

Univerza v Ljubljani
Fakulteta za računalništvo
in informatiko



Sintetični biološki preklopni sistemi kot procesna platforma prihodnosti? (2.del)

prof.dr.Miha Mraz

<http://lrss.fri.uni-lj.si/bio/index.html>

21. november
2016



4. Metrike za snovanje bioloških procesnih sistemov

- Ostajamo na dvostanjski paradigmi procesiranja (do kdaj?)
- Za izhodišče povzamemo metrike iz elektronskih digitalnih vezij:
 - Napetostni (logični) nivoji signala
 - Šumne meje
 - Širina prepovedanega področja
 - Preklopni časi
 - Razvejitev izhoda elementa (angl. *fan out*)
 - Maksimalna frekvenca delovanja
 - Čas osveževanja pri pomnjenju

Sintetični biološki preklopni sistemi
kot procesna platforma
prihodnosti?



- Določitev **logičnih nivojev** na osnovi koncentracije opazovanega proteina:
 - Koncentracije različnih kemijskih zvrsti se razlikujejo (enake log.vrednosti dosežajo pri različnih koncentracijah)
 - C_{OH} : konc. izhodnega signala v visokem logičnem stanju
 - $C_{OH}(\text{min})$: konc. izhodnega signala, ki še predstavlja signal v visokem logičnem stanju
 - $C_{IH}(\text{min})$: konc. vhodnega signala v visokem logičnem stanju, ki izhodni signal še pripelje v veljavno logično stanje



- C_{OL} : konc. izhodnega signala v nizkem logičnem stanju
- $C_{OL}(\max)$: konc. izhodnega signala, ki še predstavlja signal v nizkem logičnem stanju
- $C_{IL}(\max)$: konc. vhodnega signala v nizkem logičnem stanju, ki izhodni signal še pripelje v veljavno logično stanje
- **Šum:**
 - N_H : maksimalni šum v visokem logičnem stanju
 - N_L : maksimalni šum v nizkem logičnem stanju
 - $C_{OH}(\min) < C_{OH} - N_H$
 - $C_{OL}(\max) > C_{OL} + N_L$



- **Prepovedano področje:**
 - Širina izhodnega prepovedanega področja:
 $NM_O =]C_{OL}(\max), C_{OH}(\min)[$
 - Širina vhodnega prepovedanega področja:
 $NM_I =]C_{IL}(\max), C_{IH}(\min)[$
- **Preklopni časi:**
 - Čas prehajanja signala preko prepovedanega področja
 - Čas vzpona (angl. *rise time*) t_r
 - Čas padca (angl. *fall time*) t_f



- **Razvejitev vhoda**
 - Konc. vstopajoče kem.zvrsti se lahko hitreje ali počasneje manjša
 - Kolikšno je maksimalno zmanjšanje vhodne koncentracije, ki nastopa
- **Maksimalna frekvenca** delovanja pogojena s t_{rr} t_f
- **Čas osveževanja** odvisen od časa veljavnosti izhodnega signala
 - Čas veljavnosti signala v visokem stanju t_{vh}
 - Čas veljavnosti signala v nizkem stanju t_{lh}
 - Čas veljavnosti signala $t_v = \min(t_{vh}, t_{lh})$



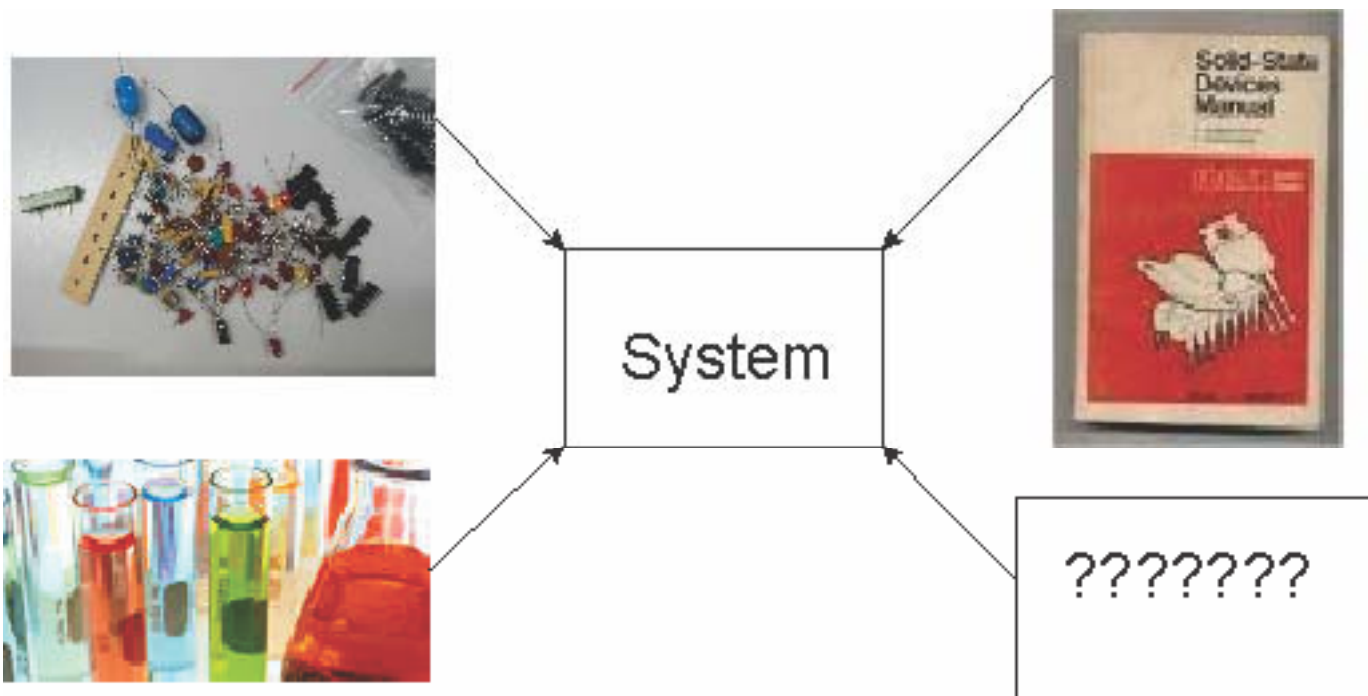
5. Iskanje primernih sestavnih delov biološkega preklopnega sistema

- „Katere gradnike izbrati za sestavo biološkega preklopnega sistema, da se bo le ta odzival na želeni način?“ \approx „Kakšne parametre morajo imeti opazovane kemijske zvrsti?“
 - Promotor -> Vhodni proteini
 - Ekspresijski del (program) -> Izhodni proteini
 - Sintezna biologija izkazuje napredek na tvorbi umetno sintetiziranih vezalnih mest in proteinov (npr. TAL proteinov) za doseganje željene transkripcijske in translacijske učinkovitosti
- Zgled problema oscilatorja (iskanje željene periode in amplitude odziva)

Sintetični biološki preklopni sistemi
kot procesna platforma
prihodnosti?



- Obstoječe metode reševanja metode:
 - „Delamo z začimbami, s katerimi znamo delati.“
 - Knjižnice modularnih komponent (kot vhod v iskanje suboptimalne rešitve služi logična tabela željene dinamike)
 - Avtomatizirani postopki za izgradnjo na osnovi knjižnic modularnih komponent – izhajanje iz standardnih „ohišij“ in robnih (*IN VIVO*) pogojev



Sintetični biološki preklopni sistemi
kot procesna platforma
prihodnosti?



- Problem preiskovanja prostora vrednosti parametrov posameznih kemijskih zvrsti
- Evolucijski pristop k reševanju problema - posežemo po metodi **genetskih algoritmov**:
 - Populacija **osebkov** $\{C_i\}$ (naborov parametrov oscilatorja)
 - Oceno osebkov $F(C_i)$ (angl. *fitness function*) izvedemo na osnovi determinističnega modela (ODE enačb) (odklon od željene frekvence in amplitude)
 - Populacijo sortiramo po naraščajočem vrstnem redu glede na odklone



- Vsak evolucijski korak **križa** parametre prve polovice osebkov s sortirane liste (križanje uspešnejših osebkov): novo pridobljeni osebki nadomestijo osebke iz druge polovice liste
- Vsak evolucijski korak izvede tudi verjetnostno pogojeno **mutiranje** parametrov
- Najustreznejši kandidat **venomer** postane član nove populacije
- Prilagoditve genetskega algoritma: spreminjajoča se cenilna funkcija osebka $F(C_i)$ (na začetku kriterij le željena frekvenca, ko se njej približamo z 1% odstopanjem vpeljemo v funkcijo tudi oceno amplitude)
-> „**veliki**“ koraki na začetku, „**majhni**“ na koncu

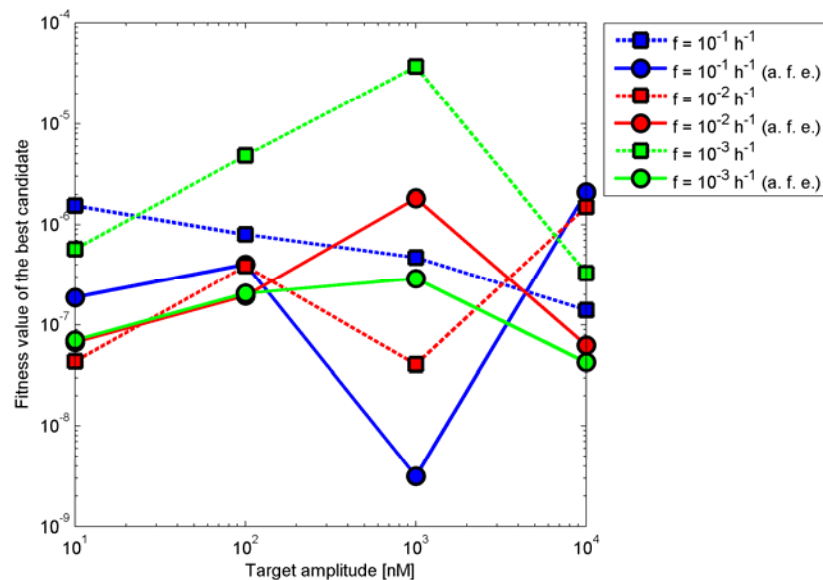


– Zgled: represilator z enim členom

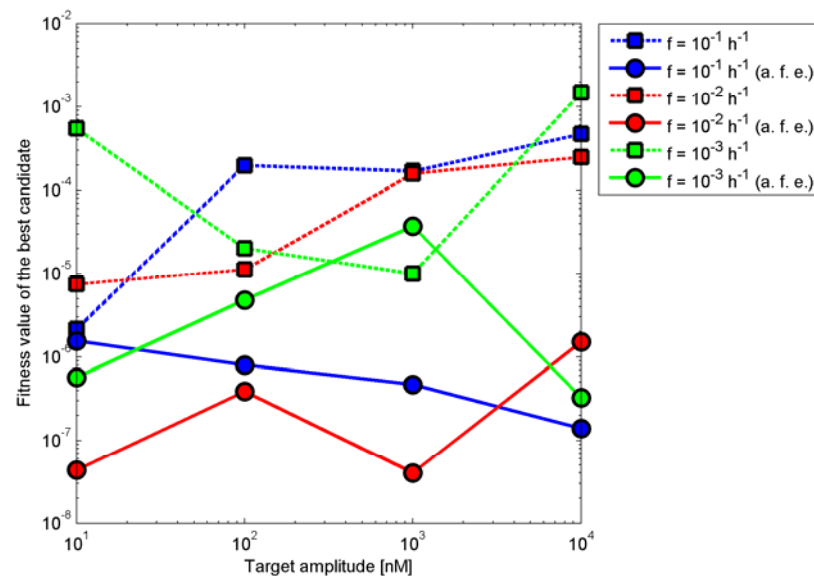


Samorepresija
proteina P.

- Iskani parametri: mRNA transcription rate, protein P translation rate, mRNA degradation rate, protein P degradation rate, repressor protein cooperativity coefficient, itd. (skupaj 8 koeficientov)
- Rezultati metode: dobimo nabore parametrov, ki odstopajo od željenega odziva za 10^{-5} , populacija 150 osebkov, začetne vrednosti parametrov naključno izbrane, 200 iteracij



Primerjava uspešnosti
s spremenljivo (o) in
konstantno $F(C_i)$ (\square).



Primerjava uspešnosti
s križanjem (o) in
brez križanja (\square).

Sintetični biološki preklopni sistemi
kot procesna platforma
prihodnosti?



– Vprašanje:

- Ali obstaja nabor kemijskih zvrsti, ki sovpadajo z pridobljenimi nabori?
- Če ne obstajajo, ali jih bo v prihodnosti možno sintetizirati?
- Seveda pa nam še vedno obstaja iskanje po „podobnih“ setih kemijskih zvrsti



6. Jeziki za opisovanje bioloških sistemov

- SBML (angl. *system biology markup language*) -> označevalni jezik
 - Množica kemijskih reakcij (npr. $\text{Fru}_{\text{ex}} \rightarrow \text{Fru}$
 $\text{GLC}_{\text{ex}} \rightarrow \text{Glc}$, $\text{ATP} + \text{Glc} \rightarrow \text{ADP} + \text{HexP}$
 $\text{ATP} + \text{Fru} \rightarrow \text{ADP} + \text{HexP}$) se pretvori v zapis (ASCII datoteko) v označevalnem jeziku
 - Večina orodij za snovanje enostavnih bioloških sistemov takšen zapis (datoteko) razume, tako da lahko z orodji modeliramo rezultate zajetih kem.reakcij

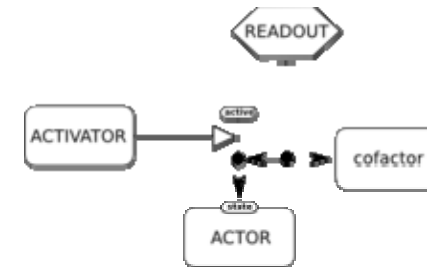


- SBOL (angl. *synthetic biology open language*) – podoben namen kot SBML:
 - Omogoča elektronsko izmenjavo načrtovanih biol.sistemov
 - Omogoča komunikacijo z bioprodukcijskimi centri
 - Omogoča standardizirano hrambo načrt.sistemov
 - Omogoča tipizirano vključevanje načrt.sistemov v publikacije (verifikacija delovanja na nivoju modela, itd.)
 - Odprtost standarda



7. Grafične ponazoritve relacij v bioloških sistemih

- Veliko različnih načinov ponazarjanja relacij (angl. *biological visual languages*)
- SBGN (*Systems Biology Graphical Notation*):
 - Cilj: poenotenje grafičnih notacij za opis bioloških procesov;
 - Sestavljen iz treh delov (tri je komplementarni jeziki – trije **ortogonalni** tipi diagramov):
 - (a) *Process diagram*
 - (b) *Entity relationship diagram*
 - (c) *Activity flow diagram*



Sintetični biološki preklopni sistemi
kot procesna platforma
prihodnosti?



- *SBGN process diagram*: predstavi vse molekularne procese in interakcije med biokemičnimi entitetami in njihove rezultate, vsaka entiteta se lahko pojavi večkrat
- *SBGN entity relationship diagram*: predstavi vplive posameznih biokemičnih entitet na medsebojne transformacije (ne pa na transformacije same), vsaka entiteta nastopa le enkrat
- *SBGN activity diagram*: predstavi samo vplivne relacije stimulacije (aktivacije) in inhibicije (represije), vsaka entiteta nastopa le enkrat



- *Synthetic biology open language* VISUAL (SBOL Visual, 2013):
 - Cilj standardizirana grafična notacija opisa biološkega sistema



8. Programska orodja za snovanje (modeliranje) bioloških sistemov

- Koncept izdelave biološkega sistema:
 - Zasnova sistema
 - Preverjanje ustreznosti dinamike na osnovi modela (s programskim orodjem) in eventualni popravki zasnove sistema
 - Fizična realizacija
- Programska orodja imajo integrirane:
 - Modelirne metode
 - Baze že delujočih modulov, ki jih lahko povezujemo v sistemske rešitve



- BioModelsDatabase:
<http://www.ebi.ac.uk/biomodels-main/>
- Trenutna klasifikacija programskih orodij (z navedenimi funkcionalnostmi)
 - http://sbml.org/SBML_Software_Guide/SBML_Software_Matrix
 - http://sbml.org/SBML_Software_Guide/SBML_Software_Summary



9. „Do it yourself biology = DIY BIO“

- **Garažni princip** razvoja sintezne biologije (garažni laboratorij)
- Dva vzroka za pojavitev v 21.stoletju:
 - Dosegljivost in padajoče cene (rabljene) laboratorijske opreme (primerjava s POC napravami)
 - Poceni procesna moč
- „Biohacking“:
 - Uporaba biologije s „hackersko etiko“
 - Primer neinstitucionalne znanosti
 - Primer neinstitucionalnega tehnološkega razvoja



- Primerjava z računalništvom:
 - IBM (1972): „garažno računalništvo nima perspektive“
 - Navkljub temu uspeta tako Intel, kot Microsoft



Sintetični biološki preklopni sistemi
kot procesna platforma
prihodnosti?



- Tradicionalna znanstvena srenja na področju življenjskih ved ne verjame v možnost preboja garažnega principa
- www.diybio.org (združenje od l.2008)
- Glavna kritika garažnega principa:
 - Nevarnosti zaradi nesistematiziranega nadzora nad dejavnostjo s strani vlade, ustreznih služb, itd. (bioterrorizem, itd.);
- Glavna prednost garažnega principa:
 - Odprtost rešitev – njihova javna dosegljivosti in ponovljivost (podobno odprtokodnim programskih rešitev)

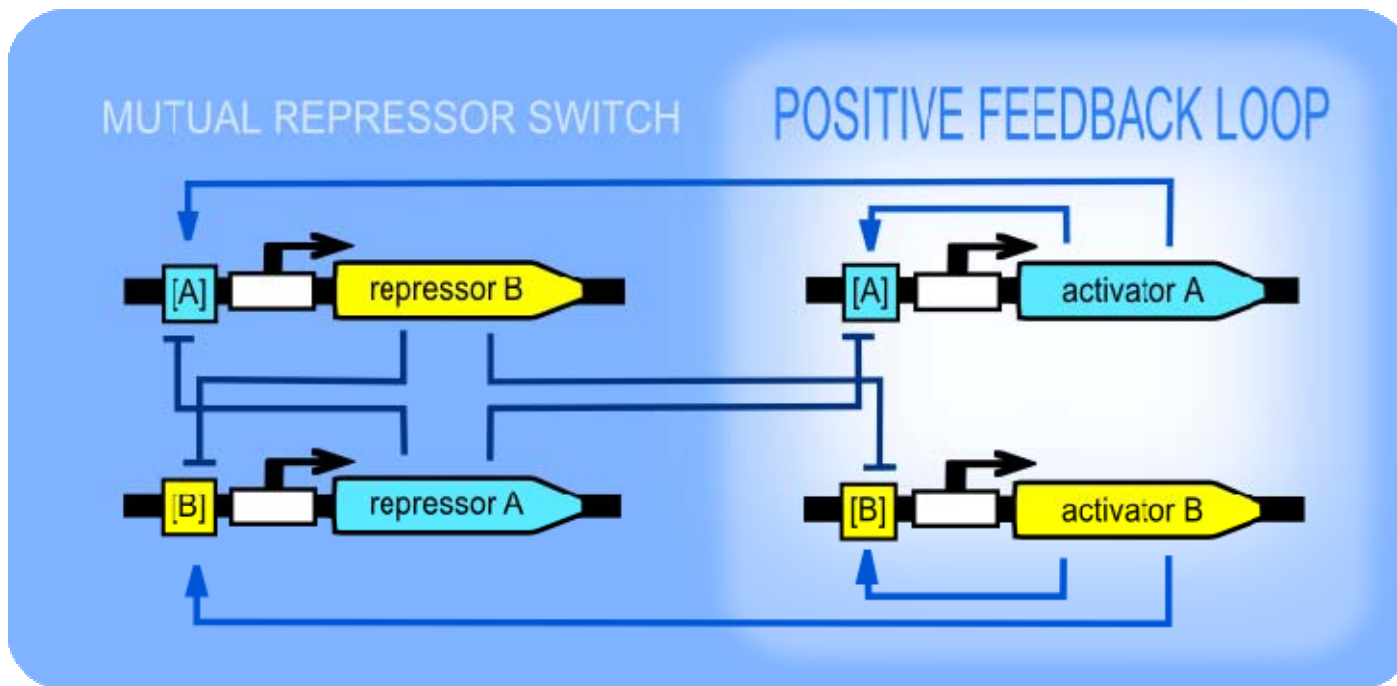


- H.Ledford: Life hackers, Nature, Vol.467, p.650, 7.oct.2010 (glej PDF) – garažna shema



10. Zgledi iGEM projektov

- Primer kompleksnejšega biološkega preklopnega vezja (iGEM 2012, Slovenia team):



Sintetični biološki preklopni sistemi
kot procesna platforma
prihodnosti?



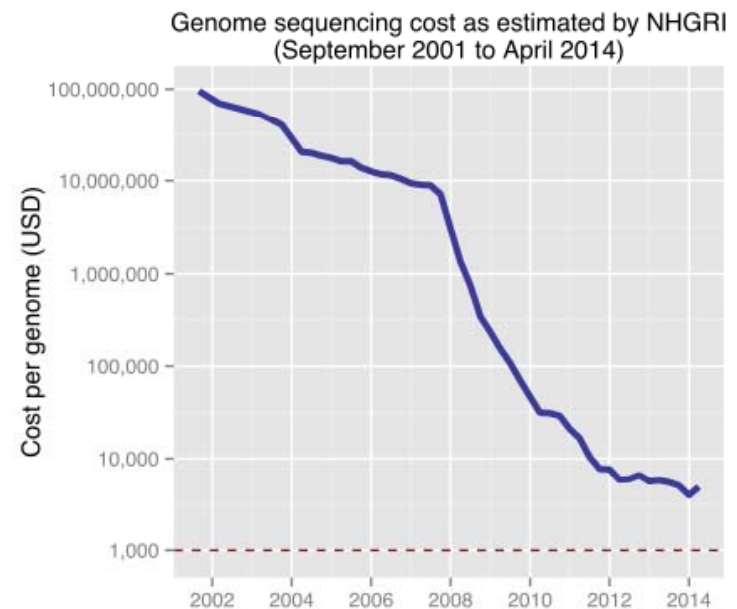
11. BioBricks Repozitorij

- *iGEM Registry*:
 - repozitorij genetskih sestavnih delov
 - osnova za modularno gradnjo bioloških sistemov
 - primer iskanja sestavnih delov:
http://parts.igem.org/Main_Page (iskalni ključ „AND gate“) -> ASCII koda baznih parov (main page, design, itd.)
 - podobnost z odprtokodno programsko opremo
 -



12. Carlsonova krivulja

- Biotehnološki ekvivalent Mooreovega zakona;
- „Cena in zmogljivost“ sekvenciranja genoma se v časovnem smislu razpolavljata hitreje kot to predvideva Mooreov zakon;
- Slika na desni: padec cene oslikave človeškega genoma





13. Zaključek in izhodišča za nadaljnje raziskave

- Slabosti „današnjih“ bioloških preklopnih sistemov:
 - Počasnost preklopa (rang sekund, minut, ur)
 - Velik vpliv šuma in sohastičnosti na IN VIVO realizacije
 - Nedozorelost tehnologije za postavitev večjih preklopno – pomnilnih struktur (problemi šuma, ortogonalnosti kemijskih zvrsti, univerzalnih „ohišij“ itd.);
- Dobra plat: Carlsonova krivulja (angl. *Carlson curve*)

Sintetični biološki preklopni sistemi
kot procesna platforma
prihodnosti?



- Izhodišča za nadaljnje delo:
 - Pomnjenje v bioloških sistemih (majhna frekvenca osveževanja, problem smiselnosti?)
 - Izgradnja protokolov dela za načrtovanje večjih bioloških preklopnih vezij
 - Raziskava metrik robustnosti in občutljivosti bioloških preklopnih sistemov
 - Nadgradnja algoritmov modeliranja (npr. modeliranje kompetitivne vezave transkripcijskih faktorjev)
 - Razvoj kvalitativno - kvantitativnih modelov za modeliranje sistemov z nejasnimi ali nedoločenimi parametri



- EraSynBio (7th EU FrameWork):
 - Cilj projekta: Promocija razvoja sintezne biologije v EU in zagotavljanje „neprekrivanja“ raziskav
 - Poizkus definiranja EU agende raziskav
 - 1.strateška konferenca (Januar 2013): minimal genome, genome a la carte, higher level genetic language, biohacking, biogarage, cell based memory storage, patents on life, chassis organisms, cell factories



- *Synthetic biology, Systems biology*:
 - Podporni dejavnosti:
 - *Computational biology* (modeliranje ekspresije gena in gensko regulatornih omrežij (GNR))
 - *Bionformatics* (anotiranje genoma)
- *Biological computation* – nov pojem:
 - uporaba bioinženirstva in biologije za gradnjo računalnikov prihodnosti
 - Kakšne funkcije bodo ti računalniki vršili???



- <http://lrss.fri.uni-lj.si/bio/index.html>: Nekaj zadnjih objav s predstavljenega področja:
 - M. Petroni, N. Zimic, M. Mraz and M. Moškon, **Stochastic simulation algorithm for gene regulatory networks with multiple binding sites**, *Journal of Computational Biology*, Vol. 21, 2014.
 - M. Moškon, M. Mraz, **Metrics for design of gene regulatory networks with information processing capabilities**, *IEEE/ACM Transactions of Computational Biology and Bioinformatics*, 2014.
 - M. Stražar, N. Zimic, M. Mraz, M. Moškon, **An adaptive genetic algorithm for parameter estimation of biological oscillator models to achieve target quantitative system response**, *Natural Computing*, 2014.
 - M. Moškon, J. Bordon, M. Mraz, N. Zimic, M. Petroni: **Computational approaches in synthetic and systems biology**, accepted chapter for a book *Recent Advances in System Biology*, edited by prof. A. Valente, prof. Y. Gao and prof. A. Sarkar, Nova Science Publishers Inc., USA, December, 2014.
 - M. Moškon, M. Mraz, **Modelling and analysing the information processing capabilities of simple biological systems**, *Mathematical Modelling and Analysis*, Vol. 17, 467-484, 2012.
 - Doktorska disertacija: Dr. Miha Moškon (**Modeli in metrike dinamike preklopa v enostavnih bioloških sistemih za potrebe računalniških struktur prihodnosti**), 2012 (FRI-UL).



Epilog - od kod in kam?



Homo Sapiens,
 $3.1 \cdot 10^9$ BP.



Mus, $3.1 \cdot 10^9$ BP.



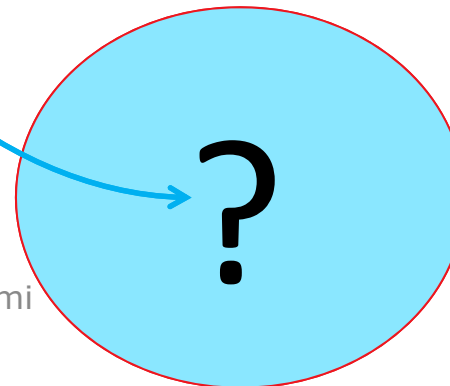
Drosophila melanogaster, $139 \cdot 10^6$ BP.



Escherichia coli, $5 \cdot 10^6$ BP.

BRIC, VB-ZDA, Kriza,
Nerazviti svet,
Epidemije, Kapital, EU
(?)

2020



Sintetični biološki preklonni sistemi
kot procesna platforma
prihodnosti?