

Univerza v Ljubljani
Fakulteta za računalništvo in informatiko

Jure Bordon

**Kvalitativna analiza bioloških oscilatorjev
kot procesnih gradnikov**

DIPLOMSKO DELO
NA UNIVERZITETNEM ŠTUDIJU

Miha Mraz
MENTOR

Ljubljana, 2011



Št. naloge: 01764/2011

Datum: 11.08.2011

Univerza v Ljubljani, Fakulteta za računalništvo in informatiko izdaja naslednjo nalogo:

Kandidat: **JURE BORDON**

Naslov: **KVALITATIVNA ANALIZA BIOLOŠKIH OSCILATORJEV KOT
PROCESNIH GRADNIKOV**
**QUALITATIVE ANALYSIS OF BIOLOGICAL OSCILLATORS AS
PROCESSING STRUCTURES**

Vrsta naloge: Diplomsko delo univerzitetnega študija

Tematika naloge:

Oscilator predstavlja enega od pomembnejših gradnikov za medsebojno usklajevanje procesnih elementov. Realizacija biološkega oscilatorja je bila že izvedena z gensko regulatornim omrežjem t.i. represilatorja. Kandidat naj v svojem delu vzpostavi deterministične modele represilatorja z različnim številom represorjev in na podlagi različnih kooperativnosti vezave le-teh. Na podlagi determinističnih modelov naj izvede kvalitativno analizo obravnavanih represilatorjev in poda medsebojno primerjavo obravnavanih represilatorjev.

Mentor:

prof. dr. Miha Mraz



Dekan:

prof. dr. Nikolaj Zimic

Rezultati diplomskega dela so intelektualna lastnina Fakultete za računalništvo in informatiko Univerze v Ljubljani. Za objavljanje ali izkoriščanje rezultatov diplomskega dela je potrebno pisno soglasje Fakultete za računalništvo in informatiko ter mentorja.

IZJAVA O AVTORSTVU DIPLOMSKEGA DELA

Spodaj podpisani Jure Bordon, z vpisno številko **63060041**, sem avtor diplomskega dela z naslovom:

Kvalitativna analiza bioloških oscilatorjev kot procesnih gradnikov

S svojim podpisom zagotavljam, da:

- sem diplomsko delo izdelal samostojno pod mentorstvom izr. prof. dr. Mihe Mraza,
- so elektronska oblika diplomskega dela, naslov (slov., angl.), povzetek (slov., angl.) ter ključne besede (slov., angl.) identični s tiskano obliko diplomskega dela
- soglašam z javno objavo elektronske oblike diplomskega dela v zbirki "Dela FRI".

V Ljubljani, dne 16. avgusta 2011

Podpis avtorja:

Zahvaljujem se svojemu mentorju, izr. prof. dr. Mihi Mrazu, za pomoč, motivacijo in usmerjanje pri pisanju diplomskega dela. Za pomoč pri razumevanju snovi, ki je nismo obdelali pri študiju računalništva, se zahvaljujem tudi asistentu Mihi Moškoni. Posebna zahvala velja očetu, mami in bratu za materialno in moralno podporo pri študiju. Zahvala gre tudi prijateljem, ki so mi nudili prostor za pisanje in družbo med počitki. Nenazadnje se zahvaljujem tudi puncu Špeli, ki je ob padcu motivacije vedno našla besede, ki so me spravile nazaj za računalnik.

Hvala!

KAZALO

| | |
|--|------------|
| Povzetek | ii |
| Abstract | iii |
| 1 Uvod | 1 |
| 2 Kvalitativna analiza bioloških sistemov | 3 |
| 2.1 Stabilnostna analiza sistema | 4 |
| 2.2 Bifurkacijska analiza | 7 |
| 3 Represilator kot biološki procesni sistem | 9 |
| 3.1 Modeliranje gensko regulatornih omrežij | 10 |
| 3.2 Deterministični model represilatorja s kooperativno vezavo | 10 |
| 3.3 Deterministični model brez kooperativne vezave | 11 |
| 4 Bifurkacijska analiza represilatorja | 13 |
| 4.1 Represilator s 3 členi | 13 |
| 4.2 Represilator s 4 členi | 17 |
| 4.3 Represilator s 5 členi | 19 |
| 5 Zaključek | 26 |
| Literatura | 29 |

Univerza v Ljubljani
Fakulteta za računalništvo in informatiko

Jure Bordon

Kvalitativna analiza bioloških oscilatorjev kot procesnih gradnikov

POVZETEK

Na področju računalništva se v zadnjem času vse bolj pozornosti posveča iskanju procesnih platform, ki bi predstavljale alternativo procesnim gradnikom, ki sestavljajo sodobne računalnike. Alternativne rešitve naj bi tako bile neodvisne od digitalnih elektronskih elementov, ki so v današnjem času sicer najbolj razširjeni, ampak ob enem že dosegajo zgornjo mejo svojih zmožnosti v smislu hitrosti in velikosti. Eden od alternativnih pristopov, ki predstavljajo velik potencial, je tudi procesiranje v bioloških sistemih. Tako kot v digitalnem svetu bo za računalništvo ne glede na procesno platformo vedno potrebno usklajevanje oziroma sinhronizacija procesnih elementov. Kot osnovni sinhronizacijski gradnik bi torej potrebovali oscilator, ki je bil kot biološki sistem že realiziran. Za realizacijo je bilo uporabljeno gensko regulatorno omrežje krožno vezanih represorjev, t.i. represilator. V diplomskem delu bomo implementirali več različnih determinističnih modelov represilatorja ter preverili delovanje represilatorja z različnim številom represorjev in različnimi kooperativnostmi vezave le-teh. Na podlagi implementiranih modelov bomo izvedli kvalitativno analizo obravnavanih represilatorjev. Na podlagi rezultatov analize bomo podali medsebojno primerjavo različnih modelov in primerjali delovanje represilatorjev različnih velikosti.

Ključne besede: modeliranje, deterministično modeliranje, biološki oscilator, represilator, stabilnostna analiza, bifurkacijska analiza, bifurkacija, genska regulatorna omrežja, navadne diferencialne enačbe

University of Ljubljana
Faculty of Computer and Information Science

Jure Bordon

Qualitative analysis of biological oscillators as processing structures

ABSTRACT

Recently there is a certain tendency in the field of computer science to find alternative processing platforms, which would replace the conventional ones that are starting to reach their limits in the meaning of components' size and speed. Computer science is trying to avoid its dependency on traditional electronic components. One of such alternatives is also processing in biological systems. Whatever the future processing platform might be, computer science will most likely always need a component which would synchronize the processing elements. One of the basic elements for synchronization is an oscillator. Oscillator, i.e. repressilator, was already realized as a biological system using gene regulatory networks. Different deterministic models describing a repressilator will be presented in this work. They will be used in order to qualitatively analyze repressilators with different numbers of repressors and different binding cooperativity. Using the results of this analysis different models as well as different sizes of repressilators for each model will be compared among each other.

Key words: modeling, deterministic modeling, biological oscillator, repressilator, stability analysis, bifurcation analysis, bifurcation, gene regulatory network, ordinary differential equations

1 Uvod

Če pogledamo enega najosnovnejših problemov današnjih super-računalnikov, to je hlajenje, vidimo, da problem izhaja iz uporabe digitalnih elektronskih elementov kot osnovnih gradnikov. Zaradi doseganja omejitev teh elementov v smislu velikosti in hitrosti, bo njihova uporaba v bližnji prihodnosti začela omejevati zmogljivost sodobnih računalnikov. Zaradi tovrstnih problemov se na področju računalništva išče možnosti za alternativne pristope k procesiranju. Ena od alternativ, ki trenutno predstavlja velik potencial, je tudi procesiranje v bioloških sistemih. Ko razmišljamo o uporabi drugačnih procesnih platform, se moramo seveda vprašati, ali je možno z njimi zgraditi osnovne elemente, ki jih potrebujemo. Eden takih gradnikov je tudi oscilator. V bioloških sistemih je bil oscilator že realiziran, in sicer kot *gensko regulatorno omrežje* (angl. *gene regulatory network*) krožno vezanih represorjev. Zaradi svoje strukture tak oscilator imenujemo *represilator* (angl. *repressilator*). Realizacija bioloških sistemov v živih celicah je dolgotrajen proces, zato si pri optimizaciji njihovega delovanja pomagamo z modeli, ki dovolj dobro opisujejo dinamiko v obravnavanih sistemih.

V nalogi bomo implementirali več različnih determinističnih modelov represilatorja. S

pomočjo modelov, ki temeljijo na sistemu diferencialnih enačb, bomo preverili obnašanje sistema. S stabilnostno analizo bomo preverili ali se lahko sistem nahaja v stabilnem stanju, z bifurkacijsko analizo pa bomo preverili, kako se sistem obnaša pri različnih vrednostih parametrov, ki določajo kinetiko kemijskih reakcij. Analizo bomo naredili na vseh modelih represilatorjev različnih velikosti, rezultate pa med sabo primerjali.

V poglavju 2 razložimo osnove determinističnega modeliranja bioloških sistemov. Na podlagi vzpostavljenih modelov lahko izvedemo kvalitativno analizo, ki je prav tako predstavljena v tem poglavju. Poglavje 3 opisuje delovanje in strukturo represilatorja ter podaja več determinističnih modelov, ki opisujejo njegovo delovanje in temeljijo na navadnih diferencialnih enačbah. V poglavju 4 predstavimo bifurkacijsko analizo represilatorjev različnih velikosti, pri čemer izhajamo iz modelov podanih v začetnih poglavjih. V zaključnem poglavju podamo izsledke opravljenih analiz in smernice za prihodnost.

2 Kvalitativna analiza bioloških sistemov

Pri determinističnem modeliranju bioloških sistemov za opisovanje sistema pogosto uporabljamo sisteme diferencialnih enačb, ki večinoma izhajajo iz t.i. Hillovih enačb [1]. Na podlagi postavljenih diferencialnih enačb lahko opazujemo časovni potek koncentracij izbranih kemijskih zvrsti ali pa obnašanje sistema po daljšem času ($t \rightarrow \infty$) t.i. *asimptotičnega obnašanja sistema*, pri čemer je le-to odvisno od začetnega stanja koncentracij opazovanih kemijskih zvrsti in od izbire vrednosti parametrov kemijskih reakcij sistema. V nalogi se bomo osredotočili na analizo asimptotičnega obnašanja sistema. Ker se bomo posvetili modeliranju bioloških oscilatorjev, bodo za nas zanimivi predvsem sistemi, ki pri določenih intervalih vrednosti začetnih parametrov stabilno oscilirajo. Pri ostalih vrednostih tovrstni sistemi sčasoma preidejo v ravnovesno stanje.

Prehode med načini obnašanja sistema imenujemo *bifurkacije*, točke (vrednosti začetnih parametrov) pri katerih pride do teh sprememb v obnašanju pa *bifurkacijske točke*, zato iskanju teh točk pravimo *bifurkacijska analiza*. Stanje biološkega sistema ob času t bomo ponazorili s koncentracijami opazovanih kemijskih zvrsti:

$$\mathbf{x}(t) = (x_1(t), x_2(t), \dots, x_n(t)). \quad (2.1)$$

Pri tem spremembo stanja sistema predstavlja sprememba vsaj ene od opisanih koncentracij x_i . Te spremembe lahko odvisno od modela opišemo na različne načine. V diplomski nalogi se bomo osredotočili na deterministično modeliranje, pri katerem spremembe koncentracij opišemo s sistemom *navadnih diferencialnih enačb* (angl. *Ordinary Differential Equations*):

$$\frac{dx_i(t)}{dt} = f(x_1(t), x_2(t), \dots, x_n(t)), \quad (2.2)$$

kjer $x_i(t)$ predstavlja koncentracijo kemijske zvrsti i v času t , $i \in 1, 2, 3, \dots, n$, n pa število opazovanih kemijskih zvrsti.

2.1 Stabilnostna analiza sistema

Stabilnostna analiza sistema obravnava asimptotično obnašanje sistema ($t \rightarrow \infty$) pri podanih začetnih pogojih. Začetni pogoji pri našem sistemu bodo začetne koncentracije opazovanih kemijskih zvrsti in vrednosti parametrov, ki opisujejo hitrost kemijskih reakcij. V našem primeru bomo s stabilnostno analizo preverili obstoj enega ali več ravnovesnih stanj oziroma limitnega cikla. Poleg obstoja le-teh bomo analizirali tudi njihovo stabilnost.

Ravnovesno stanje

Sistem je v ravnovesnem stanju, če je sprememba koncentracij vseh opazovanih zvrsti enaka nič, kar v našem modelu pomeni, da so vsi odvodi, ki opisujejo spremembo koncentracij, enaki nič:

$$\frac{dx_i(t)}{dt} = 0, \forall i \in 1, 2, 3, \dots, n. \quad (2.3)$$

Ravnovesna stanja lahko razdelimo glede na njihov odziv na zunanjo motnjo (perturbacijo), ko se sistem nahaja v ravnovesnem stanju oziroma na obnašanje, ko je sistem v bližini ravnovesnega stanja:

- *stabilno* - sistem s časom konvergira v ravnovesno stanje (se približuje),
- *nestabilno* - sistem s časom divergira stran od ravnovesnega stanja (se oddaljuje).

Pri določanju stabilnosti ravnovesnega stanja si pomagamo z Jacobijevo matriko, sestavljeno iz parcialnih odvodov diferencialnih enačb, ki opisujejo spremembe v našem sistemu:

$$J(\mathbf{x}(\mathbf{t})) = \begin{bmatrix} \frac{\partial f_1(\mathbf{x}(\mathbf{t}))}{\partial x_1} & \frac{\partial f_1(\mathbf{x}(\mathbf{t}))}{\partial x_2} & \cdots & \frac{\partial f_1(\mathbf{x}(\mathbf{t}))}{\partial x_n} \\ \frac{\partial f_2(\mathbf{x}(\mathbf{t}))}{\partial x_1} & \frac{\partial f_2(\mathbf{x}(\mathbf{t}))}{\partial x_2} & \cdots & \frac{\partial f_2(\mathbf{x}(\mathbf{t}))}{\partial x_n} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{\partial f_n(\mathbf{x}(\mathbf{t}))}{\partial x_1} & \frac{\partial f_n(\mathbf{x}(\mathbf{t}))}{\partial x_2} & \cdots & \frac{\partial f_n(\mathbf{x}(\mathbf{t}))}{\partial x_n} \end{bmatrix}. \quad (2.4)$$

Če $\mathbf{x}^* = (x_1^*, x_2^*, x_3^*, \dots, x_n^*)$ predstavlja eno izmed ravnovesnih točk, njeno stabilnost določimo z izračunom lastnih vrednosti Jacobijeve matrike v tej točki:

$$|J(\mathbf{x}^*) - \lambda I| = 0, \quad (2.5)$$

pri čemer je $\lambda = (\lambda_1, \lambda_2, \dots, \lambda_n)$ vektor lastnih vrednosti, I enotina matrika, operator $|\cdot|$ pa determinanta matrike \cdot . Ravnovesna točka je stabilna, če so realni deli vseh lastnih vrednosti $(\lambda_1, \lambda_2, \dots, \lambda_n)$ matrike v tej točki manjši od nič:

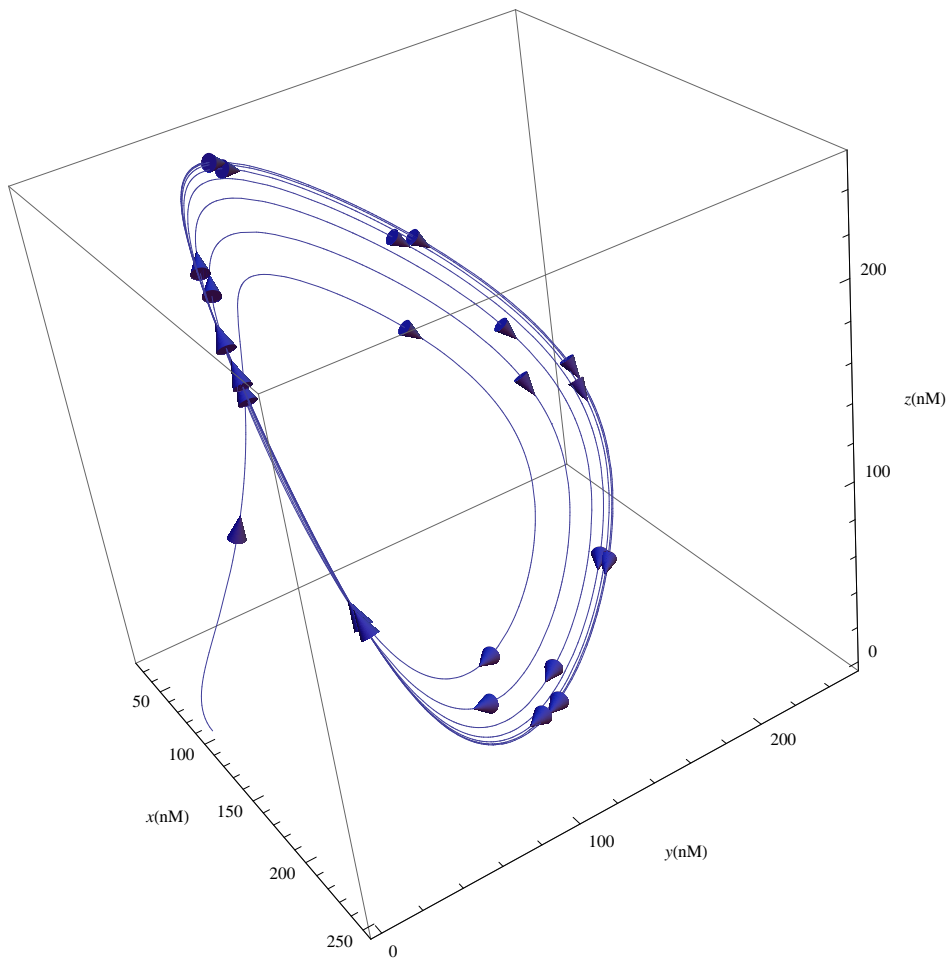
$$\Re(\lambda_i) < 0, \forall i \in 1, 2, 3, \dots, n. \quad (2.6)$$

Oscilatorno delovanje in limitni cikel

V naši analizi se bomo še posebej osredotočili na sisteme, pri katerih koncentracije kemijskih zvrsti oscilirajo. Medtem ko smo pri sistemih z ravnovesnimi stanji govorili o obstoju ravnovesnih točk in njihovi naravi, nas pri sistemih z oscilacijami zanima obstoj *limitnega cikla* (angl. *limit cycle*). V *fazni ravnini* (angl. *phase space*) je limitni cikel predstavljen kot izolirana zaprta trajektorna krivulja brez lastnih presečišč. Če hočemo da sistem vzdržuje oscilacije, ne sme vsebovati stabilnih ravnovesnih stanj proti katerim bi stanje sistema s časom lahko konvergiralo, kar pa bi pomenilo, da bi oscilacije zamrle. Tudi pri limitnih ciklih lahko govorimo o stabilnosti, in sicer velja da je limitni cikel:

- *stabilen*, če sosednje trajektorije k njemu konvergirajo z naraščanjem časa ($t \rightarrow \infty$),
- *nestabilen*, če sosednje trajektorije k njemu konvergirajo z zmanjševanjem časa ($t \rightarrow -\infty$).

Če torej v sistemu preverjamo obstoj oscilacij, pravzaprav preverjamo obstoj limitnega cikla [2], natančneje obstoj stabilnega limitnega cikla. Ta namreč zagotavlja samostojno vzdrževanje oscilacij, hkrati pa z naraščanjem časa povzroča konvergenco stanja sistema proti njem. Primer stabilnega limitnega cikla v fazni ravnini s smerjo trajektorije prikazuje slika 2.1. Graf prikazuje dinamiko sistema v treh dimenzijah (za tri proteine), kjer je dobro razvidno, da trajektorija ne vsebuje lastnih presešišč. V nadaljevanju bomo trajektorije koncentracij prikazovali le v dveh dimenzijah.



Slika 2.1 Stabilni limitni cikel, pri čemer puščice nakazujejo smer spreminjanja koncentracij proteinov.

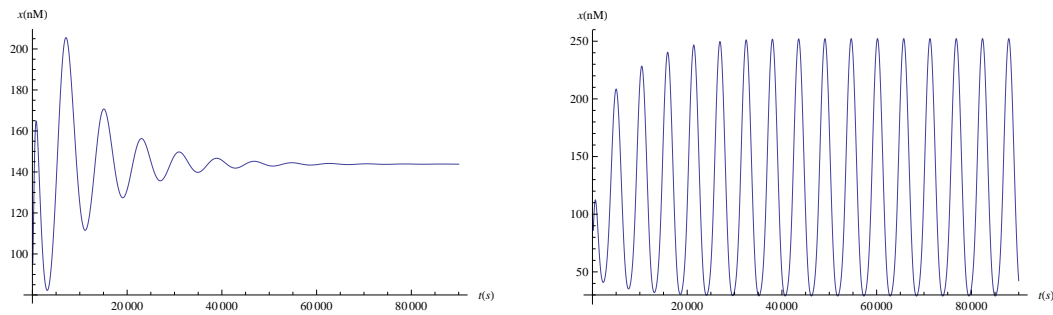
Zelo pogosto se zgodi, da zaradi kompleksnosti modela rešitve obstoja limitnih ciklov (ali ravnovesnih točk) ni mogoče najti analitično. V takem primeru problem rešujemo

numerično (s pomočjo računalnika) s preiskovanjem prostora, kar se prevede na problem določitve mej prostora. Za nas je rešitev tega problema trivialna, saj je prostor omejen z minimalnimi in maksimalnimi koncentracijami opazovanih kemijskih zvrsti. Preiskujemo lahko torej celoten prostor, v katerem so vrednosti koncentracij opazovanih kemijskih zvrsti smiselne.

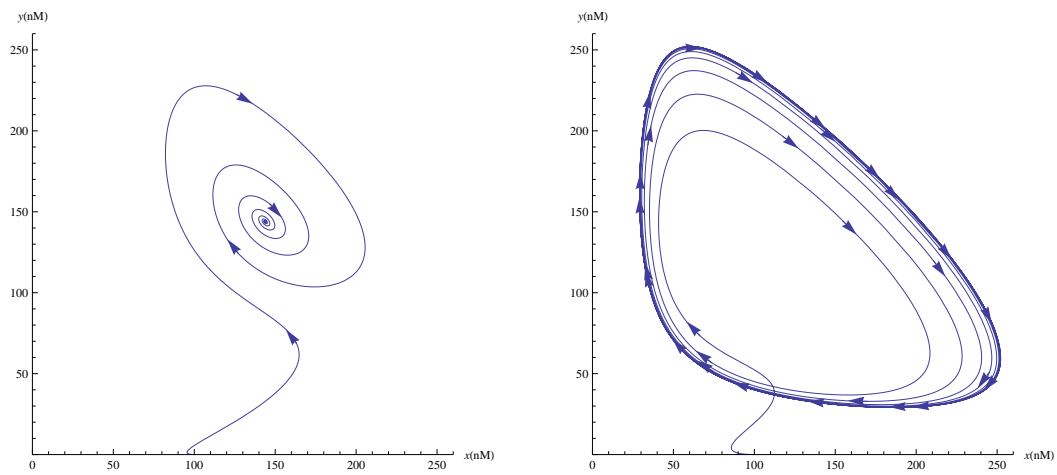
2.2 Bifurkacijska analiza

Bifurkacijska analiza je analiza prehodov med različnimi načini asimptotičnega obnašanja sistema ($t \rightarrow \infty$), ki se pojavijo zaradi spreminjanja začetnih pogojev. S pomočjo bifurkacijske analize lahko določimo optimalne začetne pogoje glede na uporabljen model. V bifurkacijski analizi poznamo več tipov bifurkacij [3]. Glede na naravo našega problema bo za nas najbolj zanimiva t.i. *Hopfova bifurkacija*. Hopfove bifurkacije lahko razdelimo v dve skupini, in sicer *superkritične* (angl. *supercritical*) in *subkritične* (angl. *subcritical*) bifurkacije. Pri superkritični s spremembo parametrov povzročimo spremembo stabilnega ravnovesnega stanja sistema v nestabilno ravnovesno stanje, pri čemer ob taki spremembi nastane stabilni limitni cikel. Namesto konvergence k stabilnemu ravnovesnemu stanju sistema dobimo konvergenco k stabilnemu limitnemu ciklu, torej k oscilatornemu obnašanju. Pri subkritičnih bifurkacijah sprememba parametra povroči spremembo nestabilnega ravnovesnega stanja v stabilno ravnovesno stanje, pri čemer nastane nestabilen limitni cikel. Primer superkritične bifurkacije prikazujeta sliki 2.2 in 2.3. Pri analizi Hopfove bifurkacije si pomagamo s Hopfovimi bifurkacijskim teoremom [4].

Analizo ponavadi izvajamo za en parameter. Zanima nas, kdaj bo sistem spremenil način obnašanja, če spreminjamo enega izmed vhodnih parametrov. Pri tem se je potrebno zavedati dejstva, da včasih pri spreminjanju zgolj enega parametra do bifurkacij ne prihaja. S preiskovanjem prostora vrednosti vseh parametrov lahko izdelamo t.i. *bifurkacijski diagram*, ki prikazuje različna območja načinov obnašanja sistema. Zaradi velikega števila parametrov, ki opisujejo naš sistem, bi bilo izrisovanje bifurkacijskega diagrama preveč zapleteno za obseg tega dela.



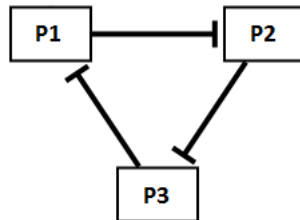
Slika 2.2 Grafa časovne evolucije prikazujeta, kako se obnašanje sistema pri bifurkaciji iz konvergence proti ravnovesnemu stanju spremeni v stabilne oscilacije koncentracij.



Slika 2.3 Grafa v fazni ravnini prikazujeta spremembo stabilnega ravnovesnega stanja v stabilni limitni cikel za enak sistem kot na sliki 2.2.

3 Represilator kot biološki procesni sistem

Dinamiko v gensko regulatornih omrežjih, ki so kot potencialni biološki procesni gradniki trenutno daleč najbolj raziskani, lahko v grobem opišemo s tremi reakcijami: s sintezo molekul mRNK oziroma *transkripcijo*, s sintezo molekul reguliranih proteinov oziroma *translacijo* in z *razgradnjo* tako molekul mRNK kot tudi proteinov. Pri tem je hitrost transkripcije odvisna od prisotnosti proteinov, ki nastopajo v vlogi transkripcijskih faktorjev, hitrost translacije pa od prisotnosti molekul mRNK. V našem primeru se bomo osredotočili na *represorska omrežja*, pri čemer prisotnost proteina, ki nastopa v vlogi transkripcijskega faktorja, t.i. *represorja*, zavira transkripcijo molekul mRNK. V gensko regulatornih omrežjih se kot oscilatorni sistem zelo pogosto pojavlja t.i. represilator (angl. *repressilator*). Represilator je sistem, kjer protein kot produkt pripadajoče mRNK zavira (represira) produkcijo drugega proteina. Na tak način nastane krožna struktura represije proteinov, ki jo prikazuje slika 3.1. Rezultat sistema je ciklično naraščanje in padanje koncentracij proteinov, torej oscilacije. Število členov represilatorja je poljubno. Bifurkacijska analiza represilatorja bo pokazala, da pravilno delovanje ni popolnoma neodvisno od števila členov.



Slika 3.1 Primer represilatorja s tremi členi. Vsak od proteinov v krogu regulira produkcijo naslednjega proteina. V krog lahko dodamo poljubno število členov.

3.1 Modeliranje gensko regulatornih omrežij

Gensko regulatorna omrežja lahko modeliramo na različne načine, v grobem pa se modeli delijo na stohastične in deterministične. Stohastični modeli vsebujejo elemente verjetnostnih porazdelitev, kar pomeni, da rezultati vsake simulacije sicer nakazujejo enako rešitev, a so kljub istim vhodnim podatkom zaradi stohastičnosti kemijskih reakcij v večini primerov nekoliko različni. Ker je potrebno na vsakem koraku upoštevati to verjetnostno porazdelitev, je izračun rezultata stohastične simulacije časovno bolj potraten. Pri determinističnih modelih je biološki sistem opisan s sistemom diferencialnih enačb, rezultati simulacije pa predstavljajo enolično rešitev sistema pri danih začetnih pogojih. Za bifurkacijsko analizo smo uporabili deterministični model, ki je osnovan na Hillovih enačbah [5].

3.2 Deterministični model represilatorja s kooperativno vezavo

Deterministični model opisuje sistem diferencialnih enačb za spremembo koncentracije proteinov in molekul mRNK. Glede na to, da so enačbe za spremembe koncentracij vseh proteinov enake bomo zapis posplošili:

$$\frac{dp_i}{dt} = \beta_i \cdot mRNK_i - \delta_i \cdot p_i, i \in 1, 2, \dots, n, \quad (3.1)$$

kjer je p_i koncentracijo i -tega proteina, $mRNK_i$ koncentracije i -te mRNK, β_i koeficient translacije ($0.043s^{-1}$), δ_i pa koeficient razgradnje proteina ($7 \cdot 10^{-4}$). Posplošiti je mogoče tudi enačbe, ki določajo spreminjanje koncentracij molekul mRNK:

$$\frac{d(mRNK_i)}{dt} = \frac{\alpha_i}{1 + K_{d_i} \cdot p_{i-1}^\gamma} + \alpha_{0i} - mRNK_i \cdot \delta_{mRNK_i}, i \in 1, 2, \dots, n, \quad (3.2)$$

kjer je $mRNK_i$ koncentracija i -te mRNK, α_i koeficient transkripcije ($0,0715s^{-1}$), izraz $\frac{1}{1+K_{d_i} \cdot p_{i-1}^\gamma}$ podaja v kolikšni meri lahko teče transkripcija glede na število vezanih represorjev, K_{d_i} količnik med koeficientom vezave in cepitvije represorja ($0,02505$), p_{i-1} koncentracija proteina, ki deluje kot represor, γ Hillov koeficient (2), ki podaja stopnjo kooperativnosti, α_{0i} koeficient puščanja ($0,0715 \cdot 10^{-3}s^{-1}$), δ_{mRNK_i} pa koeficient razgradnje molekul mRNK. Pri modelu s kooperativno vezavo upoštevamo, da se na operator lahko veže več represorjev (v našem primeru je Hillov koeficient $\gamma = 2$). Indeks i lahko v primeru p_{i-1} zavzame vrednost 0, zato se moramo zavedati, da je tu mišljena krožna struktura, kar pomeni da p_0 prazapprav predstavlja p_n . Vrednosti uporabljenih koeficientov smo povzeli po obstoječi literaturi [6, 7].

3.3 Deterministični model brez kooperativne vezave

V nasprotju z modelom, ki smo ga opisali v prejšnjem poglavju, je literatura glede delovanja modelov represilatorja brez kooperativne vezave (Hillov koeficient $\gamma = 1$) razdeljena. Glede na [8] bo rezultat modela represilatorja brez kooperativne vezave oscilacija, ki s časom zamre. Nasprotno [9] navaaja nekoliko nadgrajen model, katerega rezultat so oscilacije, ki ne zamrejo, pri čemer je nadgradnja preprosta. Gre za dopolnitev modela, opisanega v prejšnjem poglavju, in sicer vpeljemo razgradnjo vezanih represorjev, ki smo jo sicer zanemarili. Model, ki smo ga s tem dobili, lahko nekoliko poenostavimo, tako da pri produkciji proteina ne upoštevamo reakcije, ki opisuje transkripcije molekul mRNK, ta korak namreč lahko vključimo v enačbo spreminjanja koncentracije proteina. Preverili smo delovanje obeh modelov.

Model z upoštevanjem transkripcije

Enačbe za spremembo koncentracije mRNK nismo spreminjali, medtem ko smo pri enačbah za spremembo koncentracije proteinov dodali še del, ki opisuje razgradnjo vezanega represorja:

$$\frac{dp_i}{dt} = \beta_i \cdot mRNK_i - \delta_i \cdot p_i - \frac{\delta_{r_i} \cdot K_{d_i}}{1 + K_{d_i} \cdot p_i} \cdot p_i, i \in 1, 2, \dots, n. \quad (3.3)$$

Vrednosti parametrov so enake kot pri modelu iz prejšnjega poglavja. Dodatno je vpeljan koeficient za razgradnjo vezanega represorja ($\delta_{r_i} = 0.003s^{-1}$) [9].

Model brez eksplicitnega upoštevanja transkripcije

Tu enačbe za reakcije, ki opisujejo spremembo koncentracije mRNK, združimo z enačbami, ki opisujejo spremembo koncentracij za proteine, kar opis sistema z diferencialnimi enačbami poenostavi na:

$$\frac{dp_i}{dt} = \frac{\rho_i}{1 + K_{d_i} \cdot p_{i-1}} - \delta_i \cdot p_i - \frac{\delta_{r_i} \cdot K_{d_i}}{1 + K_{d_i} \cdot p_i} \cdot p_i, i \in 1, 2, \dots, n. \quad (3.4)$$

Vpeljali smo nov koeficient ρ_i [9], ki pravzaprav združuje koeficient translacije, transkripcije in razgradnje molekul mRNK z izrazom:

$$\rho_i = \frac{\beta_i \cdot \alpha_i}{\delta_{mRNK_i}}, i \in 1, 2, \dots, n. \quad (3.5)$$

4 Bifurkacijska analiza represilatorja

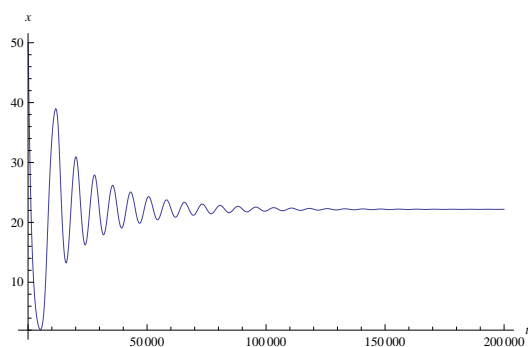
Bifurkacijsko analizo bomo naredili na represilatorju s 3, 4 in 5 členi. Za vsak represilator bomo obravnavali vse modele, ki so bili opisani v poglavju 3. Pri vsakem od modelov bomo izbrali en parameter, na katerem bomo izvajali bifurkacijsko analizo. Pri iskanju bifurkacijske točke bomo parameter spreminjali dokler ne dosežemo bodisi spremembe v načinu obnašanja sistema bodisi smiselne zgornje meje parametra. Zanimale nas bodo časovne evolucije sistemov. V vseh primerih bomo trajektorije sistema izrisali v fazni ravnini in preverili morebitni obstoj ravnovesnih točk ali limitnih ciklov. Iskanje rešitev sistema, preverjanje stabilnosti ravnovesnih točk in odkrivanje bifurkacijskih točk smo implementirali v programu Mathematica.

4.1 Represilator s 3 členi

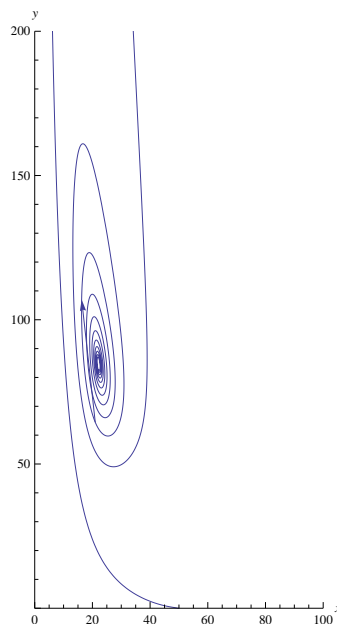
V nadaljevanju bo opisana bifurkacijska analiza represilatorja s tremi členi, ki je bil sicer v literaturi že obsežno obravnavan [5, 10].

Model s kooperativno vezavo

Parameter za katerega delamo bifurkacijsko analizo je razgradnja proteinov (δ_i). Sliki 4.1 in 4.2 prikazujeta grafa časovne evolucije in fazne ravnine. Vidimo lahko, da s časom oscilacije zamrejo, v fazni ravnini pa sistem konvergira proti stabilnemu ravnovesnemu stanju.



Slika 4.1 Časovna evolucija represilatorja s tremi členi in kooperativno vezavo represorjev. S časom oscilacije zamrejo, sistem zaide v stabilno ravnovesno stanje.

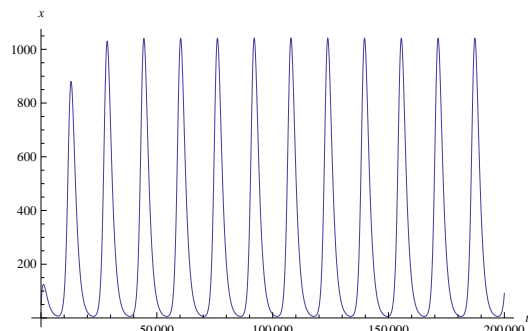


Slika 4.2 Fazna ravnina represilatorja s tremi členi in kooperativno vezavo represorjev. Spremembe koncentracij konvergirajo proti nič, kar se na grafu vidi kot trajektorija, ki potuje v stabilno ravnovesno točko.

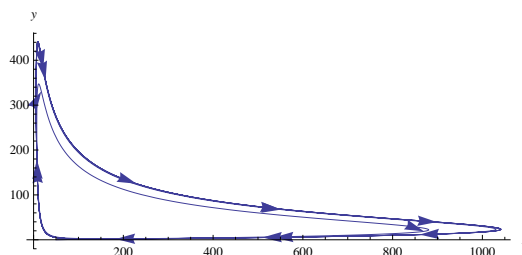
S povečevanjem parametra (δ_i) iščemo točko, kjer sistem iz stabilnega ravnovesnega stanja preide v oscilatorno delovanje. To se zgodi v točki $\delta_x = 0,01158s^{-1}$ (iskanje je potekalo na intervalu $0,0007 < \delta_x < 1$). Sliki grafov 4.3 in 4.4 prikazujeta samovzdržujoče osciliranje sistema v odvisnosti od časa in stabilni limitni cikel v fazni ravnini.

Model brez kooperativne vezave z upoštevanjem transkripcije

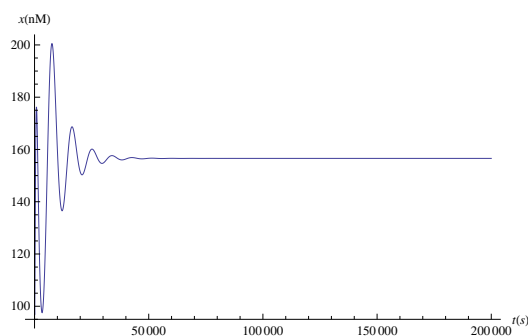
Za model brez kooperativne vezave bomo bifurkacijsko analizo naredili za parameter δ_{r_i} . Ne glede na parameter δ_x sistem namreč zaide v ravnovesno stanje, zato se zdi smiselno, da bifurkacijsko analizo naredimo za parameter, ki smo ga dodali. Sliki 4.5 in 4.6 prikazujeta obnašanje sistema, ki konvergira proti stabilnemu ravnovesnemu stanju.



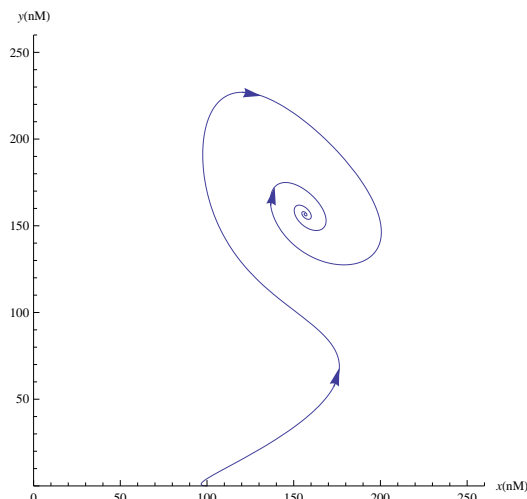
Slika 4.3 Povečanje parametra čez bifurkacijsko točko sistema, ki opisuje represilator s tremi členi in kooperativno vezavo represorjev, povzroči oscilatorno delovanje.



Slika 4.4 Pri represilatorju s tremi členi in kooperativno vezavo represorjev v fazni ravnini vidimo, da se je obnašanje sistema spremenilo iz konvergiranja proti stabilnemu ravnovesnemu stanju v konvergiranje v stabilni limitni cikel.



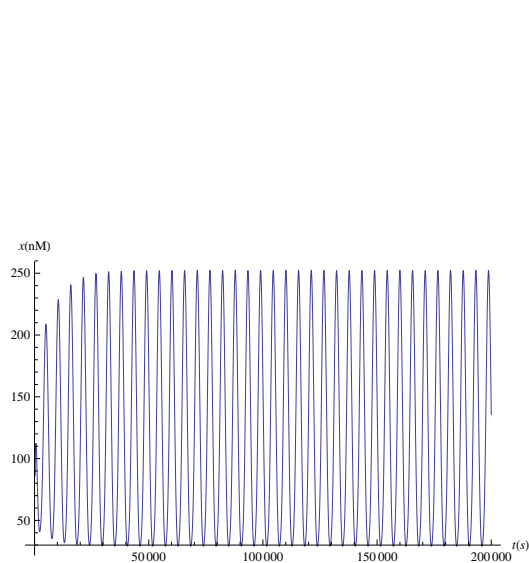
Slika 4.5 Časovna evolucija delovanja represilatorja s tremi členi (brez kooperativne vezave z upoštevanjem transkripcije) prikazuje zmanjšanje oscilacij in konvergenco proti stabilnemu ravnovesnemu stanju.



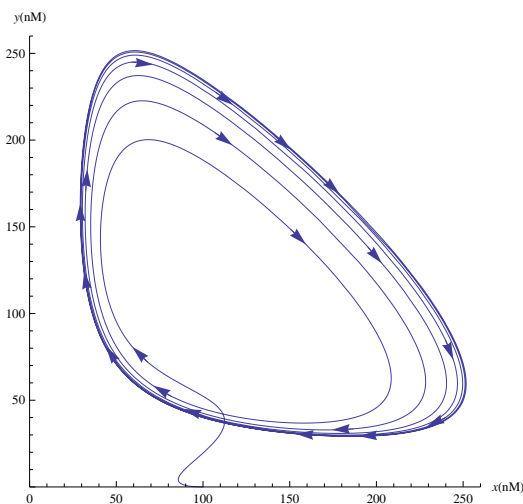
Slika 4.6 Fazna ravnina pri represilatorju s tremi členi (brez kooperativne vezave z upoštevanjem transkripcije) prikazuje konvergenco koncentracij proti stabilni ravnovesni točki sistema.

Točko bifurkacije najdemo s povečevanjem parametra δ_{r_i} . Z oddaljevanjem od te točke ($\delta_{r_i} = 0,198033$) se do neke mere večja amplituda oscilacij. Zanimivo je, da na preiskovanju danega intervala ($0,003 < \delta_{r_i} < 1$) najdemo dve bifurkacijski točki, dobimo torej interval, kjer sistem deluje oscilatorno, izven tega intervala ($0,198033 < \delta_{r_i} < 0,5123$) pa sistem konvergira k stabilnemu ravnovesnemu stanju. Sliki grafov 4.7 in 4.8 prikazujeta obnašanje sistema, ko sistem preide iz konvergenca k ravnovesnemu stanju v konvergenca proti limitnemu ciklu. Opazimo lahko tudi drugačno obliko limitnega cikla glede na sliko 4.3, poleg tega pa imajo oscilacije krajšo periodo. Tako spremembo lahko

pripišemo drugačnim začetnim parametrom in spremenjenemu modelu.



Slika 4.7 Časovna evolucija represilatorja s tremi členi (brez kooperativne vezave z upoštevanjem transkripcije), ko preide v oscilatorno delovanje.

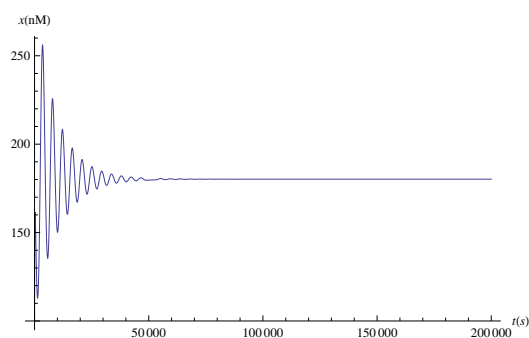


Slika 4.8 Fazna ravnina prikazuje spremembo obnašanja represilatorja s tremi členi (brez kooperativne vezave z upoštevanjem transkripcije) iz konvergenca stabilnega ravnovesnega stanja v konvergenco k limitnemu ciklu.

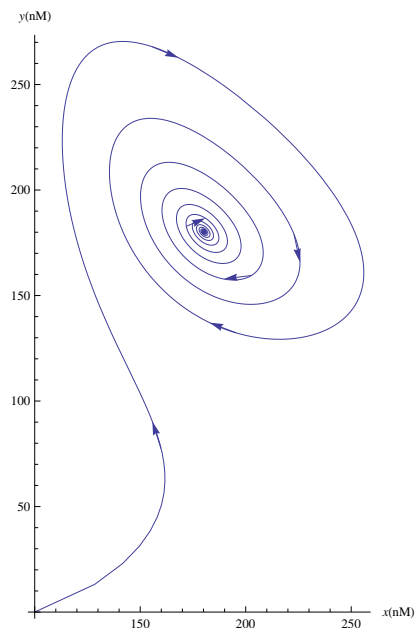
Model brez kooperativne vezave in brez eksplicitnega upoštevanja transkripcije

Tudi za model brez kooperativne vezave, pri katerem pa enačbe za spremembo koncentracije mRNK združimo z enačbami za spremembo koncentracij proteinov, bomo bifurkacijsko analizo naredili na parametru za razgradnjo vezanih represorjev (δ_{r_i}). Sliki grafov 4.9 in 4.10 prikazujeta sistem, ki zaide v stabilno ravnovesno stanje.

Točke bifurkacijske za model brez kooperativne vezave, pri katerem eksplicitno ne upoštevamo transkripcije, sprva nismo našli. Pri poenostavitvi smo izpustili spremenljivko, ki določa koncentracijo mRNK. Čeprav smo upoštevali razgradnjo molekul mRNK, smo na model s poenostavitvijo vplivali dovolj, da točke bifurkacije samo s spreminjanjem parametra δ_{r_i} nismo našli. Ker je od parametrov, ki imajo povezavo s spreminjanjem koncentracije mRNK, ostal le koeficient razgradnje molekul mRNK, smo nadaljevanje bifurkacijske točke iskali s spreminjanjem le-tega. Izkazalo se je, da je bil razmislek pravi, potrebna sprememba parametra za razgradnjo molekul mRNK pa minimalna v primerjavi z velikostjo intervala iskanja (točka bifurkacije: $\delta_{r_i} = 0,463279$). Slika 4.11 prikazuje sistem, ki s časom stabilno oscilira, slika 4.12 pa njegovo delovanje v fazni rav-



Slika 4.9 Časovna evolucija represilatorja s tremi členi (brez kooperativne vezave in brez eksplicitnega upoštevanja transkripcije), ki preide v stabilno ravnovesno stanje.

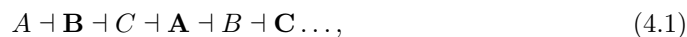


Slika 4.10 Spremembe koncentracij pri represilatorju s tremi členi (brez kooperativne vezave in brez eksplicitnega upoštevanja transkripcije) pred spremembo δ_{r_2} konvergirajo proti nič. Koncentracije proteinov se ustalijo v ravnovesni točki sistema.

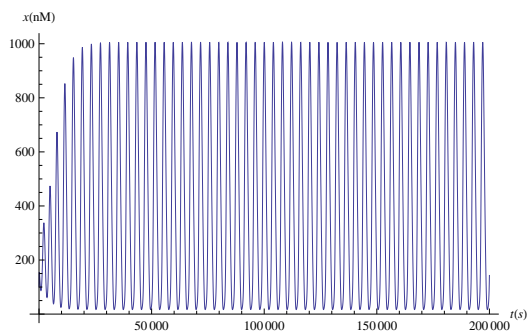
nini. Zanimivo je, da je vrednost parametra v bifurkacijski točki pri tem modelu večja kot pri modelu, kjer upoštevamo enačbe za spremembo koncentracije mRNK, poleg tega pa je vredno omeniti tudi, da pri tem modelu na iskanem intervalu nismo našli dveh bifurkacijskih točk.

4.2 Represilator s 4 členi

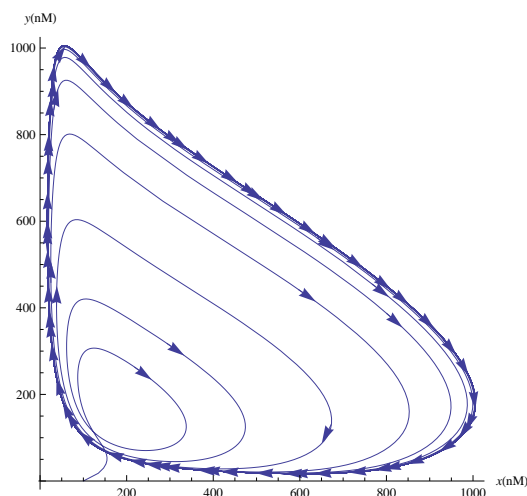
Pri represilatorju s 4 členi ne pričakujemo oscilacij v nobenem primeru. Ne glede na začetne vrednosti parametrov že sama struktura represilatorja kaže na to, da se sistem ujame v ravnovesno stanje. Shemo delovanja kroga represije pri represilatorju z lihim številom členov (3) lahko prikažemo kot:



kjer je krepko označen protein z represirano produkcijo. Vidimo, da je produkcija vsakega proteina vsaj enkrat zavirana, kar nakazuje oscilatorno delovanje. Premislek je

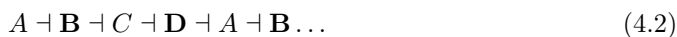


Slika 4.11 S spreminjanjem parametra δ_{r_i} in minimalno spremembo parametra za razgradnjo molekul mRNK smo pri represilatorju s tremi členi (brez kooperativne vezave in brez eksplicitnega upoštevanja transkripcije) spremenili obnašanje sistema v oscilatorno (glede na sliko 4.9).



Slika 4.12 Prikaz sistema represilatorja s štirimi členi (brez kooperativne vezave in brez eksplicitnega upoštevanja transkripcije) v fazni ravnini prikazuje spremembo v obnašanju. Spreminjanje koncentracij proteinov se ujame v limitni cikel.

enak pri represilatorju s poljubnim lihimi številom. Pri represilatorju s sodnim številom členov (4) pa se to ne zgodi:



Koncentracija proteina, ki prvi povzroči represijo, bo narasla do vrednosti, kjer se njegova produkcija in degradacija izenačita. To povzroči konstantno represijo produkcije naslednjega proteina v krogu, s čimer pa se celotni sistem ujame v ravnovesno stanje.

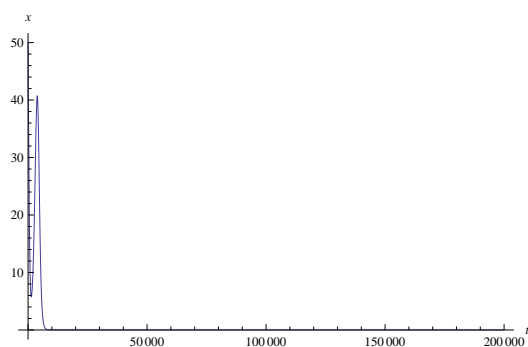
Model s kooperativno vezavo

Najprej si pogledimo, kako se obnaša sistem s kooperativno vezavo. Pri enakih vrednostih parametrov, kot smo jih uporabili pri represilatorju s tremi členi, je iz slik 4.13 in 4.14 razvidno, da sistem zelo hitro preide v stabilno ravnovesno stanje.

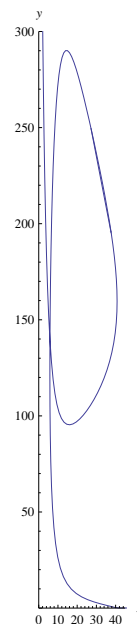
Bifurkacijsko analizo smo pri tem modelu izvedli na koeficientu razgradnje proteinov δ_i . Ne glede na interval iskanja bifurkacijske točke nismo našli.

Model brez kooperativne vezave z upoštevanjem transkripcije

Pri modelu, ki je izmed treh uporabljenih najbolj poenostavljen, sistem ni nakazoval oscilatornega delovanja. Ne glede na interval iskanja nismo našli bifurkacijske točke, kar



Slika 4.13 Represilator s štirim člani (s kooperativno vezavo) takoj zaide v stabilno ravnovesno stanje.



Slika 4.14 V fazni ravnini represilatorja s štirim člani (s kooperativno vezavo) vidimo stabilno ravnovesno točko, kamor konvergirajo trajektorije koncentracij.

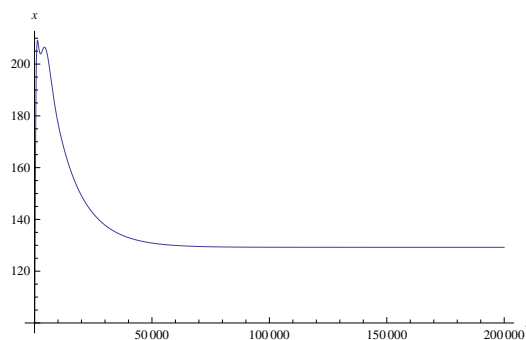
potrjuje naša pričakovanja, da represilator s 4 člani že zaradi svoje strukture ne bo odražal oscilacij v nobenem primeru. Sliki grafov 4.15 in 4.16 prikazujeta podobne rezultate kot prejšnji model, torej hitro konvergenco k stabilnemu ravnovesnemu stanju.

Model brez kooperativne vezave in brez eksplcitnega upoštevanja transkripcije

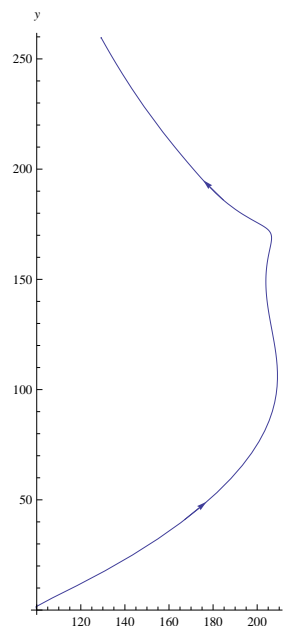
Tudi pri modelu brez kooperativne vezave nismo našli bifurkacijske točke. Sistem je že pri začetnih pogojih takoj skonvergiral v ravnovesno stanje. Sliki 4.17 in 4.18 prikazujeta obnašanje sistema, ki je sicer nekoliko drugačno kot pri modelu s kooperativno vezavo, a bistvene razlike v načinu obnašanja ni.

4.3 Represilator s 5 člani

Videli smo, da pri represilatorju s 3 člani uspešno najdemo bifurkacijsko točko ne glede na uporabljen model. Za represilator s 4 člani bifurkacijske točke nismo našli pri nobenih pogojih. Kot zadnji sistem bomo analizirali delovanje represilatorja s 5 člani. Zopet bomo uporabili vse tri modele.



Slika 4.15 Tudi pri modelu brez kooperativne vezave in z upoštevanjem transkripcije represilator s štirimi členi ne oscilira.



Slika 4.16 Fazna ravnina represilatorja s štirimi členi (brez kooperativne vezave in z upoštevanjem transkripcije) prikazuje konvergenco stanja k stabilni ravnovesni točki.

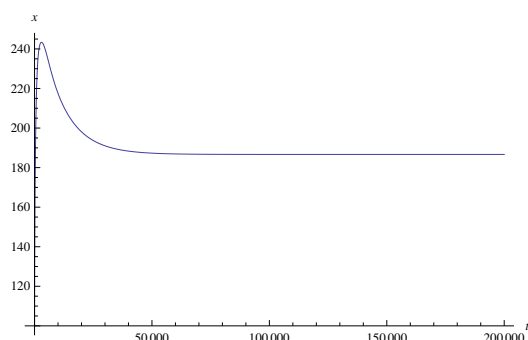
Model s kooperativno vezavo

Pri modelu s kooperativno vezavo bomo ponovno izvajali bifurkacijsko analizo na koeficientu razgradnje proteinov δ_i . Pri preiskovanju prostora smo izhajali iz začetnih parametrov, ki smo jih navedli v poglavju 3. Na slikah grafov 4.19 in 4.20 lahko vidimo, da s temi vrednostmi sistem s časom konvergira v stabilno ravnovesno stanje.

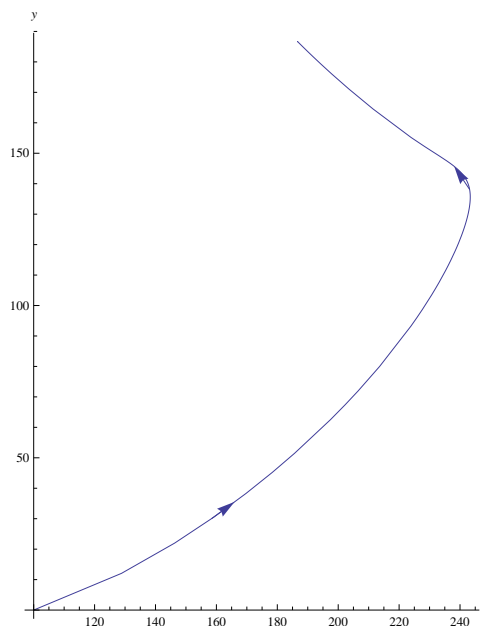
S povečevanjem parametra δ_i uspešno najdemo bifurkacijsko točko ($\delta_i = 0,0250408$). V primerjavi z istim modelom represilatorja s tremi členi je vrednost parametra sicer nekoliko večja, a istega velikostnega razreda. Sliki grafov 4.21 in 4.22 prikazujeta, kako se sistem obnaša, ko prestopimo točko bifurkacije. Vidimo lahko, da ima limitni cikel zelo podobno obliko kot limitni cikel istega modela pri represilatorju s tremi členi.

Model brez kooperativne vezave z upoštevanjem transkripcije

Da bomo lahko modele represilatorjev različnih velikosti med seboj primerjali, bomo za model brez kooperativne vezave delali analizo za koeficient razgradnje vezanih represorjev (δ_{r_i}). Pri istih začetnih vrednostih parametrov se sistem s petimi členi, kjer upoštevamo



Slika 4.17 Represilator s štrimi členi ne odraža oscilacij tudi pri modelu brez kooperativne vezave, kjer eksplicitno ne upoštevamo transkripcije.



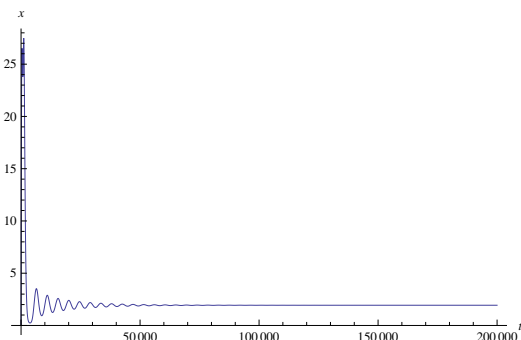
Slika 4.18 Fazna ravnina represilatorja s štrimi členi (brez kooperativne vezave in brez eksplicitnega upoštevanja transkripcije) prikazuje trajektorijo, ki sicer enkrat zaokroži, a nato skonvergira v stabilno ravnovesno stanje.

transkripcijo, obnaša podobno. S časom konvergira v stabilno ravnovesno stanje, kot to prikazujeta sliki grafov 4.27 in 4.28.

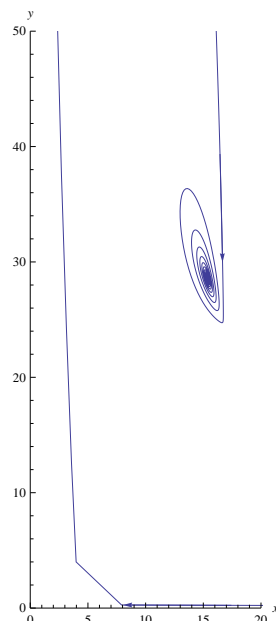
Tudi pri tej velikosti smo z bifurkacijsko analizo pri modelu na iskanem intervalu našli dve bifurkacijski točki, kar nam pove, da obstaja interval vrednosti δ_{r_i} pri katerih sistem oscilira, medtem ko zunaj tega intervala sistem s časom konvergira v stabilno ravnovesno stanje. Interval je tu nekoliko širši ($0,09 < \delta_{r_i} < 0,585$), kar lahko pripišemo drugačnemu obnašanju zaradi večih členov. Sliki grafov 4.25 in 4.26 prikazujeta delovanje sistema, če je opazovani parameter znotraj omenjenega intervala. Vidimo lahko, da sta limitna cikla za isti model represilatorjev različnih velikosti tudi tu podobna.

Model brez kooperativne vezave in brez eksplicitnega upoštevanja transkripcije

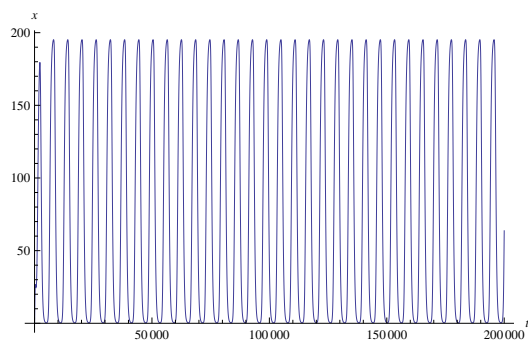
Kot pri ostalih, tudi tu izvajamo bifurkacijsko analizo glede na δ_{r_i} . Zopet bomo preverili obnašanje sistema pri začetnih vrednostih parametrov, rezultat pa je tako kot pri vseh ostalih modelih sistem, ki s časom konvergira k stabilnemu ravnovesnemu stanju.



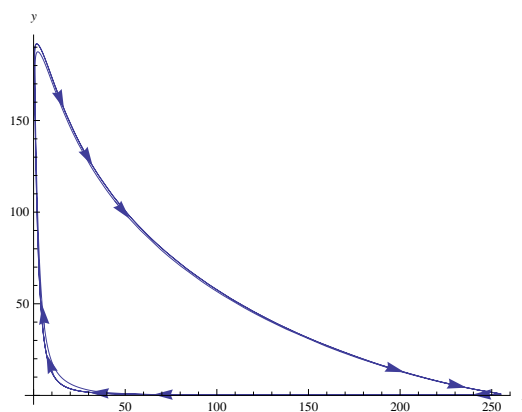
Slika 4.19 Sistem represilatorja s petimi členi in kooperativno vezavo po začetni oscilaciji zaide v stabilno ravnovesno stanje.



Slika 4.20 Fazna ravnina represilatorja s petimi členi (s kooperativno vezavo) prikazuje stabilno ravnovesno točko.

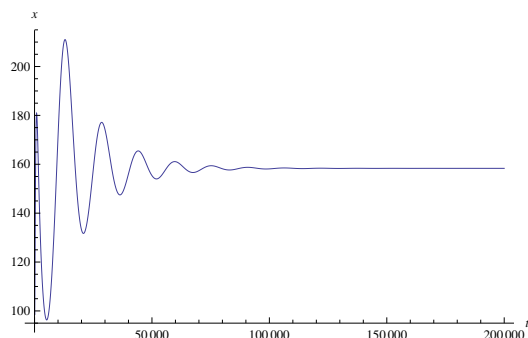


Slika 4.21 Če δ_i povečamo čez bifurkacijsko točko, sistem represilatorja s petimi členi (s kooperativno vezavo) vzdržuje stabilne oscilacije.

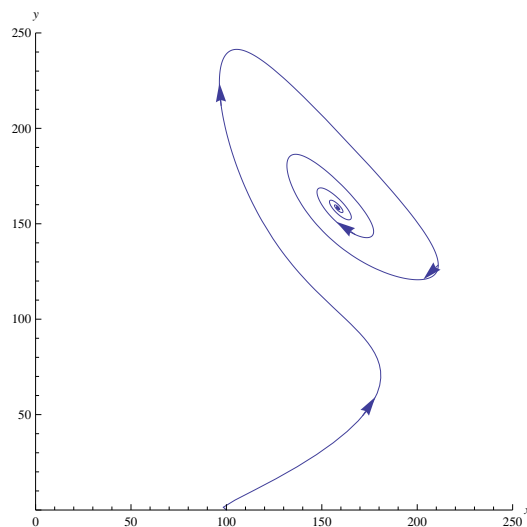


Slika 4.22 V fazni ravnini je lepo viden limitni cikel represilatorja s petimi členi (s kooperativno vezavo), ki ima podobno obliko, kot limitni cikel modela represilatorja s tremi členi na sliki 4.4.

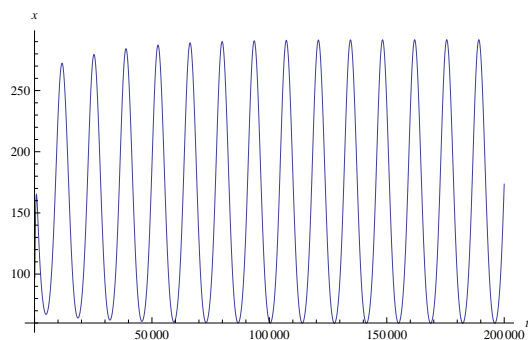
Če smo hoteli pri represilatorju s tremi členi poiskati bifurkacijsko točko za parameter δ_{r_i} , smo morali malenkost spremeniti tudi koeficient razgradnje molekul mRNK, saj smo s poenostavitvijo modela zgubili informacijo o koncentraciji mRNK. Pri represilatorju s pet členi nam tega ni bilo treba storiti, saj smo bifurkacijsko točko ($\delta_{r_i} = 0,46728$) za



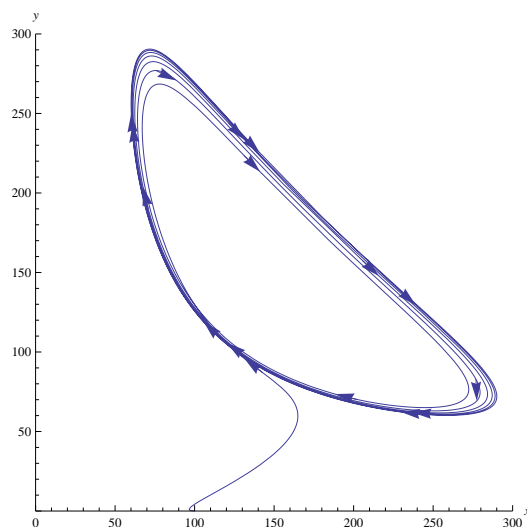
Slika 4.23 Pri modelu represilatorja s petimi členi brez kooperativne vezave, kjer upoštevamo transkripcijo, sistem zaide v ravnovesno stanje, če začetnih parametrov ne spreminjamo.



Slika 4.24 Pri represilatorju s petimi členi (brez kooperativne vezave z upoštevanjem transkripcije) lahko na fazni ravnini vidimo obstoj stabilne ravnovesne točke.

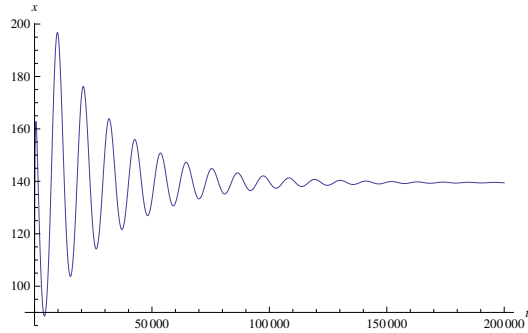


Slika 4.25 Pri vrednostih δ_{r_i} znotraj intervala, ki smo ga dobili z bifurkacijsko analizo, sistem represilatorja s petimi členi (brez kooperativne vezave z upoštevanjem transkripcije) stabilno oscilira.

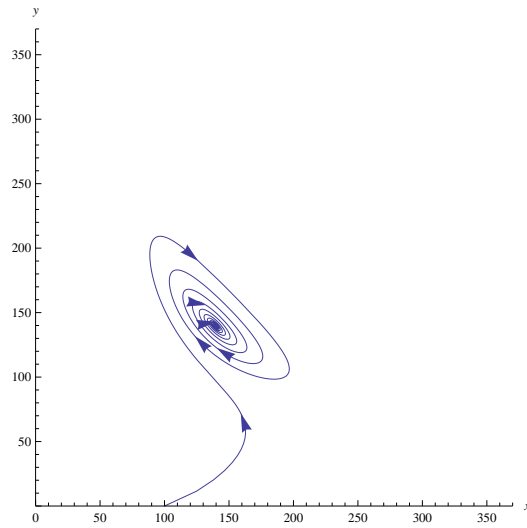


Slika 4.26 V fazni ravnini represilatorja s petimi členi (brez kooperativne vezave z upoštevanjem transkripcije) pri vrednostih δ_{r_i} znotraj intervala vidimo odsotnost stabilne ravnovesne točke in obstoj limitnega cikla.

opazovani parameter našli pri originalnih začetnih vrednostih ostalih parametrov. Čeprav je bifurkacijska točka zelo blizu bifurkacijske točke manjšega represilatorja, nam to pove, da so intervali za vse parametre sistema za različne velikosti represilatorja različni. Sliki

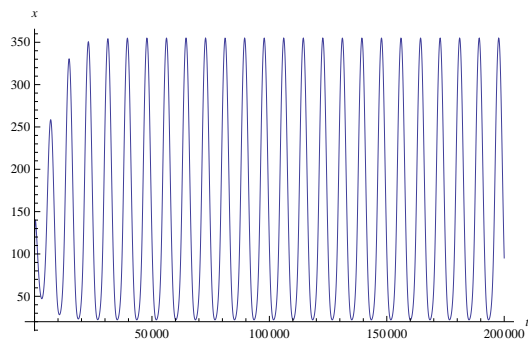


Slika 4.27 Tudi pri modelu represilatorja s petimi členi brez kooperativne vezave, kjer eksplicitno ne upoštevamo transkripcije, pri začetnih parametrih, ki smo jih uporabili pri vseh modelih, ne pride do oscilacij.

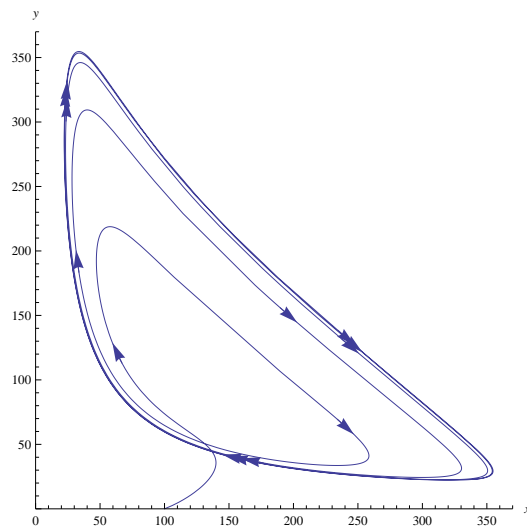


Slika 4.28 Fazna ravnina pri represilatorju s petimi členi (brez kooperativne vezave in brez eksplicitnega upoštevanja transkripcije) prikazuje konvergiranje sistema v stabilno ravnovesno točko.

grafov 4.29 in 4.30 prikazujeta sistem, ki deluje oscilatorno. Kot pri obeh prejšnjih modelih, tudi pri tem vidimo, da sta limitna cikla istega modela represilatorjev različnih velikosti podobne oblike.



Slika 4.29 Ko opazovani parameter δ_{r_i} povečamo čez bifurkacijsko točko, sistem, ki opisuje represilator s petimi členi (brez kooperativne vezave in brez eksplicitnega upoštevanja transkripcije) začne stabilno oscilirati.



Slika 4.30 V fazni ravnini represilatorja s petimi členi (brez kooperativne vezave in brez eksplicitnega upoštevanja transkripcije) vidimo, da limitni cikel obstaja. Podoben je limitnemu ciklu enakega modela represilatorja s tremi členi, ki ga prikazuje slika 4.12.

5 Zaključek

Kvalitativno analizo smo izvedli na več različnih determinističnih modelih represilatorja različnih velikosti. Pokazali smo, da represilator s štirimi členi ne glede na model vedno konvergira v stabilno ravnovesno stanje, kar je posledica strukture represilatorja ne glede na izbiro vrednosti parametrov. Ker nas je zanimala primerjava rezultatov analiz, pri katerih je prišlo do bifurkacije, bomo primerjali le represilatorja z lihimi številom členov, represilator s štirimi členi bomo v primerjavi izpustili. Zanimivo je, da so bifurkacijske točke za enake modele represilatorjev različnih velikosti precej blizu. Tudi limitni cikli imajo pri enakih modelih represilatorjev različnih velikosti podobno obliko, medtem ko se med posameznimi modeli oblike limitnih ciklov precej razlikujejo. Z različnimi dopolnitvami in poenostavitvami smo izdelali tri deterministične modele represilatorja. Pri osnovnem modelu smo za represilatorja obeh velikosti našli bifurkacijsko točko. Zanimivo je bilo opazovati obnašanje v bližini te točke. Pri obeh velikostih velja, da bolj kot smo se oddaljevali od točke bifurkacije, bolj se je amplituda oscilacij povečevala. V literaturi smo opazili deljeno mnenje o delovanju represilatorja brez kooperativne vezave. V določenih člankih namreč navajajo, da brez kooperativne vezave represilator ne deluje

[8]. Pokazali smo, da kooperativna vezava sicer res vpliva na delovanje represilatorja, ne pogojuje pa obstoja oscilacij v sistemu. Če smo osnovni model uporabili za represilator brez kooperativne vezave, se je sistem hitro ujel v stabilno ravnovesno stanje, zato smo preverili, kaj se zgodi, če osnovni model dopolnimo z razgradnjo vezanih represorjev. Bifurkacijska analiza tega modela je pokazala obstoj kar dveh bifurkacijskih točk pri obeh velikostih represilatorja. Ker smo v model dodali dodatno reakcijo - spremembo koncentracij opazovanih kemijskih zvrsti, pri čemer je njeno hitrost opisoval na novo vpeljan parameter, smo s tem delovanje represilatorja opisali natančneje. To nam pove, da je dopolnitev osnovnega modela dovolj dobra in da represilator brez kooperativne vezave lahko deluje. Bifurkacijski točki sta določali interval, na katerem sta sistema represilatorjev delovala oscilatorno. Zanimivo je, da je bil interval pri represilatorju s petimi členi nekoliko širši, kar nakazuje večjo robustnost represilatorja z več členi. Dopolnjen osnovni model smo lahko nekoliko poenostavili in s tem dobili naš tretji model. V eno enačbo smo združili transkripcijo in translacijo, pri čemer smo izpustili upoštevanje koncentracij molekul mRNK in eksplicitno upoštevanje transkripcije. Opazili smo, da je ta poenostavitev močno vplivala na delovanje represilatorja. Če smo hoteli najti bifurkacijsko točko pri represilatorju s tremi členi, smo morali celo nekoliko spremeniti parameter, za katerega prvotno nismo izvajali bifurkacijske analize. Pri represilatorju s petimi členi to ni bilo potrebno, kar potrjuje večjo robustnost represilatorja z več členi. Ker smo model poenostavili, smo na iskanem intervalu zopet našli le eno bifurkacijsko točko.

Z analizo implementiranih modelov smo sicer dobili veliko informacij o delovanju represilatorja. Kljub temu na področju procesiranja z biološkimi sistemi kot osnovnimi procesnimi gradniki ostaja veliko potenciala za nadaljnje raziskovanje. V nalogi smo opisali le enega izmed pomembnih gradnikov, s čimer smo poleg določenih zaključkov odprli kar nekaj novih vprašanj. Osredotočili smo se na bifurkacijsko analizo za enega izmed parametrov, in sicer smo analizirali bifurkacije glede na koeficient hitrosti degradacije. Zanimivo bi bilo videti, kako je obnašanje sistema odvisno od spremembe ostalih parametrov. Opravili smo analizo le na enem parametru, še bolj zanimive, a tudi bolj kompleksne, pa bi bile analize na več parametrih hkrati. S tem bi dobili medsebojno odvisnost parametrov, na podlagi katere lahko izdelamo bifurkacijske diagrame, ki prikazujejo območja različnih načinov delovanja. S takimi diagrami lahko različne načine delovanja definiramo bistveno natančneje. Omenili smo tudi robustnost sistema v odvisnosti od števila členov v represilatorju. Zanimivo bi bilo videti, kako se robustnost

spreminja s povečevanjem števila členov. Nenazadnje pa je glavna možnost uporabe pridobljenega znanja in rezultatov pri *in-vivo* realizaciji obravnavanih bioloških sistemov. S tem bi lahko med drugim tudi potrdili pravilnost rezultatov modeliranja in izsledkov opravljenih analiz. Področje torej še vedno ponuja številne možnosti za nadaljnje raziskave.

LITERATURA

- [1] U. Alon, *An Introduction to Systems Biology*. Chapman & Hall/CRC, 2007.
- [2] M. Moškon, “Modeli in metrike dinamike preklopa v enostavnih bioloških sistemih za potrebe računalniških struktur prihodnosti,” doktorska disertacija (v pripravi), Univerza v Ljubljani, Fakulteta za računalništvo in informatiko, 2011.
- [3] P. Fall, E. S. Marland, J. M. Wagner, J. J. Tyson, *Computational Cell Biology (Interdisciplinary Applied Mathematics)*. Springer, 2002.
- [4] L. Edelstein-Keshet, *Mathematical Models in Biology*. Siam, Philadelphia, 2005.
- [5] S. L. Michael B. Elowitz, “A synthetic oscillatory network of transcriptional regulators,” *Nature*, št. 403, str. 335–338, 2000.
- [6] J. Goutsias, “Quasiequilibrium approximation of fast reaction kinetics in stochastic biochemical systems,” *Journal of Chemical Physics*, št. 122, zv. 18, zv. 18, str. 184102, 2005.
- [7] H. S. Booth, C. J. Burden, M. Hegland, L. Santoso, “A stochastic model of gene regulation using the chemical master equation,” v zborniku *Mathematical Modeling of Biological Systems, Volume I* (N. Bellomo, A. Deutsch, L. Brusch, H. Byrne, G. d. Vries, H. Herzel, eds.), Modeling and Simulation in Science, Engineering and Technology, str. 71–81, Birkhauser Boston, 2007.
- [8] A. P. Ralf Blossey, Luca Cardelli, “Compositionality, stochasticity, and cooperativity in dynamic models of gene regulation,” *HFSP Journal*, št. 2, str. 17–28, 2008.
- [9] A. Loinger, “Deterministic and stochastic analysis of simple genetic networks in single cells,” magistrska naloga, The Racah Institute of Physics, The Hebrew University, Jerusalem, 2006.

- [10] F. Rousseau, J. Schymkowitz, “A systems biology perspective on protein structural dynamics and signal transduction,” *Current Opinion in Structural Biology*, št. 15, zv. 1, str. 23 – 30, 2005. Folding and binding / Protein-nucleic acid interactions.