

# **Selbst-Regulierende Gen-Schalter und Molekulare Evolution**

Defensio-Vortrag

Stefanie Widder

Institut für Theoretische Chemie and Molekulare Strukturbiologie  
Universität Wien

*Wien, Dezember 2003*

## *Gliederung*

- ★ Einführung in die Thematik
- ★ Entwicklung eines mathematischen Modells zur Beschreibung eines selbst-regulierenden Gen-Schalters
- ★ Molekulare Evolution *in silico*: “RegNet” der Flussreaktor
- ★ Evolution von Populationen aus Netzwerk-Individuen
- ★ Conclusio

## *Gliederung*

- ★ Einführung in die Thematik

- ★ Entwicklung eines mathematischen Modells zur Beschreibung eines selbst-regulierenden Gen-Schalters

- ★ Molekulare Evolution *in silico*: “RegNet” der Flussreaktor

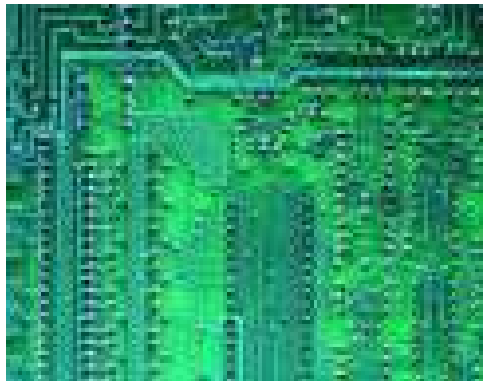
- ★ Evolution von Populationen aus Netzwerk-Individuen

- ★ Conclusio

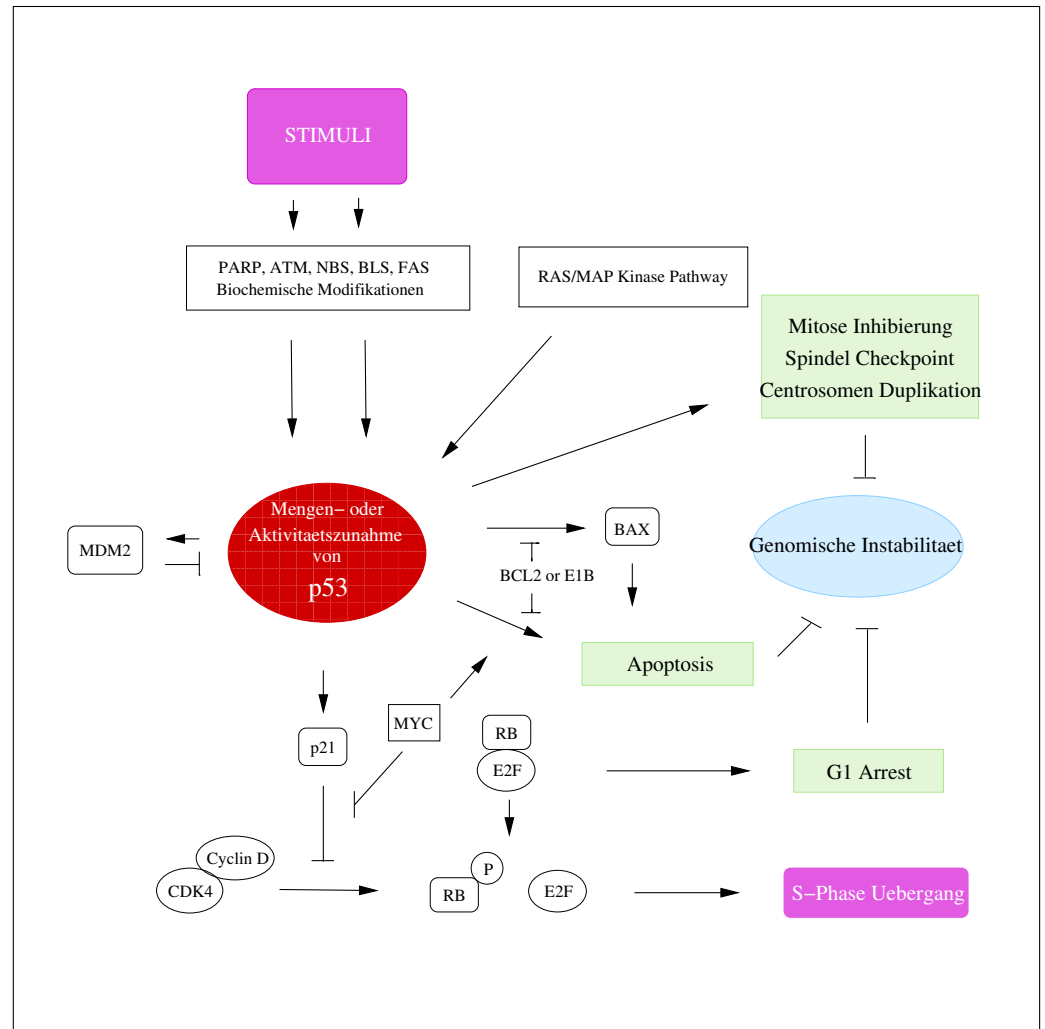
# Netzwerke



Netz einer Spinne.



Elektronischer Schaltkreis basierend auf modularen Einzelteilen.



Netzwerk des Tumor Suppressors p53 nach Agarwal et al. 1998.

*Kinetische Differentialgleichung*

$$\frac{dx_i}{dt} = f(x_1, x_2, \dots, x_n; k_1, k_2, \dots, k_m); i = 1, 2, \dots, n$$

*Reaction – Diffusion Gleichung*

$$\frac{\partial x_i}{\partial t} = D_i \nabla^2 x_i + f(x_1, x_2, \dots, x_n; k_1, k_2, \dots, k_m); i = 1, 2, \dots, n$$

*ParameterSet*

$$k_j(T, p, pH, \dots; x_1, x_2, \dots, x_n); j = 1, 2, \dots, m$$

*Allg. Bedingungen : T, p, pH, ...*

*Anfangsbedingungen :  $x_i(0); i = 1, 2, \dots, n$*

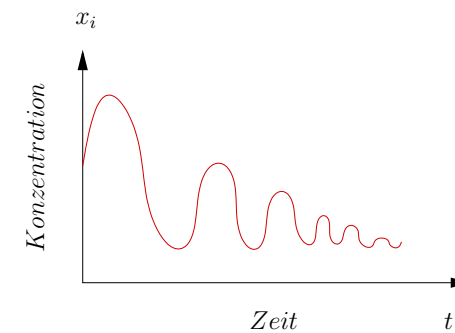
*Randbedingungen : Rand ..  $\vec{s}$*

*Einheits – Normalvektor ..  $\hat{u}$*

*Dirichlet,  $x_i^{\vec{s}} = f(\vec{r}, t); i = 1, 2, \dots, n$*

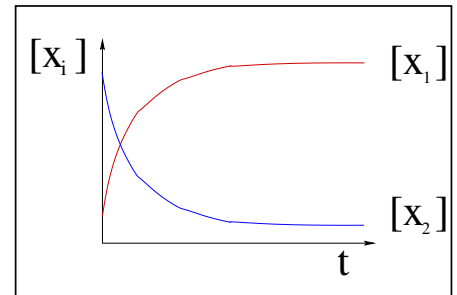
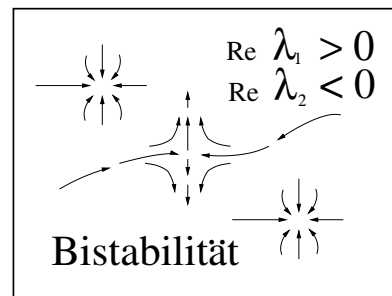
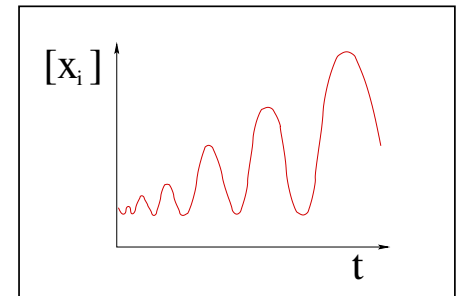
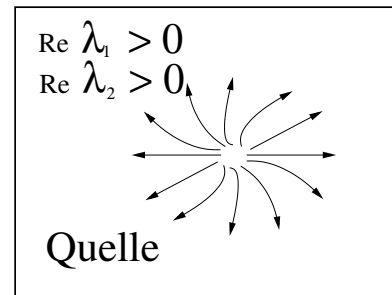
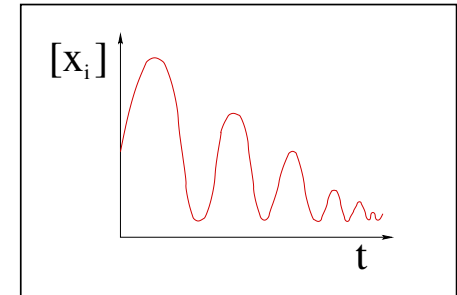
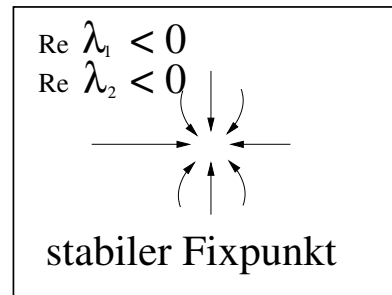
*Neumann,  $\frac{\partial x_i}{\partial u} = \hat{u} \nabla x_i^{\vec{s}} = f(\vec{r}, t); i = 1, 2, \dots, n$*

*Loesungskurve :  $x_i(t); i = 1, 2, \dots, n$*

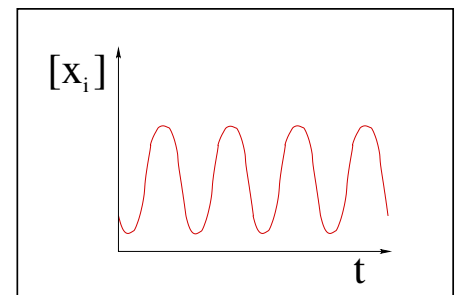
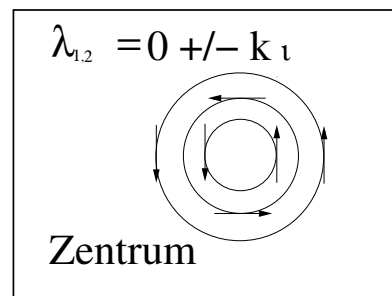


*Formale Darstellung von Netzwerken anhand chemischer Reaktionskinetik*

# Fixpunkte und deren Konzentrationsdynamik

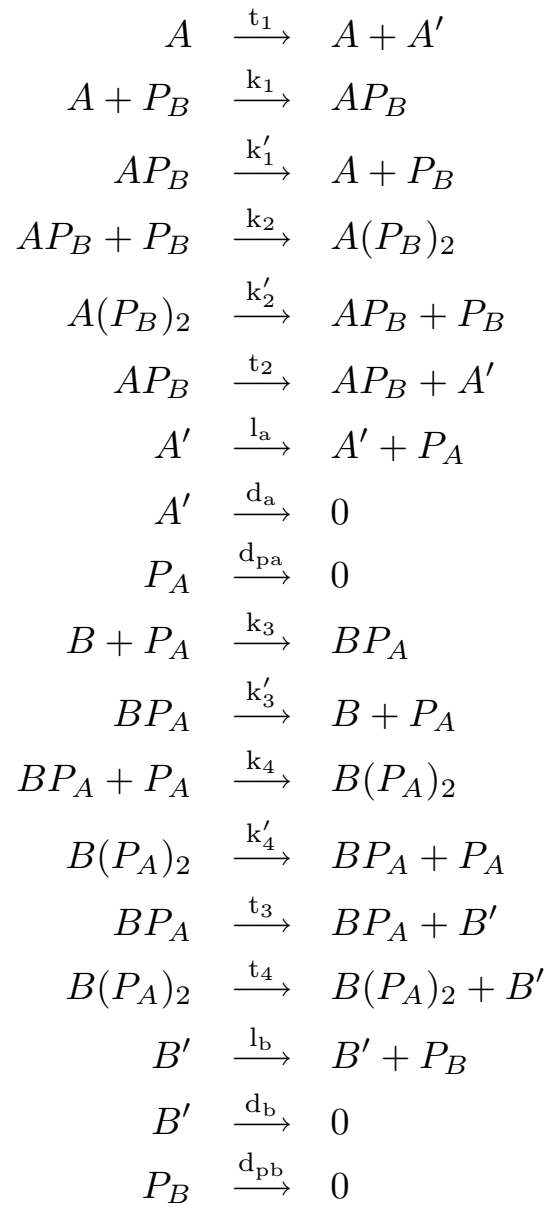


$\lambda_i$  .. Eigenwerte der Jacobi-Matrix am Fixpunkt.

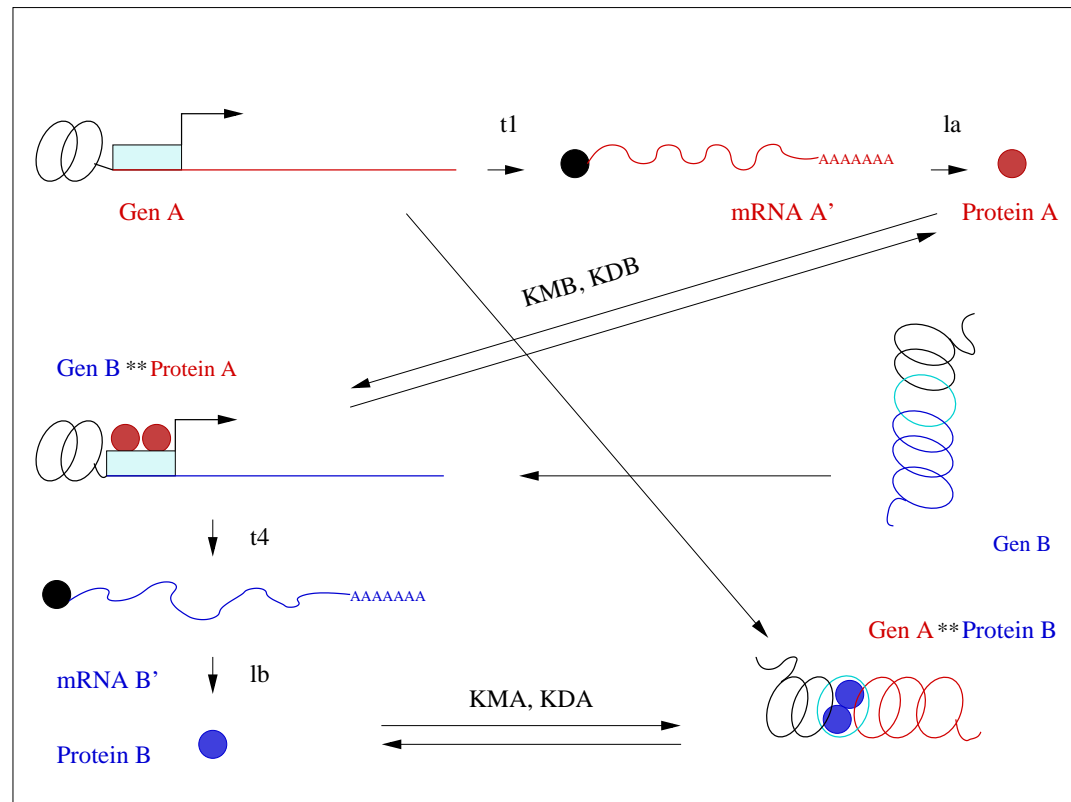


## *Gliederung*

- ★ Einführung in die Thematik
- ★ Entwicklung eines mathematischen Modells zur Beschreibung eines selbst-regulierenden Gen-Schalters
- ★ Molekulare Evolution *in silico*: “RegNet” der Flussreaktor
- ★ Evolution von Populationen aus Netzwerk-Individuen
- ★ Conclusio



## Der Plus-minus-kOOPerativität Gen-Switch PLOOP



*PLOOP ist exakt bestimmt durch vier Variablen:*

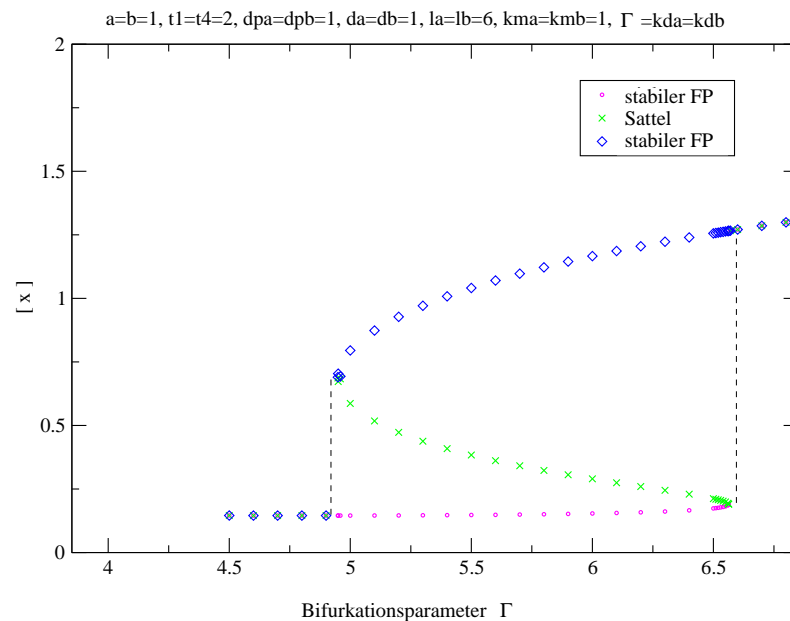
$$[A'] = x, [B'] = y, [P_A] = v, [P_B] = w$$

$$\begin{aligned}\frac{dx}{dt} &= \frac{t_1 a_0}{1 + K_{MA}w + K_{DA}K_{MA}w^2} - d_a x \\ \frac{dy}{dt} &= \frac{t_4 b_0 K_{MB}K_{DB}v^2}{(1 + K_{DB}v)(1 + K_{MB}v + K_{DB}K_{MB}v^2)} - d_b y \\ \frac{dv}{dt} &= l_a x - d_p a v \\ \frac{dw}{dt} &= l_b y - d_a w\end{aligned}$$

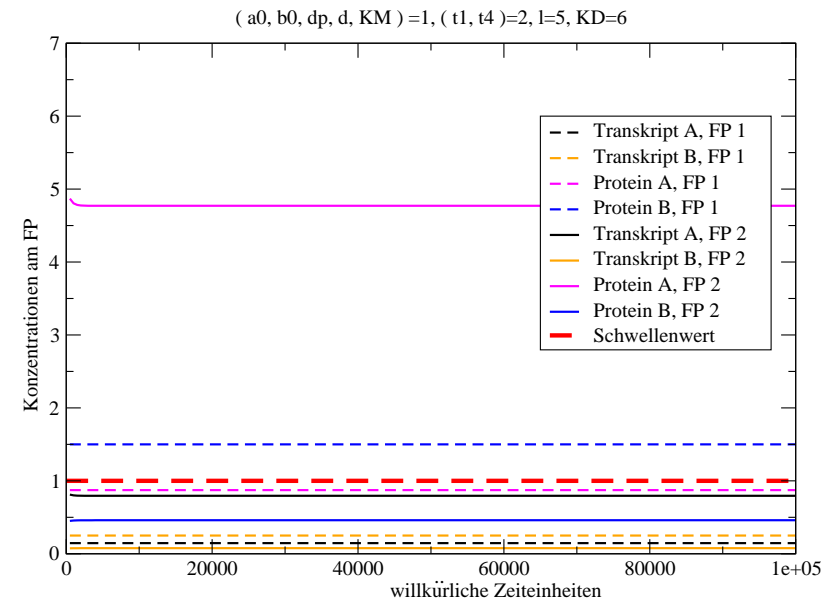
*Der Fixpunkt* in allen vier Dimensionen ist definiert durch ein Polynom 7. Grades und ist nur computer-gestützt analysierbar.

# PLOOP Analyse I

Bifurkation von  $\bar{x}$



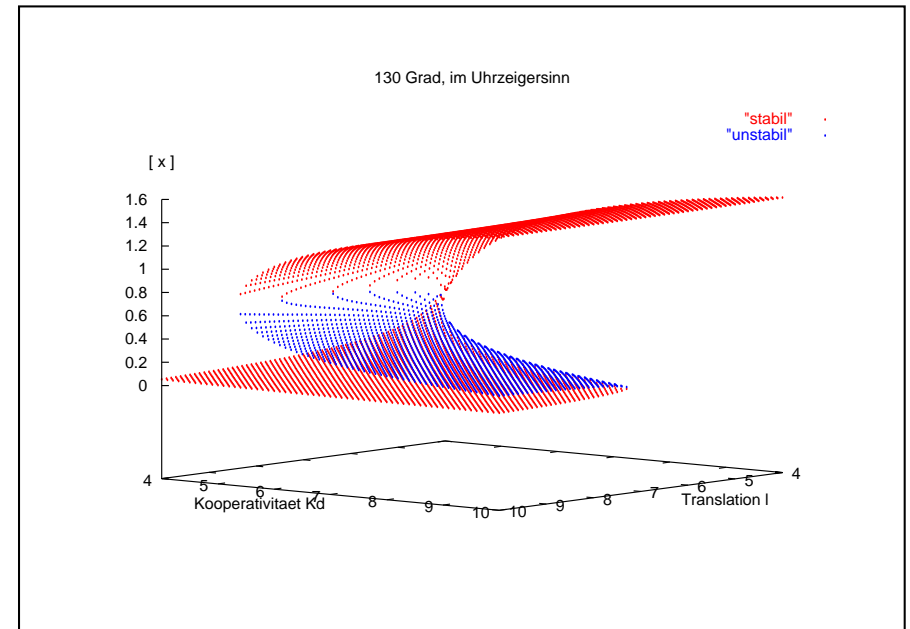
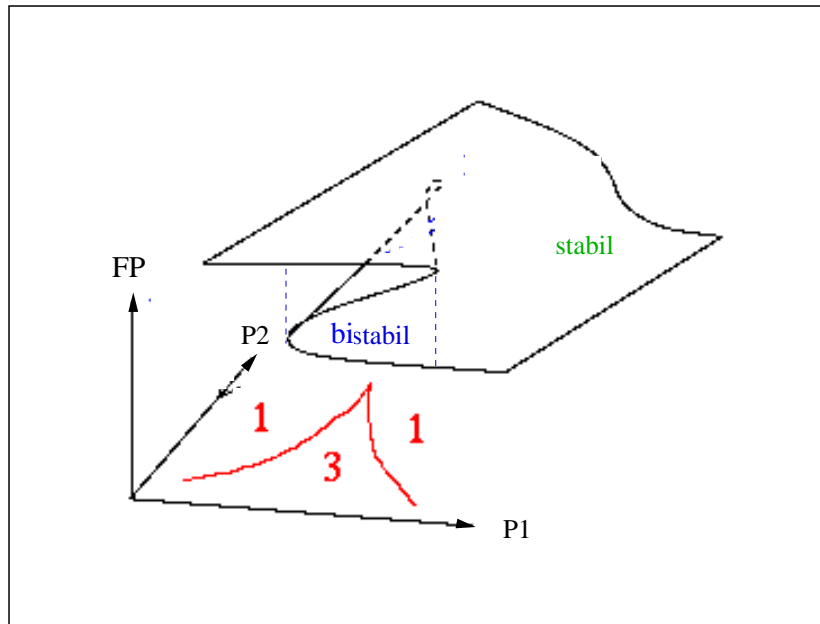
Zeitreihe im Regime der Bistabilität



*Links:* Subkritische Bifurkation am Fixpunkt. Mannigfaltigkeit  $\bar{x}$  wird gezeigt.

*Rechts:* Gen-Switch. Zeitserie mit zwei verschiedenen Sets von Anfangsbedingungen im Parameterregime von Bistabilität. Alle vier Dimensionen werden abgebildet.

## PLOOP Analyse II



Links: Schema der Fixpunktlandschaft, Ausschnitt.  $S \cup B = P$ ,  $S \cap B = \{\}$ .

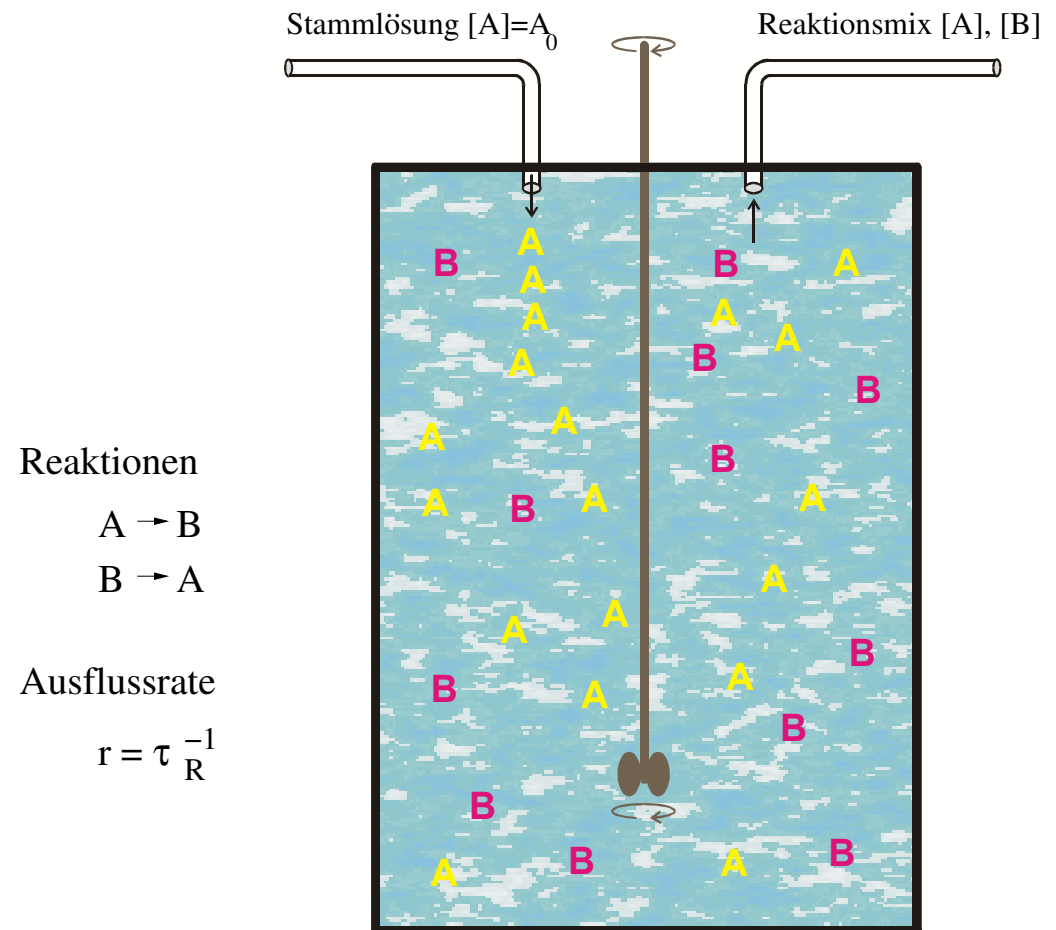
Rechts: Fixpunktlandschaft um  $a_0 = b_0 = 1$ ,  $t = 2$ ,  $d = d_p = 1$ ,  $l = [4, 10]$ ,  $K_M = 1$ ,  $K_D = [4, 10]$ , Mannigfaltigkeit  $\bar{x}$  ist dargestellt.

## *Gliederung*

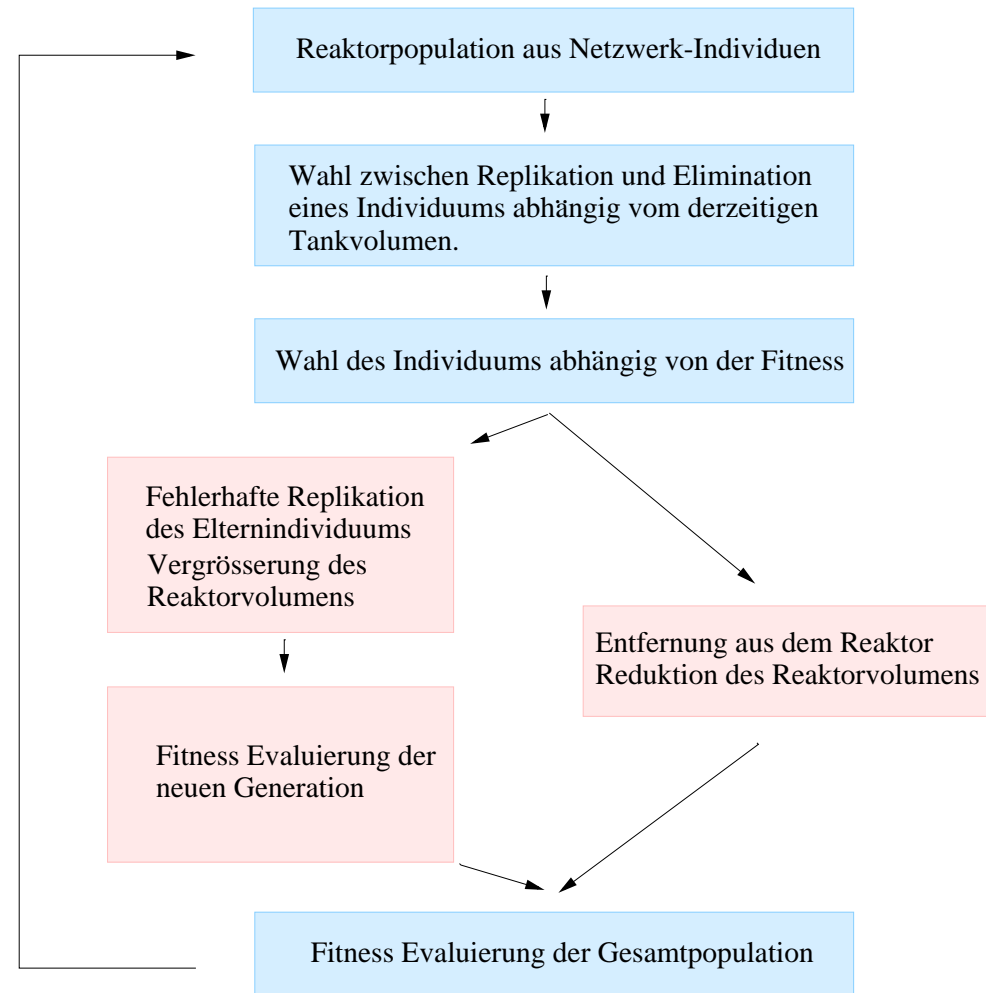
- ★ Einführung in die Thematik
- ★ Entwicklung eines mathematischen Modells zur Beschreibung eines selbst-regulierenden Gen-Schalters
- ★ **Molekulare Evolution *in silico*: "RegNet" der Flussreaktor**
- ★ Evolution von Populationen aus Netzwerk-Individuen
- ★ Conclusio

# Kontinuierlich durchmischter Flussreaktor

Abbildung nach Schuster.



*Evolution im in silico Flussreaktor "RegNet"*  
Schema des Algorithmus

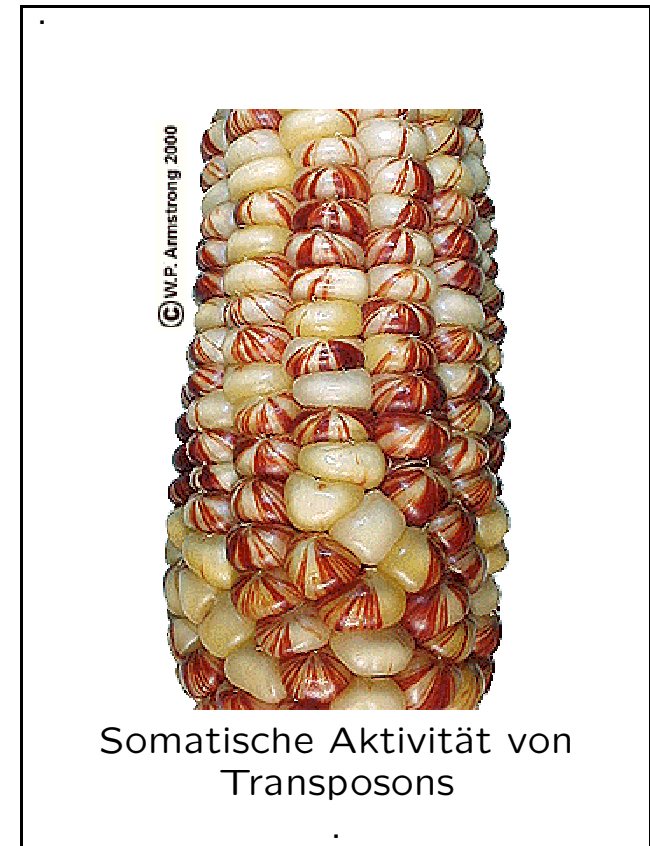
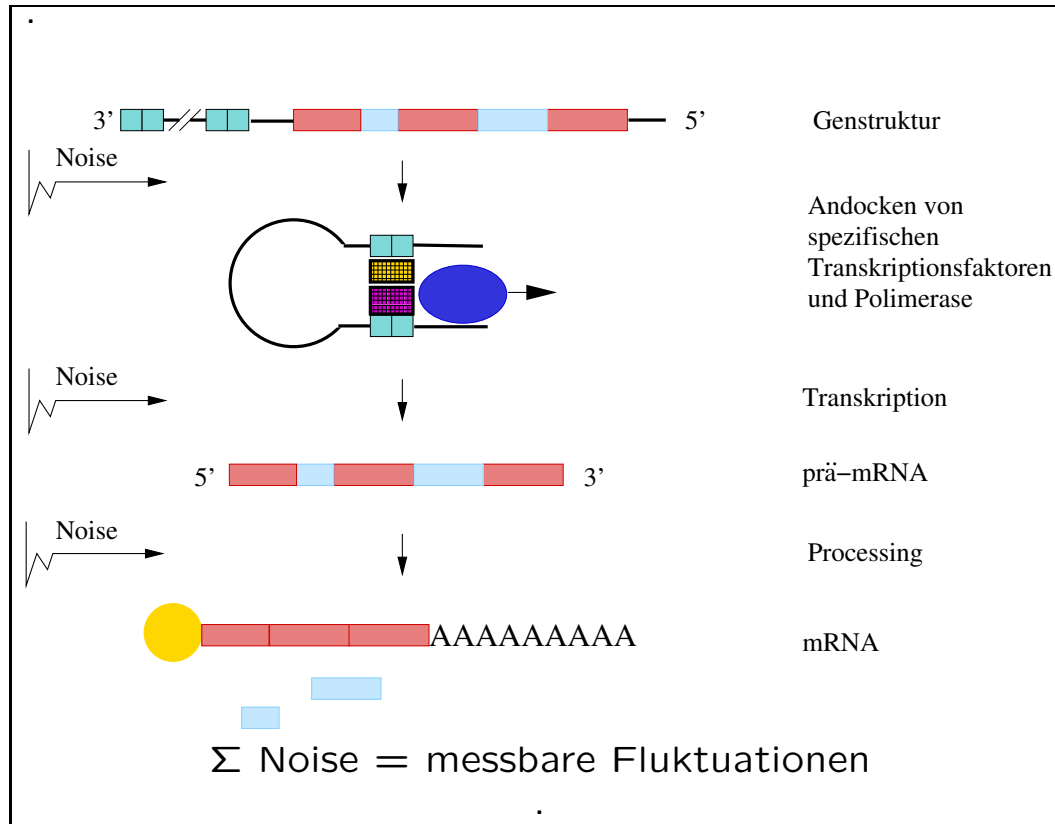


## RegNet “Internals”

- ★ Fitness des Individuums  $F(R) = \alpha_M F_M(R) + \alpha_D F_D(R) \leq 1$
- ★  $F_M(R)$  besteht aus Sequenz- und Struktur-Kriterien für Promotor und Enhancer Elemente der Gene, einem Energie-Kriterium für die Sekundärstruktur der Transkripte und einem Strukturvergleich der Proteine mit einem DNA-bindenden Enzym.
- ★  $F_D(R)$  basiert auf der Berechnung der Dynamik des Netzwerks, Bistabilität wird bevorzugt evaluiert.
- ★ Verstärkung des selektiven Drucks durch Mapping der Fitness:  
 $s : [0, 1] \rightarrow [0, 17], s(F(R)) = (2F(R))^4 + F(R);$
- ★ Restriktionen bei der Replikation eines neuen Netzwerks:  
Funktionalität,  $F_M^{x+1}(R) \geq F_M^x(R)(1 - 0.02);$
- ★ Der Algorithmus verwendet ein Konzept zur stochastischen Implementation von chem. Reaktionen basierend auf Arbeiten von Daniel Gillespie.

*RegNet ist besonders geeignet um evolvierende Populationen zu simulieren, die unter verstärkt selektivem Stress stehen:*

- ★ Anpassung an sich rasch ändernde Umweltbedingungen, "Bottleneck-Situationen" .
- ★ Anpassung an einen stark schädigenden Parasiten oder eine aggressive Krankheit
- ★ Anpassung an zufällige Fluktuationen (= "Noise" )



*Stochastisches Rauschen in biologischen Systemen*

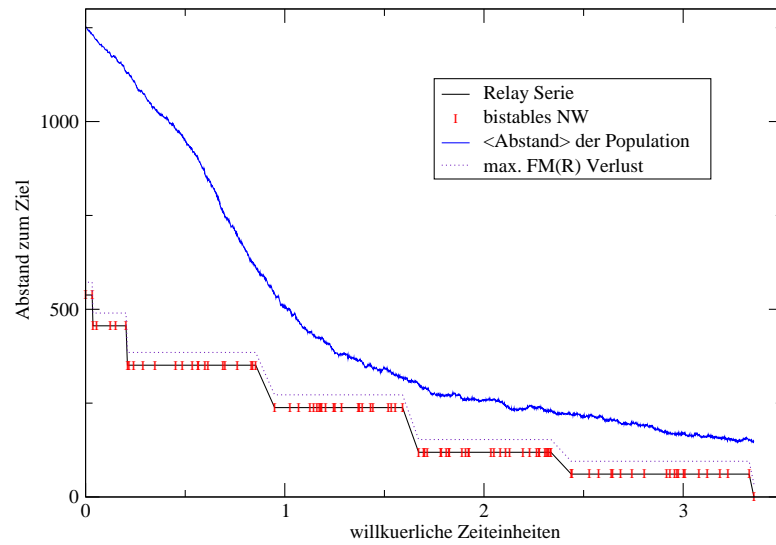
## *Gliederung*

- ★ Einführung in die Thematik
- ★ Entwicklung eines mathematischen Modells zur Beschreibung eines selbst-regulierenden Gen-Schalters
- ★ Molekulare Evolution *in silico*: “RegNet” der Flussreaktor
- ★ Evolution von Populationen aus Netzwerk-Individuen
- ★ Conclusio

# In silico Evolution mit Noise

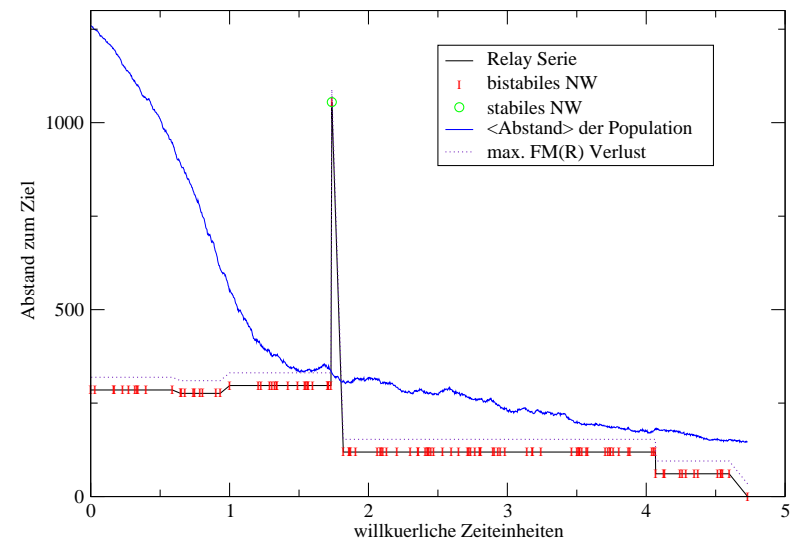
Relay Serie I: Referenz-Parameter Set

FD(R)=1/5, s=1000, m=0.01, n=]0,2]



Relay Serie II: Referenz-Parameter Set

FD(R)=1/5, s=1000, m=0.01, n=]0,2]

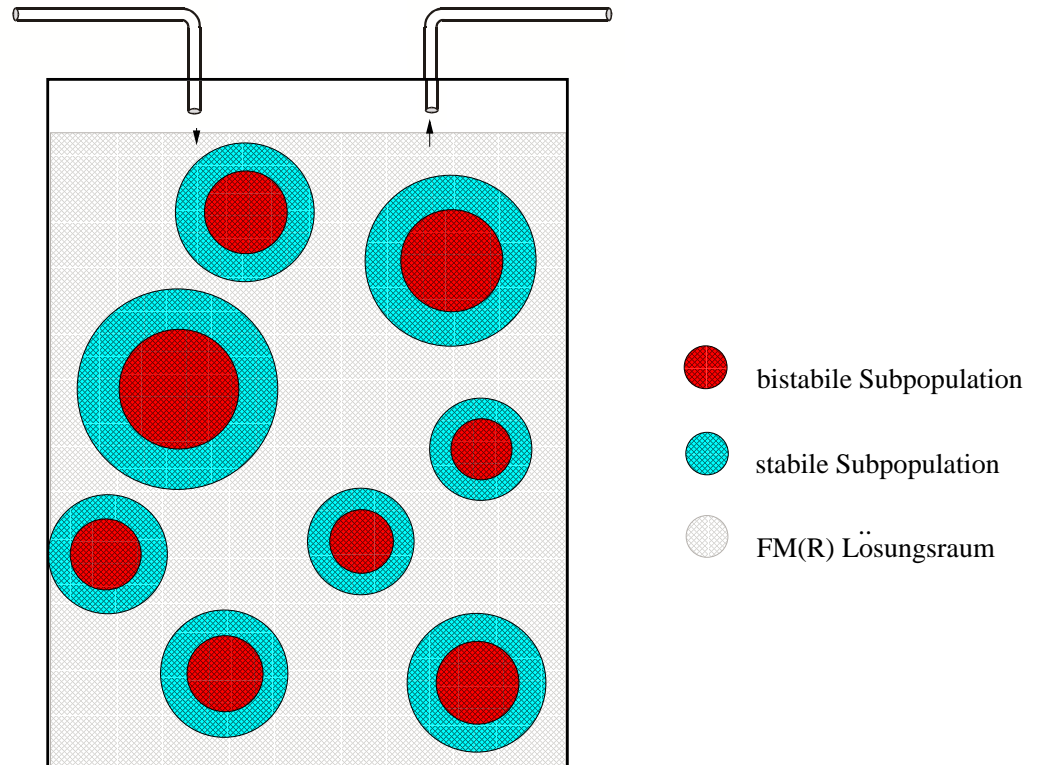


$$\max_x F_x^D(R) = \begin{cases} 1 & \text{wenn } x \in B, B = \{x \mid x \in B\} \\ 1 & \text{wenn } x \in NB, NB = \{x \mid x \in S, f_N(x) \in B\} \\ 0 & \text{sonst} \end{cases}$$

## Noise Einfluss

**Primär-Effekt** auf der Ebene des Individuums:  
 $x \in NB$

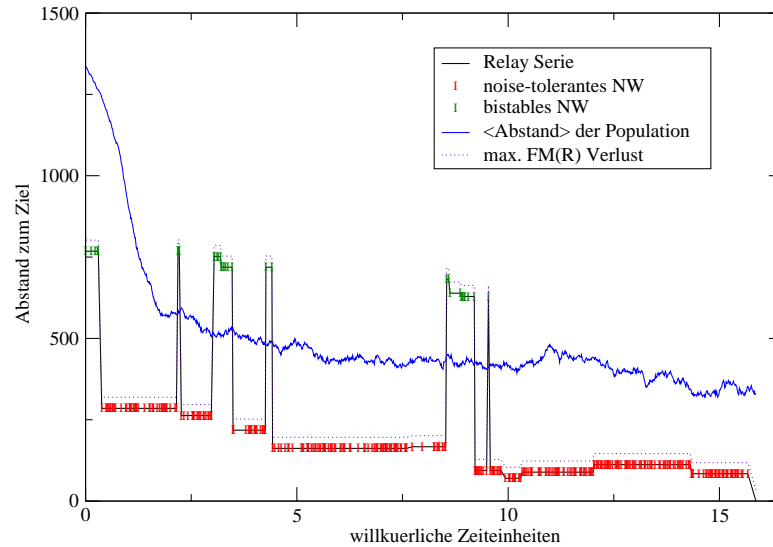
**Sekundär-Effekt** auf der Ebene der Population:  
Erhöhung der genetischen Variabilität



# In silico Evolution von Noise Toleranz: Co-Evolution

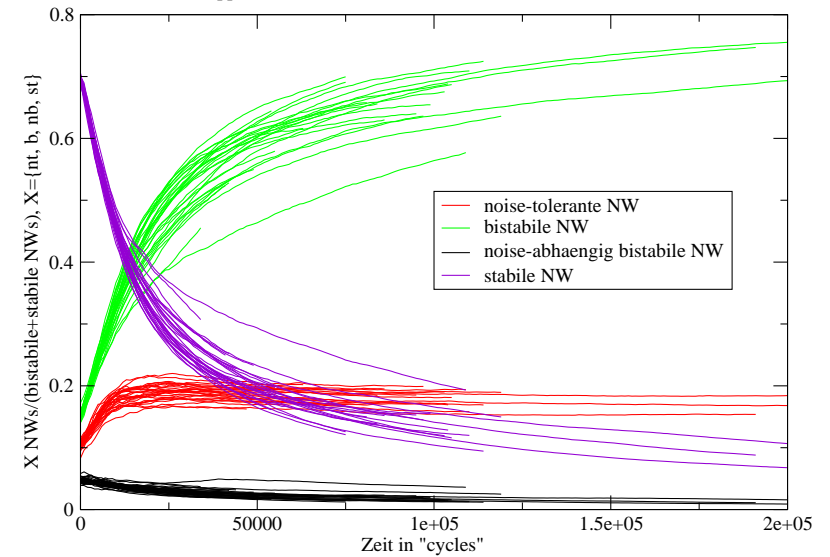
Relay Serie III: Noise Toleranz

doppelte Bistabilitaet, FD(R)=1/5, s=1000, m=0.01, n=[0.5,1.5]



Dynamische Eigenschaften der Reaktorpopulation: NoiseToleranz

doppelte Bistabilitaet, FD(R)=4/5, s=1000, m=0.01, n=[0.5,1.5]



$$\max_x F_x^D(R) = \begin{cases} 1 & \text{wenn } x \in NT, NT = \{x \mid x \in B, f_N(x) \in B\} \\ 0.5 & \text{wenn } x \in B, B = \{x \mid x \in B, f_N(x) \in S\} \\ 0.5 & \text{wenn } x \in NB, NB = \{x \mid x \in S, f_N(x) \in B\} \\ 0 & \text{sonst} \end{cases}$$

## *Gliederung*

- ★ Einführung in die Thematik
- ★ Entwicklung eines mathematischen Modells zur Beschreibung eines selbst-regulierenden Gen-Schalters
- ★ Molekulare Evolution *in silico*: “RegNet” der Flussreaktor
- ★ Evolution von Populationen aus Netzwerk-Individuen
- ★ **Conclusio**

- ★ Ein mathematisches Modell eines Gen-Schalters wurde entwickelt.
- ★ Mögliche Typen von dynamischen Verhalten am Fixpunkt wurden analysiert.
- ★ Im Rahmen eines *in silico* Flussreaktors konnte die Evolvierbarkeit des Gen-Schalters gezeigt werden, wobei ein komplexer, aus molekularen und dynamische Eigenschaften bestehender Phänotyp als Selektionsobjekt verwendet wurde.
- ★ Noise in der Form von stochastischen Fluktuationen der Reaktionskonstanten wurde appliziert.
- ★ Noise induziert genetische Variabilität in der Simulation.
- ★ Unter selektivem Stress sind genetisch variablere Populationen besser anpassungsfähig, da sie schneller und flexibler auf Umwelteinflüsse reagieren können.

Danke!

Peter Schuster

Christoph Flamm

Ivo Hofacker

Andreas Novak

Dem Auditorium