

# Modeliranje celične rasti

## Predstavitve diplomskega dela

Domen Vaupotič  
Mentor: izr. prof. dr. Miha Lukšič



Univerza v Ljubljani  
Fakulteta *za kemijo in kemijsko tehnologijo*

september 2019

# Struktura predstavitve

## 1 Celična rast bakterijske celice

# Struktura predstavitve

- 1 Celična rast bakterijske celice
- 2 Matematično modeliranje

# Struktura predstavitve

- 1 Celična rast bakterijske celice
- 2 Matematično modeliranje
- 3 Predstavitev modela MD

# Struktura predstavitve

- 1 Celična rast bakterijske celice
- 2 Matematično modeliranje
- 3 Predstavitev modela MD
- 4 Rezultati modela

# Struktura predstavitve

- 1 Celična rast bakterijske celice
- 2 Matematično modeliranje
- 3 Predstavitev modela MD
- 4 Rezultati modela
- 5 Zaključek

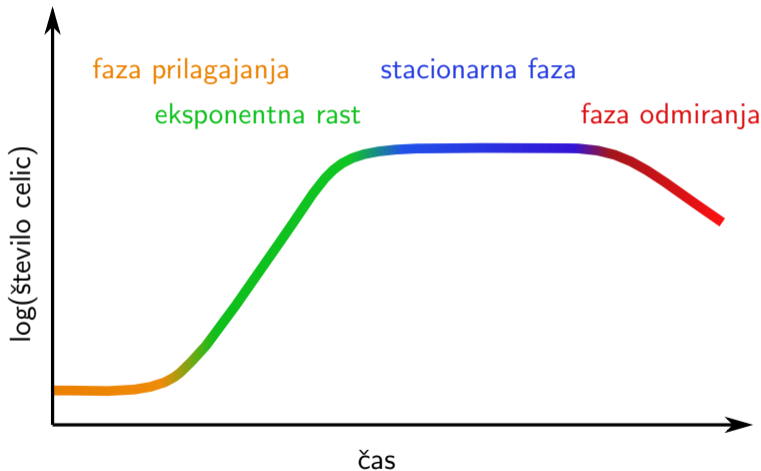
## Celična rast bakterijske celice

### Modelna bakterija *E. coli*

### Molekularnobiološki procesi

- podvojevanje kromosoma
- popravljanje napak na DNA
- transkripcija
- sinteza proteinov
- sinteza ribosomov
- sinteza membrane in celične stene
- ...
- celična delitev

## Faze rasti v bakterijski kulturi



Rastna krivulja bakterijske kulture

# Eksponentna rast

## Definicija

*Povečevanje števila celic v eksponentni fazi opišemo z zvezo*

$$N(t) = N_0 e^{\lambda t} = N_0 2^{t/\tau},$$

*pri čemer  $\lambda$  predstavlja **hitrost rasti**,  $\tau$  **podvojevalni čas** in  $N_0$  **začetno število celic**.*

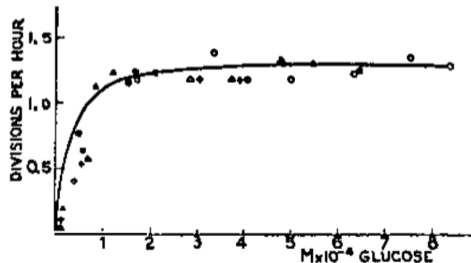
Primerjava hitrosti rasti ( $\lambda$ ) in podvojevalnega časa ( $\tau$ ).

$\tau$ [min]	$\lambda$ [1/h]
120	0,35
60	0,69
40	1,04
20	2,08

# Začetki raziskovanja bakterijske fiziologije

## Definicija

**Bakterijski rastni zakon** je zveza med hitrostjo rasti  $\lambda$  in zunaj- ter znotrajceličnimi pogoji in parametri celice.



Monodov rastni zakon,  $\lambda = \lambda(G)$ , 1949



Jacques Monod  
(1910–1976)

## Vprašanja

- Kateri je omejujoči dejavnik pri največji hitrosti rasti?

## Vprašanja

- Kateri je omejujoči dejavnik pri največji hitrosti rasti?
- Kateri nadzorni mehanizmi uravnavajo hitrost rasti?

## Vprašanja

- Kateri je omejujoči dejavnik pri največji hitrosti rasti?
- Kateri nadzorni mehanizmi uravnavajo hitrost rasti?
- Kako celica razporeja svoje vire?

## Vprašanja

- Kateri je omejujoči dejavnik pri največji hitrosti rasti?
- Kateri nadzorni mehanizmi uravnavajo hitrost rasti?
- Kako celica razporeja svoje vire?
- Kako energijsko učinkovita je celica pri svoji rasti?

## Vprašanja

- Kateri je omejujoči dejavnik pri največji hitrosti rasti?
- Kateri nadzorni mehanizmi uravnavajo hitrost rasti?
- Kako celica razporeja svoje vire?
- Kako energijsko učinkovita je celica pri svoji rasti?
- Kako celica časovno in prostorsko usklajuje procese rasti?

## Vprašanja

- Kateri je omejujoči dejavnik pri največji hitrosti rasti?
- Kateri nadzorni mehanizmi uravnavajo hitrost rasti?
- Kako celica razporeja svoje vire?
- Kako energijsko učinkovita je celica pri svoji rasti?
- Kako celica časovno in prostorsko usklajuje procese rasti?
- Kako celica prilagodi svoje fiziološke parametre pri menjavi okolja?

## Vprašanja

- Kateri je omejujoči dejavnik pri največji hitrosti rasti?
- Kateri nadzorni mehanizmi uravnavajo hitrost rasti?
- Kako celica razporeja svoje vire?
- Kako energijsko učinkovita je celica pri svoji rasti?
- Kako celica časovno in prostorsko usklajuje procese rasti?
- Kako celica prilagodi svoje fiziološke parametre pri menjavi okolja?
- Kako je evolucija vplivala na razvoj fizioloških parametrov?

## Matematično modeliranje (bioloških sistemov)

### Ideja

Jasno in matematično natančno opisati dogajanje v nekem biološkem sistemu.

## Matematično modeliranje (bioloških sistemov)

### Ideja

Jasno in matematično natančno opisati dogajanje v nekem biološkem sistemu.

### Namen

- združiti raznolike eksperimentalne podatke
- predviditi še neopažene lastnosti in fenotipe
- predlagati nadaljnje eksperimente

# Matematično modeliranje (bioloških sistemov)

## Ideja

Jasno in matematično natančno opisati dogajanje v nekem biološkem sistemu.

## Namen

- združiti raznolike eksperimentalne podatke
- predviditi še neopažene lastnosti in fenotipe
- predlagati nadaljnje eksperimente

## Iskanje kompromisa

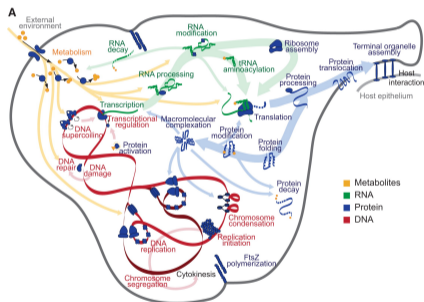
**realističnost** struktura modela predstavlja resnične procese

**natančnost** napovedi modela so natančne v primerjavi z eksperimenti

**splošnost** model je prenosljiv na različne sisteme

# Pristopi k modeliranju celične rasti

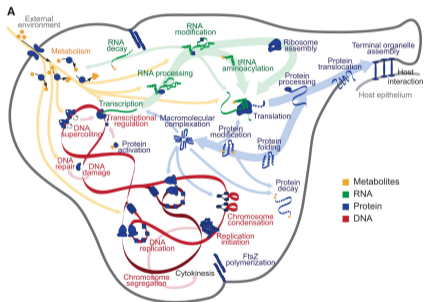
## Modeliranje celotne celice



*Mycoplasma genitalium*. Model sestavljajo 401 gen, 722 spojin, 1857 reakcij in 1836 parametrov. Karr, 2012

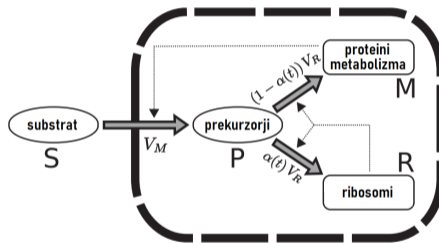
# Pristopi k modeliranju celične rasti

## Modeliranje celotne celice



*Mycoplasma genitalium*. Model sestavljajo 401 gen, 722 spojin, 1857 reakcij in 1836 parametrov. Karr, 2012

## Poenostavljeni modeli



*E. coli*. Model sestavljajo 4 spojine, 3 procesi in 5 parametrov. Giordano, 2016

## Model rasti MD



Avtorja Arijit **M**aitra in Ken A. **D**ill

### Namen modela

Pojasniti, kateri je najpomembnejši evolucijski pritisk na bakterijsko celico.

Celična rast bakterijske celice  
○○○○

Matematično modeliranje  
○○

Predstavitev modela MD  
●○○○○○○○○○○

Rezultati modela  
○○○○

Zaključek  
○○

G



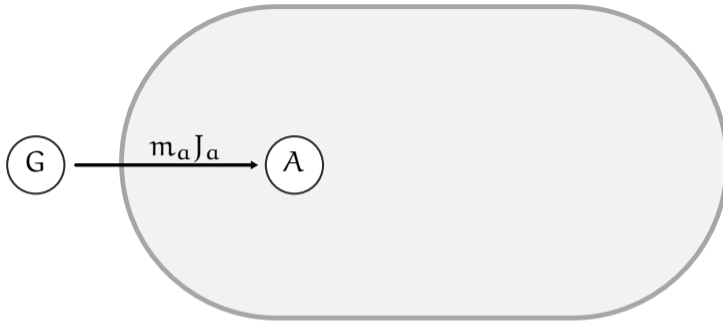
Celična rast bakterijske celice  
○○○○○

Matematično modeliranje  
○○

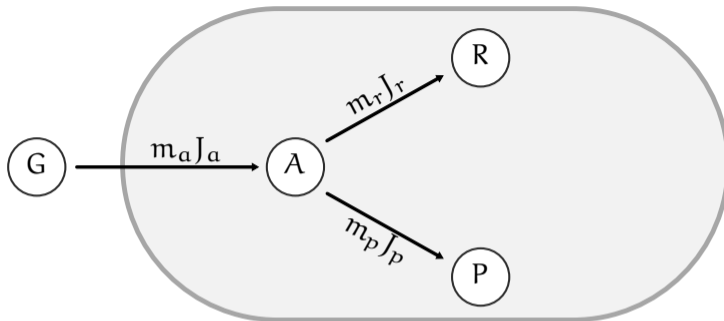
Predstavitev modela MD  
○○●○○○○○○○○

Rezultati modela  
○○○○

Zaključek  
○○



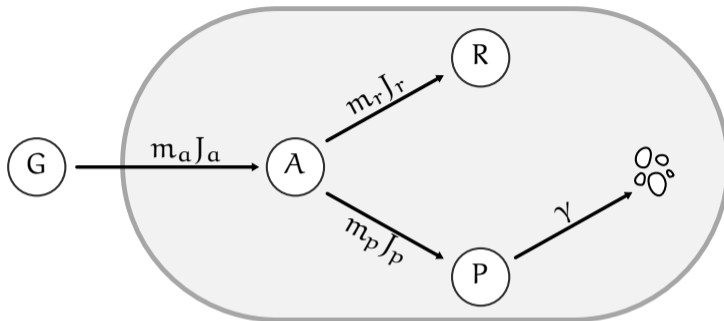
$$\frac{dA}{dt} = m_a J_a$$



$$\frac{dR}{dt} = J_r$$

$$\frac{dP}{dt} = J_p$$

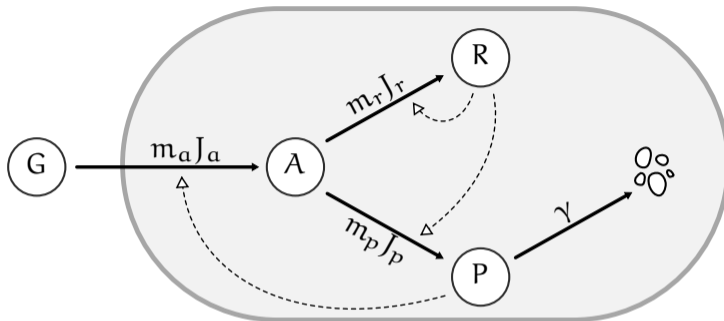
$$\frac{dA}{dt} = m_a J_a - m_r J_r - m_p J_p$$



$$\frac{dR}{dt} = J_r$$

$$\frac{dP}{dt} = J_p - \gamma P$$

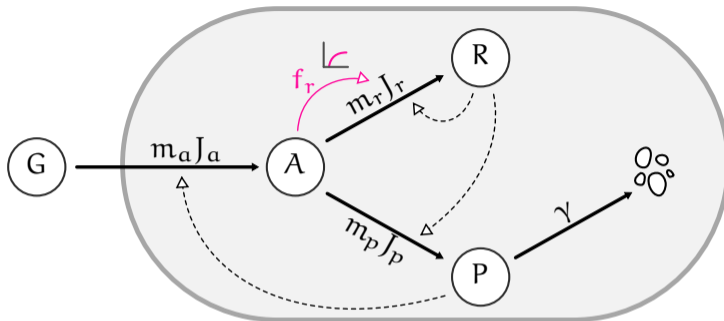
$$\frac{dA}{dt} = m_a J_a - m_r J_r - m_p J_p$$



$$\frac{dR}{dt} = k_r R$$

$$\frac{dP}{dt} = k_p R - \gamma P$$

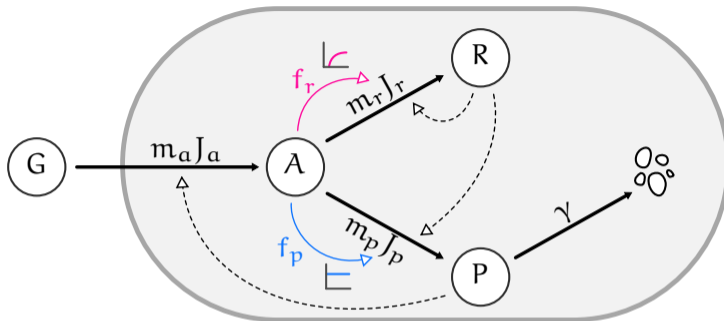
$$\frac{dA}{dt} = m_a k_a^\infty P - m_r k_r R - m_p k_p R$$



$$\frac{dR}{dt} = k_r f_r(A) R$$

$$\frac{dP}{dt} = k_p R - \gamma P$$

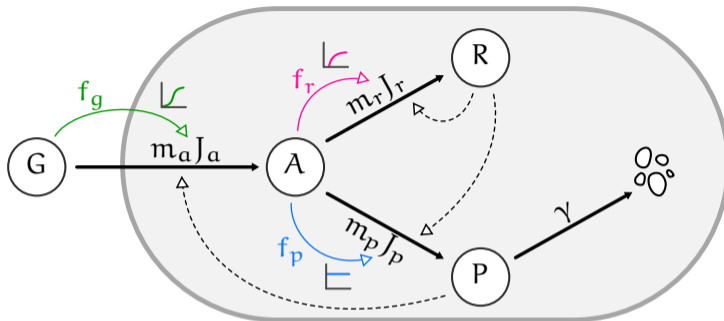
$$\frac{dA}{dt} = m_a k_a^\infty P - m_r k_r f_r(A) R - m_p k_p R$$



$$\frac{dR}{dt} = k_r f_r(A) R$$

$$\frac{dP}{dt} = k_p f_p(A) R - \gamma P$$

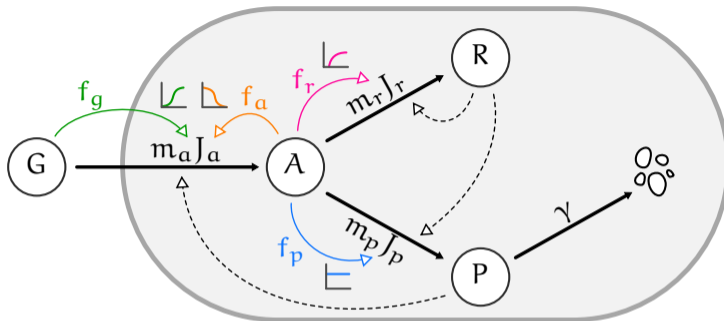
$$\frac{dA}{dt} = m_a k_a^\infty P - m_r k_r f_r(A) R - m_p k_p f_p(A) R$$



$$\frac{dR}{dt} = k_r f_r(A) R$$

$$\frac{dP}{dt} = k_p f_p(A) R - \gamma P$$

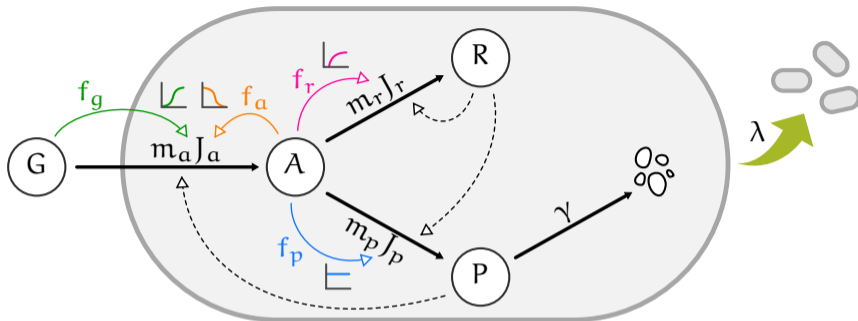
$$\frac{dA}{dt} = m_a k_a^\infty f_g(G) P - m_r k_r f_r(A) R - m_p k_p f_p(A) R$$



$$\frac{dR}{dt} = k_r f_r(A) R$$

$$\frac{dP}{dt} = k_p f_p(A) R - \gamma P$$

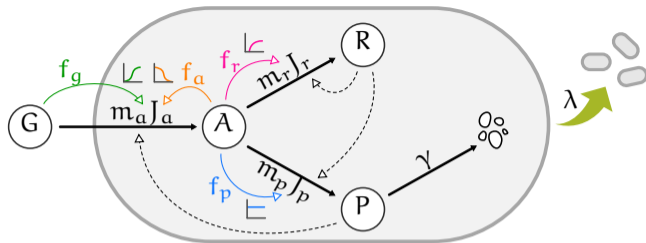
$$\frac{dA}{dt} = m_a k_a^\infty f_g(G) f_a(A) P - m_r k_r f_r(A) R - m_p k_p f_p(A) R$$



$$\frac{dR}{dt} = k_r f_r(A)R - \lambda R$$

$$\frac{dP}{dt} = k_p f_p(A)R - \gamma P - \lambda P$$

$$\frac{dA}{dt} = m_a k_a^\infty f_g(G) f_a(A)P - m_r k_r f_r(A)R - m_p k_p f_p(A)R - \lambda A$$



$$\frac{dR}{dt} = k_r f_r(A)R - \lambda R$$

$$f_r(A) = f_r^\infty \left(1 - \frac{D_r}{A}\right)$$

$$\frac{dP}{dt} = k_p f_p(A)R - (\lambda + \gamma)P$$

$$f_p(A) = f_p^\infty$$

$$\frac{dA}{dt} = m_a k_a^\infty f_g(G) f_a(A)P - m_r k_r f_r(A)R$$

$$f_g(G) = \frac{G^\alpha}{G^\alpha + D_g^\alpha}, \quad f_a(A) = \frac{D_a}{D_a + A}$$

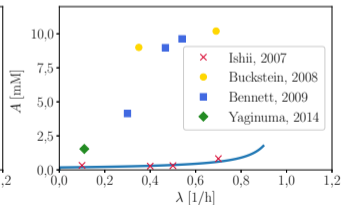
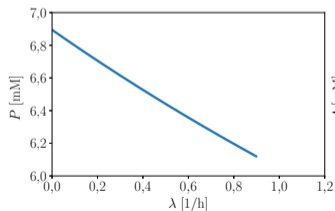
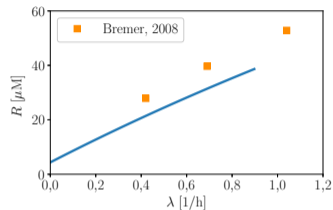
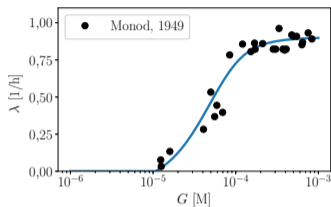
$$- m_p k_p f_p(A)R - \lambda A$$

4 enačbe

$$\rho = M_r R + M_p P$$

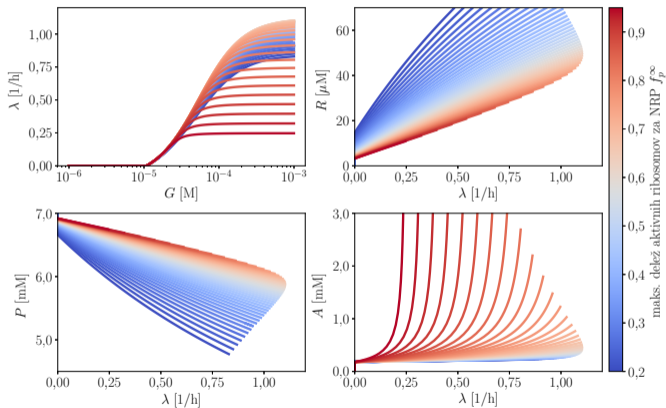
18 konstant

## Rezultati modela



Rastni zakon  $\lambda = \lambda(G)$  in znotrajcelične koncentracije v odvisnosti od hitrosti rasti

# Občutljivost modela



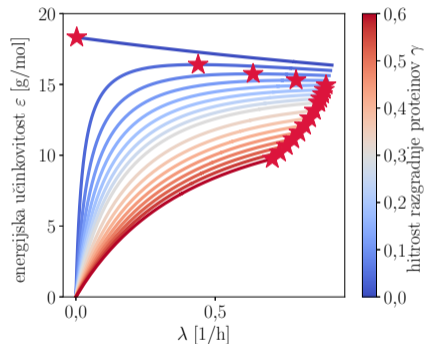
Vpliv maksimalnega deleža ribosomov za sintezo proteinov ( $f_p^\infty$ )

# Energijska učinkovitost celice

## Definicija

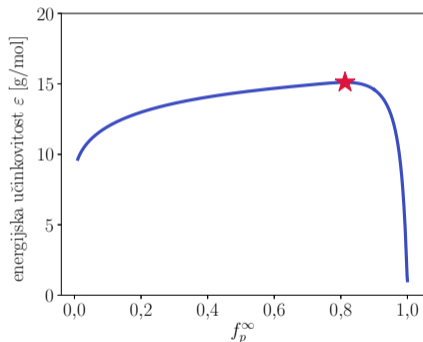
*Energijsko učinkovitost celice definiramo kot razmerje med hitrostjo rasti in fluksom pridelave ATP*

$$\varepsilon = \frac{\rho}{m_a} \frac{\lambda}{J_a} \quad \left[ \frac{\text{g mokre mase}}{\text{mol ATP}} \right]$$



Vpliv razgradnje proteinov ( $\gamma$ ) na učinkovitost pri različnih hitrostih rasti

## Energijska učinkovitost celice



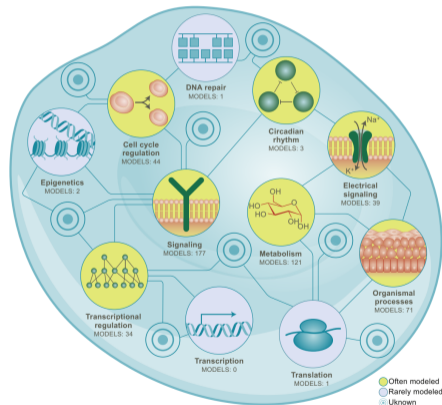
Vpliv maksimalnega deleža ribosomov za sintezo proteinov ( $f_p^\infty$ ) na učinkovitost

### Sklep

Celica pri hitri rasti za vsako masno enoto ribosoma proizvede štirikrat več proteinov, saj evlucijski pritisk favorizira energijsko učinkovitost hitrorastočih celic.

## Zaključek

- Predstavitev matematičnih modelov celične rasti
- Popravek modela MD z alarmonom (p)ppGpp?
- Razvoj modelov v smeri modeliranja celotne evkariontske celice



Modeliranje človeške celice. *Szigeti, 2018*

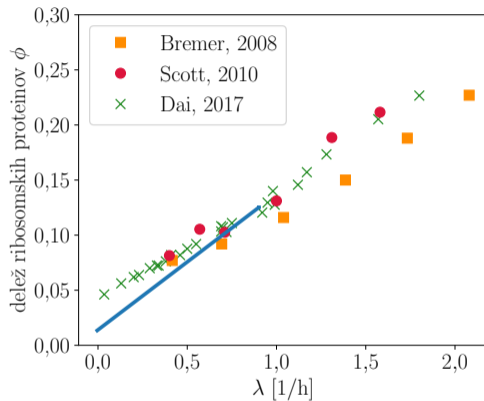
*Hvala mentorju, izr. prof. dr. Mihi Lukšiču, za njegovo pomoč in potrpežljivost.*

## Konstante modela

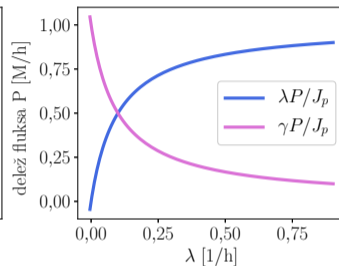
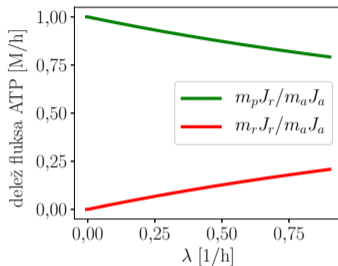
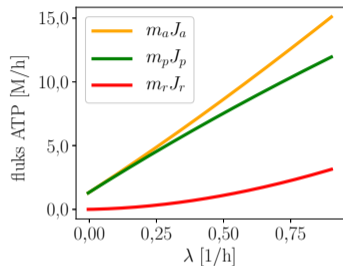
količina	oznaka	vrednost	enota
povprečna molekulska masa ribosomskega proteina na ribosom	$M_r$	806960	$\text{g mol}^{-1}$
povprečna molekulska masa proteina	$M_p$	35750	$\text{g mol}^{-1}$
št. molekul ATP na molekulo glukoze	$m_a$	30	
št. molekul ATP za izgradnjo enega ribosoma	$m_r$	$\approx 89700$	
št. molekul ATP za izgradnjo enega proteina	$m_p$	1950	
hitrost podaljševanja proteina na ribosomu	$k'_p$	$\approx 10$	AK/h/RP
hitrost razgradnje proteinov	$\gamma$	0,1	1/h

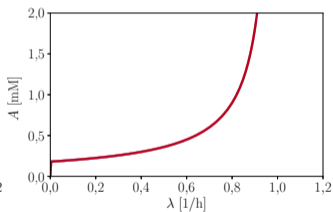
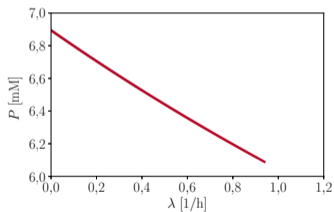
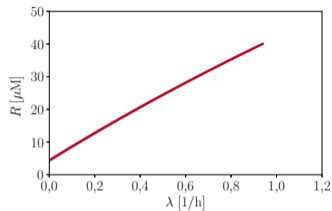
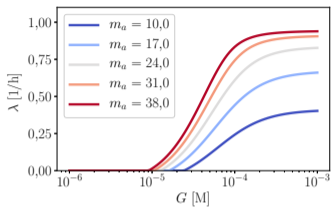
količina	oznaka	vrednost	enota
afinitetna konstanta za transport glukoze	$D_g$	0,07	mM
afinitetna konstanta za proizvodnjo ATP	$D_a$	4,0	mM
minimalna koncentracija ATP za biogenezo ribosomov	$D_r$	0,18	mM
maksimalni delež ribosomov za sintezo ribosomov	$f_r^\infty$	0,2	
maksimalni delež ribosomov za sintezo proteinov	$f_p^\infty$	0,7	
Hillov parameter katabolizma glukoze	$\alpha$	1,5	
število metaboliziranih glukoznih molekul na uro na proteinsko molekulo	$k_a^\infty$	120	1/h
maksimalno število sintetiziranih proteinskih molekul na uro na ribosom	$k_p$	215	1/h
maksimalno število sintetiziranih ribosomov na uro na ribosom	$k_r$	5	1/h



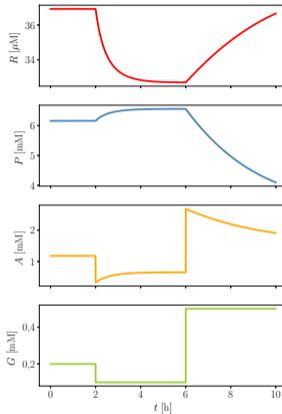
Masni delež ribosomskih proteinov  $\phi$  glede na vse proteine v odvisnosti od hitrosti rasti.



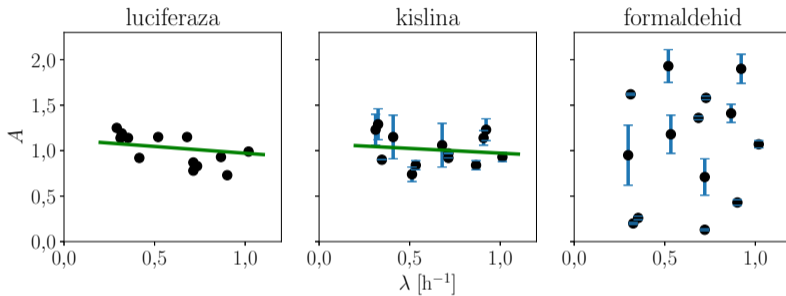
Fluksi metabolitov v odvisnosti od hitrosti rasti. Prikazan je fluks ATP kot posledica proizvodnje ATP in njegove porabe (levo), delež porabe ATP za proizvodnjo ribosomov in proteinov (sredina) in delež redčenja znotrajcelične koncentracije proteinov zaradi njihove razgradnje in zaradi celične rasti (desno).



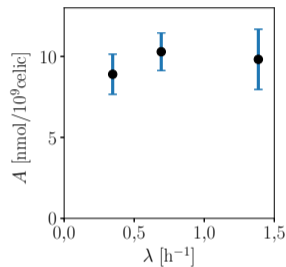
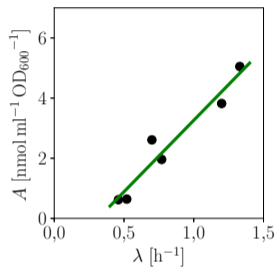
Vpliv katabolične učinkovitosti ( $m_a$ ).



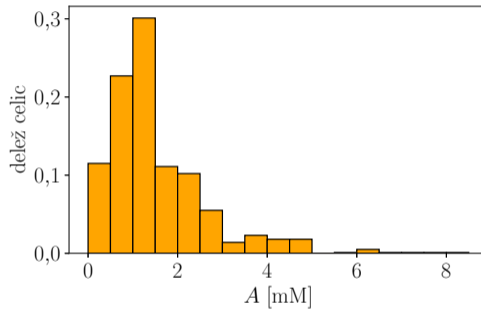
Premik iz začetnega gojišča ( $G = 0,2 \text{ mM}$ ) v revnejše ( $t = 2 \text{ h}$ ,  $G = 0,1 \text{ mM}$ ) in bogatejše gojišče ( $t = 6 \text{ h}$ ,  $G = 0,5 \text{ mM}$ ). Prikazane so časovne spremembe znotrajcelične koncentracije ribosomov, proteinov in ATP.



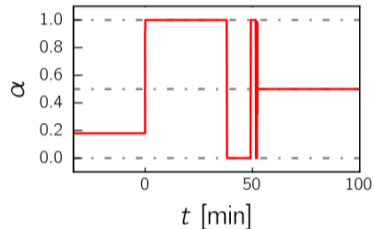
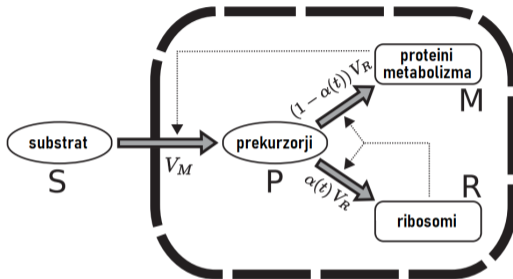
Normirana znotrajcelična koncentracija ATP, izmerjena z metodo z luciferazo, kislinsko ekstrakcijo ter formaldehidno ekstrakcijo. Prirejeno po **Schneider2004**.



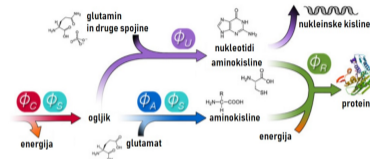
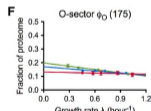
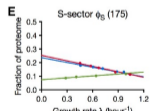
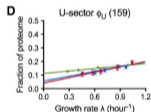
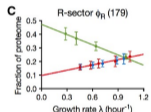
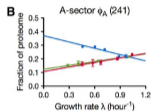
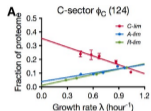
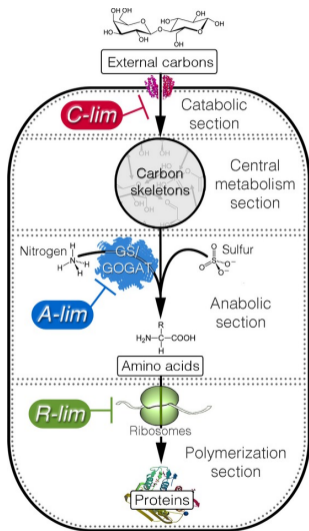
Naraščajoča koncentracija ATP v odvisnosti od hitrosti rasti, kot izmerjeno v **Gaal1997** (levo).  
Koncentracija ATP pri treh različnih hitrostih rasti, kot izmerjena v **Buckstein2008** (desno).



Porazdelitev znotrajcelične koncentracije ATP v populaciji celic. Prirejeno po **Yaginuma2014**.

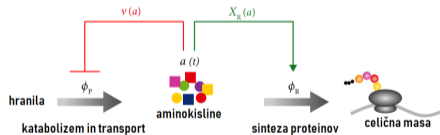
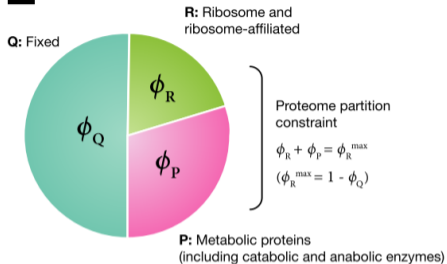


Samopodvajajoči se model celice, kot opisan v **Giordano2016**. Celica iz substrata (S) pridela prekurzorje (P), ki jih nato usmerja v izdelavo proteinov metabolizma (M) ali ribosomov (R), tako da v izdelavo ribosomov usmeri delež prekurzorjev  $\alpha$  (leva skica). Po prestavitvi v bogatejši medij ( $t = 0$ ) je optimalna metoda 'bang-bang' (desni graf).



Povezava med metabolnimi fluksi in različnimi skupinami proteoma. Oznaka  $\phi_i$  predstavlja delež skupine  $i$  v proteomu. Prirejeno po **Hui2015**

**B**



Koncentracija aminokislin z negativno povratno zanko inhibira svoj nastanek in transport ter s pozitivno vnaprejšnjo zanko aktivira sintezo proteinov. Prirejeno po **Scott2014**.