



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

**ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗΣ ΚΑΙ ΤΗΛΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΩΝ**

**ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
"ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗΣ ΣΤΗΝ ΙΑΤΡΙΚΗ ΚΑΙ ΤΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ"**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Computational Modeling of the Dynamics of IFN β
transcription through its Enhanceosome Assembly**

Δημήτριος Ε. Χριστοδούλου

Επιβλέπων: Ηλίας Μανωλάκος, Αναπληρωτής Καθηγητής

ΑΘΗΝΑ

ΙΟΥΛΙΟΣ 2012

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Computational Modeling of the Dynamics of IFN β transcription
through its Enhanceosome Assembly

Υπολογιστική Μοντελοποίηση της Δυναμικής του μεταγραφικού μηχανισμού
της Ιντερφερόνης - β (IFN β) μέσω της συγκρότησης του Ενισχυοσώματος

Δημήτριος Ε. Χριστοδούλου
Α.Μ.: ΠΙΒ032

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: **Ηλίας Μανωλάκος**, Αναπληρωτής Καθηγητής

ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ: **Δημήτρης Θάνος**, Ερευνητής Α' Ίδρυμα Ιατροβιολογικών
Ερευνών της Ακαδημίας Αθηνών (ΙΙΒΕΑΑ)
Αριστοτέλης Χατζηγιάννου, Ερευνητής Γ', Εθνικό Ίδρυμα
Ερευνών (ΕΙΕ)

Ιούλιος 2012

ABSTRACT

In recent years, important findings regarding the human IFN β gene expression have appeared in literature. Among them, the elucidation of the Enhanceosome Assembly process, which works in a stochastic manner and plays a crucial role in the transcription of the IFN β gene, has been considered a great success. The activation of Interferon – β transcription is a highly ordered process, which involves many proteins that bind to the enhancer of the gene. These proteins bind to the enhancer in a highly cooperative fashion. The assembled “Enhanceosome” serves as a transcriptional switch, leading to the transcription of the IFN β gene. If a cell does not have *all* the necessary proteins in abundance, it does not manage to turn the switch on and thus transcribe IFN β . The stochasticity of the phenomenon is thus both *intrinsic* and *extrinsic*: the Enhanceosome assembly process is intrinsically stochastic, whilst each cell in a population seems to have a different concentration – regarding the main transcription factors contributing to the stochasticity of the system. Only a small fraction of cells (~20%-25%) manages to transcribe IFN β initially. This percentage is almost doubled after a few hours, suggesting that the initially expressing cells induce their neighbor cells. The importance of this procedure is great, since IFN β plays a very important role in the timing of the immune system’s response, while it seems to have a certain – protective – role against cancer.

In this Master’s thesis, we took the first steps towards creating a trustworthy Systems Biology based computational model, able to capture the dynamics and function of the IFN β transcription mechanism both in single cell and population level, upon virus infection. The single cell level model we developed is capable of simulating the IFN β transcription, through the Enhanceosome Assembly mechanism. This model formed our basis, in order to move towards a useful and powerful *population* level computational model, able to capture not only the dynamics, but also the stochasticity of the system, the auto and paracrine induction mechanisms between the cells and the effects they have in a population of interacting cells.

The single cell level computational model was developed as a biomolecular/biochemical reactions kinetics model, and was trained by using available experimental data from the laboratory. Despite the limited amount of data used, the model simulates particularly well the observed phenomena. However, it is the population level computational model we developed – based on the single cell model – that stands out. A very important accomplishment is the ability of the population level model to predict the dynamic and stochastic behavior in a population of cells, in many different cases, managing to verify some of the most interesting hypotheses that have been only recently verified experimentally. It manages to do so although no parameter learning procedure has been applied specific to these cases. These results are very positive indications for the trustworthiness of both models and for their predictive capabilities, and especially those of the population model. Our computational models are not only capable of reproducing the dynamic characteristics of the IFN β transcription mechanism, but, of more importance, provide a *tool* for understanding and exploring the mechanisms behind such complex dynamics, a tool for generating and testing new hypotheses *in silico* that can be then validated experimentally.

SUBJECT AREA: Systems Biology

KEYWORDS: IFN β transcription, Enhanceosome Assembly, computational modeling, biochemical reaction kinetic networks, *in-silico* experiments, parameter estimation

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα τελευταία χρόνια, έχουν παρουσιαστεί σημαντικά ευρήματα σχετικά με την έκφραση του ανθρώπινου γονιδίου της Ιντερφερόνης – β (IFNβ). Οι κυριότερες επιτυχίες αφορούν την αποσαφήνιση του μηχανισμού συγκρότησης του Ενισχυοσώματος (Enhanceosome) του γονιδίου, μηχανισμός που έχει στοχαστικά χαρακτηριστικά και λειτουργία και παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στην μεταγραφή του γονιδίου της IFNβ. Η ενεργοποίηση της μεταγραφής της IFNβ, είναι μια ιδιαίτερα οργανωμένη διαδικασία, η οποία περιλαμβάνει πολλές πρωτεΐνες που συνδέονται με έναν “συνεργατικό” τρόπο στον υποκινητή του γονιδίου, συγκροτώντας το Ενισχυόσωμα. Αυτό λειτουργεί ως ένας μεταγραφικός διακόπτης, που οδηγεί στην μεταγραφή του γονιδίου της IFNβ. Αν ένα κύτταρο δεν έχει σε αφθονία όλες τις απαιτούμενες για τη συγκρότηση του Ενισχυοσώματος πρωτεΐνες, τότε δεν είναι σε θέση να μεταγράψει την IFNβ. Η στοχαστικότητα του φαινομένου είναι διττής φύσης: ενδογενής και εξωγενής. Η διαδικασία συγκρότησης του Ενισχυοσώματος είναι ενδογενώς στοχαστική, ενώ σε επίπεδο πληθυσμού κυττάρων, κάθε κύτταρο έχει κάθε πρωτεΐνη σε διαφορετική συγκέντρωση. Τελικά, μόνο ένα μικρό υποσύνολο των κυττάρων ενός πληθυσμού καταφέρνει να μεταγράψει την IFNβ αρχικά. Αυτό το ποσοστό διπλασιάζεται μετά από μερικές ώρες, κάτι που υποδεικνύει ότι τα κύτταρα που εκφράζουν την IFNβ αρχικά, πιθανά επηρεάζουν τα γειτονικά τους κύτταρα, οδηγώντας τα στην έκφραση της IFNβ.

Στα πλαίσια της παρούσας Διπλωματικής εργασίας, έγιναν τα πρώτα βήματα για την δημιουργία ενός υπολογιστικού μοντέλου Συστημικής Βιολογίας, ικανού να προσομοιώσει τη λειτουργία και δυναμική του μεταγραφικού μηχανισμού της IFNβ, τόσο σε επίπεδο ενός κυττάρου όσο και σε επίπεδο πληθυσμού κυττάρων, δεδομένης της μόλυνσης του κυττάρου από κάποιο ιό. Το υπολογιστικό μοντέλο σε επίπεδο ενός κυττάρου, που αναπτύξαμε, είναι ικανό να προσομοιώσει τη στοχαστική διαδικασία μεταγραφής της IFNβ, κάτι που επιτυγχάνεται μέσω της συγκρότησης του Ενισχυοσώματος. Το συγκεκριμένο μοντέλο αποτέλεσε το δομικό λίθο, για να κινηθούμε προς ένα πραγματικά ενδιαφέρον, χρήσιμο και ισχυρό υπολογιστικό μοντέλο στο επίπεδο του *πληθυσμού* κυττάρων, ικανό να προσομοιώσει όχι μόνο τη δυναμική και τη στοχαστικότητα του συστήματος, αλλά και τους ενδοκρινείς και παρακρινείς μηχανισμούς και αλληλεπιδράσεις μεταξύ των κυττάρων.

Το υπολογιστικό μοντέλο στο επίπεδο ενός κυττάρου αναπτύχθηκε ως ένα μοντέλο βιοχημικών αντιδράσεων, και εκπαιδεύτηκε αξιοποιώντας εργαστηριακά δεδομένα. Παρά τη σχετικά περιορισμένη ποσότητα δεδομένων, το μοντέλο μας καταφέρνει να προσομοιώσει ιδιαίτερα ικανοποιητικά τα παρατηρούμενα φαινόμενα. Το μοντέλο όμως που πραγματικά ξεχωρίζει, μέσω των αποτελεσμάτων του, είναι το υπολογιστικό μοντέλο που αναπτύξαμε στο επίπεδο του πληθυσμού. Ιδιαίτερα ενδιαφέρον αποτέλεσμα αποτελεί η ικανότητα του συγκεκριμένου μοντέλου να προβλέψει τη δυναμική και στοχαστική συμπεριφορά ενός πληθυσμού κυττάρων σε διάφορες περιπτώσεις, καταφέροντας να επιβεβαιώσει κάποιες ιδιαίτερα ενδιαφέρουσες υποθέσεις σχετικά με το βιολογικό σύστημα, οι οποίες μόλις πρόσφατα επιβεβαιώθηκαν και πειραματικά. Καταφέρνει και φτάνει σε αυτά τα αποτελέσματα παρότι δεν είχε προηγηθεί καμία εκπαίδευση των παραμέτρων του σχετικά με αυτές τις περιπτώσεις. Αυτά τα αποτελέσματα αποτελούν θετική ένδειξη όσον αφορά την ορθότητα και ικανότητα προβλέψεων και των δύο μοντέλων. Τα υπολογιστικά μοντέλα που αναπτύξαμε δεν είναι ικανά να αναπαράξουν μόνο τη δυναμική και τα χαρακτηριστικά του μεταγραφικού μηχανισμού της IFNβ, αλλά και να αποτελέσουν εργαλείο για την κατανόηση και την περεταίρω εξερεύνηση των μηχανισμών πολύπλοκων συστημάτων, εργαλείο για την δημιουργία και δοκιμή νέων πρωτότυπων υποθέσεων με χρήση υπολογιστών.

ΘΕΜΑΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ: Συστημική Βιολογία

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: Μεταγραφη της IFN β , Συγκρότησης του Ενισχυοσώματος, υπολογιστική μοντελοποίηση, δίκτυα βιοχημικών αντιδράσεων, in-silico πειράματα, εκτίμηση παραμέτρων