

Univerza v Ljubljani
Fakulteta za računalništvo in informatiko



Seminarska naloga pri predmetu Optične in nanotehnologije

Bistabilnost v bioloških sistemih

Avtor:
Jan Hanzel

Mentorja:
Miha Moškon, Miha Mraz

Ljubljana, Januar 2011

Kazalo:

| | |
|--|----|
| 1. Uvod | 2 |
| 2. Analiza bistabilnosti sistema | 3 |
| 2.1 Postopek analize bistabilnosti sistema | 4 |
| 3. Uporaba na praktičnih primerih | 6 |
| 3.1 Uporaba na primeru I | 6 |
| 3.2 Uporaba na primeru II | 10 |
| 4. Zaključek | 12 |
| 5. Viri | 13 |

1. UVOD

Biološki sintezni sistemi so sistemi znotraj celic oziroma enoceličnih organizmov kot so bakterije. V vseh celicah in tudi nasplošno živih organizmih je nosilec informacije DNK. Ta informacija se znotraj celice interpretira s pomočjo encimov. Encimi se vežejo na določen del DNK in iz njega preberejo tamkajšno informacijo, oziroma navodilo katero beljakovino naj začnejo sestavljati in tudi kako naj jo sestavijo. Na kateri del DNK-ja se bodo postavili encimi, oziroma katero beljakovino bo začela proizvajati celica je odvisno od trenutnega stanja znotraj celice. To stanje je odraženo s koncentracijami različnih snovi, večinoma beljakovin. Določene beljakovine delujejo kot aktivatorji in pospešujejo proizvodnjo neke druge beljakovine, lahko pa so represorji, kateri proizvodnjo zavirajo. Na koncentracijo beljakovin znotraj celice uplivajo tudi zunanje okolje v kateri je celica. Različni okoljski uplivi, se znotraj celice odrazijo kot kemiski signali, kateri tudi delujejo kot represorji ali aktivatorji.

Kot vidimo je tak sistem sestavljen iz vhoda, to so kemiski signali celice ob določenih vplivih okolja. Tež signali sprožijo odziv sistema, ki se odrazi kot pospešeno ali upočasnjeno proizvodnjo beljakovine ali več teh. Razmerja koncentracij beljakovin v celici se zato spremenijo, kar lahko vzamemo kot izhod iz sistema. Nove koncentracije pa lahko uplivajo kot novi vhodi, kateri spet povzročijo novo odzivanje sistema.

V preteklosti se je biološke celice že poiskovalo pripraviti do tega, da bi se obnašale kot mediji za nošenje osnovne enote informacije. Osnovna enota informacije je bit, kateri lahko zavzame dve logični vrednosti 0 ali 1. Vsak medij, ki je nosilec osnovne informacije, mora zato imeti zmožnost, da predstavi ti dve vrednosti. Za biološke celice se je za ta namen uporabilo koncentracijo dveh beljakovin. Določena koncentracija neke beljakovine v celici pomeni logično enico, koncentracija druge pa logično ničlo. Ponavadi sta ti dve beljakovini povezani represivno, se pravi, da sta se medsebojno represirali oziroma zavirali proizvodnjo ena druge. S tem je bilo doseženo, da se preklopi med stanji, ki predstavljajo 0 in 1 vršijo hitreje, saj naraščanje koncentracije ene beljakovine hkrati tudi zavira proizvodnjo druge in tako pripomore k njenemu upadu. Hkrati pa je sistem tudi stabilnejši, saj ena beljakovina onemogoča, da bi druga prešla v koncentracijo katera bi pomenila drugo logično vrednost brez nekega zunanjega upliva. To je pomembno saj hočemo doseči tak sistem, ki bo lahko vrževal zeleno stanje razen, če ne bomo hoteli sami, da preide v drugo stanje.

Analiza bistabilnosti sistema, nam pomaga oceniti, ali nek sistem pod določenimi pogoji oz. parametri lahko doseže bistabilnost. Bistabilnost pomeni, da sistem lahko spravimo v dve stabilni stanji. Če se sistem nahaja v enem od teh stanj, to stanje ohranja oz. se samovzdržuje v tem stanju. Iz tega stanja ga lahko spravimo le s pomočjo nekega zunanjega upliva.

Cilj te seminarske naloge je prikazati metodo, s katero lahko ocenimo ali nek biološki sistem pod določenimi parametri lahko doseže bistabilnost. Tako analizo lahko predstavimo biologom in jim tako pomagamo minimalizirati eksperimentalno ugibanje.

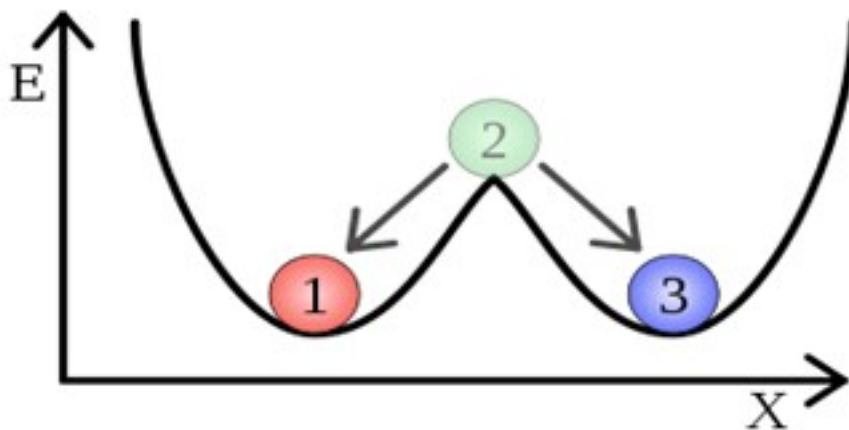
2. ANALIZA BISTABILNOSTI SISTEMA:

Iskanje fiksnih točk je prvi korak pri analizi stabilnosti sistema.

Fiksne točke so točkve katerih je sprememba funkcije enaka nič. Obstaja več vrst točk ravnovesja: stabilne, nestabilne in saddle točke. Stabilno ravnovesje je vrednost proti kateri funkcija konvergira, nasprotno temu je nestabilno ravnovesje od katerega funkcija divergira. Saddle točka je točka proti kateri funkcija konvergira ali divergira, to je odvisno od tega s katere strani se približujemo točki.

Fiksne točke dobimo tako, da enačimo vse diferencialne enačbe sistema z nič, nato pa tak sistem rešimo glede na analizirane spremenljivke. Za nas so zanimive tiste točke pri katerih so vse diferencialne enačbe enake nič. Te točke nam podajajo tudi ravnovesne točke sistema. Iz grafov funkcij je mogoče že na pogled videti ali bo sistem bistabilen ali ne. Če se grafi sekajo le na eni točki to pomeni, da ni bistabilnosti. Če se seka na dveh točkah to pomeni, da je bistabilnost. Če se pa seka na več točkah npr. na treh to pogosto pomeni, da je sredinska točka nestabilna saddle točka, ostali dve pa stabilni

Za naš primer je pomembno tudi da razumemo pojem bistabilnosti. Če je sistem bistabilen je lahko stabilen v dveh različnih stanjih. Obstajajo tudi stabilna nihanja, pri katerih je sistem stabilen ampak ne miruje.



Sistem je stabilen v stanju 1 ali 3. Če je sistem v stanju 2 je nestabilen in bo prešel v stanje 1 ali 3. Lahko si predstavljamo nestabilno stanje sistema kot žogo na vrh hriba, ta bi se hotela skotaliti v eno od okoliških dolin v katerih bi se ustavila in nebi mogla drugam, to bi bilo stabilno stanje.

Preučevanje stabilnosti sistema je ključno do razumevanja obnašanja sistema. V bioloških sistemih, bistabilnost predstavlja potencial, da naša celica preide iz proizvodnje nekega proteina v proizvodnjo drugega. Določena koncentracija enega ali drugega pa predstavlja našo logično enico ali ničlo.

Bifurkacijski diagram ima veje, ki definirajo v katerem stanju je lahko sistem. Če preučimo bifurkacijske grafe, lahko določimo kako daleč stran so veje med seboj, oz. koliko narazen so med seboj stabilna stanja. Bolj kot so daleč med seboj, težje je priti do prehoda med temi stanju, ampak na račun tega so ta stanja bolj stabilna

2.1 POSTOPEK ANALIZE BISTABILNOSTI SISTEMA:

Tukaj bomo pokazali potek analize bistabilnosti sistema na enostavnem primeru sistema diferencialnih enačb:

$$\frac{dx}{dt} = x(3 - x - 2y)$$

$$\frac{dy}{dt} = y(2 - x - y)$$

Postopek analize lahko razdelimo na štiri korake:

1.) Enačbe enačimo z nič ter poiščemo rešitve dobljenega sistema.

$$0 = x(3 - x - 2y)$$

$$0 = y(2 - x - y)$$

Pri tistih vrednostih x in y kjer je sistem rešljiv obstajajo fiksne točke. Ko to naredimo za naš primer lahko vidimo, da se to zgodi pri parih vrednosti $x=y=0$; $x=0, y=2$; $x=3, y=0$ in $x=1, y=1$.

2.) Sestavimo Jacobijevo matriko iz zgornjih enačb. Za naš primer vzemimo, da je prva enačba f_1 , druga pa f_2 . Elementi Jacobijeve matrike so parcialni odvodi posameznih spremenljivk naših funkcij.

$$\begin{bmatrix} \frac{\partial f_1}{\partial x} & \frac{\partial f_1}{\partial y} \\ \frac{\partial f_2}{\partial x} & \frac{\partial f_2}{\partial y} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 3 - 2x - 2y & -2x \\ -y & 2 - x - 2y \end{bmatrix}$$

3.) V dobljeno matriko vstavimo prej izračunane vrednosti fiksnih točk. Za dobljene matrike sedaj izračunamo lastne vrednosti po $\det(A - I \cdot \lambda) = 0$. Kjer je A naša matrika, I identitea in λ rešitve oziroma iskane lastne vrednosti. V tem primeru so rešitve sledeče:

- V točki $x=0, y=0$ so lastne vrednosti -3 in 2 .
- V točki $x=0, y=2$ so lastne vrednosti -3 in -2 .
- V točki $x=3, y=0$ so lastne vrednosti -3 in -1 .
- V točki $x=1, y=1$ so lastne vrednosti $-1 \pm \sqrt{2}$

4.) S pomočjo dobljenih lastnih vrednosti oziroma njihovih predznakov lahko ocenimo stabilnost sistema. Za ocenjevanje stabilnosti so podani sledeči kriteriji:

- Pozitivni realni in kompleksni del pomeni nestabilno točko.
- Negativni realni in kompleksni del pomeni stabilno točko.
- Pozitivni realni del pomeni nestabilno spiralo (divergenca).
- Negativni realni del pomeni stabilno spiralo (konvergenca).

Iz teh kriterijev sledijo naše ocene stabilnosti sistema v posameznih točkah:

- V točki $x=0, y=0$ imamo eno negativno in eno pozitivno lastno vrednost $(-3,2)$ iz tega sklepamo, da je to saddle točka.
- V točki $x=0, y=2$ imamo dve negativni lastni vrednosti $(-3,-2)$ iz tega sklepamo, da je to stabilna točka.
- V točki $x=3, y=0$ imamo dve negativni lastni vrednosti $(-3,-1)$ iz tega sklepamo, da je to stabilna točka.
- V točki $y=x=1$ eno negativno in eno pozitivno lastno vrednost $(-1 \pm \sqrt{2})$ iz tega sklepamo, da je to saddle točka.

Iz zgornega postpoka je tako razvidno, da ima ta sistem potencialno štiri stabilna stanja. Dve izmed njih naj bi bili stabilni, kar pomeni, da enkrat ko sistem zaide v to stanje se v tem stanju ustali. Iz njega ga lahko prestavi le nek zunanji dejavnik. Ostali dve točki sta saddle točki, kar pomeni, da sistem k njim diveergira ali pa konvergira odvisno s katere strani se jima približujemo.

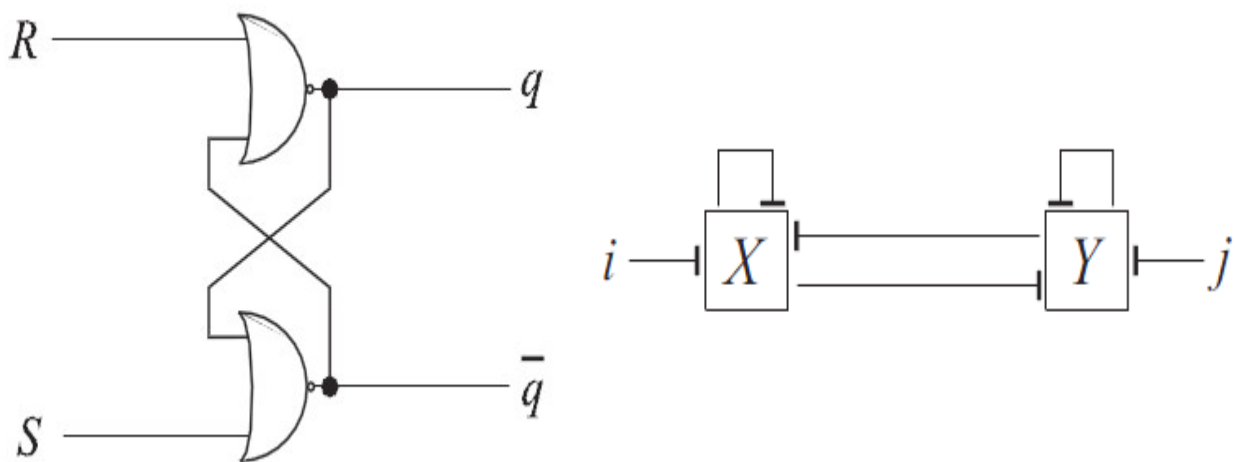
3. UPORABA NA PRAKTIČNIH PRIMERIH

3.1 UPORABA NA PRIMERU I:

S pomočjo zgoraj razložene metode oziroma postopka smo poizkušali analizirati stabilnost sistema, podanega s sledečimi determinističnimi enačbami:

$$\frac{dy}{dt} = B0 - (fi + j) y + \frac{B}{1 + \left(\frac{x}{K1}\right)^n + \left(\frac{y}{K2}\right)^n}$$
$$\frac{dx}{dt} = B0 - (fi + i) x + \frac{B}{1 + \left(\frac{x}{K2}\right)^n + \left(\frac{y}{K1}\right)^n}$$

Podani sistem opisuje spreminjanje koncentracij proteinov X in Y v biološki celici, katera naj bi delovala kot pomnilna RS celica. V tem sistemu sta dva proteina imenova X in Y katera se represirata sama sebe ter medsebojno. Prva enačba prikazuje spremembo koncentracije proteina Y druga pa X.



Neznanke v enačbah pomenijo sledeče:

- B določa maksimalno hitros izražanja (transkripcije – translacije).
- K1, K2 sta koeficienta aktivacije (pri kakšni količini proteina Y oz. X je izražena B/2).
- n je Hillov koeficient.
- B0 je osnovno izražanje (angl. leakage).
- fi je hitrost degradacije.
- j in i predstavljata zunanji upliv v sistem (v RS celici igrata vlogo set in reset).

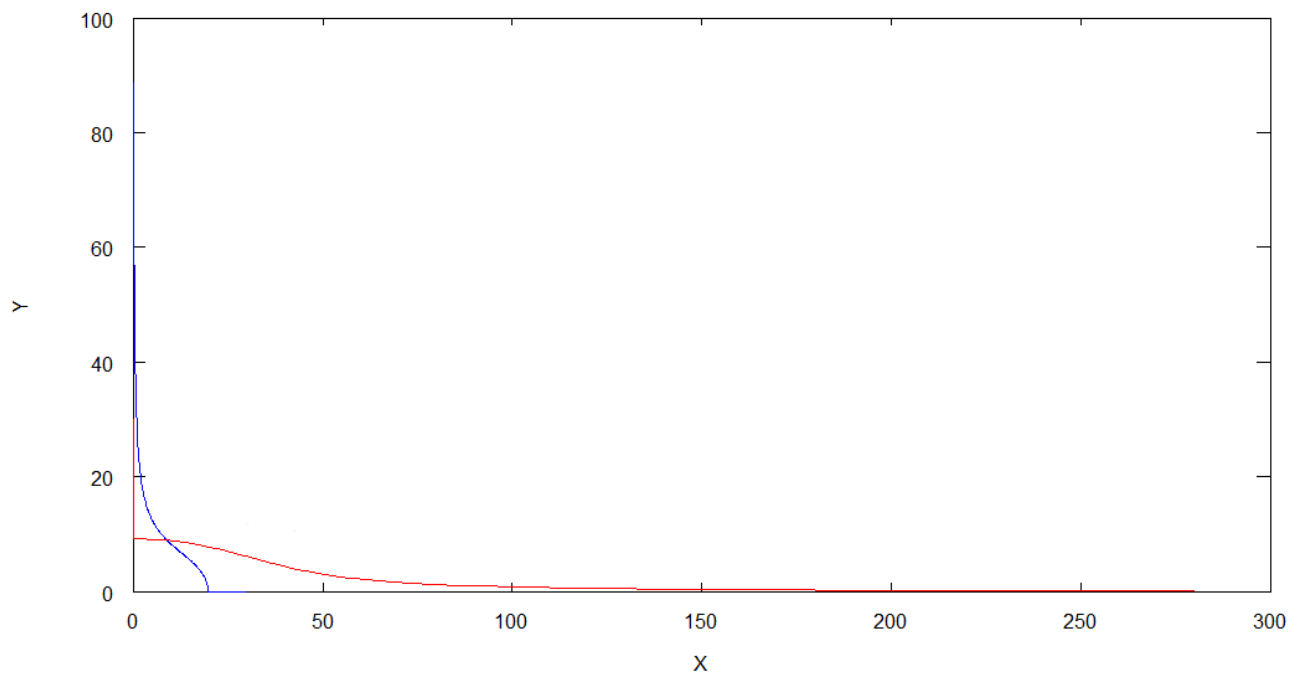
Neznankam smo priredili naslednje vrednosti:

- $B = 1,1$
- $B_0 = 0$
- $n = 2$
- $f_i = 0,0007$
- $K_1 = 0.7071$
- $K_2 = 2.236$
- $i_{,j} = 0$

$$\frac{dy}{dt} = -0.0007 * y + \frac{1.1}{1 + 2 * x^2 + 0.2 * y^2}$$
$$\frac{dx}{dt} = -0.0007 * x + \frac{1.1}{1 + 0.2 * x^2 + 2 * y^2}$$

Od tukaj rešujemo po prej predstavljenih korakih:

1.) Enačbe enačimo z nič ter rešimo dobljeni sistem enačb. Za ta primer obstaja le ena rešitev in sicer točka $x=8,9221$, $y = 8,9221$.



Graf funkcij, katere dobimo tako, da iz diferencialnih enačb izrazimo y. Vidimo, da se krivulji sekata v točki kjer sta obe diferencialni enačbi enaki nič.

2.) Sestavimo Jacobijevo matriko. Recimo, da je prva enačba f1 druga pa f2. Parcialni odvodi, ki sestavljajo Jacobijevo matriko so:

$$f1 / dx = -0.0007 - \frac{0.4 * x}{(1 + 0.2 * x^2 + 2 * y^2)^2}$$

$$f1 / dy = - \frac{4.4 * y}{(1 + 0.2 * x^2 + 2 * y^2)^2}$$

$$f2 / dx = - \frac{4.4 * x}{(1 + 2 * x^2 + 0.2 * y^2)^2}$$

$$f2 / dy = -0.0007 - \frac{0.4 * y}{(1 + 2 * x^2 + 0.2 * y^2)^2}$$

3.) V Jacobijevo matriko vstavimo prej dobljene vrednosti x in y. Dobljeni matriki nato izračunamo lastne vrednosti. V tem primeru sta lastni vrednosti matrike $4.3895 * 10^{-4}$ in $-2.0921 * 10^{-3}$.

4.) Vidimo, da imata dobljeni lastni vrednosti različna predznaka, kar po kriterijih za ocenjevanje stabilnosti pomeni, da je dobljena točka saddle točka.

Ker smo že na začetku dobili le eno točko, pri kateri je sistem enačb rešljiv vidimo, da sistem ni bistabilen, saj bi za bistabilnost potrebovali dve taki točki. Dobljena točka je saddle točka, kar pomeni, da sistem k njej konvergira ali divergira.

Če se pogobimo v izrisana grafa funkcij, vidimo, da funkciji konvergirata ob oseh. To morda nakazuje na to, da se doseže točke stabilnosti pri visokih koncentracijah enega proteina in nizkih koncentracijah drugega. Dalo bi se sklepati, da visoka koncentracija enega represira proizvodnjo drugega do te mere, da je mogoče povečati spet proizvodnjo drugega le z nekim zunanjim uplivom. V primeru RS celice bi to bila npr. UV svetloba. Se pravi sistem je v nekem stanju v katerem proizvaja le en protein, drugega pa praktično ne.

Iz tega lahko ugotovimo, da je pri podanih parametrih sistem morda bistabilen zaradi konvergence krivulj ob oseh. Hkrati pa se je treba vprašati ali so tako visoke koncentracije enega proteina in tako nizke drugega v celici praktično sploh dosegljive v živi biološki celici.

3.2 UPORABA NA PRIMERU II

Tudi tokrat so bile podane enačbe opis obnašanje biološke celice, katero se je hotelo uporabiti kot RS pomnilno celico:

$$\frac{dv}{dt} = \frac{\text{alfa2}}{1 + \left(\left(\frac{u}{1 + \frac{\text{IPTG}}{K}} \right)^{\text{eta}} \right)^{\text{gamma}}} - v$$
$$\frac{du}{dt} = -u + \frac{\text{alfa1}}{1 + \left(\left(\frac{v}{1 + \frac{\text{temp}}{K}} \right)^{\text{eta}} \right)^{\text{beta}}}$$

Nezanke v enačbah pomenijo sledeče:

- alfa1, alfa2 efektivnost sinteze represorja
- beta, gamma določata kooperativnost represije promotorja 2 oz. 1
- eta določa kooperativnost zveze IPTG
- K je disociacijska konstanta za IPTG
- u in v sta koncentraciji represorja 1 in 2

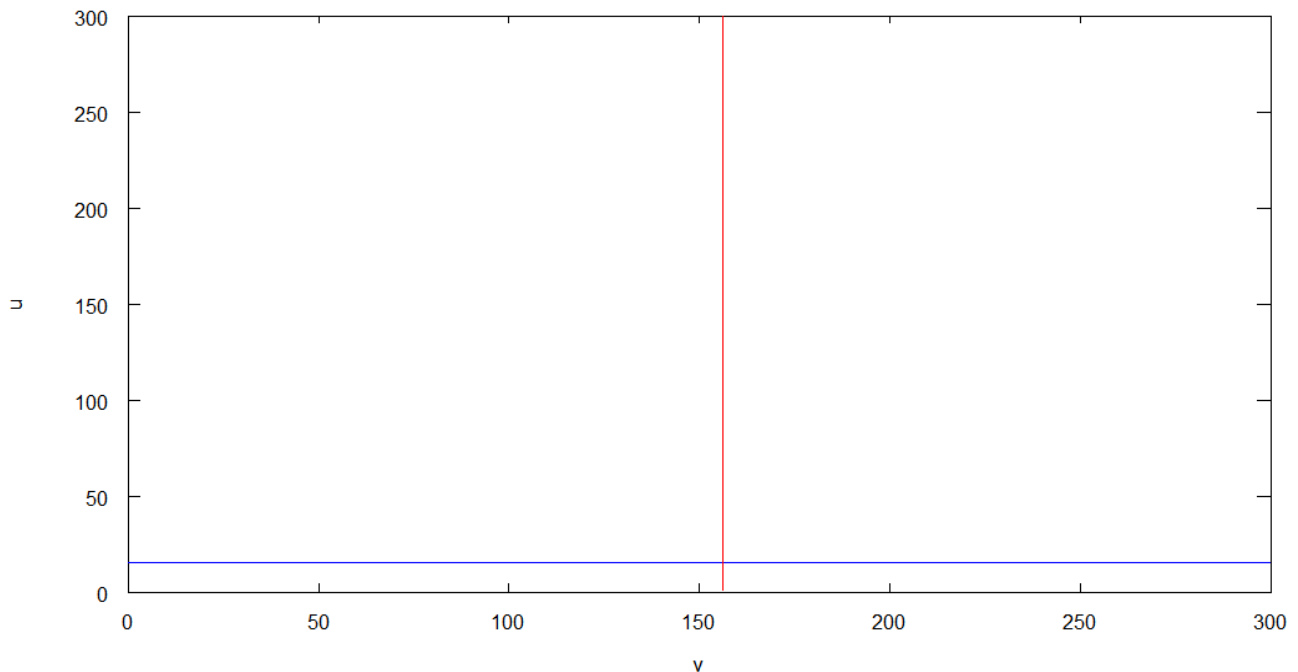
Neznankam smo priredili naslednje vrednosti:

- alfa1 = 156,25
- alfa2 = 15,62
- beta, gamma = 2,5
- K = 2.9618*10⁻⁵
- eta = 2.0015
- IPTG = 0
- temp = 0

$$\frac{dv}{dt} = \frac{15.62}{1 + 2.2 \cdot 10^{-23} (u^{2.0015})^{2.5}} - v$$
$$\frac{du}{dt} = -u + \frac{156.25}{1 + 2.2 \cdot 10^{-18} (v^{2.0015})^{2.5}}$$

Spet rešujemo po prej predstavljenih korakih:

1.) Enačbe enačimo z nič ter rešimo dobljeni sistem enačb. Za ta primer obstaja le ena rešitev in sicer točka $v=15.62$, $u = 156.25$.



Graf funkcij, katere dobimo tako, da iz diferencialnih enačb izrazimo u . Vidimo, da se presečišče najaha v točki, kjer sta obe diferencialni enačbi enaki nič.

2.) Sestavimo Jacobijevo matriko. Recimo, da je prva enačba f_1 druga pa f_2 . Parcialni odvodi, ki sestavljajo Jacobijevo matriko so:

$$f_1 / dx = -0.0007 - \frac{0.4 * x}{(1 + 0.2 * x^2 + 2 * y^2)^2}$$

$$f_1 / dy = - \frac{4.4 * y}{(1 + 0.2 * x^2 + 2 * y^2)^2}$$

$$f_2 / dx = - \frac{4.4 * x}{(1 + 2 * x^2 + 0.2 * y^2)^2}$$

$$f_2 / dy = -0.0007 - \frac{0.4 * y}{(1 + 2 * x^2 + 0.2 * y^2)^2}$$

3.) V Jacobijevo matriko vstavimo prej dobljene vrednosti x in y . Dobljeni matriki nato izračunamo lastne vrednosti. V tem primeru sta obe lastni vrednosti enaki -1 .

4.) Vidimo, da imata dobljeni lastni vrednosti enak predznak, kar po kriterijih za ocenjevanje stabilnosti pomeni, da je dobljena točka stabilna točka.

Ker smo že na začetku dobili le eno točko, pri kateri je sistem enačb rešljiv vidimo, da sistem ni bistabilen, saj bi za bistabilnost potrebovali dve taki točki. Dobljena točka je stabilna točka, kar pomeni, da če sistem preide v to stanje, ne bo šlo iz njega razen ob nekem zunanjem uplivu. Iz tega lahko sklepamo, da pri podanih parametrih ni mogoče doseči bistabilnosti sistema.

4. ZAKLJUČEK:

Iz prikazanih primerov uporabe analize bistabilnosti sistema lahko vidimo slednje. Zelo enostavno je videti ali je sistem pri podanih parametrih bistabilen ali ne. To lahko sklepamo že iz grafa funkcij če si ga izrišemo ter pogledamo koliko presečišč ta ima. Če imata grafa funkcij dve ali tri presečišča je to začetni znak, da gre za bistabilen sistem. Pri dveh presečiščih je to samoumevno. Dejansko pa je potencialno še boljši primer s tremi presečišči, saj je srednje presečišče mogoče saddle točka od katere sistem divergira, kar bi pomenilo, da sistem še bolj teži k temu, da preide v eno izmed sosednjih dveh stabilnih stanj.

Naslednji korak pa je ocenjevanje točk glede na ocenjevalne kriterije. Lahko je nek sistem iz slike grafov bistabilen, ampak iz ocene lastnih vrednosti lahko npr. dobimo oceno, da so to dejansko nestabilne točke, kar bi zavrnilo našo prvotno opažanje.

Potrebno pa je tudi povedati, da sta prikazana sistema čisto možno bistabilna pri drugačnih naborih parametrov, saj predstavljena metoda obravnava sistem pri točno določenih parametrih.

5. VIRI:

iGem team Aberdeen Scotland: http://2010.igem.org/Team:Aberdeen_Scotland/Fixed_Points

Miha Moškon, Miha Mraz: Analysing the information processing capabilities of biological systems. Faculty of Computer and Information Science, University of Ljubljana, Tržaška 24, SI-1000, Slovenia.

Timothy S. Gardner, Charles R. Cantor & James J. Collins: Construction of a genetic toggle switch in *Escherichia coli*. Department of Biomedical Engineering, Center for BioDynamics and Center for Advanced Biotechnology, Boston University, 44 Cummington Street, Boston, Massachusetts 02215, USA.