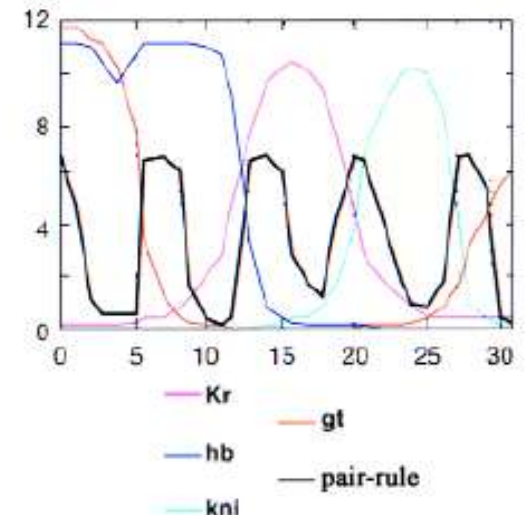
С. Средние значения окраски вдоль полосы в 28 ядер (показана на В в выделенном прямоугольнике). Уровень белка Hb обозначен синей линией, *Eve* - черной линией. На оси абсцисс отложена позиция ядер, которая отсчитывается с anteriорного (на А и В слева) к posteriорному (на А и В справа) концу. На оси ординат отложены средние значения интенсивности флуоресценции.



экспериментальные данные



данные расчетов





Подходы математического моделирования ранних стадий развития *D. melanogaster*: Gene Circuits

Компоненты метода:

- (2) теоретическая модель,
- (3) база данных паттернов экспрессии генов,
- (4) методы численной оптимизации.

Переменные – концентрации белков.

Изменения концентраций во времени функция:

- (3) прямой регуляции синтеза белка продуктом другого или того же гена,
- (4) диффузии молекул белка между клеточными ядрами,
- (5) деградации белка.

Теоретическая модель:

Упрощение: одномерная полоса ядер вдоль А/Р оси эмбриона

Правая часть уравнения:

1-ое слагаемое - регуляция гена и синтез белка

2-ое слагаемое - обмен белками между соседними ядрами

3-е слагаемое - деградация белка

$$\frac{dv_i^a}{dt} = R_a g \left(\sum_{b=1}^N T^{ab} v_i^b + m_a v_i^{Bcd} + h_a \right) + D_a (v_{i+1}^a - 2v_i^a + v_{i-1}^a) - \lambda_a v_i^a, \quad a = 1, \dots, N,$$

$v_i^a(t)$ концентрация a -го генного продукта в ядре с номером i (функция от времени)

N число генов зиготы вовлеченных в контур

T^{ab} регуляторный эффект гена b на ген a

$m_a v_i^{Bcd}$ вклад материнского гена bcd с концентрацией белка v_i^{Bcd} в ядре i и m_a регуляторный коэффициент bcd действующего на ген зиготы a

R_a максимальная скорость синтеза белка с гена a

h_a суммарный эффект однородно распределенных материнских транскрипционных факторов на ген a

D_a коэффициент диффузии

λ_a скорость распада белкового продукта гена a .

g функция “регуляции экспрессии” аргумента h , играющая роль “базовой функции” в нелинейной системе типа “реакция-диффузия” и

имеющая форму: $g(\eta) = \frac{1}{2} \left(\frac{\eta}{\sqrt{1+\eta^2}} + 1 \right)$ форма функции случайна, единственное ограничение для функции $g(h)$ – необходимость ее монотонности и ограниченности одним глобальным максимумом (сигмоидная форма кривой).



Структурные особенности генных сетей позднего развития (на примере развития крылового имагинального диска *D. melanogaster*)

Группы клеток, располагающиеся по границам компартментов крылового имагинального диска координируют развитие всего крыла.

В генных сетях формирования антерио-постериорной и дорзо-вентральной границ компартментов можно выделить следующие блоки:

- 4) центральный блок – так называемые селекторные гены обеспечивающие разнокачественность различных компартментов и управляемые ими кассеты генов;
- 5) блоки формирования и распространения белков-морфогенов;
- 6) сигнальные каскады, обеспечивающие передачу информации между клетками;
- 7) транскрипционные факторы (конечное звено сигнальных каскадов) и кассеты генов, управляемые этими транскрипционными факторами.

Блоки генных сетей формирования границ компартментов функционируют в различное время и в различном месте, поэтому контуры обратных связей характеризуются разнесённостью компонентов во времени и/или в пространстве.



Функциональные особенности генных сетей позднего развития (на примере развития крылового имагинального диска *D. melanogaster*)

Важную роль в функционировании генных сетей формирования антериопостериорной и дорсовентральной границ компартментов играют:

- 3) молекулярные триггеры - механизм переключения между двумя режимами функционирования генной сети обеспечивающими 2 типа специфической дифференцировки клеток;
- 4) петли положительных обратных связей - механизм поддержания дифференцированного состояния клеток;
- 5) петли отрицательных обратных связей - механизм ограничения времени экспрессии генов в развитии.



Компьютерное моделирование поздних этапов сегментации *Drosophila melanogaster* показало, что генной сети построенной на основании современных молекулярно-биологических данных может быть вполне достаточно для объяснения возникновения периодически распределенных в пространстве паттернов экспрессии определенных генов.

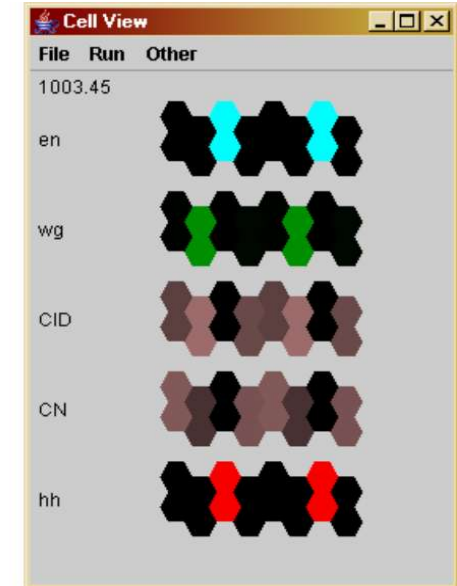
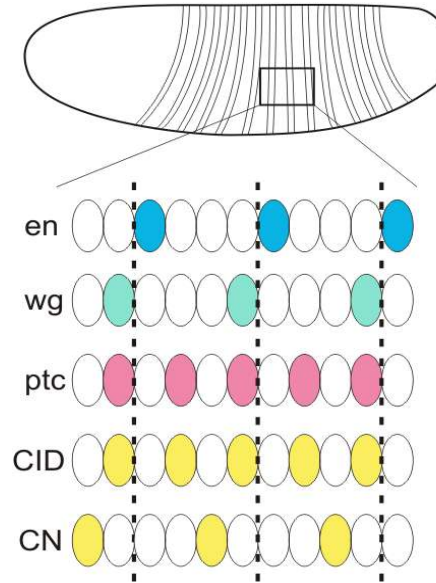
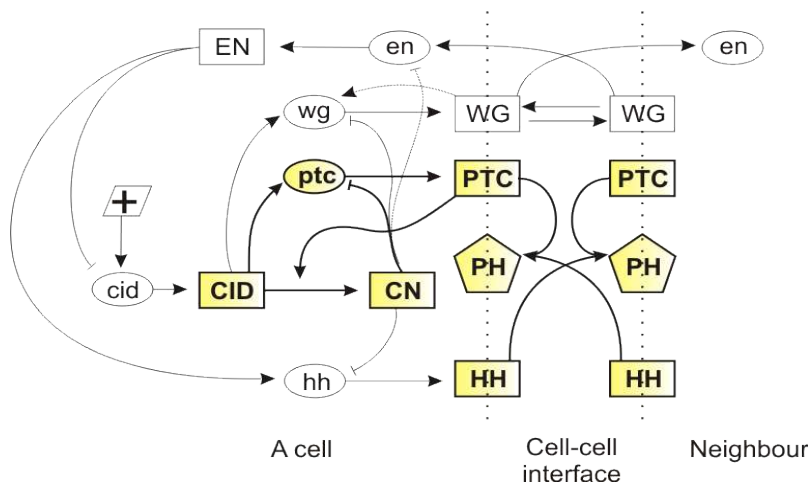


Схема реальных паттернов экспрессии генов

Паттерн экспрессии полученный в результате моделирования

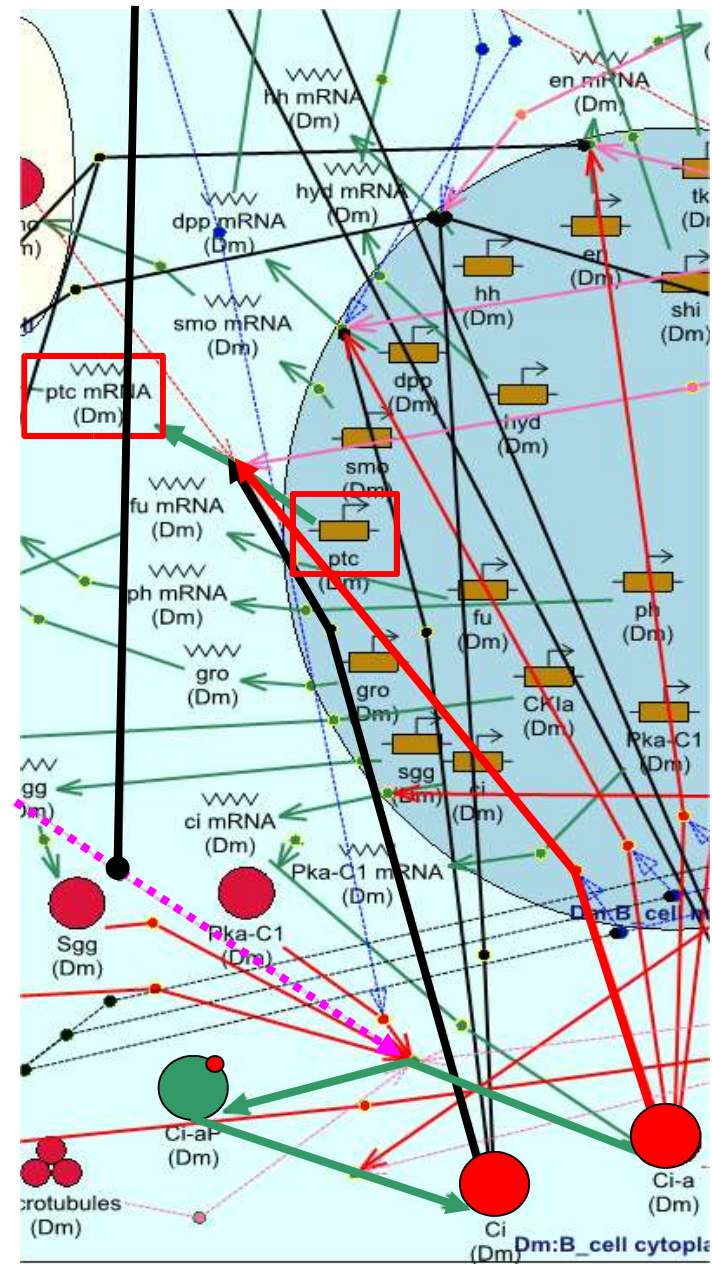


$$\frac{d[HH]_{i,j}}{dt} = \frac{P_{\max} \sigma_{HH} [hh]_i}{6} - \frac{[HH]_{i,j}}{H_{HH}} - k_{PTCHH} [HH]_{i,j} [PTC]_{n,j+3}$$

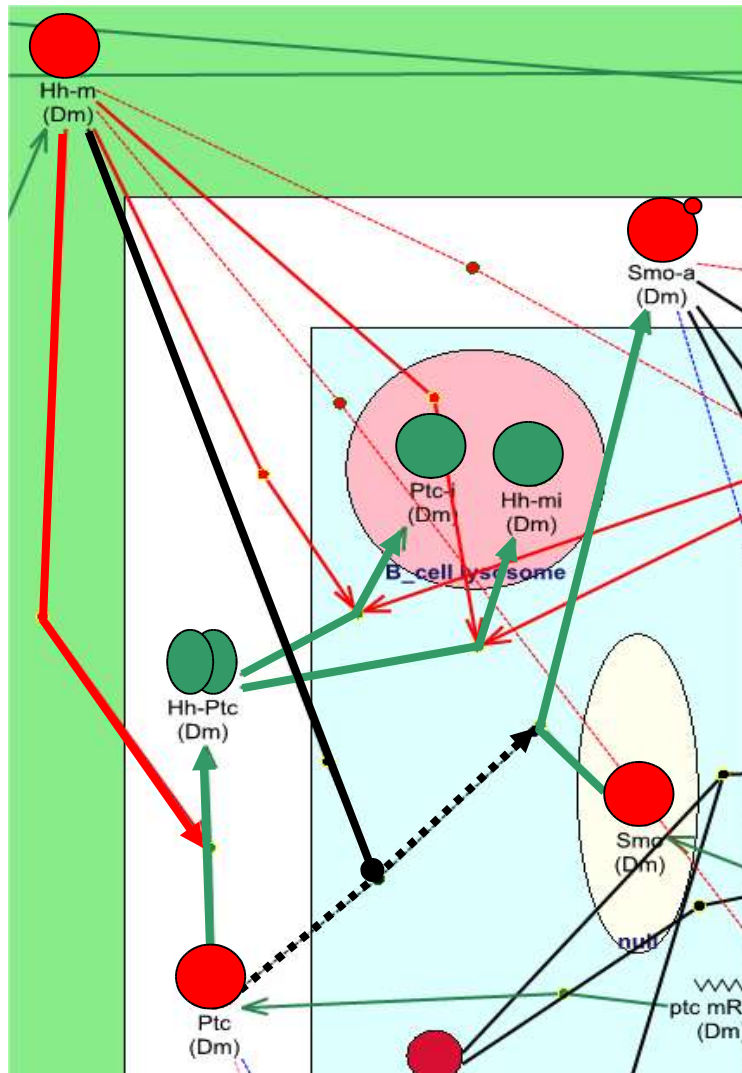
$$\frac{d[PH]_{i,j}}{dt} = k_{PTCHH} [HH]_{n,j+3} [PTC]_{i,j} - \frac{[PH]_{i,j}}{H_{PH}}$$

Для описания функционирования генной сети детерминирующей процесс сегментации исследователи использовали уравнения химической кинетики с учетом распределенности моделируемой системы в пространстве по одной оси координат, используя случайные константы получив при этом реально наблюдаемый паттерн экспрессии генов детерминирующих сегментацию.

- Транскрипционный фактор CI и в обеих формах имеет одинаковые сайты связывания в энхансерах гена *ptc*.
- Белок PTC в свободном состоянии индуцирует образование ингибиторной формы белка CI, которая подавляет транскрипцию гена *ptc*.
- При формировании комплекса PTC-НН активность белка PTC подавляется, что способствует формированию активаторной формы белка CI активирующей экспрессию гена *ptc*.



Взаимодействие между белком HH, его рецептором PTC и трансмембранным белком SMO



- Связывание внеклеточного белка HH со своим рецептором - белком PTC подавляет ингибиторные эффект белка PTC на работу протеинкиназы SMO.
- Протеинкиназа SMO инициирует каскад реакций приводящий к образованию активаторной формы белка CI.

Химико-кинетическое моделирование поведения концентрации белка PTC как функции зависящей от концентрации HH

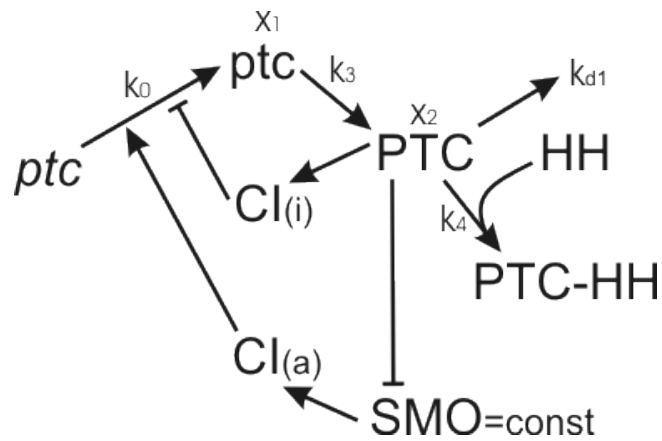


Схема кинетики блока воспринимающего градиент концентрации морфогена HH.

$$\begin{cases} \frac{dptc}{dt} = \frac{k_0 \cdot Ci(a)}{k_1 + k_2 \cdot Ci(i)} - k_3 \cdot ptc \\ \frac{dPTC}{dt} = k_3 \cdot ptc - k_4 \cdot PTC \cdot HH - kd_1 \cdot PTC \\ Ci(a) = \alpha \cdot x_2 + \delta_1 \\ Ci(i) = \beta \cdot x_2 + \delta_2 \end{cases}$$

- Система дифференциальных уравнений описывающая химическую кинетику блока воспринимающего градиент концентрации морфогена HH.
- Система уравнений применима только для описания поведения концентрации белка PTC в anteriорном компартменте.

При стационарных условиях $\frac{dptc}{dt}, \frac{dPTC}{dt} \rightarrow 0$

отсюда

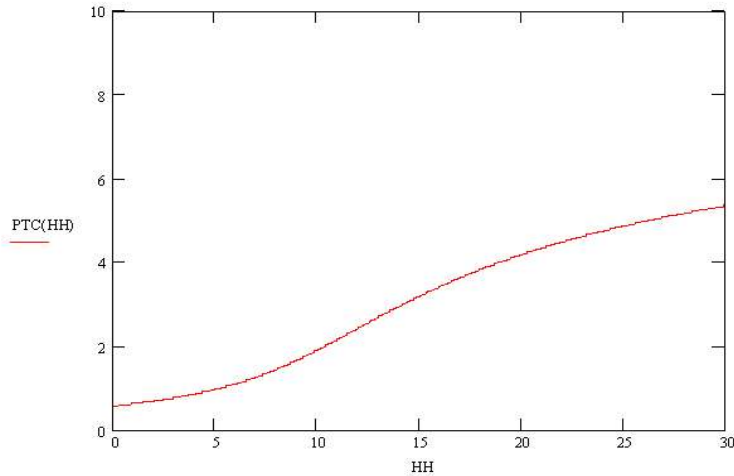
$$PTC(HH) = \frac{B - \frac{A}{(k_4 \cdot HH + kd_1)} + \sqrt{\left(B - \frac{A}{(k_4 \cdot HH + kd_1)}\right)^2 + 4 \frac{C}{(k_4 \cdot HH + kd_1)}}}{2}$$

где

$$A = \frac{k_0 \alpha}{k_2 \beta}$$

$$B = \frac{k_1 + \delta_2 k_2}{k_2 \beta}$$

$$C = \frac{\delta_1 k_0}{k_2 \beta}$$



Поведение функции описывающей концентрацию белка PTC на anteriо-постериорной границе компартментов имагинального диска *Drosophila melanogaster*, аргументом которой является концентрация морфогена HH.

Решение системы дифференциальных уравнений при стационарных условиях.



$$\frac{d^2 \text{НН}}{dr^2} = \Delta \frac{d^2 \text{НН}}{dr^2} - k_4 \text{ПТС}(\text{НН}(r)) \text{НН}(r)$$

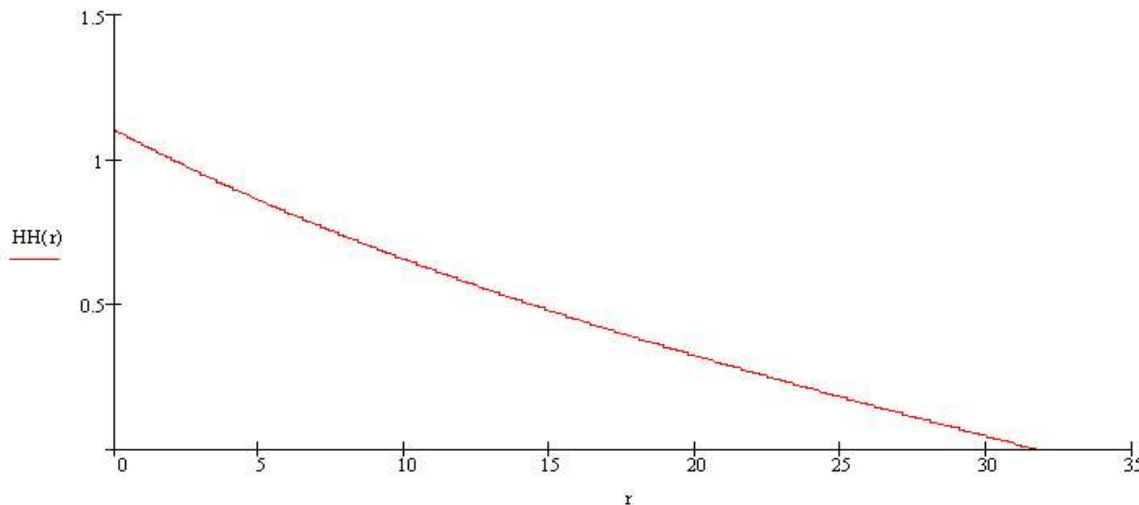
$$\text{ПТС}(\text{НН}(r)) = \frac{B - \frac{A}{(k_4 \text{НН}(r) + kd_1)} + \sqrt{\frac{B - \frac{A}{(k_4 \text{НН}(r) + kd_1)}}{2} + 4 \frac{C}{(k_4 \text{НН}(r) + kd_1)}}}{2}$$

Уравнение описывающее процесс диффузии белка НН в одномерном пространстве и его активной деградации.

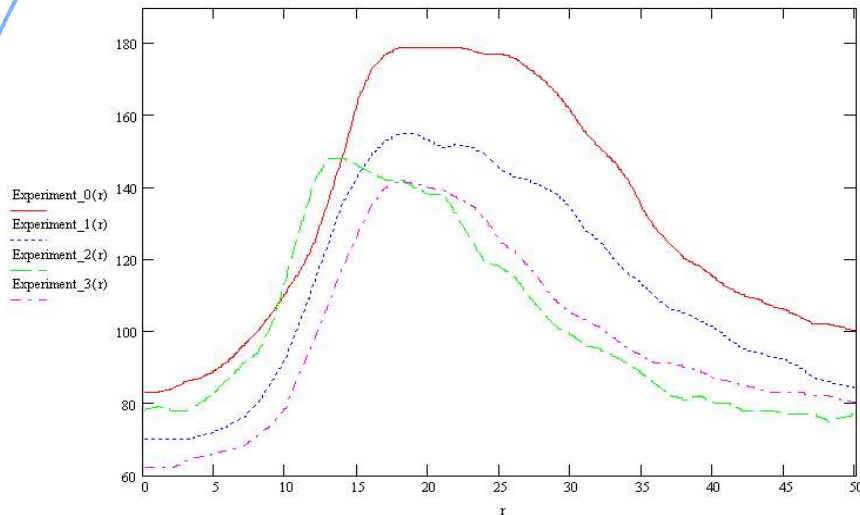
При стационарных условиях $\frac{d^2 \text{НН}}{dr^2} \rightarrow 0$

отсюда

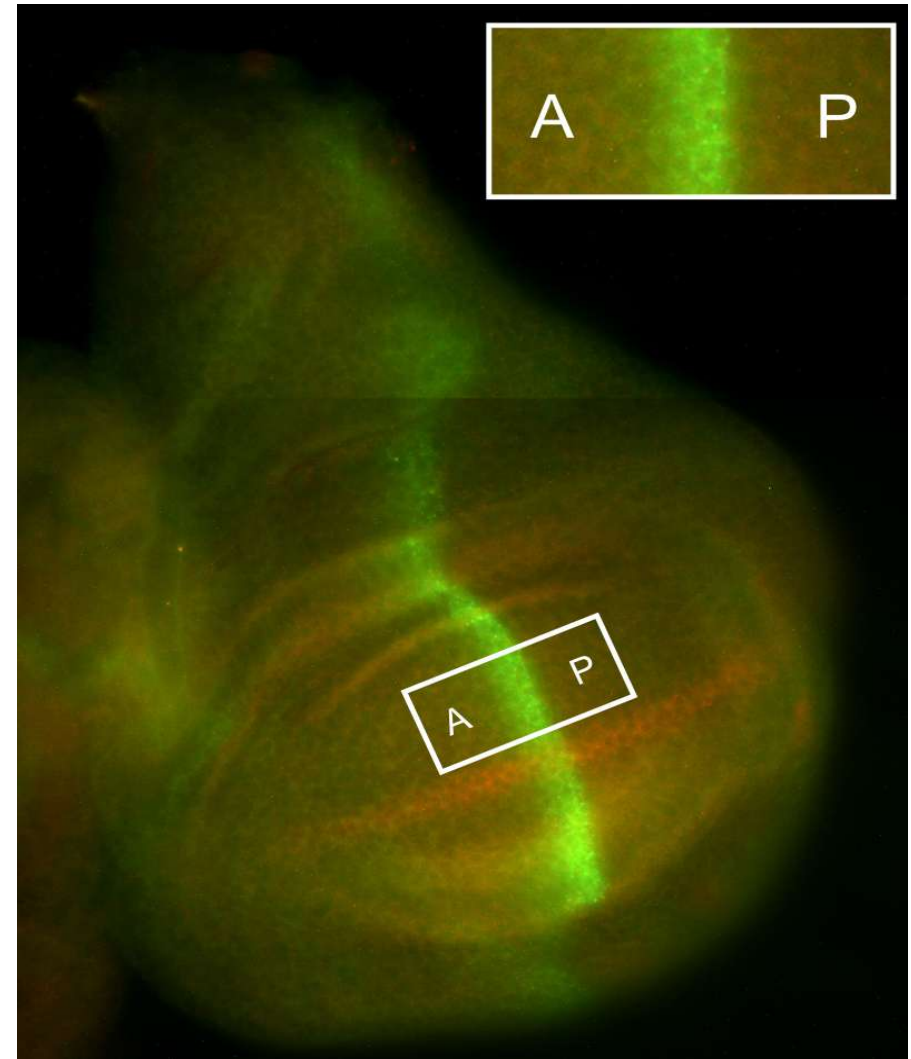
$$\frac{d^2 \text{НН}}{dr^2} = \frac{k_4}{\Delta} \text{НН}(r) \text{ПТС}(\text{НН}(r))$$



Поведение функции описывающей концентрацию белка НН (НН(r)) аргументом которой является расстояние (r) от начала антерио-постериорной границы компарментов.



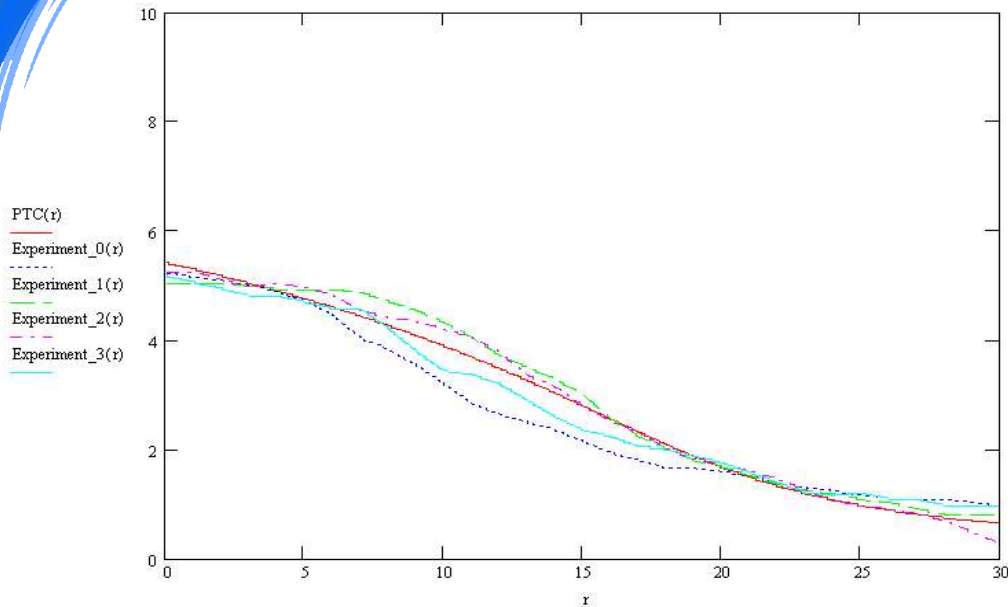
Экспериментально измеренное значение концентрации белка РТС на антерио-постериорной границе компартментов (вдоль оси x – номер пикселя, нумерация пикселей начинается из постериорного компартмента и заканчивается в антериорном, вдоль оси y – интенсивность флуоресценции являющаяся маркером наличия белка РТС).



Паттерн экспрессии гена *ptc* на антерио-постериорной границе компартментов крыла (А – антериорный компартмент, Р – постериорный, зеленая полоса – место экспрессии гена *ptc*).



Сравнение реального распределения концентрации белка РТС с теоретически предсказанным



$$PTC(r) = \frac{B - \frac{A}{D} + \sqrt{\left(B - \frac{A}{D}\right)^2 + 4 \frac{C}{D}}}{2}$$

where

$$A = \frac{k_0 \alpha}{k_2 \beta}$$

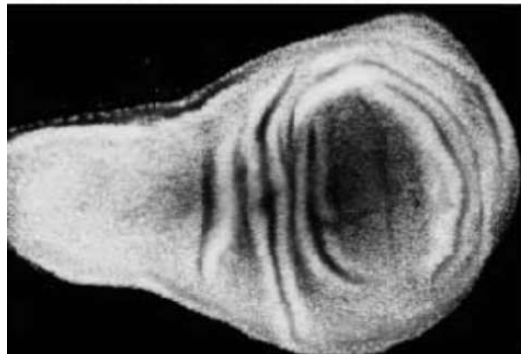
$$B = \frac{k_1 + \delta_2 k_2}{k_2 \beta}$$

$$C = \frac{\delta_1 k_0}{k_2 \beta}$$

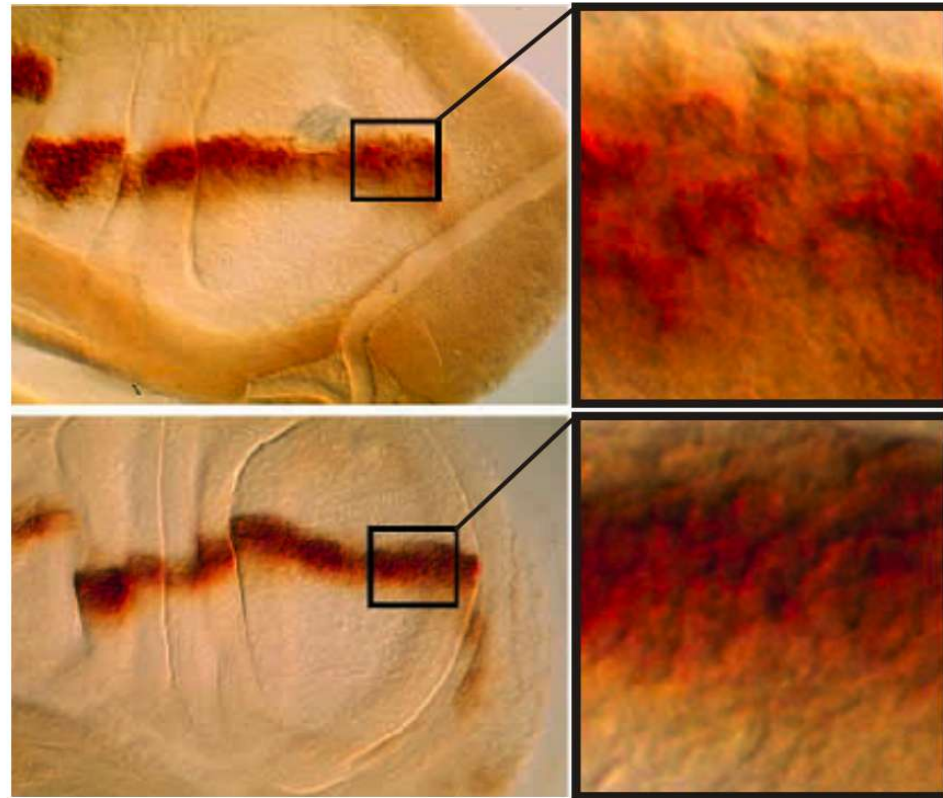
$$D = \varepsilon \cdot k_4 \cdot HH(r) + kd_1$$

График распределения теоретически предсказанной и экспериментально наблюдаемой концентрации белка РТС поперек антерио-постериорной границы компартментов крыла (вдоль оси x – номер пикселя, нумерация пикселей начинается от наивысшего значения концентрации белка РТС на антерио-постериорной границе компартментов крыла и оканчивается в антериорном компартменте, вдоль оси y – интенсивность флуоресценции являющаяся маркером наличия белка РТС).

Клеточная дискретность



Инактивация гена *Cdc2* предотвращает деления клеток но не их рост. Мутантный *Cdc2* E1-24 (сверху) и нормальный (снизу) крыловые имагинальные диски.



Паттерн экспрессии гена *dpp* вдоль антерио-постериорной границы в *Cdc2* E1-24 мутантных имагинальных дисках. Экспрессия *dpp* в *Cdc2* E1-24 (вверху) и в нормальных (внизу) имагинальных дисках. Несмотря на существенное возрастание размеров *Cdc2* E1-24 мутантных клеток, наблюдается лишь небольшое расширение полосы экспрессии гена *dpp*.



Перспективные подходы математического моделирования поздних стадий развития: Complex Systems Lab.

Обобщение метода Gene Circuits:

$$\frac{dg_{ij}(t)}{dt} = -\lambda_j g_{ij}(t) + \Phi \left[\sum_{l=1}^{N_g} W_{jl} g_{lj}(t) + \theta_j \right] + D_j \nabla^2 g_{ij}(t)$$

$$\Phi(z) = 1/(1 + \exp(-\mu z))^{-1}$$

g_{ij} концентрация белкового продукта j -ого гена в i -ой клетке
 W_{jl} матрица взаимодействий генов элементы которой имеют как положительные так и отрицательные значения
 θ_j пороговые значения ответа генов на сигнал
 D_i скорость диффузии белков между соседними клетками описываемая в уравнении слагаемым имеющим оператор Лапласа
 $\Phi(z)$ сигмоидальная функция определяющая взаимодействия между генами

Модель:

Условия: $\Phi(z)=z$ если $z > 0$ и $\Phi(z)=0$ в ином случае

Каждая клетка определяется набором генов N_g и соседних клеток N_c

Учитывается два основных типа межклеточных взаимодействий: индукционное и типа реакция-диффузия

Два набора взаимосвязей:

элементы матрицы W_{mn} ($m, n=1; \dots; N_g$) отражают вес внутриклеточные межгенных взаимодействий

элементы матрицы C_{mn} ($m, n=1; \dots; N_g$) отражают вес взаимодействий m -го и n -го гена через мембранные рецепторы

Индукционное взаимодействие:

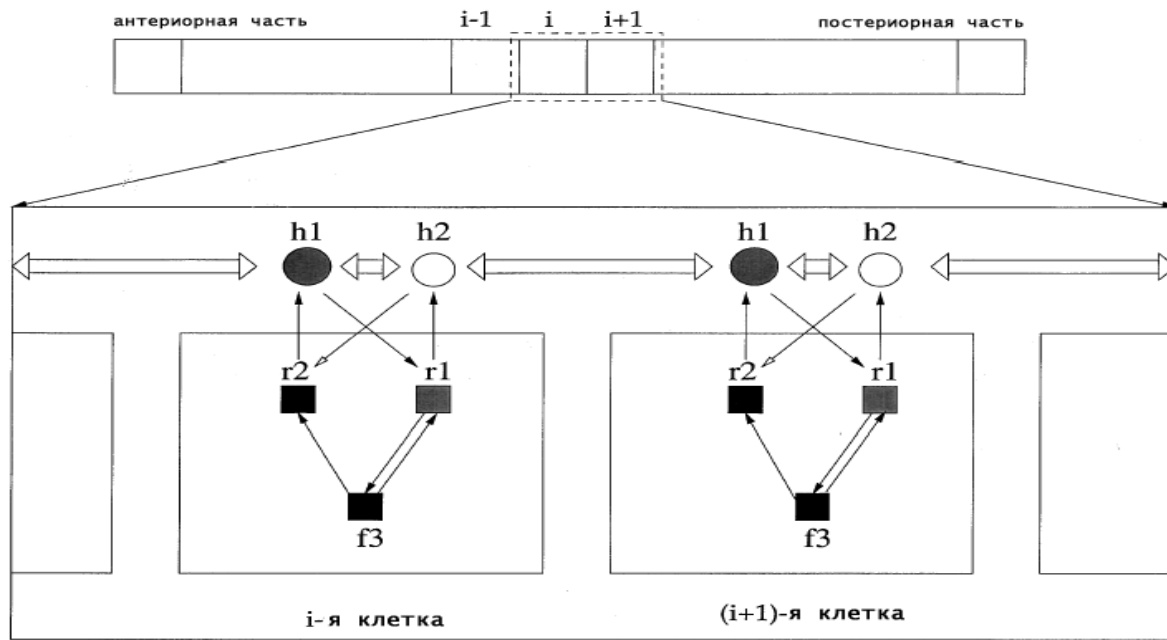
$$\frac{dg_{li}}{dt} = \delta \frac{\Phi \left[\sum_{j=1}^{N_g} W_{ij} g_{lj}(t) + C_{ij} [g_{l-1,j}(t) + g_{l+1,j}(t)] \right]}{1 + \Phi \left[\sum_{j=1}^{N_g} W_{ij} g_{lj}(t) + C_{ij} [g_{l-1,j}(t) + g_{l+1,j}(t)] \right]} - g_{li}(t)$$

Взаимодействие типа реакция-диффузия:

$$\frac{dg_{li}}{dt} = \delta \frac{\Phi \left[\sum_{j=1}^{N_g} W_{ij} g_{lj}(t) \right]}{1 + \Phi \left[\sum_{j=1}^{N_g} W_{ij} g_{lj}(t) \right]} - g_{li}(t) + D_i \nabla^2 g_{li}(t)$$

$$\nabla^2 g_{ij}(t) = \frac{1}{\Delta x^2} (g_{i+1,j}(t) + g_{i-1,j}(t) - 2g_{i,j}(t))$$

$g_i(t)$ динамика активности определенного гена ($i = 1; 2; \dots; N_g$), которая описывается расширенным уравнением Михаелеса–Ментен
 $\delta > 0$ константа
 D_i коэффициент диффузии i -го морфогена
 $\{g_{ab}(t)\}$ уровень активности гена (где $a=1; \dots; N_c$ и $b=1; \dots; N_g$).



Типы взаимодействий используемые в модели и получаемые на основе генной сети определенного графа паттерны экспрессии генов.

Квадраты - гены экспрессирующиеся внутри клетки, круги - диффундирующие паракринные факторы.

Обозначения:

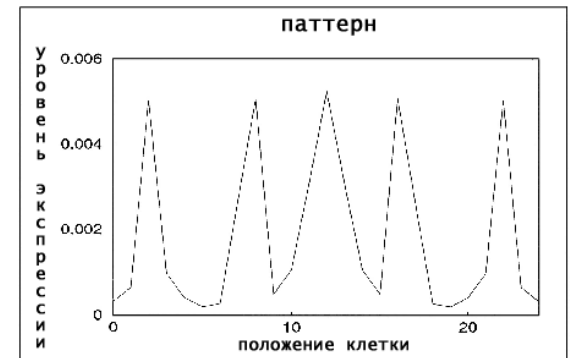
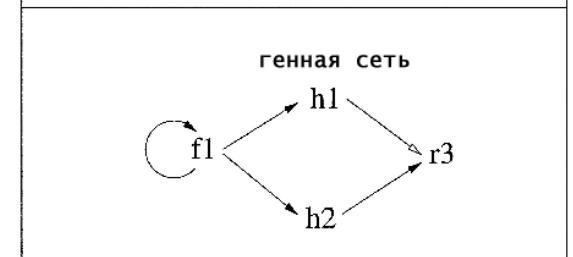
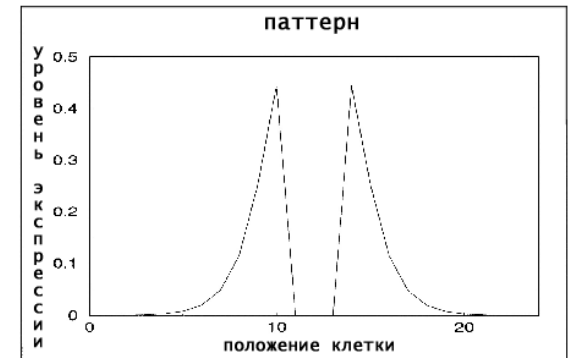
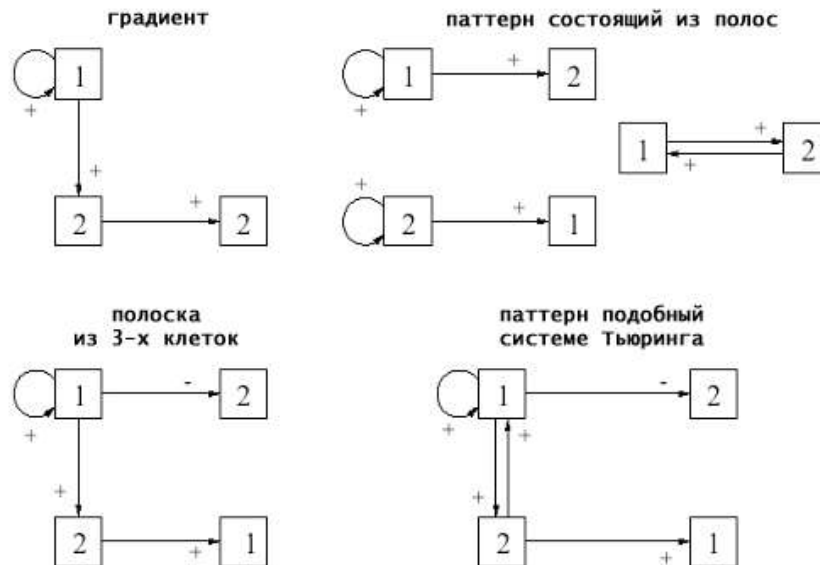
h - гормон или паракринный фактор,

r - рецептор,

f - транскрипционный фактор, стрелки с черными окончаниями - активаторные воздействия,

стрелки с белыми окончаниями - ингибиторные воздействия,

толстые стрелки - диффузия.





Заключение

- **ГС клеточного цикла, как и ожидалось, имеют циклический режим функционирования**
- **Высокая интегрированность подпроцессов клеточного цикла не позволяет моделировать клеточный цикл поэтапно, разбивая его на подпроцессы**
- **Функция ГС онтогенеза – максимальное изменение и закрепление в ряду клеточных поколений определенного параметра дифференцировки клеток**
- **ГС онтогенеза устроены модульно и иерархично что позволяет моделировать отдельные этапы развития**
- **Управляющими компонентами как ГС онтогенеза так и ГС клеточного цикла является набор обратных связей и триггеров**