

UNIVERSIDAD DE LOS ANDES

DEPARTAMENTO DE FÍSICA

BIOLOGÍA SINTÉTICA

Proyecto

Autores:

Manuela VANEGAS FERRO

Juan David ESTUPIÑÁN MÉNDEZ

Luis Alberto GUTIÉRREZ LÓPEZ

Profesor:

Juan Manuel PEDRAZA LEAL

Mayo 21 de 2015

Índice

1. Introducción	2
2. Modelo Matemático	2
2.1. Ecuaciones de Hill	2
2.2. Reacciones enzimáticas	4
2.3. Modelo determinista	5
2.4. Modelo estocástico	5

1. Introducción

2. Modelo Matemático

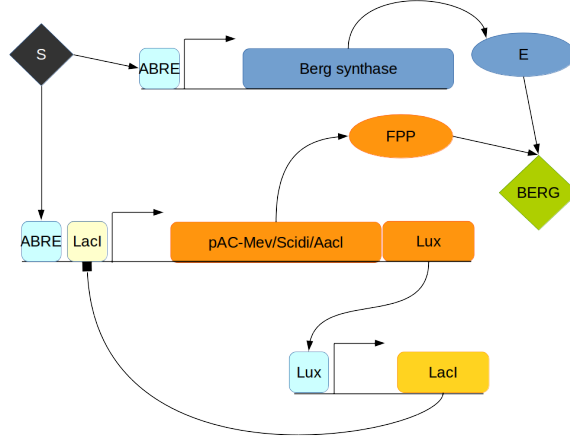


Figura 1: This is a figure caption.

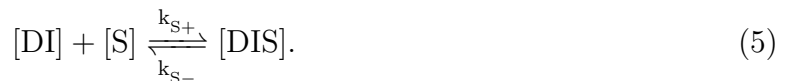
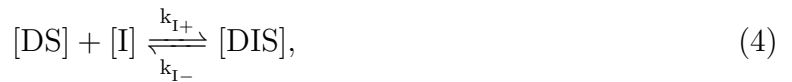
2.1. Ecuaciones de Hill

Se modeló la parte transcripcional como se ha hecho en clase y está explicado en [1]. Consideramos que el ADN total del gen a transcribir D_T es constante, es decir:

$$[D_T] = [D] + [DS] + [DI] + [DIS], \quad (1)$$

Donde $[D]$ representa el ADN libre, $[DIS]$ el ADN unido tanto al represor I como al activador S , $[DS]$ el unido al activador, y $[DI]$ el unido al represor.

Para realizar balance detallado se consideraron las siguientes ecuaciones químicas, las cuales son equivalentes al diagrama del inicio de la primera tarea del curso.



Donde las k son las constantes de las respectivas reacciones y se define la constante de disociación como $K = \frac{k_-}{k_+}$ [1]. Según las ecuaciones químicas podemos plantear las ecuaciones diferenciales. Al evaluar tiempos mucho mayores a los tiempos en los que ocurre la unión entre el ADN y los factores de transcripción es válido suponer que se ha alcanzado el estado estacionario, obteniendo entonces de las ecuaciones anteriores:

$$[\dot{D}] = 0 = -k_{S+}[D][S] + k_{S-}[DS] = -k_{I+}[D][I] + k_{I-}[DI], \quad (6)$$

De donde se tiene que:

$$[D][S] = K_S[DS], \quad [D][I] = K_I[DI] \quad (7)$$

Ahora se busca hallar la razón entre el ADN en los distintos estados (dados por la ecuación 1), se realizará detalladamente para $[DS]$. De la ecuación 7 se obtiene:

$$[D] = \frac{K_S}{S}[DS], \quad [DIS] = \frac{I}{K_I}[DS], \quad [DI] = \frac{K_S}{S}[DIS] = \frac{K_S}{S} \frac{I}{K_I}[DS], \quad (8)$$

Para incluir los coeficientes de Hill en el modelo, se realiza el mismo análisis pero considerando la posibilidad de que varias moléculas de los factores de transcripción pueden unirse al ADN, siguiendo el procedimiento del apéndice A.2 de [1] obtenemos un resultado similar a la ec. 8, pero con las fracciones dependientes de S e I elevadas a los coeficientes de Hill n_S y n_I , respectivamente. Por lo tanto al reemplazar esto en la ec. 1 y reorganizando se tiene que:

$$\frac{[DS]}{[D_T]} = \frac{1}{\left(\frac{K_S}{S}\right)^{n_S} + \left(\frac{I}{K_I}\right)^{n_I} \left(\frac{K_S}{S}\right)^{n_S} + 1 + \left(\frac{I}{K_I}\right)^{n_I}}, \quad (9)$$

La expresión anterior representa la fracción de ADN ligado a S que hay en equilibrio, al considerar un tiempo suficientemente largo para que ocurran muchos eventos de unión y disociación de los factores de transcripción esto se puede interpretar como la probabilidad de que el ADN se encuentre en este estado y por lo tanto que la transcripción se dé en él. Así, al multiplicar por la fuerza del promotor β obtenemos la tasa de transcripción en dicho estado del ADN.

De la misma manera se pueden realizar el análisis para $[DI]$, $[D]$ y $[DIS]$ para obtener las tasas de transcripción en cada uno de los estados. La tasa total es la suma de todas las tasas, donde además se toma la tasa correspondiente al ADN libre como una constante α . También se sigue un procedimiento similar para hallar la tasa de producción de r_E , que es mucho más sencillo pues sólo hay un promotor. Se incluye un término de degradación γ tanto de ARN como de proteínas y se incluye también una tasa de creación de proteínas k_P que tomaremos como constante y se determinará según el RBS.

Las ecuaciones que se obtienen son las siguientes:

Esto
por
que

$$\begin{aligned} \dot{r}_Z(t) = & \alpha_{IS} + \frac{\beta_{IS_I}}{\left(\frac{K_I}{I}\right)^{n_I} + 1 + \left(\frac{S}{K_S}\right)^{n_S} \left(\frac{K_I}{I}\right)^{n_I} + \left(\frac{S}{K_S}\right)^{n_S}} \\ & + \frac{\beta_{IS_S}}{\left(\frac{K_S}{S}\right)^{n_S} + \left(\frac{I}{K_I}\right)^{n_I} \left(\frac{K_S}{S}\right)^{n_S} + 1 + \left(\frac{I}{K_I}\right)^{n_I}} + \frac{\beta_{IS_{IS}}}{\left(\frac{K_I}{I}\right)^{n_I} \left(\frac{K_S}{S}\right)^{n_S} + \left(\frac{K_S}{S}\right)^{n_S} + \left(\frac{K_I}{I}\right)^{n_I} + 1} - \gamma_{r_Z} r_Z \end{aligned} \quad (10)$$

$$\dot{Z}(t) = k_Z r_Z - \gamma_Z Z \quad (11)$$

$$\begin{aligned} \dot{r}_I(t) = & \alpha_{IS} + \frac{\beta_{IS_I}}{\left(\frac{K_I}{I}\right)^{n_I} + 1 + \left(\frac{S}{K_S}\right)^{n_S} \left(\frac{K_I}{I}\right)^{n_I} + \left(\frac{S}{K_S}\right)^{n_S}} \\ & + \frac{\beta_{IS_S}}{\left(\frac{K_S}{S}\right)^{n_S} + \left(\frac{I}{K_I}\right)^{n_I} \left(\frac{K_S}{S}\right)^{n_S} + 1 + \left(\frac{I}{K_I}\right)^{n_I}} + \frac{\beta_{IS_{IS}}}{\left(\frac{K_I}{I}\right)^{n_I} \left(\frac{K_S}{S}\right)^{n_S} + \left(\frac{K_S}{S}\right)^{n_S} + \left(\frac{K_I}{I}\right)^{n_I} + 1} - \gamma_{r_I} r_I \end{aligned} \quad (12)$$

$$\dot{I}(t) = k_I r_I - \gamma_I I \quad (13)$$

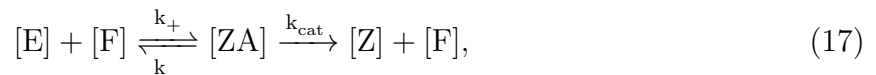
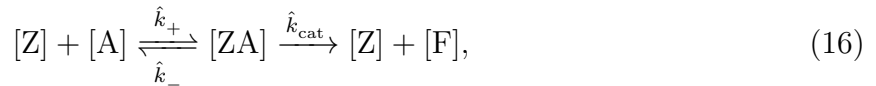
$$r_E(t) = \alpha_S + \frac{\beta_S}{1 + \left(\frac{K_S}{S}\right)^{n_S}} - \gamma_{r_E} r_E \quad (14)$$

$$\dot{E}(t) = k_E r_E - \gamma_E E \quad (15)$$

Mirar si se ponen las condiciones iniciales aqui o que

2.2. Reacciones enzimáticas

Las reacciones enzimáticas en este caso no se pueden modelar directamente utilizando la ecuación de Michaelis-Menten porque hay dos ecuaciones químicas para las enzimas y éstas no son independientes, pues como se ve a continuación:



[F] depende de las dos ecuaciones, incluyendo términos adicionales en las ecuaciones diferenciales. Las constantes k de las reacciones están dadas y se aproxima la catálisis como una reacción irreversible, lo cual es muy preciso para reacciones enzimáticas. Según lo anterior las ecuaciones diferenciales quedan:

explicar mejor, citar una figura por ejemplo

?

$$[\dot{B}] = k_{\text{cat}}[E][F] - \gamma_B B \quad (18)$$

$$[\dot{Z}A] = \hat{k}_+[Z][A] - \hat{k}_-[ZA] - \hat{k}_{\text{cat}}[ZA] \quad (19)$$

$$[\dot{EF}] = k_+[E][F] - k_-[EF] - k_{\text{cat}}[EF] \quad (20)$$

$$[\dot{F}] = -k_+[E][F] + k_-[EF] + \hat{k}_{\text{cat}}[ZA] \quad (21)$$

Como las reacciones enzimáticas generalmente ocurren a tasas mucho mayores que los tiempos típicos de degradación de las proteínas, las tasas de degradación para los pasos intermedios son despreciables, siendo necesario incluirla únicamente en la ecuación para B. Asumiendo que los complejos enzima-sustrato están en equilibrio, es decir, $[Z\dot{A}] = 0$ y $[E\dot{F}] = 0$ obtenemos de las ecuaciones 19 y 20:

citar?

$$[ZA] = \hat{K}_M[Z][A] \quad \text{donde } \hat{K}_M := \frac{\hat{k}_+}{\hat{k}_- + \hat{k}_{\text{cat}}}, \quad (22)$$

$$[EF] = K_M[E][F] \quad \text{donde } K_M := \frac{k_+}{k_- + k_{\text{cat}}}, \quad (23)$$

Donde K_M y \hat{K}_M son las constantes de Michaelis de las reacciones. Reemplazando esto en 21 y reorganizando obtenemos:

$$[\dot{F}] = \hat{k}_{\text{cat}}\hat{K}_M[Z][A] + (k_-K_M - k_+)[E][F], \quad (24)$$

$$[\dot{B}] = k_{\text{cat}}[E][F] - \gamma_B[B]. \quad (25)$$

Las cuales son las ecuaciones diferenciales para F y B que dependen de las cantidades conocidas, ambas ecuaciones junto con 10 - 15 y las condiciones iniciales para cada una de las funciones serán las incluidas en los modelos deterministas y estocástico.

2.3. Modelo determinista

decir que inicialmente se querían oscilaciones

2.4. Modelo estocástico

Para realizar la simulación estocástica se utilizó el algoritmo de Gillespie. Si los eventos de producción de ARN y proteínas son considerados separadamente se tendrían 8 eventos, lo cual tomaría mucho tiempo en ejecutar. Por lo tanto, se realizó el algoritmo con ráfagas de proteínas, de tal forma que al evento de producirse un RNA, se producen $\frac{k_P}{\gamma_r}$ proteínas. Esto es lo que corresponde al promedio de proteínas que se pueden traducir de un RNA durante su tiempo de vida.

Referencias

- [1] Uri Alon. *An Introduction to Systems Biology. Design Principles of Biological Circuits*. Chapman and Hall/CRC, 1 edition, 2006.
- [2] W.W. Cleland. The kinetics of enzyme-catalyzed reactions with two or more substrates or products: I. Nomenclature and rate equations. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Specialized Section on Enzymological Subjects*, 67:104–137, 1963.
- [3] Robert L. Crocker and W. H. Whitcomb. Feeding Niches of the Big-Eyed Bugs *Geocoris bullatus*, *G. punctipes*, and *G. uliginosus* (Hemiptera: Lygaeidae: Geocorinae). *Environmental Entomology*, 9(5):508–513, 1980.
- [4] Hanna Engelberg-Kulka, Boaz Sat, Myriam Reches, Shahar Amitai, and Ronen Hazan. Bacterial programmed cell death systems as targets for antibiotics. *Trends in Microbiology*, 12(2):66–71, 2004.
- [5] Hisashi Harada and Norihiko Misawa. Novel approaches and achievements in biosynthesis of functional isoprenoids in *Escherichia coli*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 84(6):1021–1031, 2009.
- [6] Hisashi Harada, Fengnian Yu, Sho Okamoto, Tomohisa Kuzuyama, Ryutaro Utsumi, and Norihiko Misawa. Efficient synthesis of functional isoprenoids from acetoacetate through metabolic pathway-engineered *Escherichia coli*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 81(5):915–925, 2009.
- [7] James Kirby and Jay D. Keasling. Biosynthesis of Plant Isoprenoids: Perspectives for Microbial Engineering. *Annual Review of Plant Biology*, 60:335–355, 2009.
- [8] André Kressler and Ian T. Baldwin. Defensive Function of Herbivore-Induced Plant Volatile Emissions in Nature. *Science*, 291:2141–2144, 2001.
- [9] Christophe Sallaud, Denis Rontein, Sandrine Onillon, Françoise Jabès, Philippe Duffé, Cécile Giacalone, Samuel Thoraval, Camille Escoffier, Gaëtan Herbette, Nathalie Leonhardt, Mathilde Causse, and Alain Tissier. A Novel Pathway for Sesquiterpene Biosynthesis from Z,Z-Farnesyl Pyrophosphate in the Wild Tomato *Solanum habrochaites*. *The Plant Cell*, 21(1):301–317, 2009.
- [10] Ted C. J. Turlings, John H. Loughrin, Philip J. McCall, Ursula S. R. Röse, W. Joe Lewis, and James H. Tumlinson. How caterpillar-damaged plants protect themselves by attracting parasitic wasps. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92(10):4169–4174, 1995.