

*Modelování biochemických procesů:  
Deterministický model transkripční regulace*

David Šafránek

Seminář ParaDiSe

1.10.2007

# Obsah

*Základní pojmy*

*Spojité deterministický model chemických reakcí*

*Spojité deterministický model transkripční regulace*

*Diskrétní aproximace*

# Obsah

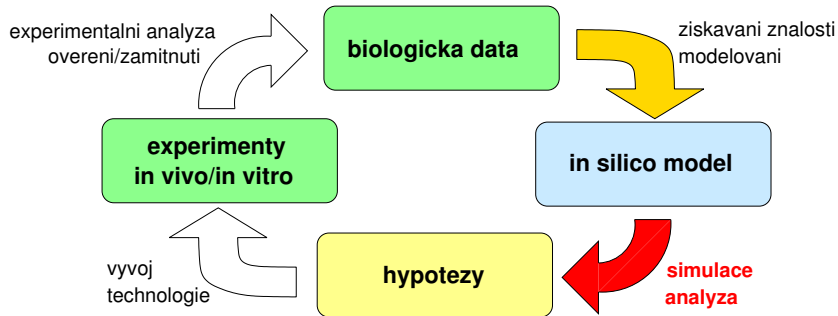
*Základní pojmy*

*Spojitéj deterministický model chemických reakcí*

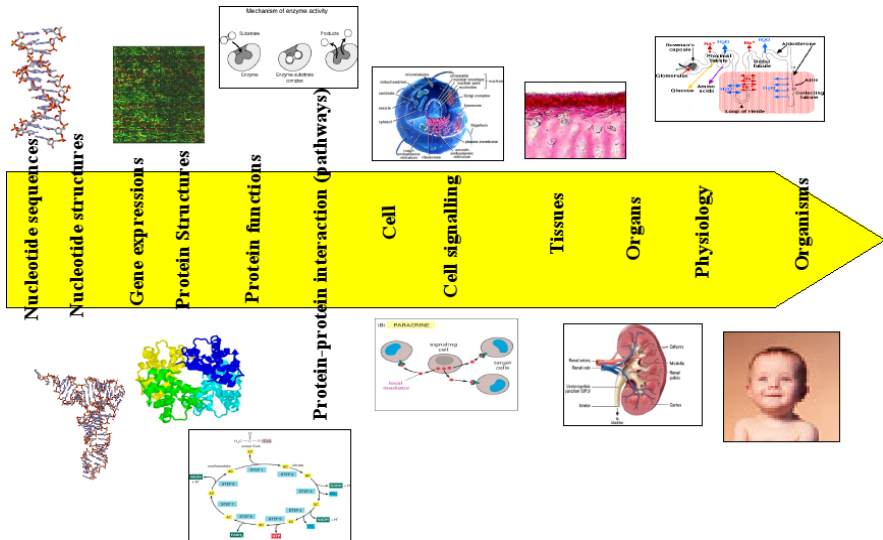
*Spojitéj deterministický model transkripční regulace*

*Diskrétní aproximace*

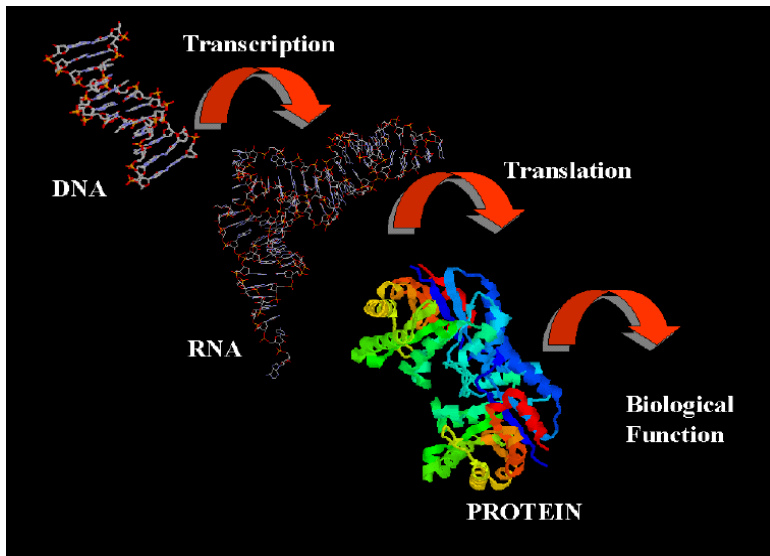
# *In silico model – základ systémové biologie*



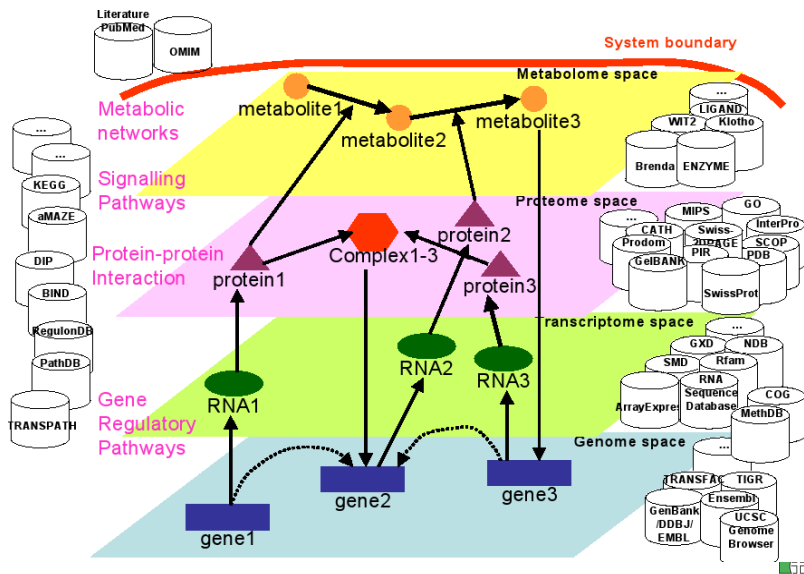
# Organismus = komplexní systém



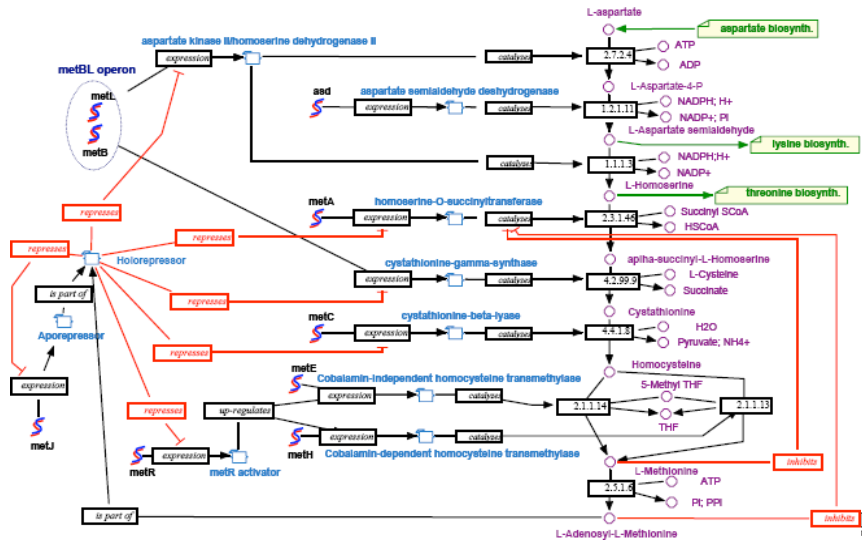
# *Centrální dogma*



# Funkční vsrtyvy buňky



# Příklad metabolické dráhy





# *Deterministický vs. stochastický model*

- dynamika systému:  
běh  $\equiv$  iniciální podmínky  $\rightarrow$  vývoj reakcí  $\rightarrow$  ekvilibrium
- deterministický model – makropohled
  - vysoká koncentrace látek
  - vysoká pravděpodobnost vazby aktivních látek – reakce
  - stav modelu zachycuje aktuální koncentrace
- stochastický model – mikropohled
  - nízká koncentrace
  - záleží na vazbách individuálních molekul (pravděpodobnost)
  - stav zachycuje aktuální počty molekul
- kombinace – hybridní modely

# Obsah

*Základní pojmy*

*Spojité deterministický model chemických reakcí*

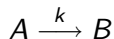
*Spojité deterministický model transkripční regulace*

*Diskrétní aproximace*

# Motivace pro deterministický model – *E.coli*

<b>Experimentálně zjištěný parametr</b>	<b>Hodnota v E.Coli</b>
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

# Exponenciální rozklad (konverze) látky v čase



$$\frac{d[A]}{dt} = -k[A]$$

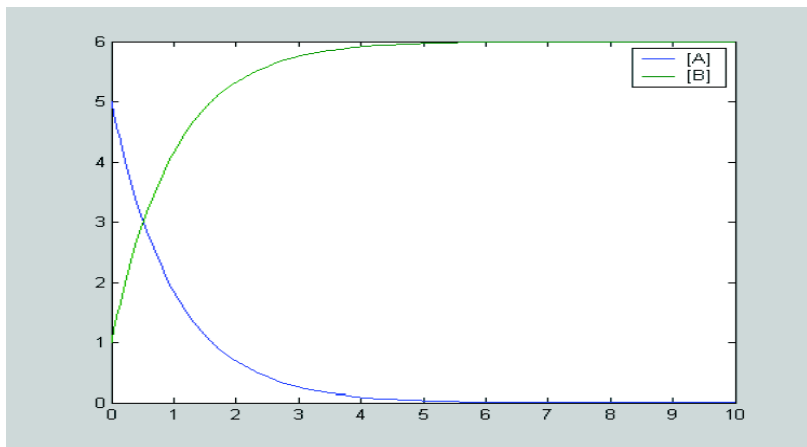
$$\frac{d[B]}{dt} = k[A]$$

Ekvilibrium:

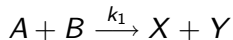
$$0 = \frac{d[A]}{dt} = \frac{d[B]}{dt} = k[A] \Leftrightarrow [A] = 0$$

$\equiv$  vyčerpání zdrojové látky A

# Exponenciální rozklad (konverze) látky v čase

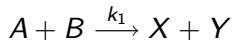


## *Zákon o aktivním působení hmoty*

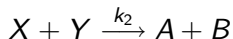


$$\frac{d[X]}{dt} = \frac{d[Y]}{dt} = -\frac{d[A]}{dt} = -\frac{d[B]}{dt} = k_1[A][B]$$

## *Zákon o aktivním působení hmoty*

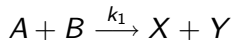


$$\frac{d[X]}{dt} = \frac{d[Y]}{dt} = -\frac{d[A]}{dt} = -\frac{d[B]}{dt} = k_1[A][B]$$

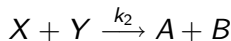


$$\frac{d[A]}{dt} = \frac{d[B]}{dt} = -\frac{d[X]}{dt} = -\frac{d[Y]}{dt} = k_2[X][Y]$$

## Zákon o aktivním působení hmoty



$$\frac{d[X]}{dt} = \frac{d[Y]}{dt} = -\frac{d[A]}{dt} = -\frac{d[B]}{dt} = k_1[A][B]$$



$$\frac{d[A]}{dt} = \frac{d[B]}{dt} = -\frac{d[X]}{dt} = -\frac{d[Y]}{dt} = k_2[X][Y]$$

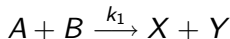
přímá a reversibilní reakce vzájemně nezávislé:

$$\frac{d[X]}{dt} = \frac{d[Y]}{dt} = k_1[A][B] - k_2[X][Y]$$

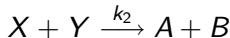
$$\frac{d[A]}{dt} = \frac{d[B]}{dt} = -k_1[A][B] + k_2[X][Y]$$



## Zákon o aktivním působení hmoty



$$\frac{d[X]}{dt} = \frac{d[Y]}{dt} = -\frac{d[A]}{dt} = -\frac{d[B]}{dt} = k_1[A][B]$$



$$\frac{d[A]}{dt} = \frac{d[B]}{dt} = -\frac{d[X]}{dt} = -\frac{d[Y]}{dt} = k_2[X][Y]$$

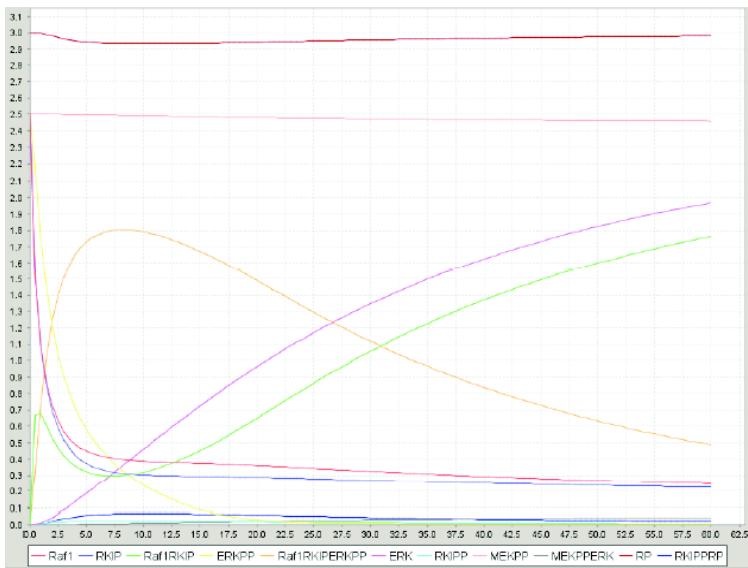
ekvilibrum přímé a reversibilní reakce:

$$\frac{d[A]}{dt} = \frac{d[B]}{dt} = \frac{d[X]}{dt} = \frac{d[Y]}{dt} = 0$$

$$\Leftrightarrow k_1[A][B] = k_2[X][Y]$$

$$\Leftrightarrow \frac{k_1}{k_2} = \frac{[X][Y]}{[A][B]}$$

# Numerická simulace



# Obsah

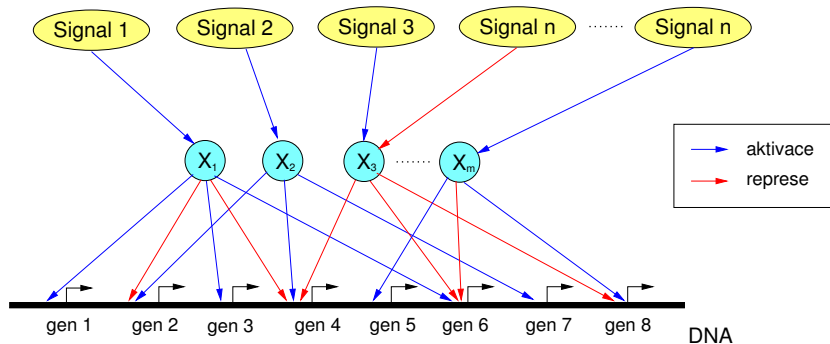
*Základní pojmy*

*Spojité deterministický model chemických reakcí*

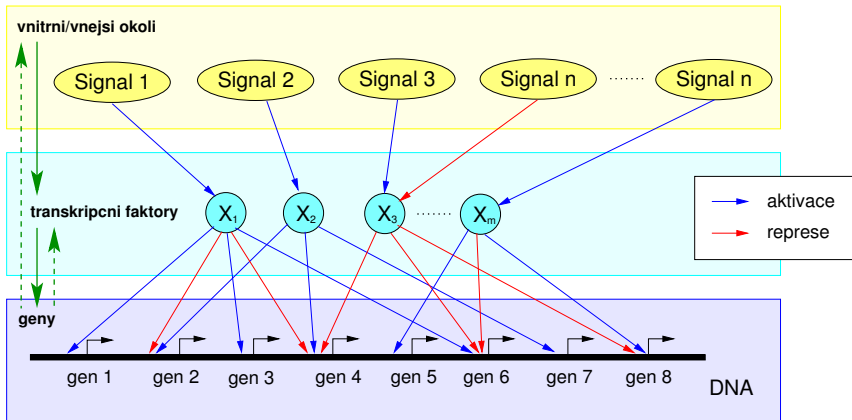
*Spojité deterministický model transkripční regulace*

*Diskrétní aproximace*

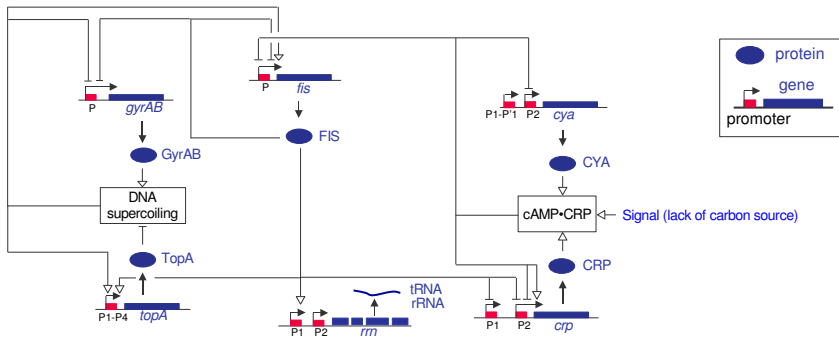
# Schema transkripční regulace



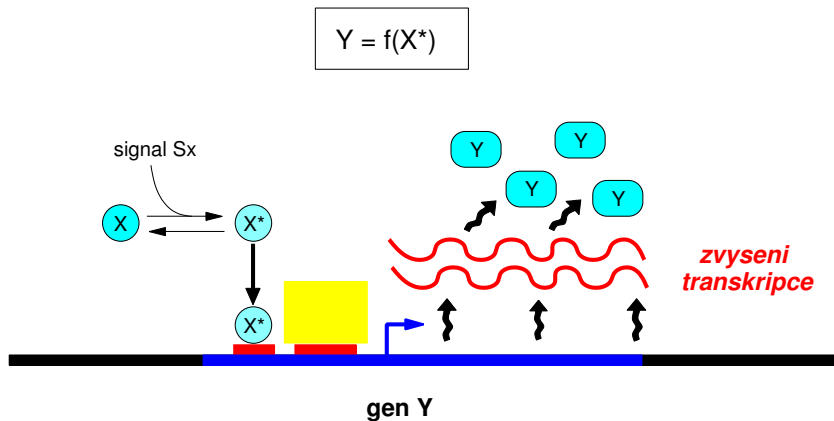
# Schema transkripční regulace



# Výřez transkripční sítě *E.coli* (Hidde de Jong)



# Vstupní funkce



## Vstupní funkce (aktivátor)

- monotonní, křivka tvaru “S”
- aktivátor – rostoucí ( $0 \rightarrow$  nejvyšší úroveň)
- represor – klesající (nejvyšší úroveň  $\rightarrow 0$ )
- často tzv. Hillova funkce, pro aktivátor:

$$f^+(X^*) = \frac{\beta X^{*n}}{K^n + X^{*n}}$$

$K$  ... aktivační koeficient (vazba TF–DNA)

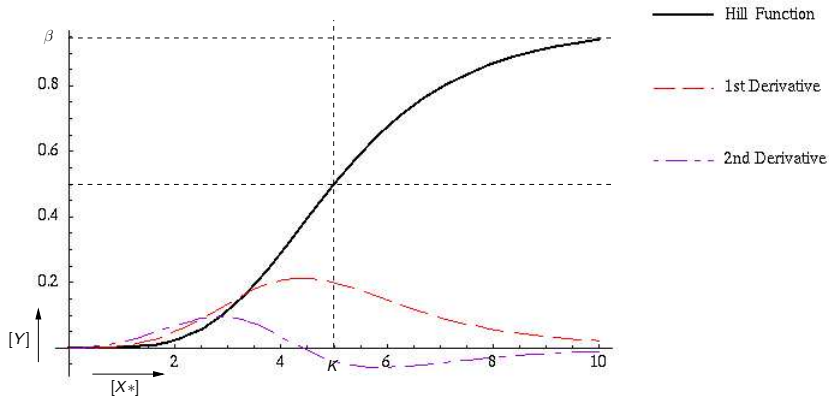
$\beta$  ... maximální úroveň exprese (vazba RNAP–DNA)

$n$  ... ostrost křivky (mezi 1-4)

- $f^+(X^*) = \beta \Leftrightarrow X^* \gg K$



# Vstupní funkce (aktivátor)



## Vstupní funkce (repressor)

- Hillova funkce pro repressor:

$$f^-(X^*) = \frac{\beta}{1 + \left(\frac{X^*}{K}\right)^n}$$

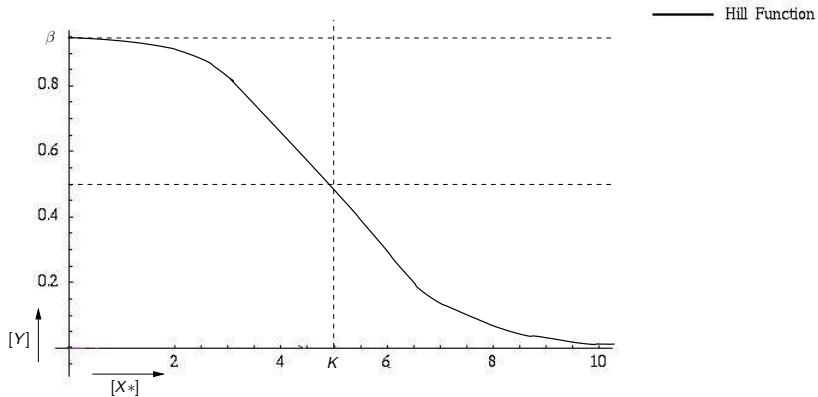
$K$  ... represní koeficient (vazba TF–DNA)

$\beta$  ... maximální úroveň exprese (vazba RNAP–DNA)

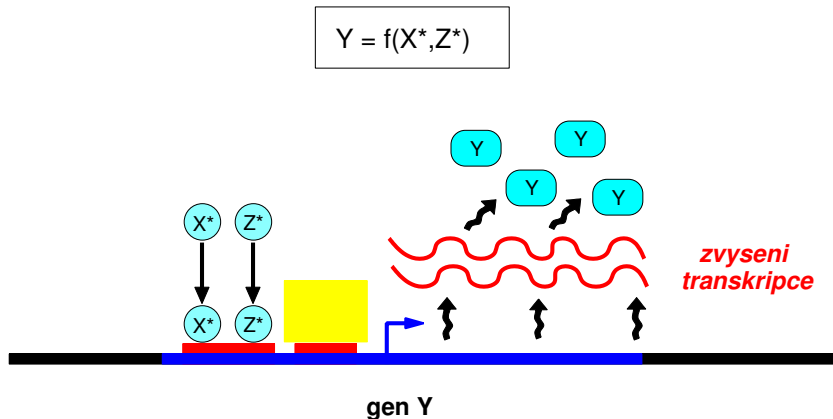
$n$  ... ostrost křivky (mezi 1-4)

- $f^-(X^*) = \beta \Leftrightarrow X^* = 0$
- někdy může být úroveň vstupních funkcí nenulová ( $\beta_0$ )

# Vstupní funkce (represor)



# Vícerozměrné vstupní funkce



- např. součet:  $f(X^*, Z^*) = \beta_X X^* + \beta_Z Z^*$

## Časové dimenze v *E.coli*

<b>Experimentálně zjištěný parametr</b>	<b>E.Coli</b>
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

## *Model dynamiky transkripční regulace*

- modelujeme produkci proteinu  $Y$  v čase
  - koncentrace  $[Y]$  v ( $mol/s$ )
  - v čase  $t$ :  $[Y](t)$
- signální řízení, posttranskripční a ostatní procesy uvažujeme konstantní
- pro zjednodušení uvažujeme i vstupní funkci konstantní

$$\frac{d[Y]}{dt} = \beta - \gamma[Y]$$

$\beta$  ... produkční koeficient ( $mol/s$ )

$$\gamma = \gamma_{dil} + \gamma_{deg}$$

$\gamma_{deg}$  ... destrukce (degradace) proteinu v buňce

$\gamma_{dil}$  ... redukce koncentrace proteinu růstem buňky

## *Model dynamiky transkripční regulace*

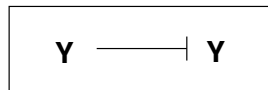
$$\frac{d[Y]}{dt} = \beta - \gamma[Y]$$

- stabilní stav transkripce (ekvilibrium):

$$\frac{d[Y]}{dt} = 0 \Leftrightarrow [Y] = \frac{\beta}{\gamma}$$

- “vypnutí” transkripce:  $\beta = 0 \Rightarrow$  exponenciální rozpad proteinu
  - určuje dobu odezvy transkripční regulace
- čím větší je  $\gamma$ , tím kratší je doba odezvy transkripční regulace
- u stabilních proteinů je  $\gamma_{deg} = 0$ 
  - doba odezvy je rovna trvání jedné generace buňky
  - malý vliv na dynamické děje, ale vliv na evoluci

# Transkripční motiv I – Negativní autoregulace



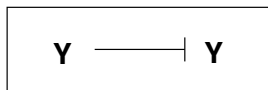
$$\frac{d[\mathbf{Y}]}{dt} = f^{-}(\mathbf{Y}) - \gamma[\mathbf{Y}]$$

- stabilní koncentrace  $Y_{st}$  (při ekvilibriu):

$$\frac{d[\mathbf{Y}]}{dt} = 0 \Rightarrow Y_{st} = \frac{f^{-}(\mathbf{Y})}{\gamma}$$



# Transkripční motiv I – Negativní autoregulace



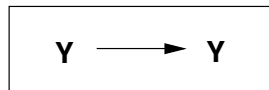
$$\frac{d[Y]}{dt} = \frac{\beta}{1 + \frac{[Y]}{K}} - \gamma[Y]$$

- stabilní koncentrace  $Y_{st}$  (při ekvilibriu):

$$\frac{d[Y]}{dt} = 0 \Rightarrow Y_{st} = \frac{\beta}{\gamma(1 + \frac{[Y]}{K})}$$

- čím větší  $[Y]$ , tím **kratší** doba odezvy (výraznější projev rozpadu)

## *Transkripční motiv II – Positivní autoregulace*

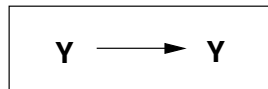


$$\frac{d[\mathbf{Y}]}{dt} = f^+(\mathbf{Y}) - \gamma[\mathbf{Y}]$$

- stabilní koncentrace  $Y_{st}$  (při ekvilibriu):

$$\frac{d[\mathbf{Y}]}{dt} = 0 \Rightarrow Y_{st} = \frac{f^+(\mathbf{Y})}{\gamma}$$

## Transkripční motiv II – Positivní autoregulace



$$\frac{d[Y]}{dt} = \frac{\beta[Y]}{K + [Y]} - \gamma[Y]$$

- stabilní koncentrace  $Y_{st}$  (při ekvilibriu):

$$\frac{d[Y]}{dt} = 0 \Rightarrow Y_{st} = \frac{\beta[Y]}{\gamma(K + [Y])}$$

- čím větší  $[Y]$ , tím **delší** doba odezvy (mírnější projev rozpadu)

# Model dynamiky transkripční regulace – obecně

$$\frac{d[X_i]}{dt} = \sum_{l \in L_\beta} \beta_{il} \varrho_{il}(\vec{X}) - \gamma_i [X_i]$$

$L_\beta$  ... konečná množina indexů

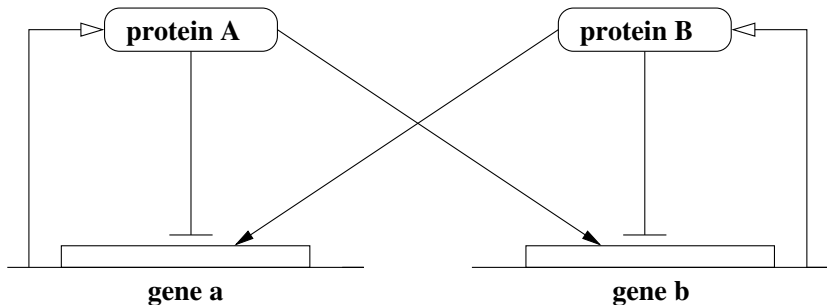
$\vec{X} \equiv \langle X_1, \dots, X_n \rangle$  ... vektor koncentrací proteinů v transkripci

$\varrho_{il}(\vec{X})$  ... vstupní funkce (s vytknutými max. úrovněmi exprese)

$\beta_{il}$  ... produkční koeficienty (max. úrovně exprese)

$\gamma$  ... degrační koeficient

# Model dynamiky transkripční regulace – příklad



$$\frac{d[A]}{dt} = \beta_{a_1} f_a^-(A) + \beta_{a_2} f_a^+(B) - \gamma_a [A]$$

$$\frac{d[B]}{dt} = \beta_{b_1} f_b^-(B) + \beta_{b_2} f_b^+(A) - \gamma_b [B]$$

# Obsah

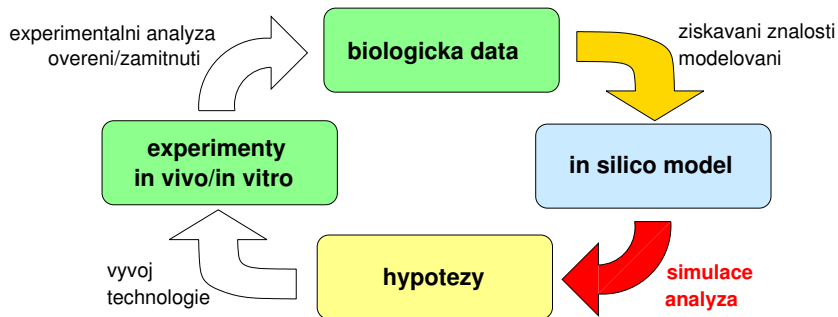
*Základní pojmy*

*Spojité deterministický model chemických reakcí*

*Spojité deterministický model transkripční regulace*

*Diskrétní aproximace*

# Motivace



# Motivace

- numerické metody – simulace výpočtu nelineárních rovnic pro dané iniciální podmínky
  - při větším počtu proměnných obtížná analýza
  - všechny koeficienty přesně zadány (kvantitativní znalost)
  - obtížné automatizovat
- kvalitativní aproximace pomocí konečného stavového prostoru
  - diskretizace vstupních funkcí
  - průběh vstupních funkcí omezený v čase
  - koncentrace látek omezené
  - možnost automatizované analýzy
  - koeficienty mohou být reprezentovány kvalitativně
  - možnost předpovědi kvantitativní znalosti



## *Aproximace Hillových funkcí*

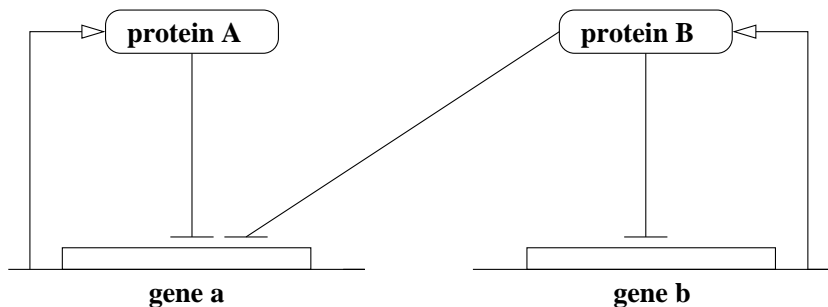
- aproximace pro  $n \rightarrow \infty$
- aktivační/represní koef.  $K$  nahrazen prahovou koncentrací  $\theta$
- tzv. step-funkce, nespojitá v bodě  $\theta$ , binární obor hodnot
- aktivační funkce:

$$s^+(X, \theta) = \begin{cases} 1, & \text{if } [X] > \theta, \\ 0, & \text{if } [X] < \theta, \end{cases}$$

- represní funkce:

$$s^-(X, \theta) = 1 - s^+(X, \theta)$$

# Parciálně lineární model transkripční regulace



$$\frac{d[A]}{dt} = \beta_a s^-(A, \theta_a^1) s^-(B, \theta_b^1) - \gamma_a [A]$$

$$\frac{d[B]}{dt} = \beta_b s^-(B, \theta_b^2) - \gamma_b [B]$$

## Koncentrační prahy

- prahy na proměnné  $[A]$ 
  - vstup pro represní funkci proteinu  $A$ , práh  $\theta_a^1$
  - kvalitativní charakteristika:

$$0 < \theta_a^1 < \max_a$$

- prahy na proměnné  $[B]$ 
  - vstup pro represní funkci proteinu  $A$ , práh  $\theta_b^1$
  - vstup pro represní funkci proteinu  $B$ , práh  $\theta_b^2$
  - kvalitativní charakteristika:

$$0 < \theta_b^1 < \theta_b^2 < \max_b$$

## *Kvalitativní znalost ekvilibrií*

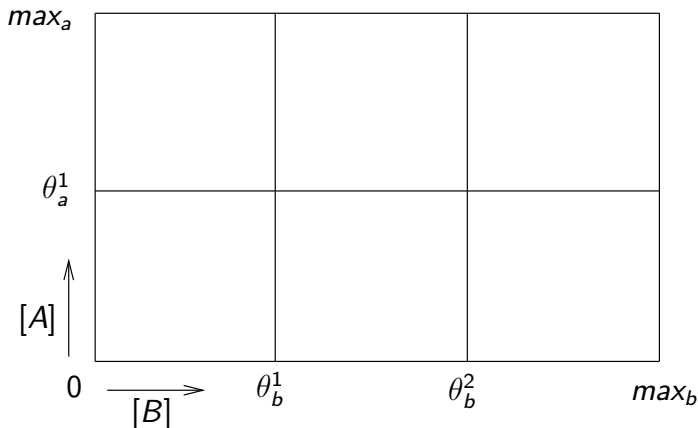
$s^-(A, \theta_a^1)$	$s^-(B, \theta_b^1)$	$s^-(B, \theta_b^2)$	[A]	[B]
0	*	1	0	$\frac{\beta_b}{\gamma_b}$
0	*	0	0	0
1	1	1	$\frac{\beta_a}{\gamma_a}$	$\frac{\beta_b}{\gamma_b}$
1	1	0	$\frac{\beta_a}{\gamma_a}$	0

- pro každou kombinaci je soustava lineární
  - domény lineární regulace (regulatorní domény):

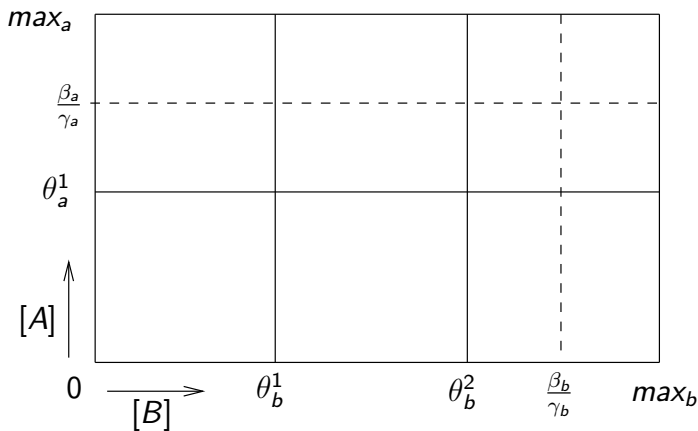
$$\{(0, \theta_a^1), (\theta_a^1, \max_a)\} \times \{(0, \theta_b^1), (\theta_b^1, \theta_b^2), (\theta_b^2, \max_b)\}$$

- řešení v doméně  $D$  směřují ke stejnému ekvilibriu  $\Phi(D)$
- celkem 6 regulatorních domén

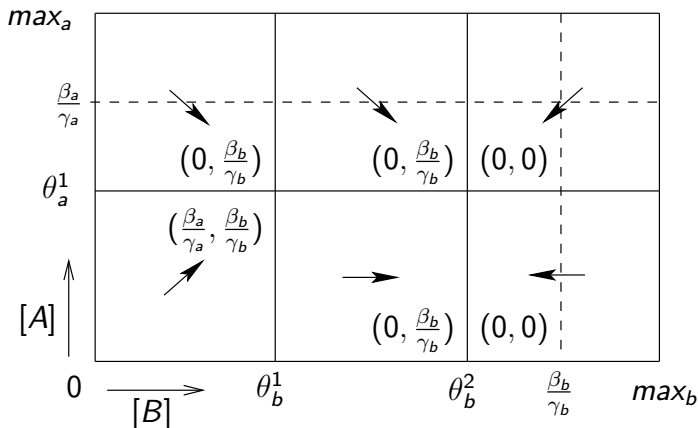
# Rozdělení prostoru řešení



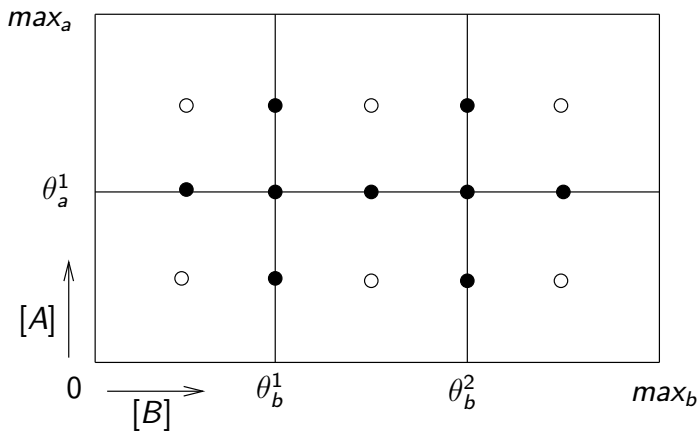
# Určení pozice ekvilibríí



# Vývoj v regulatorních doménách

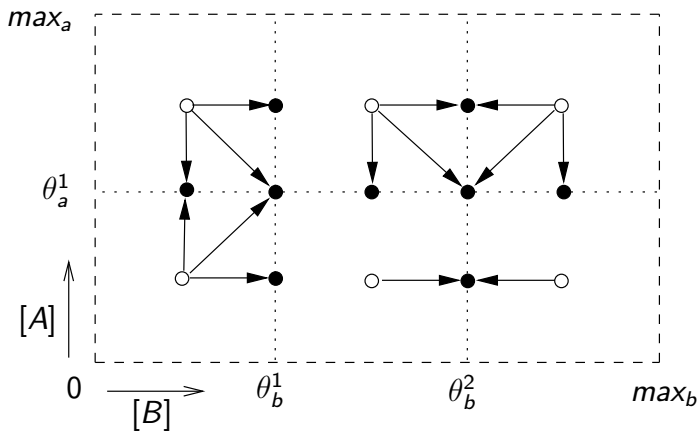


# Stavový prostor





# Chování v regulatorních doménách



## Přechodové domény

- nadroviny dimenze striktně nižší než počet proměnných
- alespoň jedna z proměnných rovna prahové koncentraci:

$$\{\theta_a^1\} \times \{(0, \theta_b^1), \theta_b^1, (\theta_b^1, \theta_b^2), \theta_b^2, (\theta_b^2, \max_b)\}$$
$$\cup \{(0, \theta_a^1), (\theta_a^1, \max_a)\} \times \{\theta_b^1, \theta_b^2\}$$

- celkem 9 přechodových domén
- právě všechny úseky nespojitosti (nedefinovanosti) step-funkcí
- řád přechodové domény – počet přechodových proměnných

## Chování v přechodových doménách

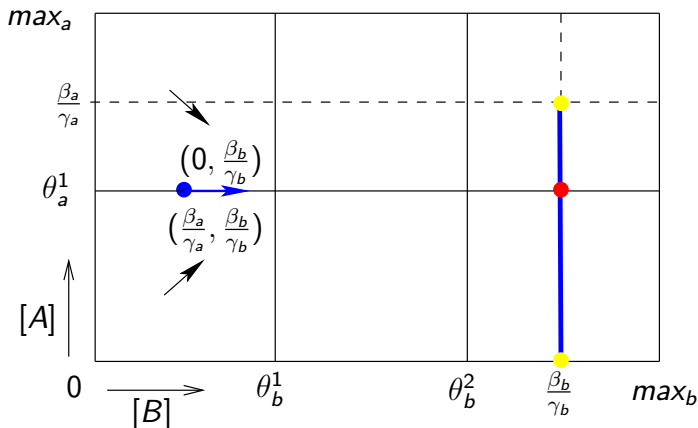
- definováno vývojem v přilehlých regulatorních doménách
- aproximace systému rovnic systémem inkluzí [Filippov]
- pro přechodovou doménu  $D$  řádu  $k$  vývoj definován množinou cílových ekvilibríí:

$$\Phi(D) = C \cap \text{co}(\{\Phi(D') \mid D' \text{ přilehlá reg. dom.}\})$$

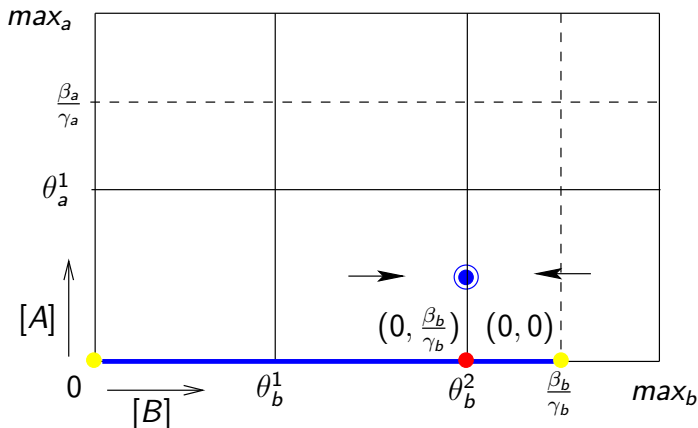
$\text{co}(E)$  ... nejmenší konvexní útvar obsahující všechny body množiny  $E$   
 $C$  ... nadrovina dimenze  $(n - k)$  obsahující  $D$

- prázdný průnik — okamžitý odskok  
spojitost řešení zachována návazností domén  
 $D$  tzv. transparentní zeď
- neprázdný průnik — mód skluzu  
 $D$  tzv. černá zeď

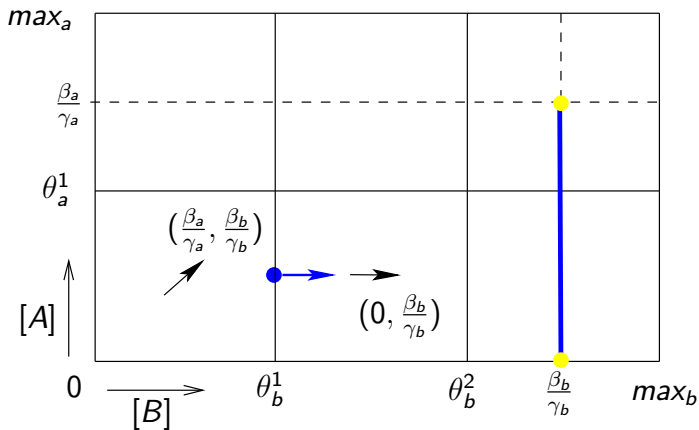
# Chování v přechodových doménách – skluz



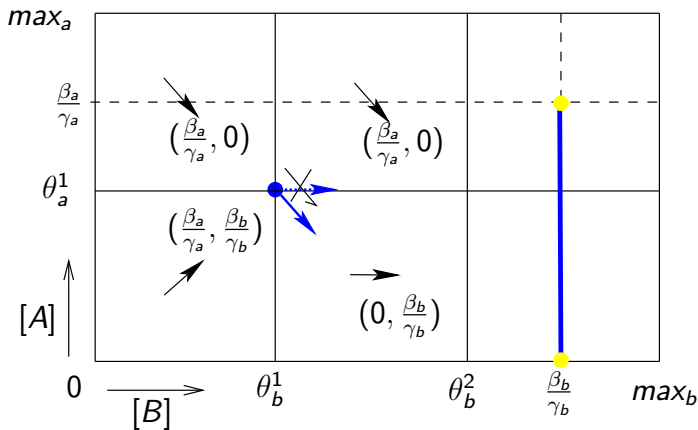
# Chování v přechodových doménách – ekvilibrium



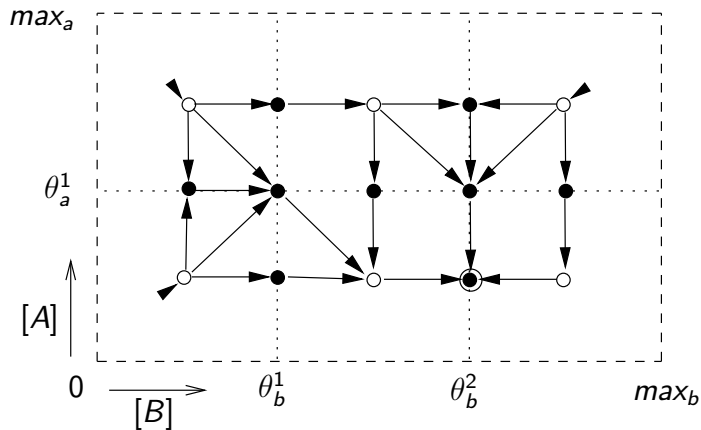
# Chování v přechodových doménách – odskok



# Chování mezi přechodovými doménami







# Chování v přechodových doménách – komplet





## Reference

-  Alon, U. *An Introduction to Systems Biology: Design Principles of Biological Circuits*. Chapman & Hall, 2006.
-  de Jong, H. et.al. *Qualitative Simulation of Genetic Regulatory Networks Using Piecewise-Linear Models*. RR-4407, INRIA-Helix Technical Report Series, 2002.
-  Gilbert, D. *Introduction to systems biology course*. Bioinformatics Research Centre, 2007.
-  Bower, J.M. & Bolouri, H. *Computational Modeling of Genetic and Biochemical Networks*. Bradford Book, 2001.