به نام خدا

زیست‌شناسی مصنوعی و طراحی شبکه‌های زیستی - ۴۰۵۷۲

دکتر بابک حسین خلج – دکتر مجتبی تفاق

دانشکده مهندسی کامپیوتر

دانشگاه صنعتی شریف

زیست‌شناسی مصنوعی

تمرین سری اول

موعد تحویل: جمعه ۹ دی

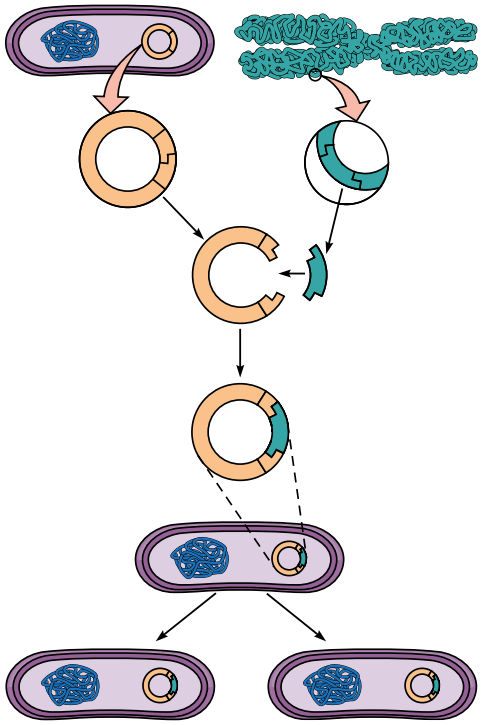
پرسش: در صورت داشتن هر گونه ابهام با آیدی تلگرام alregamo@ یا parastoo_aziz@ و یا ایمیل‌های alireza.agm@gmail.com و parastooaziz79@gmail.com ارتباط برقرار کنید.

نحوه تحویل: پاسخ قسمت‌های تئوری را به صورت یک فایل PDF تحویل دهید. برای قسمت‌های شبیه‌سازی نیز کد ها و فایل گزارش خود را همراه با پاسخ سوالات قسمت تئوری به صورت یک فایل zip/rar/... درCW آپلود کنید. گزارش و نتایج تنها در صورتی معتبر هستند که اجرای کدها با خطا همراه نباشد. انتخاب زبان برنامه‌نویسی برای انجام تکالیف اختیاری میباشد و از هر زبان برنامه‌نویسی میتوانید استفاده کنید اما پیشنهاد ما استفاده از پایتون یا متلب میباشد.

پاییز ۱۴۰۱

۱ DNA Cloning

یکی از اهداف مهم در زیست‌شناسی مصنوعی، ایجاد تغییرات ژنتیکی و قرار دادن ژن هدف در موجود مورد آزمایش و amplify کردن آن می‌باشد؛ بنابراین، اورگانیسم مورد نظر ما دارای ویژگی‌هایی خواهد شد که در ابتدا آن‌ها را نداشته است. برای این کار روش‌های مختلفی پدید آمده است اما در این بخش به روش کلاسیک آن می‌پردازیم.



الف) درباره Traditional DNA Cloning تحقیق کنید و مراحل آن را توضیح دهید. چگونه می‌توانیم ژن مورد نظر(Gene of Interest) خود را با این روش در باکتری قرار دهیم؟ همچنین درباره نقش Restriction Enzymes و DNA Ligase در این روش به طور خلاصه توضیحاتی ارائه دهید.

ب) محدودیت‌های این روش چیست؟ روش‌های جدیدتر DNA Cloning را نام برده و یکی از آن‌ها را به طور خلاصه معرفی کنید.

۲ Mass Action Kinetics

معادلات دیفرانسیل مربوط به واکنش‌های زیر را بنویسید و حل کنید.

- $A + E \xrightarrow{k} B + E$
- $3A \xrightarrow{k} B$
- $3A + 2B \underset{k_2}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} C + D \xrightarrow{k_3} E + A$ (حل معادلات لازم نیست.)

۳ نرخ تولید پروتئین

حالت کامل زیر را در نظر بگیرید و نرخ تولید پروتئین را بدست آورید.

- X: Inactive Transcription Factor (TF)
- X^*: Active Transcription Factor (TF)
- S_x: Signaling Molecule of TF
- D_0: Unbounded DNA
- D_1: Bounded DNA
- P: RNA polymerase (RNAp)
- Y: Protein

$$X + S_x \rightleftharpoons X^*$$

$$X^* + D_0 \rightleftharpoons D_1$$

$$D_1 + P + [y_i] \rightleftharpoons D_1 + P + Y$$

۴ دینامیک mRNA و اثر آن بر نرخ تولید پروتئین

در کلاس راجع به فعالسازی حاصل transcription یک ژن (mRNA) توضیح داده شد و دینامیک تولید محصول این ژن، پروتئین Y، به صورت زیر بیان شد:

$$\frac{dY}{dt} = \beta - \alpha Y$$

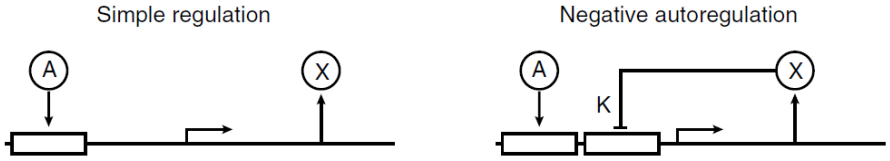
که در این معادله، β نرخ تولید پروتئین می‌باشد. در واقعیت اما، mRNA نیز باید به پروتئین ترجمه شود (translation) و خود mRNA نیز توسط آنزیم‌های خاصی به مرور degrade می‌شود.

الف) فرض کنید mRNA با نرخ α_m دچار degradation و با نرخ β_m تولید می‌شود. هم‌چنین فرض کنید هر mRNA به طور متوسط P مولکول پروتئین در واحد زمان تولید می‌کنید. همچنین نرخ degrade شدن پروتئین را α در نظر بگیرید. معادلات دیفرانسیل توصیف کننده دینامیک سیستم(غلظت mRNA و پروتئین) را بدست آورید.

ب) معمولا نرخ degrade شدن mRNA بسیار سریع‌تر از نرخ از بین رفتن پروتئین است ($\alpha_m \gg \alpha$). آیا می‌توان از فرض quasi-steady-state برای مقدار mRNA، یعنی سطح(مقدار) mRNAها نسبت به فرایند کندتر در حالت پایدار خود هستند استفاده کرد؟ (راهنمایی: زمان پاسخ(response time), یعنی مدت زمان رسیدن غلظت مولکول به نصف مقدار حالت پایدار را برای mRNA و پروتئین بدست آورید و با هم مقایسه کنید.)

پ) با فرض قسمت قبل، نرخ تولید موثر پروتئین (β) را بر حسب p و α_m, β_m بدست آورید.

۵ Negative Autoregulation با تابع ورودی Hill



زمان پاسخ (response time)، یعنی مدت زمانی که طول می‌کشد غلظت مولکول X به نصف مقدار حالت پایدار خود برسد را در مدار NAR، هنگامی که X پروموتر(promoter) خود را repress می‌کند، بدست آورید. این repress کردن را با استفاده از تابع Hill با ضریب n در نظر بگیرید. سپس آن را نسبت به این زمان در مدار ساده Simple Regulation به ازای n=1,2,3,4 مقایسه کنید. (برای مقایسه صحیح، فرض کنید نرخ degrade شدن هر دو حالت یکسان و برابر با α است.)

- Negative Autoregulation:

$$\frac{dX}{dt} = \frac{\beta}{1 + \left(\frac{X}{K}\right)^n} - \alpha X$$

- Simple Regulation:

$$\frac{dX}{dt} = \beta - \alpha X$$

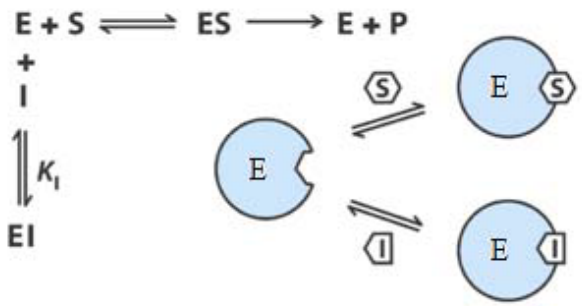
فرض کنید که Strong Autorepression داریم؛ یعنی $\left(\frac{X}{K}\right)^n \gg 1$.

(راهنمایی: در حل معادله دیفرانسیل مدار NAR، از تغییر متغیر $u = X^{n+1}$ استفاده کنید.)

۶ بازدارنده‌های رقابتی و غیررقابتی

در کلاس مدل ساده واکنش زیر را بررسی کردیم :

$$E + S \rightleftharpoons ES \rightarrow E + P$$

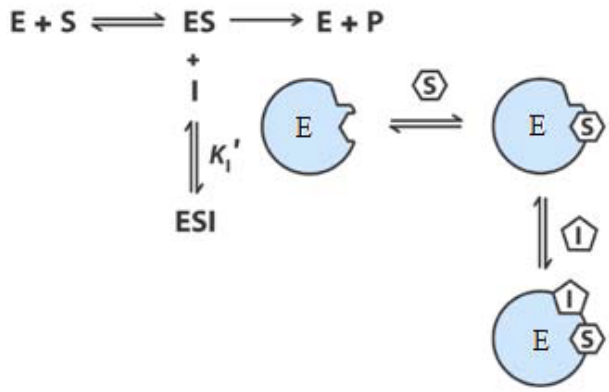


الف) مهارکننده های برگشت‌پذیر آنزیم می‌توانند آنزیم‌ها را به طور برگشت‌پذیر متصل کرده و واکنش‌های آنزیمی را کند یا متوقف کنند. اگر یک مهارکننده محل فعال آنزیم را اشغال کند و از اتصال substrate به آنزیم جلوگیری کند، آن را مهارکننده رقابتی می‌نامیم.

در حضور یک بازدارنده رقابتی، معادله Michaelis-Menten تبدیل می شود به:

$$V_0 = \frac{V_{max} S_0}{\alpha K_M + S_0}$$

α بر حسب K_I و I_0 چیست؟ این حالت را با حالت ساده‌ای که در کلاس بررسی کردیم مقایسه کنید. (راهنمایی: با تعریف غلظت کل آنزیم به صورت $[E]_{tot} = [E] + [ES] + [EI]$ شروع کنید و از مشتق معادله Michaelis-Menten به عنوان راهنما استفاده کنید. $S_0, I_0 \gg [E]_{tot}$ را فرض کنید.)



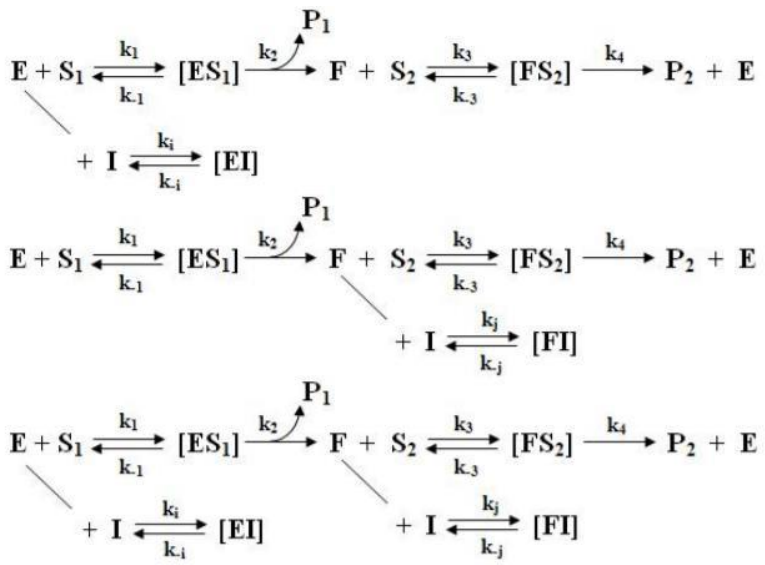
ب) بر خلاف یک بازدارنده رقابتی، یک بازدارنده غیررقابتی فقط به کمپلکس Enzyme-Susbtrate (ES) در محلی متمایز از سایت فعال Susbtrate متصل می شود.

در حضور یک بازدارنده غیررقابتی، معادله Michaelis-Menten به معادله زیر تبدیل میشود:

$$V_0 = \frac{V_{max} S_0}{K_M + \beta S_0}$$

β بر حسب K_I' و I_0 چیست؟؟ این حالت را با حالت ساده‌ای که در کلاس بررسی کردیم مقایسه کنید.

پ) در واکنشهای زیر تاثیر حالت اول(مهارکننده رقابتی) را بر روی سوال قبل میبینیم، که میتواند بر روی واکنش اول، واکنش دوم و یا هر دو صورت گیرد. معادلات دیفرانسیل مربوط به این سه واکنش را نیز بنویسید .



ت) معادلات دیفرانسیل حاصل از قسمت قبل را با استفاده از متلب یا پایتون و با شرایط زیر حل کرده و غلظت پروتئینهای P_1 و P_2 را بر حسب زمان و در بازه زمانی $[0\ 30000]$ درحضور مهارکننده‌ها و در صورت نبود آنها رسم کنید و با یکدیگر مقایسه کنید.

$E0 = 10\ \mu mol$	$k_1 = 2 \times 10^{-3}\ (sec \times \mu mol)^{-1}$	$k_{-1} = 1 \times 10^{-3}\ (sec)^{-1}$
$s_1 0 = 300\ \mu mol$	$k_2 = 5 \times 10^{-3}\ (sec)^{-1}$	$k_i = k_j = 10^{-3}\ (sec \times \mu mol)^{-1}$
$s_2 0 = 300\ \mu mol$	$k_3 = 3 \times 10^{-3}\ (sec \times \mu mol)^{-1}$	$k_{-3} = 1.5 \times 10^{-3}\ (sec)^{-1}$
$I = 30\ \mu mol$	$k_4 = 5 \times 10^{-3}\ (sec)^{-1}$	$k_{-i} = k_{-j} = 7 \times 10^{-4}\ (sec)^{-1}$