

Úvod do systémové biologie

David Šafránek

Seminář ParaDiSe

24.9.2007

Obsah

Přehled

EC-MOAN

Základní pojmy

Biologické sítě

Modelování dynamiky

Obsah

Přehled

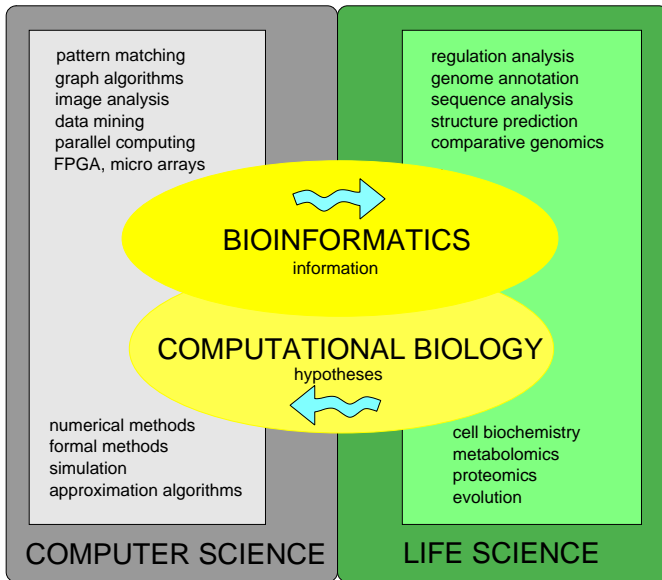
EC-MOAN

Základní pojmy

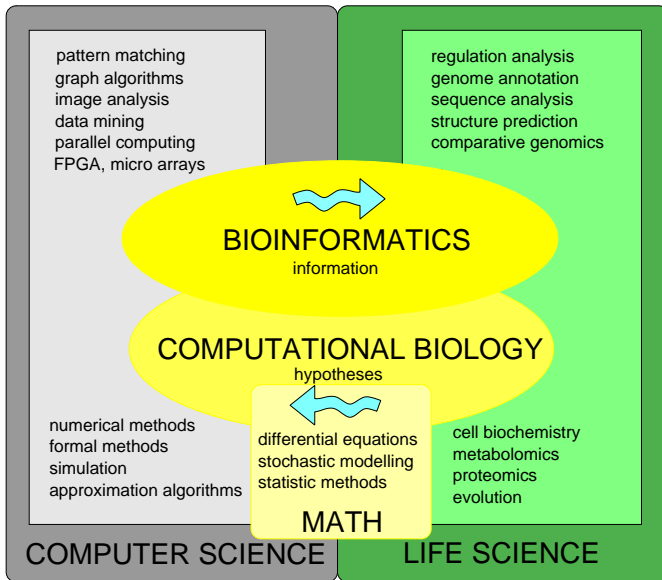
Biologické sítě

Modelování dynamiky

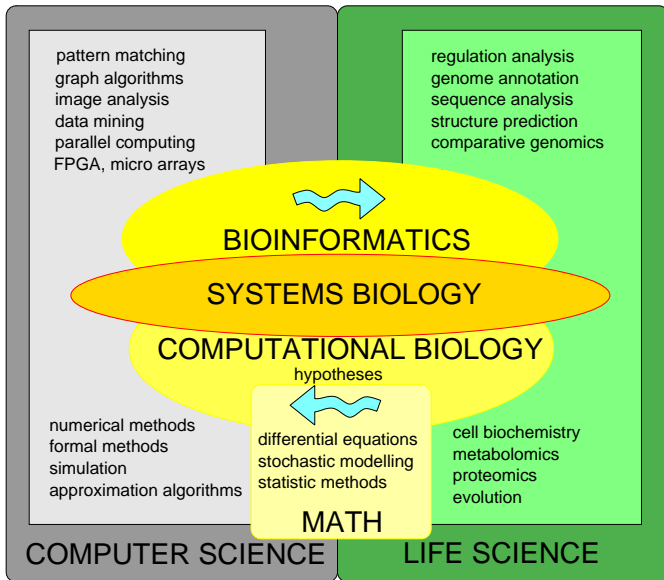
Informatika versus živé vědy



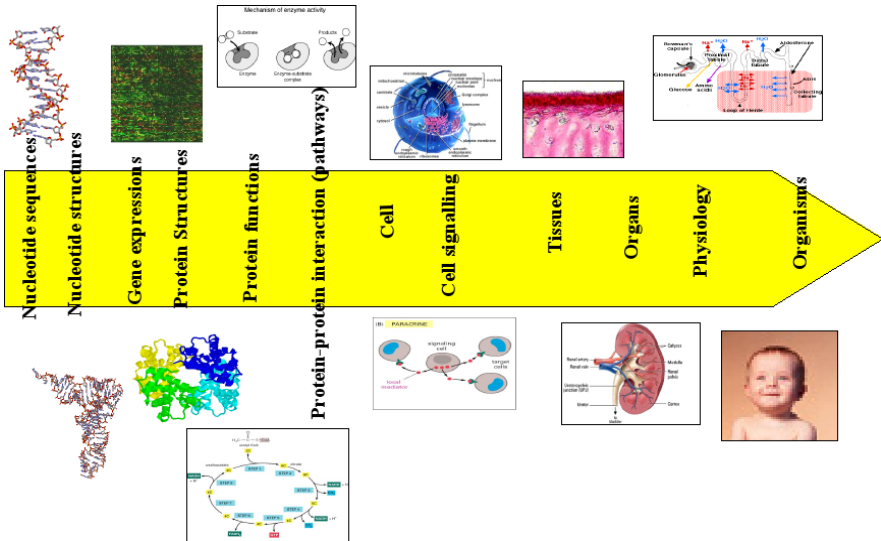
Informatika versus živé vědy



Organismus jako systém — Systémová biologie



Organismus = komplexní systém



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

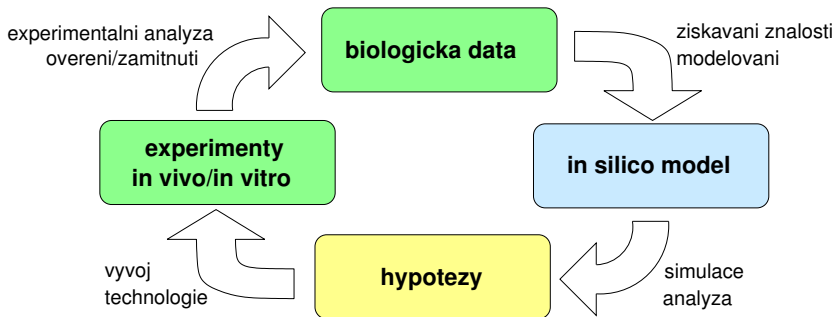
- intra vs. intercelulární pohled
- záleží na míře kvantitativních znalostí
- různé metody – experimentální a výpočetní (simulace)
- chování v extrémních podmínkách (hladovění, tlak, ...)

3. řízení systému

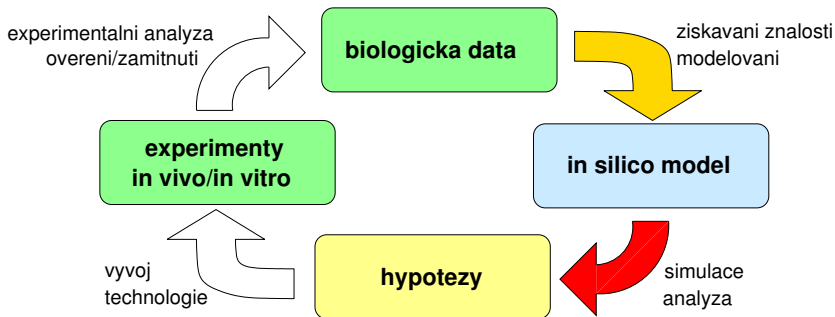
- vývoj léčiv, genetické modifikace

4. konstrukce biologického systému

Průběh výzkumu v systémové biologii



Průběh výzkumu v systémové biologii



Obsah

Přehled

EC-MOAN

Základní pojmy

Biologické sítě

Modelování dynamiky

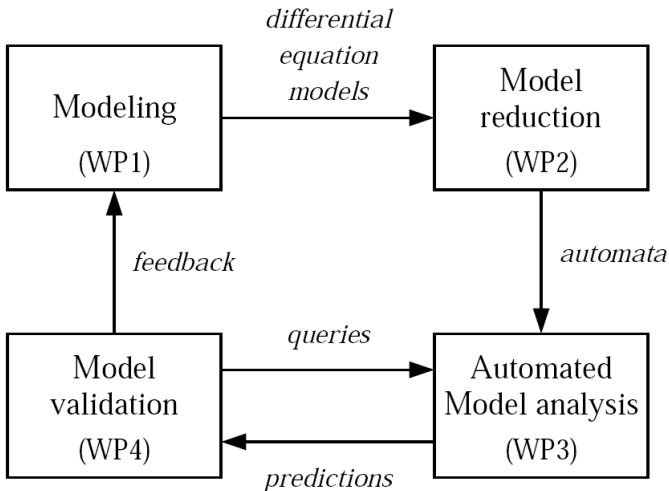
Projekt EC-MOAN

- Escherichia Coli (EC) — Modelling and Analysis (MOAN)
- *Teoretický cíl:* Vývoj škálovatelných metod pro analýzu biochemických mechanismů probíhajících uvnitř živých organismů
- *Experimentální cíl:* Analýza biochemických mechanismů bakterie EC ovlivňujících její chování a vývoj v extrémních podmínkách
- FP6-2005-NEST-PATH-COM projekt s partnery:
 - CWI/Sen, CWI/Mas (van de Paul, van Schuppen)
 - INRIA/Vasy, INRIA/Helix (de Jong, Kahn, Mateescu)
 - Vrije Universiteit Amsterdam (Westerhoff, Hellingwerf)
 - Université Joseph Fourier, Grenoble (Geiselman, Lacour)
 - Masaryk University (Brim, Černá, ParaDiSe Lab)
 - University of Edinburgh (Goryanin)

(Biologická) Objektiva projektu

- pochopení mechanismů probíhajících v živých organismech
- vypořádat se s enormní složitostí těchto mechanismů
- navrhnout škálovatelné metody
- vyrobit in silico model E.C.
- provést simulace (predikce) vzhledem k extrémním podmínkám zdrojů dusíku a uhlíku
- experimentálně ověřit vazbu modelu na skutečnost
- <http://www.ec-moan.org>

Schéma EC-MOAN



Obsah

Přehled

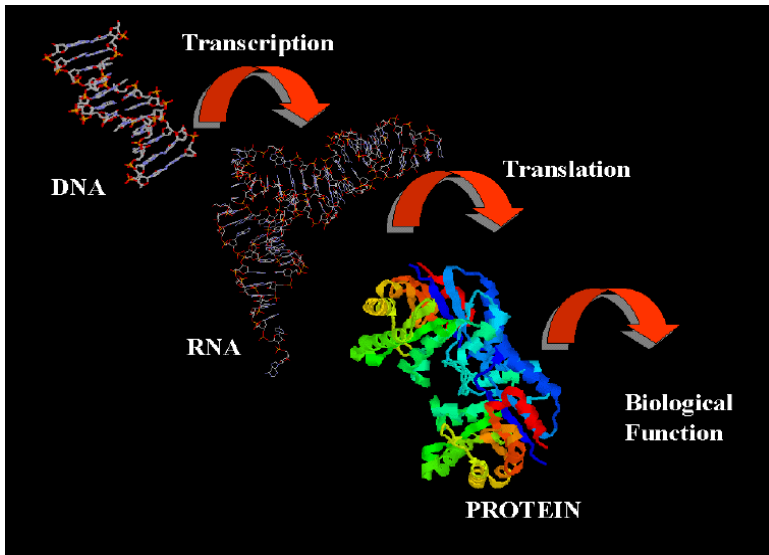
EC-MOAN

Základní pojmy

Biologické sítě

Modelování dynamiky

Centrální dogma



Základní molekuly organismu („atomy syntaxe“)

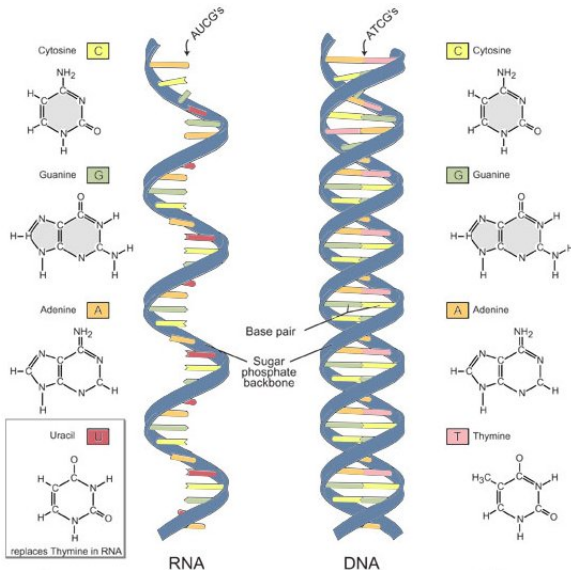
- **DNA**

- kyselina deoxyribonukleová
- složena ze dvou řetězců nukleotidů $\{A, G, C, T\}$
- primární struktura — sekvence nukleotidů
- sekundární struktura — šroubovice (double helix)
- stabilní molekula
- obsahuje genetický kód (genom)

- **RNA**

- kyselina ribonukleová
- zpravidla jeden řetězec nukleotidů $\{A, G, C, U\}$
- nestabilní molekula
- přenáší genetickou informaci
- několik typů — mRNA (informační), tRNA (transferová), rRNA

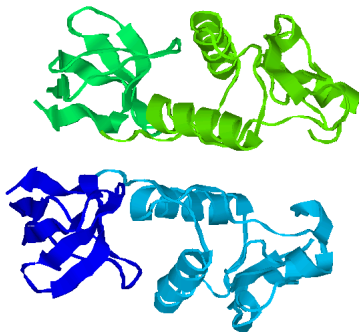
Základní molekuly organismu („atomy syntaxe“)



Základní molekuly organismu („atomy syntaxe“)

- **protein**

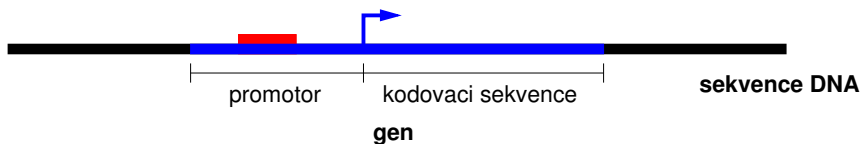
- molekula složená z aminokyselin
- mají složité prostorové (terciální) struktury
- nestabilní
- výskyt v cytoplasmě i extracelulárně
- tvoří komplexy s ostatními proteiny
- umožňují a ovlivňují biochemické procesy



Funkční význam („sémantika“)

[DNA]

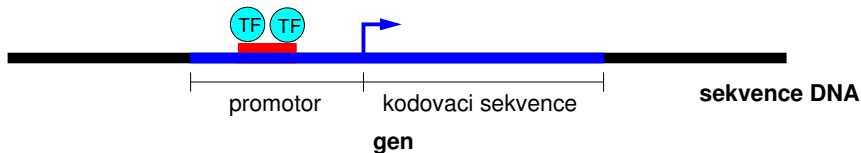
- genom = geny + nekódující sekvence DNA
- **gen** – kód (předpis) pro tvorbu proteinu
 - obsažen vždy kompletní v právě jednom vlákně DNA
 - prokaryota – gen je ucelená sekvence
 - eukaryota – gen roz distribuován po vlákně DNA
 - gen = řídicí sekvence (promotor) + kódovací sekvence



Funkční význam („sémantika“)

[DNA]

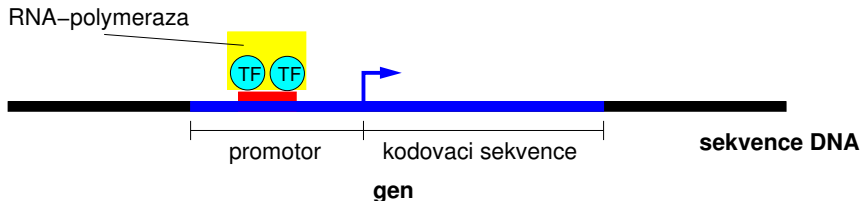
- genom = geny + nekódující sekvence DNA
- **gen** – kód (předpis) pro tvorbu proteinu
 - obsažen vždy kompletní v právě jednom vlákně DNA
 - prokaryota – gen je ucelená sekvence
 - eukaryota – gen roz distribuován po vlákně DNA
 - gen = řídicí sekvence (promotor) + kódovací sekvence



Funkční význam („sémantika“)

[DNA]

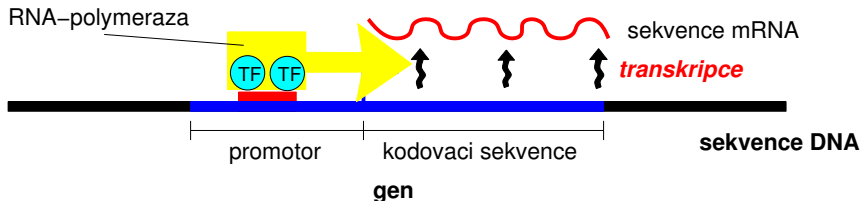
- genom = geny + nekódující sekvence DNA
- **gen** – kód (předpis) pro tvorbu proteinu
 - obsažen vždy kompletní v právě jednom vlákně DNA
 - prokaryota – gen je ucelená sekvence
 - eukaryota – gen roz distribuován po vlákně DNA
 - gen = řídicí sekvence (promotor) + kódovací sekvence



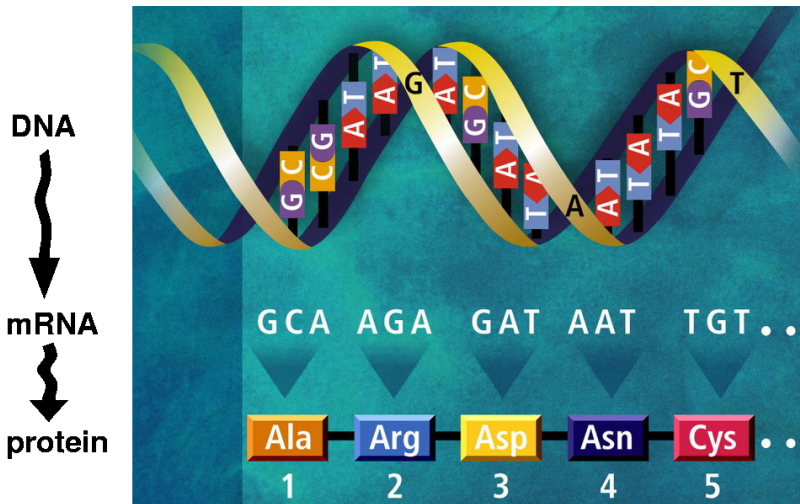
Funkční význam („sémantika“)

[DNA]

- genom = geny + nekódující sekvence DNA
- **gen** – kód (předpis) pro tvorbu proteinu
 - obsažen vždy kompletní v právě jednom vlákně DNA
 - prokaryota – gen je ucelená sekvence
 - eukaryota – gen roz distribuován po vlákně DNA
 - gen = řídicí sekvence (promotor) + kódovací sekvence



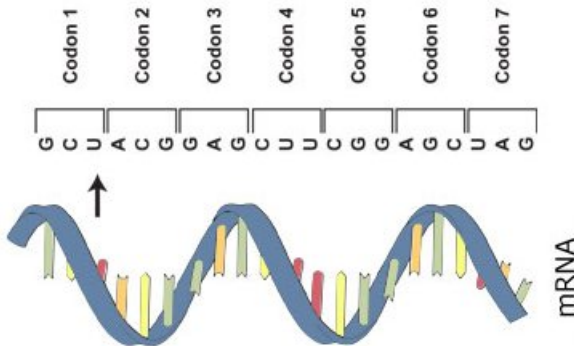
Transkripce a translace genetického kódu



Funkční význam („sémantika“)

[mRNA]

- messenger (informační) RNA
- transkripční médium
- kopíruje a přenáší kódující sekvenci DNA
- uspořádání do tripletů nukleotidů – **kodony**



Funkční význam („sémantika“)

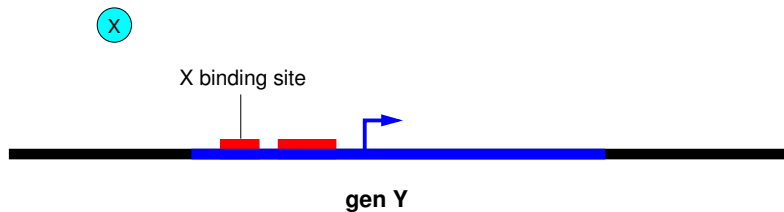
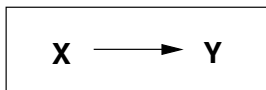
[tRNA]

- transfer (transferová) RNA
- translační médium
- molekula tRNA obsahuje právě jeden **antikodon**
- antikodon kóduje jednu z 20 aminokyselin
- mapováním antikodonů na kodony mRNA je vyrobena primární struktura proteinu

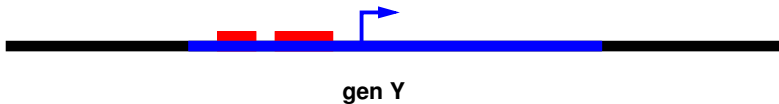
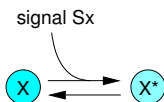
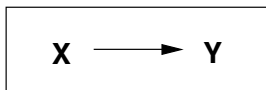
[protein]

- funkce enzymu
- receptor externího signálu
- regulátor transkripce – transkripční faktor (TF)
 - aktivátor
 - represor
- katalyzátor metabolismu

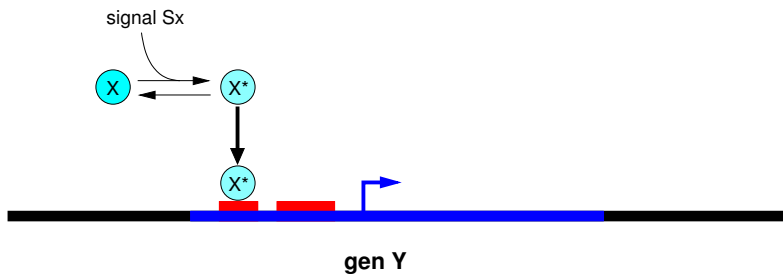
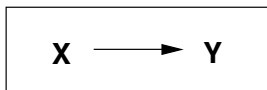
Příklad aktivátoru



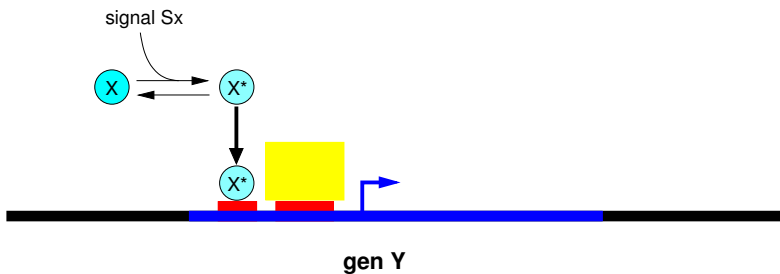
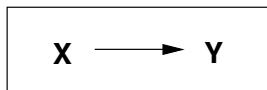
Příklad aktivátoru



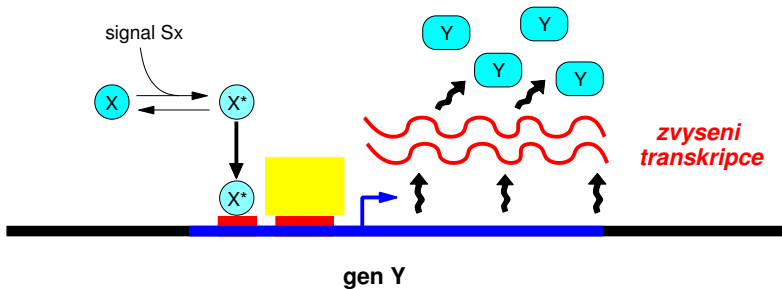
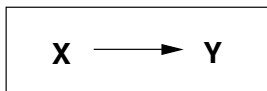
Příklad aktivátoru



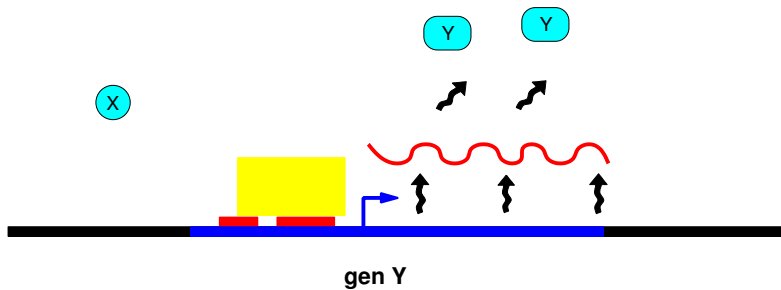
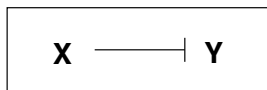
Příklad aktivátoru



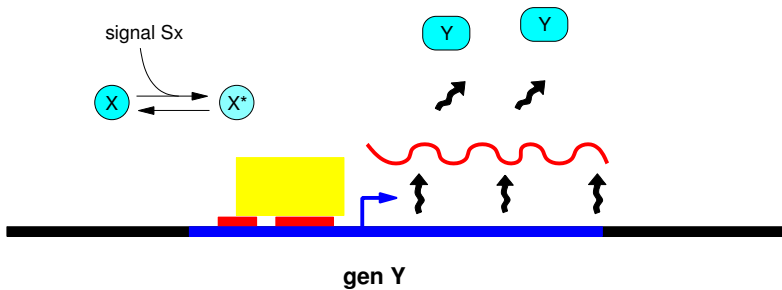
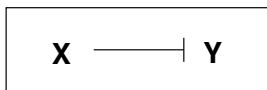
Příklad aktivátoru



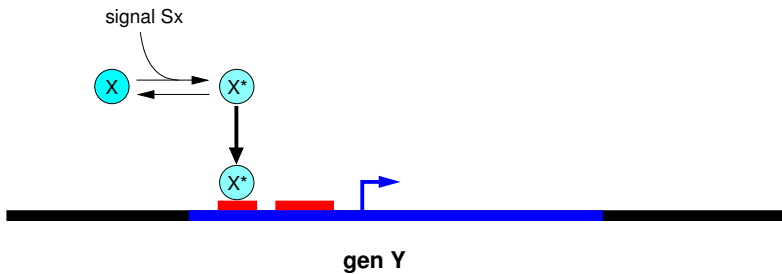
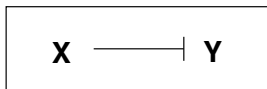
Příklad represoru



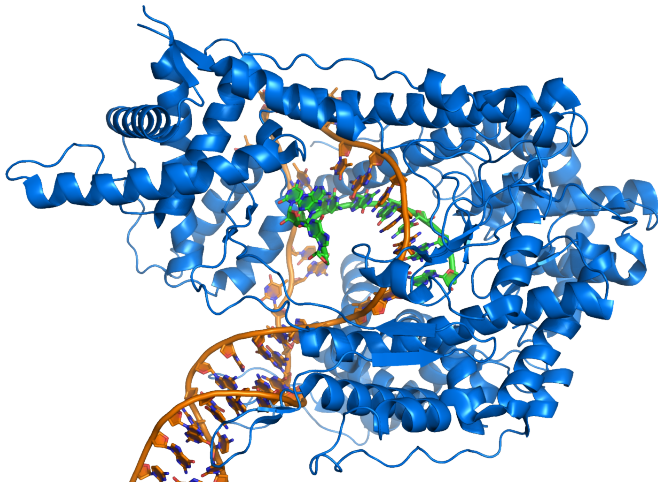
Příklad represoru



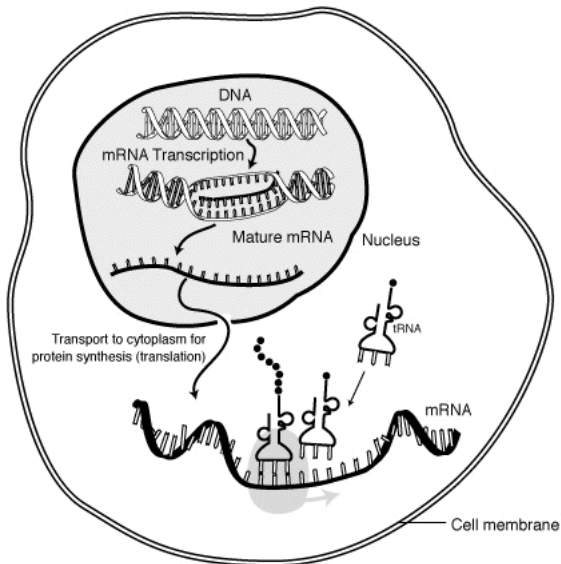
Příklad represoru



RNA-polymeráza + TFs + DNA → mRNA



Transkripce v eukaryotické buňce



Centrální dogma — shrnutí

- motor biochemie řídící živý organismus
- exprese genu \equiv koncentrace kódovaného proteinu
- transkripce + translace probíhá dlouho (v řádu minut)
- posttranslační modifikace — tvorba vyšší prostorové struktury
- u eukaryotických buněk posttranskripční úpravy
 - sestřihování (slicing)

Obsah

Přehled

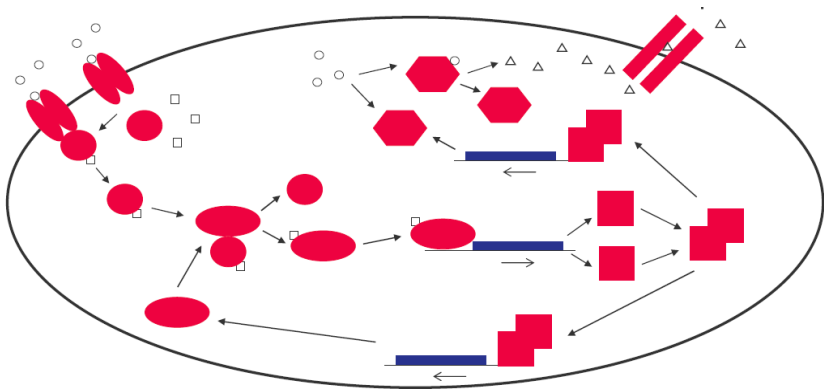
EC-MOAN

Základní pojmy

Biologické sítě

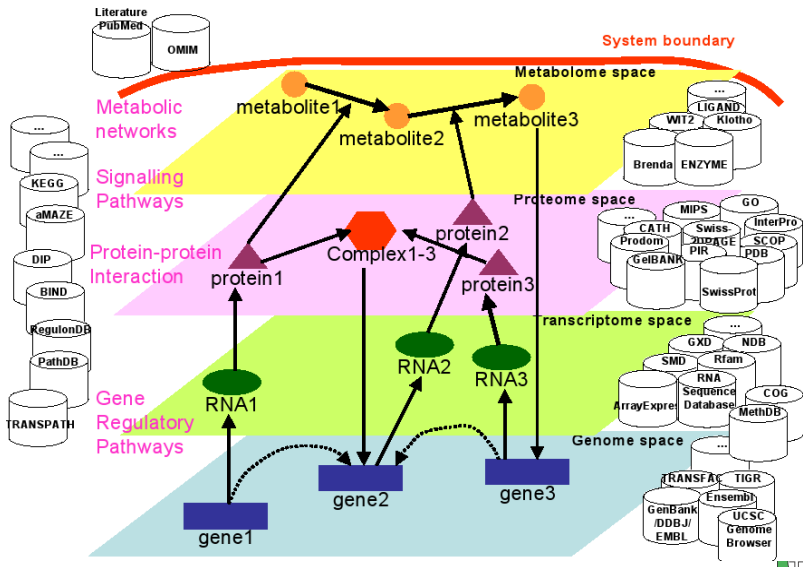
Modelování dynamiky

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

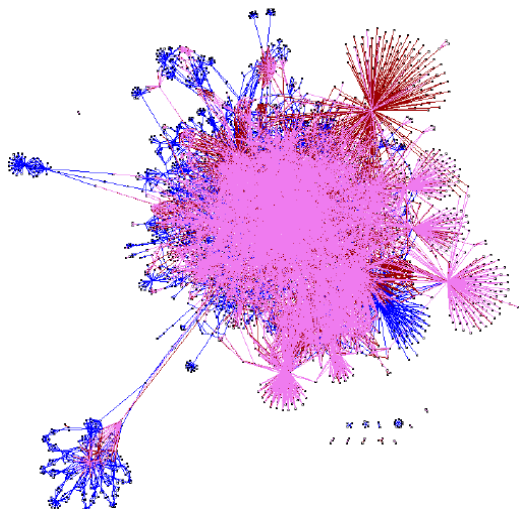
transkripční regulace

- řízení proteosyntézy

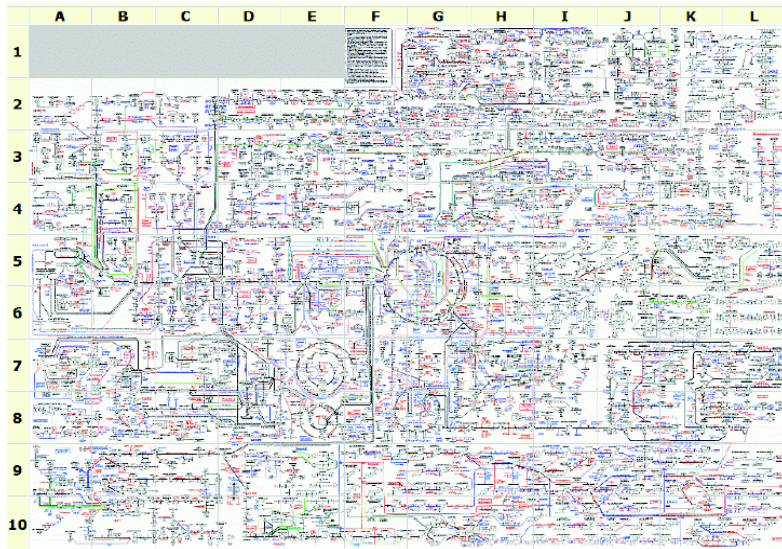
Biologické sítě a dráhy

- 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

Interakce proteinů

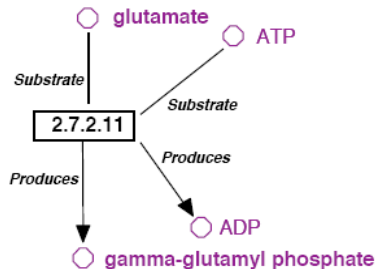


Metabolická dráha

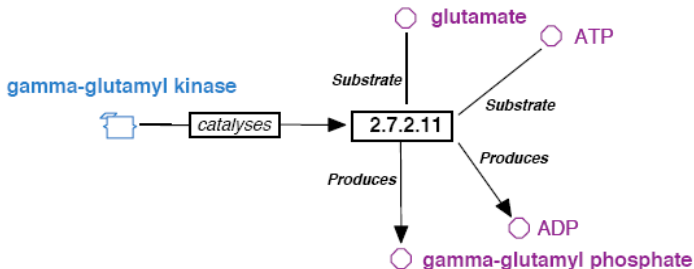


Konstrukce sítě — reakce

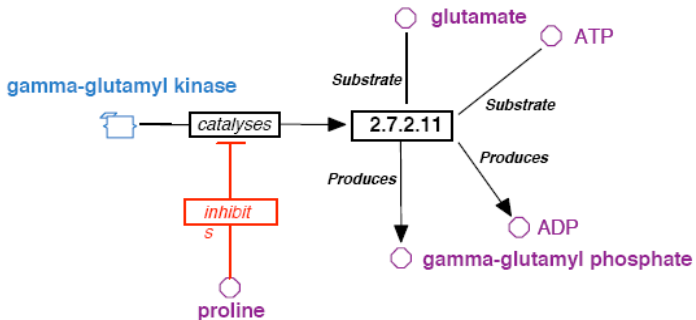
glutamate + ATP \rightarrow gammaglutamylphosphate + ADP



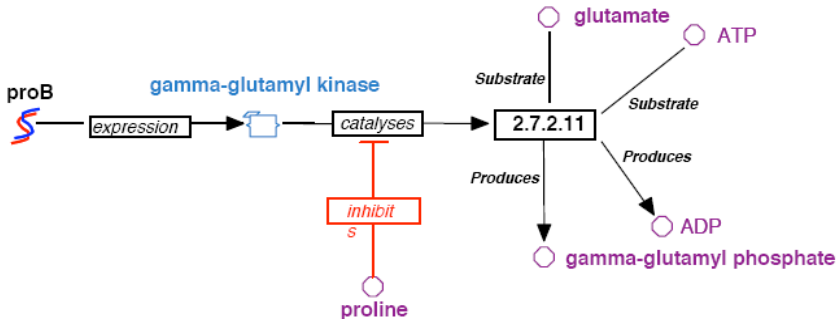
Konstrukce sítě — enzymová katalýza



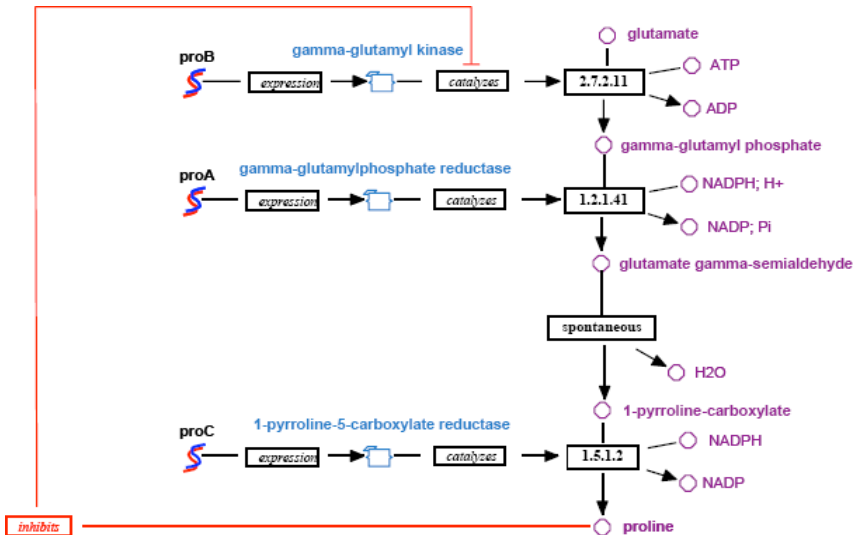
Konstrukce sítě — inhibice/aktivace



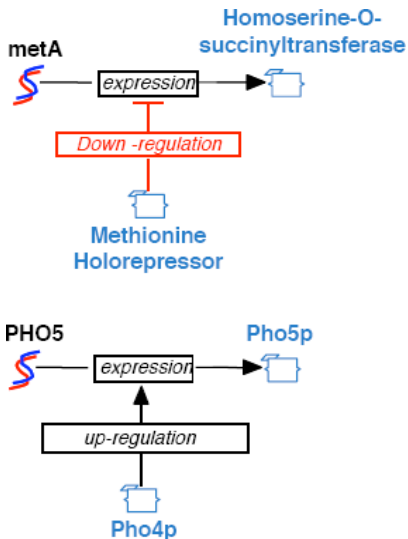
Konstrukce sítě — transkripce



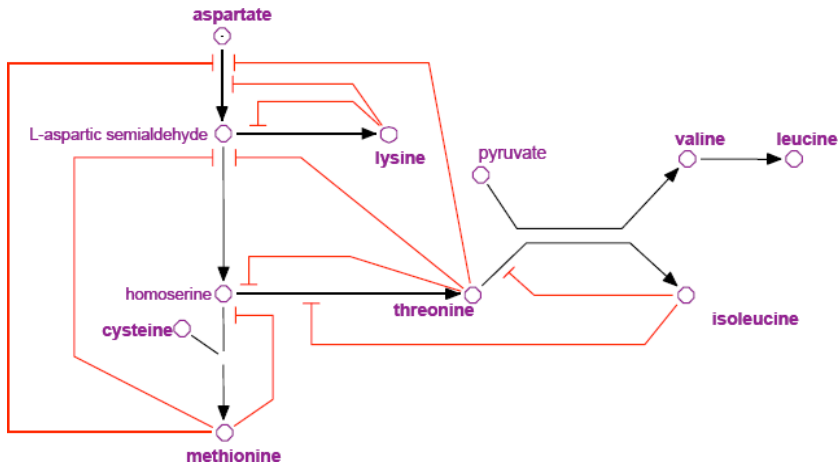
Konstrukce sítě — negativní vazba



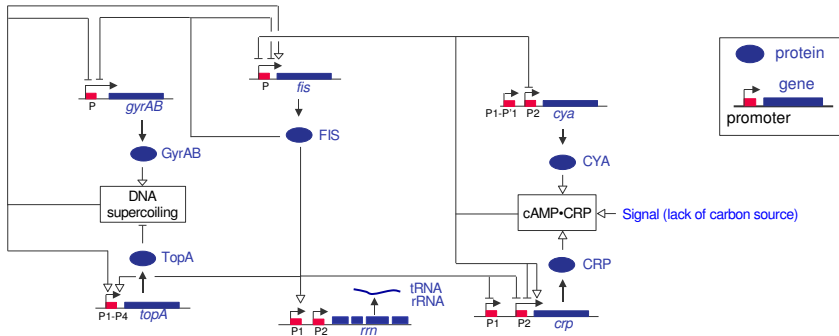
Konstrukce sítě — transkripční regulace



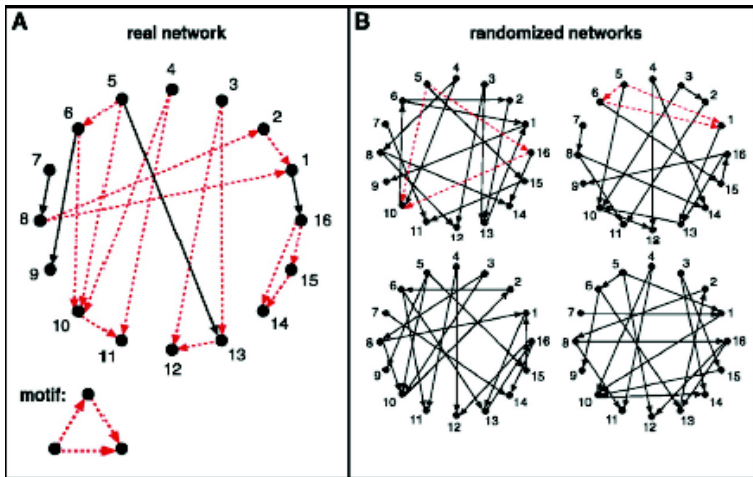
Abstrakce metabolické dráhy – schematický diagram



Transkripční síť — genetická regulace v *E.coli*



Identifikace motivů



Biologické sítě — shrnutí

- klíčem ke studiu chování organismu, evoluce
- představují základní informaci pro tvorbu modelu
- v průběhu evoluce může docházet k přidávání/ubírání hran
- hvězdicovitý charakter propojení – scale-free networks
 - několik uzlů funguje jako hub
 - většina uzlů má nízký stupeň konektivity
 - hierarchická topologie
 - robustní vůči náhodným poruchám
- zkoumání opakujících se **síťových motivů**
 - pozitivní/negativní zpětná vazba
 - cykly
- hledání alternativních drah (výměna substrátů, produktů)

Databáze a vyhledávací nástroje

- biologická data sbírána do rozsáhlých databází
 - uspořádání dle označení reakcí dle enzymů, substrátů, produktů
 - sekvence genů
 - Gene Ontology – <http://geneontology.org/>
 - BRENDA – <http://www.brenda.uni-koeln.de/> - enzymy
 - BioCyc – <http://biocyc.org> - dráhy
- vyhledávací nástroje
 - výpočet dráhy pro danou množinu enzymů
 - hledání dráhy dle podobnosti genové sekvence
 - KEGG – <http://www.genome.ad.jp/kegg>

Obsah

Přehled

EC-MOAN

Základní pojmy

Biologické sítě

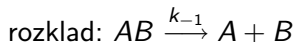
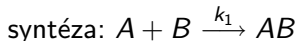
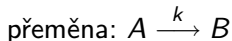
Modelování dynamiky

Tvorba in silico modelu

- pilířem jsou biochemické reakce
- model reprezentován staticky biologickou sítí
- nezávislý na výpočetních a analyzačních nástrojích (modelování dynamiky)
- obecný popisovací jazyk — Systems Biology Markup Language (SBML) – <http://www.sbml.org>
- analýza spočívá v simulaci dynamiky reakcí
 - vývoj substrátů v čase
- různé přístupy k modelování dynamiky, aproximace
 - spojité/diskrétní
 - deterministické/stochastické

Modely dynamiky – základní vlastnosti

- chemické reakce — syntéza a rozklad látek v čase
- **stav** — situace pozorovaná v určitém okamžiku
- kinetika — změna stavu za limitní jednotku času
 - rychlost reakce určuje konstanta (reaction rate, *mol/s*)
- ekvilibrium — rovnovážný stav
 - vyčerpání energie (zdrojů)
 - reakce vyrovnávají vzájemný účinek



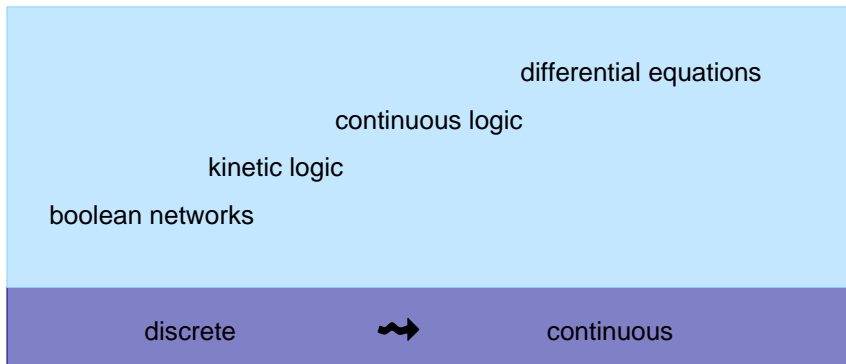
Deterministické modely dynamiky

- makropohled — předpoklad vysoké molární koncentrace látek
- nejpřesnější jsou spojité modely
 - stav \equiv vektor aktuálních koncentrací látek
 - vyžadují nejvíce biologických znalostí
- diskrétní modely abstrahující čas a hodnoty koncentrací
 - boolovské sítě a kinetická logika
 - stav zachycuje určitou diskrétní úroveň koncentrací
- diskrétní modely abstrahující čas a průběh interakcí
 - stav definován jako u spojitých modelů
 - vstupní funkce reakcí diskretizované

Stochastické modely dynamiky

- mikropohled — interakce individuálních molekul [Gillespie]
- stav zachycuje počty molekul jednotlivých látek
 - může být přímo diskrétní konfigurace
 - nebo distribuční funkce
- vzhledem k čase diskrétní i spojité modely
 - DTMC
 - CTMC
 - stochastické diferenciální rovnice

Deterministické modely dynamiky



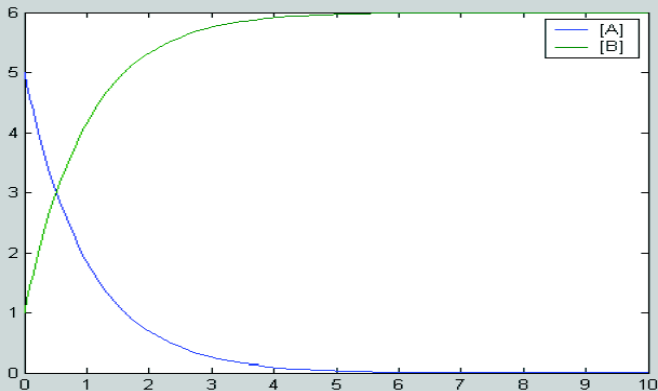
Diferenciální rovnice elementárních reakcí

přeměna: $A \xrightarrow{k} B$

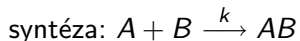
$$\frac{d[A]}{dt} = -k[A]$$

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

Diferenciální rovnice elementárních reakcí



Diferenciální rovnice elementárních reakcí

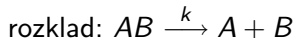


$$\frac{d[A]}{dt} = -k[A][B]$$

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

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

Diferenciální rovnice elementárních reakcí



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

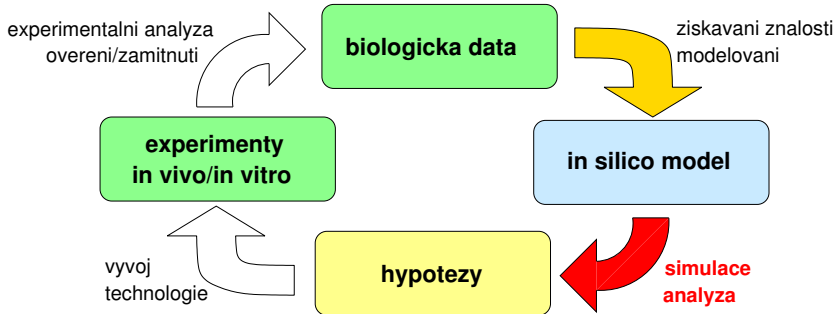
$$\frac{d[B]}{dt} = k[AB]$$

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





Proč dělat model?

- nestačí jen znalost o chemických látkách a genech
- simulace a analýza chování při daných iniciálních podmínkách
 - numerické metody
 - diskrétní metody (analýza stavového prostoru)
- predikce chování – inspirace pro experimenty
 - tvorba hypotéz
- detailní analýza důvodů (ne)platnosti hypotézy

Shrnutí



Reference

-  Kitano, H. *Looking beyond the details: a rise in system-oriented approaches in genetics and molecular biology.* Curr Genet., 2002.
-  Gilbert, D. *Introduction to systems biology course.* Bioinformatics Research Centre, 2007.
-  Alon, U. *An Introduction to Systems Biology: Design Principles of Biological Circuits.* Chapman & Hall, 2006.
-  Bower, J.M. & Bolouri, H. *Computational Modeling of Genetic and Biochemical Networks.* Bradford Book, 2001.