Un modelo discreto de la red regulatoria del factor nuclear NF-κB

Mercedes S. Pérez Millán

Departamento de Matemática
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Universidad de Buenos Aires

30 de Septiembre de 2010

Trabajo conjunto con:

- Abdul Salam Jarrah, American University of Sharjah.
- Juan Ignacio Fuxman Bass, Universidad de Buenos Aires.

Contenido

1. Introducción
2. Modelo
3. Resultados
4. Conclusiones
5. Trabajo en curso
6. Referencias

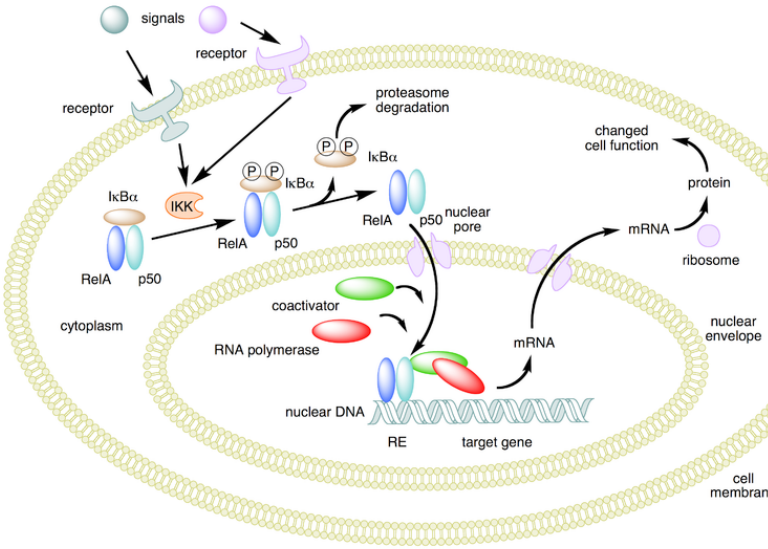
¿Quién es NF-κB?

Las proteínas del grupo NF-κB son un conjunto de factores de transcripción involucradas en importantes procesos celulares que incluyen respuestas inflamatorias así como también la regulación de la apoptosis.

¿Quién es NF-κB?

Las proteínas del grupo NF-κB son un conjunto de factores de transcripción involucradas en importantes procesos celulares que incluyen respuestas inflamatorias así como también la regulación de la apoptosis.

Mecanismo de acción de NF-κB:



S:	estímulo,
IKKa:	nivel citoplasmático de la forma activa de IKK,
IKKne:	nivel citoplasmático de la forma neutral de IKK,
IKKi:	nivel citoplasmático de la forma inactiva de IKK,
IκBα–NF-κB:	nivel citoplasmático de los complejos IκBα—NF-κB,
IκBα:	nivel citoplasmático de IκBα,
NF-κB$_n$:	nivel nuclear de NF-κB,
IκBα_t:	nivel de ARNm del transcritpo de IκBα,
A20t:	nivel de ARNm del transcritpo de A20,
A20:	nivel citoplasmático de la proteína A20,
IκBα_n:	nivel nuclear de IκBα.

¿Qué datos hay?

Datos experimentales:

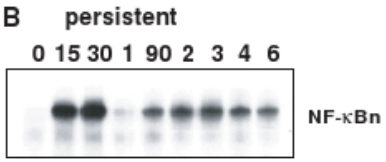


Fig. 4. Temporal control of NF-κB has qualitative effects on gene regulation. (**A**) Modeling NF-κBn concentrations in response to transient (15 min, blue) and persistent (red) stimulation in wild-type (dashed lines) and IκBα$^{-/-}$ (solid lines) cells. (**B** and **C**) Transcriptional NF-κB responses to persistent or transient stimulation with TNF-α. EMSAs (top) monitor NF-κBn after the onset of persistent (left) or transient (right) stimulation of wild-type (B) or

The IκB–NF-κB Signaling Module: Temporal Control and Selective Gene Activation
A. Hoffmann, A. Levchenko, M. L. Scott, D. Baltimore
p.1244, 8 November 2002 Vol. 298 Science (www.sciencemag.org)

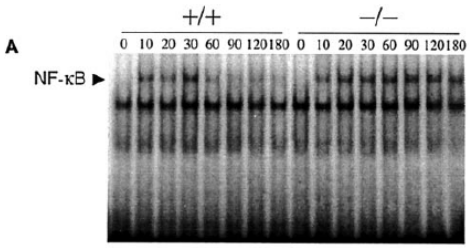


Fig. 3. Prolonged NF-κB responses to TNF in A20$^{-/-}$ MEFs. Electrophoretic mobility-shift assay (EMSA), Western, and Northern blot analyses of A20$^{+/+}$ and A20$^{-/-}$ MEFs treated repeatedly with TNF and harvested at the indicated time points. (**A**) EMSA analyses of NF-κB activity, using an NF-κB consensus oligonucleotide (SCB). (**B**)

Failure to Regulate TNF-Induced NF-κB and Cell Death Responses in A20-Deficient Mice
E. G. Lee, D. L. Boone, S. Chai, S. L. Libby, M. Chien, J. P. Lodolce, A. Ma
p.2353, 29 September 2000 Vol. 289 Science (www.sciencemag.org)

Modelo continuo de la vía de transducción de señales de NF-κB (*T. Lipniacki et ál. Journal of Theoretical Biology 228 (2004) 195–215 p. 201*)

$$\frac{d}{dt}IKKn(t) = k_{prod} - k_{deg}IKKn(t) - T_R k_1 IKKn(t).$$

$$\frac{d}{dt}IKKa(t) = T_R k_1 IKKn(t) - k_3 IKKa(t) - T_R k_2 IKKa(t)A20(t) - k_{deg}IKKa(t) - a_2 IKKa(t)I\kappa B\alpha(t) + t_1(IKKa|I\kappa B\alpha)(t) - a_3 IKKa(t)(I\kappa B\alpha|NF\kappa B)(t) + t_2(IKKa|I\kappa B\alpha|NF\kappa B)(t).$$

$$\frac{d}{dt}IKKi(t) = k_3 IKKa(t) + T_R k_2 IKKa(t)A20(t) - k_{deg}IKKi(t).$$

$$\frac{d}{dt}NF\kappa B_n(t) = i_1 k_v NF\kappa B(t) - a_1 I\kappa B\alpha_n(t)NF\kappa B_n(t).$$

$$\frac{d}{dt}A20(t) = c_4 A20_t(t) - c_5 A20(t).$$

$$\frac{d}{dt}A20_t(t) = c_2 + c_1 NF\kappa B_n(t) - c_3 A20_t(t).$$

$$\frac{d}{dt}I\kappa B\alpha(t) = -a_2 IKKa(t)I\kappa B\alpha(t) - a_1 I\kappa B\alpha(t)NF\kappa B(t) + c_{4a}I\kappa B\alpha t(t) - c_{5a}I\kappa B\alpha(t) - i_{1a}I\kappa B\alpha(t) + e_{1a}I\kappa B\alpha_n(t).$$

$$\frac{d}{dt}I\kappa B\alpha_n(t) = -a_1 I\kappa B\alpha_n(t)NF\kappa B_n(t) + i_{1a}k_v I\kappa B\alpha(t) - e_{1a}k_v I\kappa B\alpha_n(t).$$

$$\frac{d}{dt}I\kappa B\alpha_t(t) = c_{2a} + c_{1a}NF\kappa B_n(t) - c_{3a}I\kappa B\alpha_t(t).$$

$$\frac{d}{dt}(I\kappa B\alpha|NF\kappa B)(t) = a_1 I\kappa B\alpha(t)NF\kappa B(t) - c_{6a}(I\kappa B\alpha|NF\kappa B)(t) - a_3 IKKa(t)(I\kappa B\alpha|NF\kappa B)(t) + e_{2a}(I\kappa B\alpha_n|NF\kappa B_n)(t).$$

Table 1
Two- and three-component interactions between IκBα, NF-κB and IKKa

Symbol	Values	Units	Description	Comments
a_1	0.5	$\mu M^{-1}\ s^{-1}$	IκBα–NFκB association	Hoffmann et al. (2002)
a_2	0.2	$\mu M^{-1}\ s^{-1}$	IKKa–IκBα association	Assumption
t_1	0.1	s^{-1}	IKKa|IκBα catalysis	Any large
a_3	1	$\mu M^{-1}\ s^{-1}$	IKKa-(IκBα|NF-κB) association	Assumption
t_2	0.1	s^{-1}	(IKK|IκBα|NF-κB) catalysis	Any large

Table 2
A20 and IκBα synthesis and degradation, IKK dynamics and total amount of free and complexed NF-κB

Symbol	Values	Units	Description	Comments
c_{1a}	5×10^{-7}	s^{-1}	IκBα-inducible mRNA synthesis	Assumption
c_{2a}	0.0	$\mu M\ s^{-1}$	IκBα-constitutive mRNA synthesis	Assumption
c_{3a}	0.0004	s^{-1}	IκBα mRNA degradation	Fitted, Blattner et al.
c_{4a}	0.5	s^{-1}	IκBα translation rate	Fitted
c_{5a}	0.0001	s^{-1}	Spontaneous, free IκBα protein degradation	Pando and Verma (2000)
c_{6a}	0.00002	s^{-1}	IκBα degradation (complexed to NF-κB)	Pando and Verma (2000)
c_1	5×10^{-7}	s^{-1}	A20-inducible mRNA synthesis	Assumption
c_2	0.0	$\mu M\ s^{-1}$	A20-constitutive mRNA synthesis	Assumption
c_3	0.0004	s^{-1}	A20 mRNA degradation	Assumption
c_4	0.5	s^{-1}	A20 translation rate	Assumption
c_5	0.0003	s^{-1}	A20 protein degradation	Fitted
k_1	0.0025	s^{-1}	IKK activation rate caused by TNF	Fitted
k_2	0.1	s^{-1}	IKK inactivation rate caused by A20	Fitted
k_3	0.0015	s^{-1}	IKK spontaneous inactivation rate	Fitted
k_{prod}	0.000025	$\mu M\ s^{-1}$	IKKn production rate	Fitted
k_{deg}	0.000125	s^{-1}	IKKa, IKKn and IKKi degradation	Fitted
N_F	$0.06\ V$	μM V	Total amount of free and complexed NF-κB	Assumption, Carlotti

Table 3
Transport between compartments, and assumed $k_v = V/U$, ratio of cytoplasmic and nuclear volumes

Symbol	Value	Units	Description	Comments
$k_v = V/U$	5		Cytoplasmic to nuclear volume	Assumption
i_1	0.0025	s^{-1}	NF-κB nuclear import	Fitted
e_{2a}	0.01	s^{-1}	(IκBα|NF-κB) nuclear export	Fitted
i_{1a}	0.001	s^{-1}	IκBα nuclear import	Fitted
e_{1a}	0.0005	s^{-1}	IκBα nuclear export	Assumption

Table 4
Assumed *cgen* parameters

Symbol	Value	Units	Description	Comments
c_{1c}	5×10^{-7}	s^{-1}	cgen inducible mRNA synthesis	Assumption
c_{2c}	0.0	$\mu M\ s^{-1}$	cgen constitutive mRNA synthesis	Assumption
c_{3c}	0.0004	s^{-1}	cgen mRNA degradation	Assumption

Mathematical model of NF-κB regulatory module.
T. Lipniacki, P. Paszek, A. R. Brasier, B. Luxon, M. Kimmel.

Journal of Theoretical Biology 228 (2004) 195–215

Comments
Assumption
Fitted
Fitted
Fitted
Assumption

MINIREVIEW

Integrating Computational and Biochemical Studies to Explore Mechanisms in NF-κB Signaling*

Published, JBC Papers in Press, October 20, 2008, DOI 10.1074/jbc.R800008200

Jeffrey D. Kearns and Alexander Hoffmann[1]

From the Signaling Systems Laboratory, Department of Chemistry and Biochemistry, University of California, San Diego, La Jolla, California 92093

A balance must be achieved during the parameterization process to avoid *under-* or *over-constraining* the model. If too few values are experimentally determined, there may be several possible parameter sets that recapitulate network behavior, but conversely, when too many experiments are done, the model may be incapable of doing so. In these cases, the data that cannot be accounted for by the model may motivate subsequent studies and in turn result in a revised version of the model.

In the case of the NF-κB signaling module, a rich literature of biochemical rate constants derived from *in vitro* measurements and quantitative cell biology meant that one-third of the 73 parameters were known with a high degree of confidence, one-third were significantly constrained by literature data, and only the remaining third had to be derived from parameter fitting.

FEBRUARY 27, 2009 • VOLUME 284 • NUMBER 9 ASBMB JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY 5441

¿Nuestro modelo va a evitar ajustar parámetros?

¿Nuestro modelo va a evitar ajustar parámetros?

No.

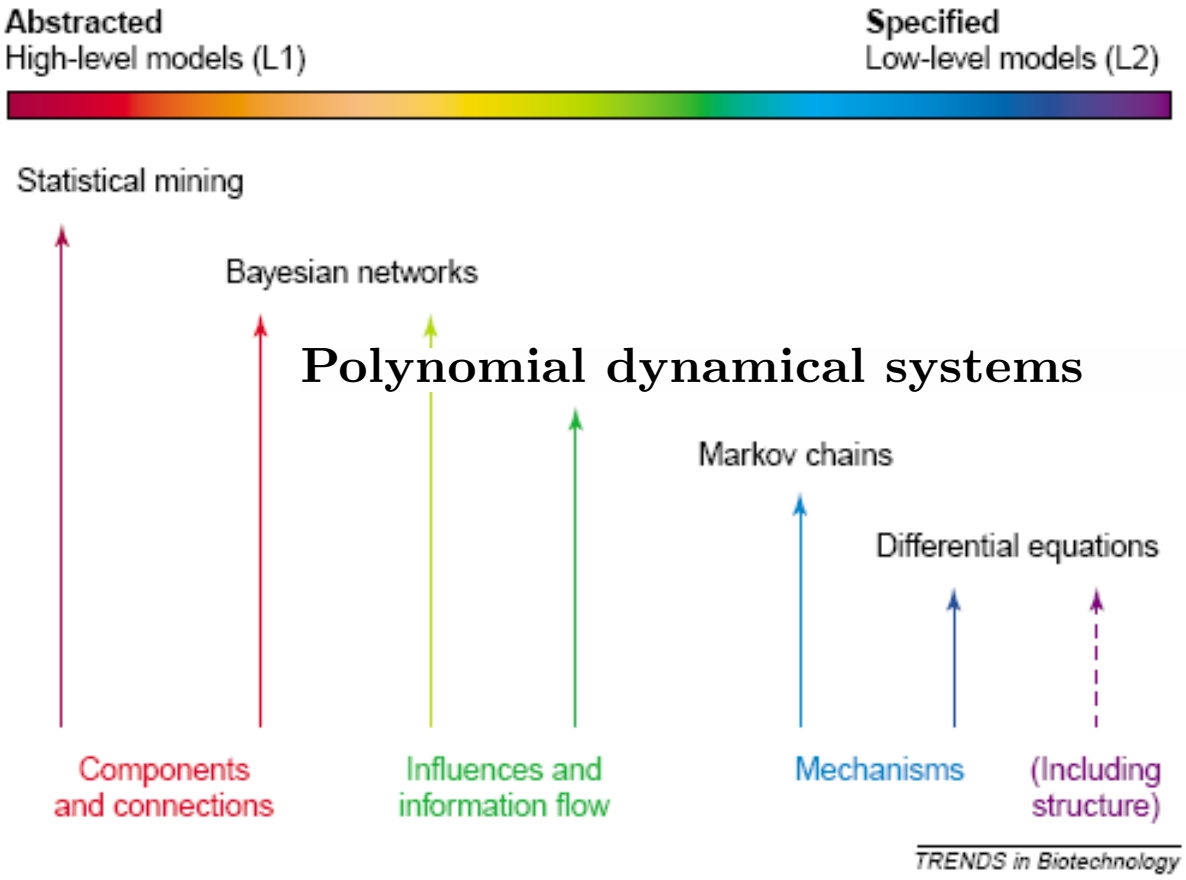
¿Nuestro modelo va a evitar ajustar parámetros?

No.

Nosotros también ajustaremos parámetros, pero en un contexto diferente.

¿Qué contexto?

Métodos matemáticos para modelar:



Trends Biotech 2003. Building with a scaffold: emerging strategies for high- to low-level cellular modeling. Ideker et ál.

Con más precisión: Sistemas dinámicos polinomiales sobre cuerpos finitos.

Con más precisión: Sistemas dinámicos polinomiales sobre cuerpos finitos.

¿Cuáles son las ventajas?

Con más precisión: Sistemas dinámicos polinomiales sobre cuerpos finitos.

¿Cuáles son las ventajas?

Bueno...

Con más precisión: Sistemas dinámicos polinomiales sobre cuerpos finitos.

¿Cuáles son las ventajas?

Bueno...también ajustamos parámetros, pero sobre un conjunto finito.

El modelo

Discretizamos los datos en dos o tres estados.

	IκB	IκB–NF-κB	IKKa	NF-κB$_n$	IκB$_n$	IκB$_t$	S	A20	A20$_t$	IKKi	IKKne
t_0	0	2	0	0	1	0	1	0	0	0	2
$\Downarrow$											
t_1	0	2	2	0	1	0	1	0	0	0	1

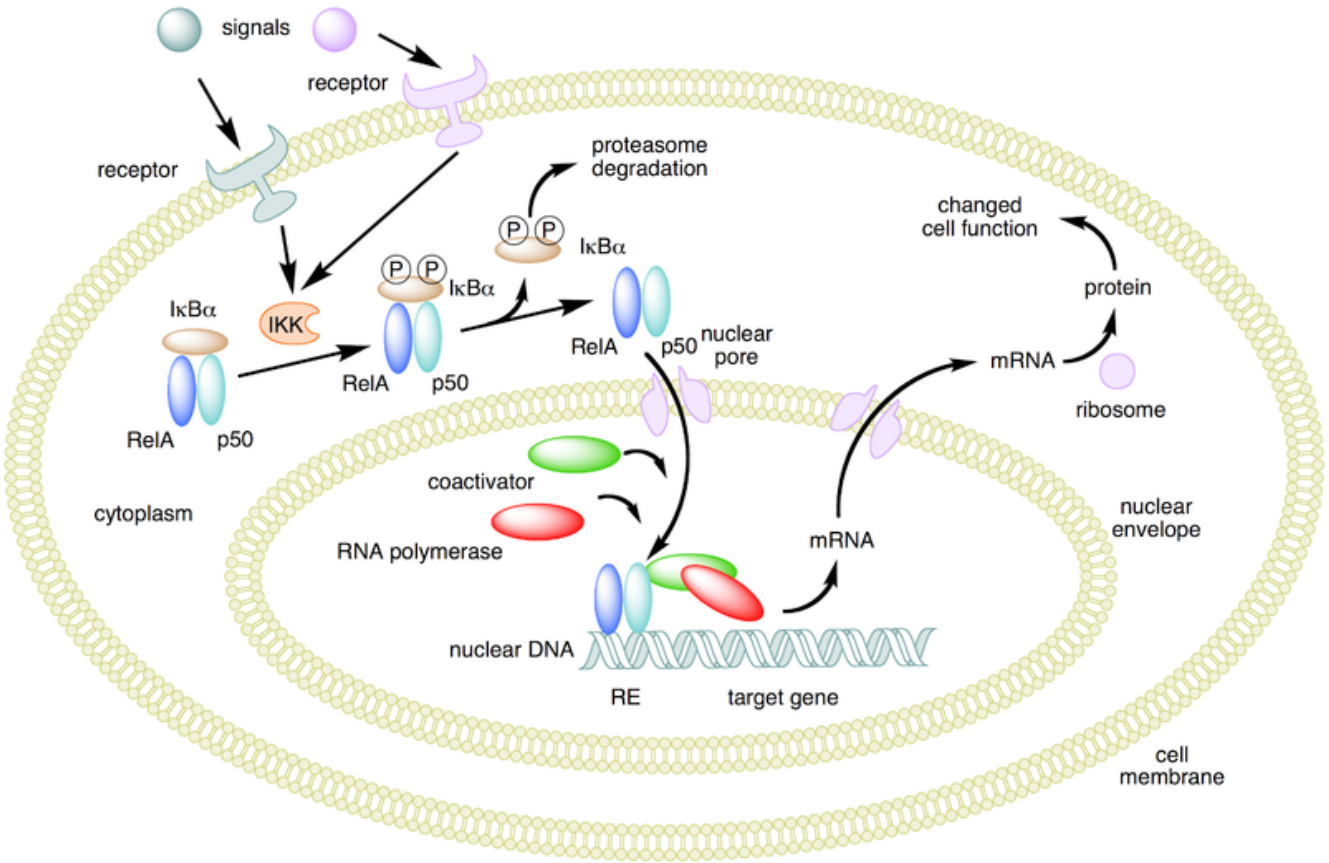
$$f : A \subseteq \{0,1,2\}^{11} \to \{0,1,2\}^{11}$$

Como $\#\{0,1,2\}^{11} = 3^{11} < \infty$, podemos pensar $f : A \subseteq \mathbb{F}_3^{11} \to \mathbb{F}_3^{11}$, con f_i un polinomio en 11 variables para $i = 1, \ldots, 11$.

Además, cada nodo depende de a lo sumo 4 otros nodos. Y por lo tanto podemos pensar $f_i : A_i \subseteq \mathbb{F}_3^{k_i} \to \mathbb{F}_3$ para algún $1 \leq k_i \leq 4$.

Por ejemplo, $I\kappa B$ sólo depende de sí mismo, $IKKa$, $I\kappa Bn$ e $I\kappa Bt$.

Luego, $f_{I\kappa B} : \mathbb{F}_3^4 \to \mathbb{F}_3$.



¿Cuáles son los nodos con solo dos niveles?

¿Cuáles son los nodos con solo dos niveles? A20 y S.

¿Cuáles son los nodos con solo dos niveles? A20 y S.

$$Im(f_{A20}) \subseteq \{0,1\}, \quad Im(f_S) \subseteq \{0,1\}$$

¿Cuáles son los nodos con solo dos niveles? A20 y S.

$$Im(f_{A20}) \subseteq \{0,1\}, \quad Im(f_S) \subseteq \{0,1\}$$

¿Cómo encontramos los polinomios que dependen de A20 o de S?

Ejemplo simple:
$x \leftrightsquigarrow \{0,1\}, \quad y \leftrightsquigarrow \{0,1,2\}$

En $\mathbb{F}_3$:

$$a^3 = a \; \forall a$$

$$0^2 = 0, 1^2 = 1 \Rightarrow x^2 = x$$

$$g(x,y) = \alpha_1 + \alpha_2 x + \alpha_3 y + \alpha_4 xy + \alpha_5 y^2 + \alpha_6 xy^2$$

6 incógnitas, $\quad 6 = \#(\{0,1\} \times \{0,1,2\})$

Cómo construimos las funciones:

IκB	IκB$_n$	NF-κB$_n$	$\Rightarrow$	$f_{\mathrm{I}\kappa\mathrm{B}_n}$(I$\kappa$B, I$\kappa$B$_n$, NF-$\kappa$B$_n$)
0	0	0	$\Rightarrow$	0
1	0	0	$\Rightarrow$	1
2	0	0	$\Rightarrow$	2
0	1	0	$\Rightarrow$	1
1	1	0	$\Rightarrow$	1
2	1	0	$\Rightarrow$	2
0	2	0	$\Rightarrow$	1
1	2	0	$\Rightarrow$	2
2	2	0	$\Rightarrow$	2
0	0	1	$\Rightarrow$	0
1	0	1	$\Rightarrow$	1
2	0	1	$\Rightarrow$	2
0	1	1	$\Rightarrow$	0
1	1	1	$\Rightarrow$	1
2	1	1	$\Rightarrow$	1
0	2	1	$\Rightarrow$	1
1	2	1	$\Rightarrow$	1
2	2	1	$\Rightarrow$	2
0	0	2	$\Rightarrow$	0
1	0	2	$\Rightarrow$	1
2	0	2	$\Rightarrow$	2
0	1	2	$\Rightarrow$	0
1	1	2	$\Rightarrow$	1
2	1	2	$\Rightarrow$	2
0	2	2	$\Rightarrow$	0
1	2	2	$\Rightarrow$	1
2	2	2	$\Rightarrow$	2

```
//////////////////////////////
//////////////////////////////    IkBn:
//////////////////////////////
//
matrix b16[27][1];
b16[1,1]=0; //the image of (IkB=0,IkBn=0,NF-kBn=0)
b16[2,1]=1; //the image of (1,0,0)
b16[3,1]=2; //the image of (2,0,0)
[...]
//q=a1+a2x+a3y+a4z+a5x^2+a6y^2+a7z^2+a8xy+a9xz+a10yz+[...]
matrix A16[27][27];
int i=1;
for(int l=3; l<=5; l=l+1)
{
for(int k=3; k<=5; k=k+1)
{
for(int j=3; j<=5; j=j+1)
{
   A16[i,1]=1; A16[i,2]=j; A16[i,3]=k; A16[i,4]=l; A16[i,5]=j^2; A16[
   A16[i,7]=l^2; A16[i,8]=j*k; [...]
   i=i+1;
}
}
}
matrix B16=inverse(A16);
matrix C16=B16*b16;
poly q16=C16[1,1]+C16[2,1]*x+C16[3,1]*y+[...]+C16[27,1]*x^2*y^2*z^2;
poly f16=subst(q16,x,x1,y,x16,z,x15);
//
//
```

Por ejemplo:

$$f_{\mathrm{I}\kappa\mathrm{B}_t} : \mathbb{F}_3^2 \to \mathbb{F}_3$$

$$f_{\mathrm{I}\kappa\mathrm{B}_t} = (1 + x_{\mathrm{I}\kappa\mathrm{B}_t})^2 x_{\mathrm{NF\text{-}}\kappa\mathrm{B}_n} + x_{\mathrm{I}\kappa\mathrm{B}_t}(x_{\mathrm{I}\kappa\mathrm{B}_t} + 2)(1 + x^2_{\mathrm{NF\text{-}}\kappa\mathrm{B}_n})$$

- Consideramos actualizaciones sincrónicas.

- Consideramos actualizaciones sincrónicas.
- E hicimos muchas suposiciones biológicas.

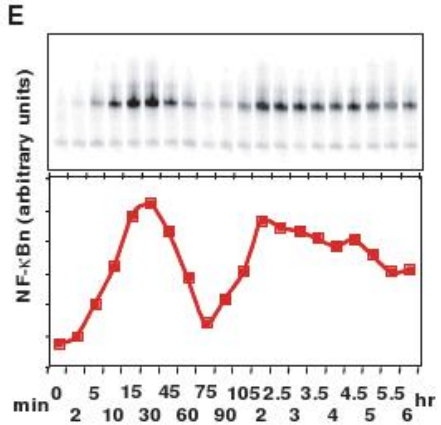
Transiciones en el caso del tipo silvestre con estímulo persistente:

IκB	IκB–NF-κB	IKKa	NF-κB$_n$	IκB$_n$	IκB$_t$	S	A20	A20$_t$	IKKi	IKKne
0	2	0	0	1	0	1	0	0	0	2
0	2	2	0	1	0	1	0	0	0	1
0	0	2	2	1	0	1	0	0	2	1
0	1	2	2	0	2	1	0	2	2	1
0	0	2	2	0	2	1	1	2	2	1
0	0	1	2	0	2	1	1	2	2	1
2	0	1	2	0	2	1	1	2	2	1
2	0	1	2	2	2	1	1	2	2	1
2	2	1	0	2	2	1	1	2	2	1
2	1	1	1	2	1	1	1	1	2	1
1	1	1	1	2	1	1	1	1	2	1
1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1

The IκB–NF-κB Signaling Module: Temporal Control and Selective Gene Activation

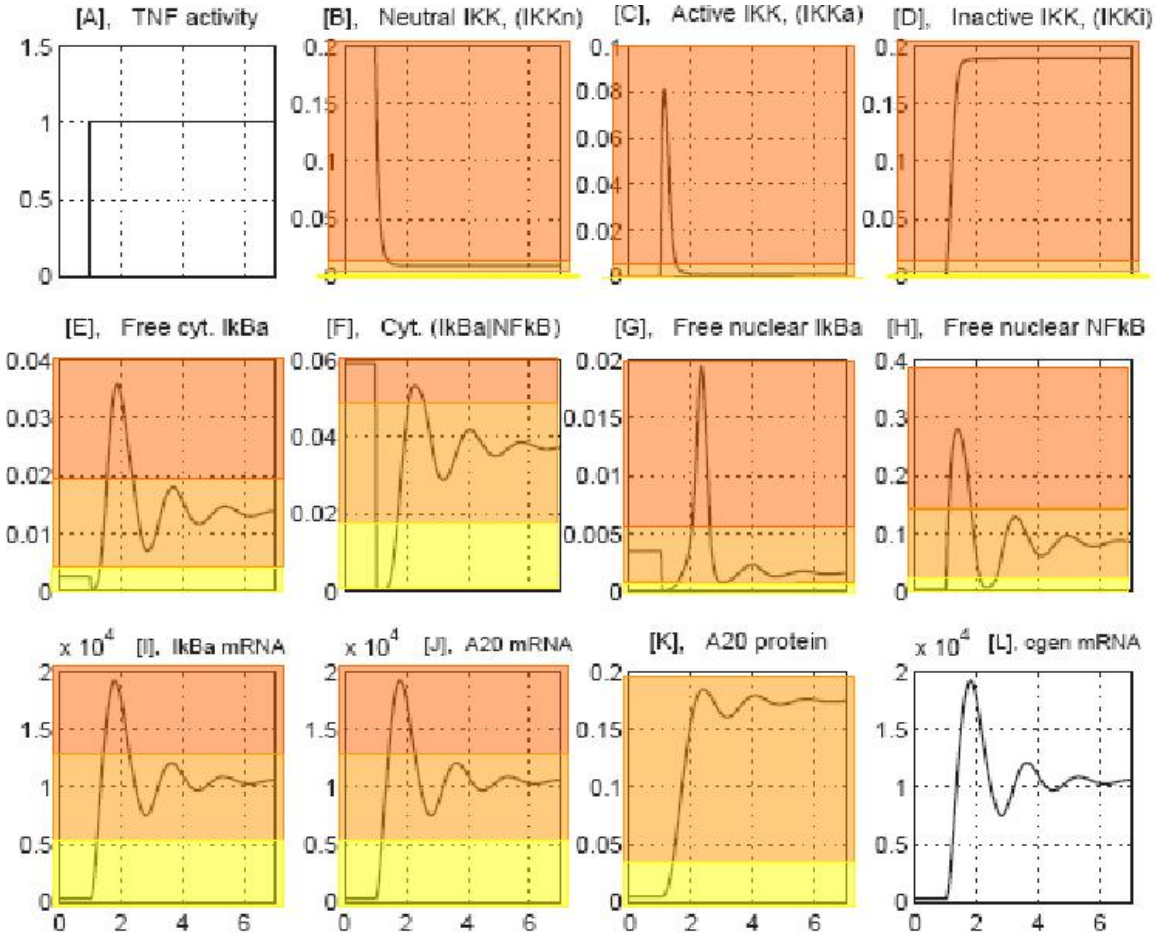
A. Hoffmann, A. Levchenko,

M. L. Scott, D. Baltimore

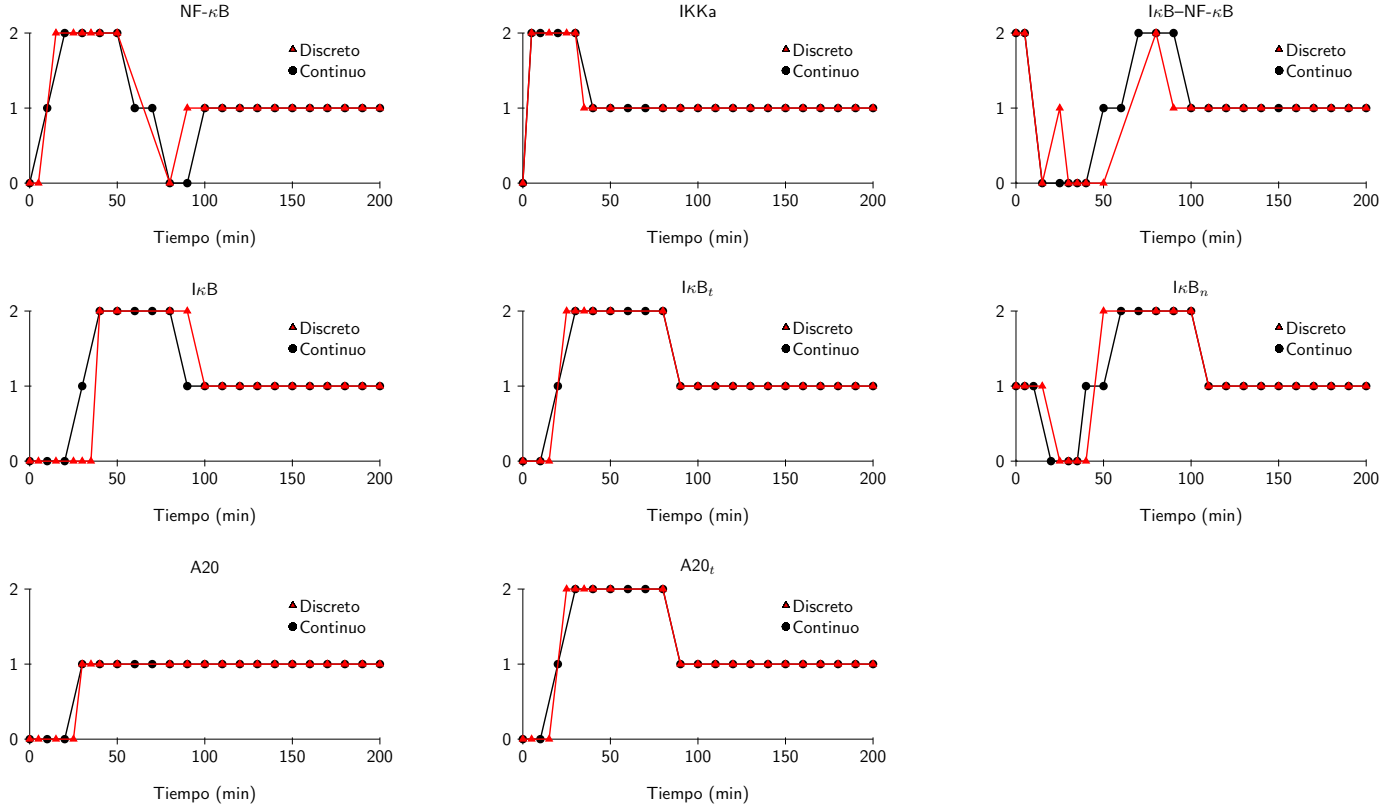


(E) Biochemical analysis of NF-κB and IκB isoforms in wild-type fibroblasts. NF-κBn (top) assayed by EMSA at the indicated times after persistent stimulation with TNF-α. The specific NF-κB–specific mobility shift was quantitated by phosphoimager and normalized and graphed at the indicated nonlinear time scale. Western blots of corresponding cytoplasmic fractions are probed with anti-bodies specific to IκBα and -β (bottom) and IκBε (above). (F) Verifica-

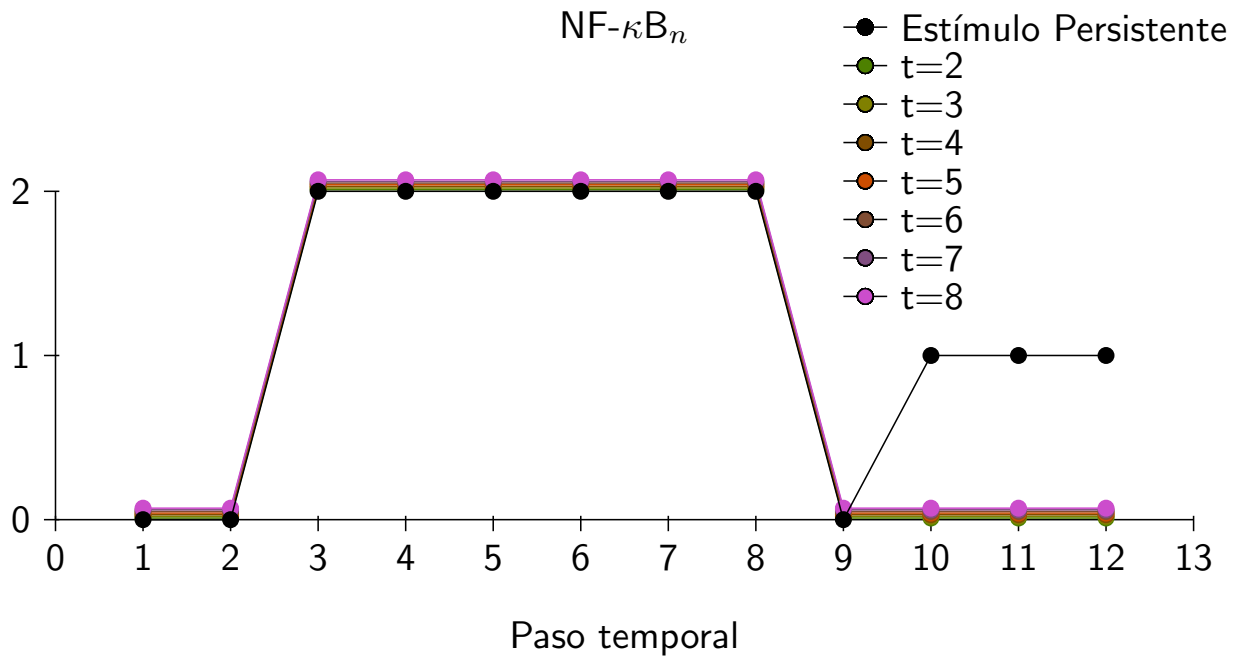
Reproduce la dinámica del modelo cinético en Lipniacki et ál., 2004:



Reproduce la dinámica del modelo cinético en Lipniacki et ál., 2004:



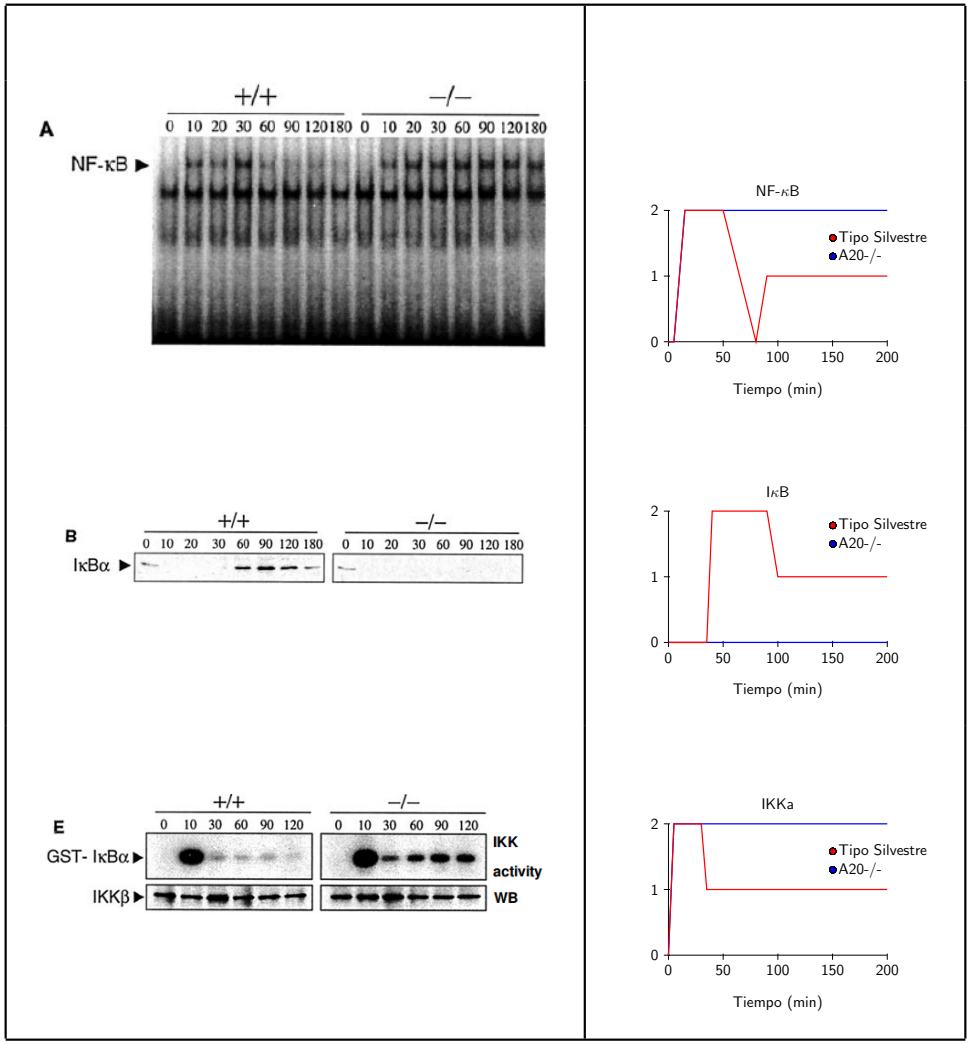
Evolución de NF-κB$_n$ en el modelo discreto cuando se remueve el estímulo en distintos pasos temporales:



Evolución del sistema en el modelo discreto cuando se remueve el estímulo en el estado de equilibrio:

IκB	IκB–NF-κB	IKKa	NF-κB$_n$	IκB$_n$	IκB$_t$	S	A20	A20$_t$	IKKi	IKKne
1	1	1	1	1	1	0	1	1	2	1
1	1	0	1	1	1	0	1	1	2	1
1	2	0	0	1	1	0	1	1	2	1
1	2	0	0	1	0	0	1	0	2	1
1	2	0	0	1	0	0	0	0	2	1

El modelo discreto también reproduce la dinámica en el caso A20-/- (Lee et ál., 2000):



Conclusiones

- Este modelo es independiente de parámetros como constantes de afinidad y catalíticas las cuales en muchos casos son muy difíciles de determinar y requieren mucho conocimiento del sistema (lo cual, salvo para NF-κB y algún otro caso particular, es muy poco frecuente).

Conclusiones

- Este modelo es independiente de parámetros como constantes de afinidad y catalíticas las cuales en muchos casos son muy difíciles de determinar y requieren mucho conocimiento del sistema (lo cual, salvo para NF-κB y algún otro caso particular, es muy poco frecuente).

- Puede construirse con el mismo tipo de información que normalmente se maneja en biología: IκB se une a NF-κB e impide que vaya a núcleo, IKK induce la degradación de IκB, etc.

Conclusiones

- Este modelo es independiente de parámetros como constantes de afinidad y catalíticas las cuales en muchos casos son muy difíciles de determinar y requieren mucho conocimiento del sistema (lo cual, salvo para NF-κB y algún otro caso particular, es muy poco frecuente).

- Puede construirse con el mismo tipo de información que normalmente se maneja en biología: IκB se une a NF-κB e impide que vaya a núcleo, IKK induce la degradación de IκB, etc.

- Y a pesar de sólo requerir este tipo de datos, puede proveer más información como predicciones en los casos mutantes o al interrumpir el estímulo en un instante específico.

Trabajo en curso:

- Estudio de la dinámica del sistema (16 puntos fijos, 1 ciclo).

Trabajo en curso:

- Estudio de la dinámica del sistema (16 puntos fijos, 1 ciclo).
- Estudio de más casos (otros mutantes, sobre-activaciones, etc.)

Trabajo en curso:

- Estudio de la dinámica del sistema (16 puntos fijos, 1 ciclo).
- Estudio de más casos (otros mutantes, sobre-activaciones, etc.)
- Estudio del caso asincrónico.

Trabajo en curso:

- Estudio de la dinámica del sistema (16 puntos fijos, 1 ciclo).
- Estudio de más casos (otros mutantes, sobre-activaciones, etc.)
- Estudio del caso asincrónico.
- Estudio de otros casos que involucran aleatoriedad.

Trabajo en curso:

- Estudio de la dinámica del sistema (16 puntos fijos, 1 ciclo).
- Estudio de más casos (otros mutantes, sobre-activaciones, etc.)
- Estudio del caso asincrónico.
- Estudio de otros casos que involucran aleatoriedad.
- ...

Referencias

Hoffmann, A. , Levchenko, A. , Scott, M. L. , Baltimore, D.

The IκBα- NF-κB signaling module: temporal control and selective gene activation.

Science 298,1241-1245, 2002.

Kearns, J. D. , Hoffmann, A.

Integrating Computational and Biochemical Studies to Explore Mechanisms in NF-κB Signaling.

Journal of Biological Chemistry 284, no. 9, 5439 â5443, 2009.

Lee, E. G. , Boone, D. L. , Chai, S. , Libby, S. L. , Chien, M. , Lodolce, J. P ., Ma, A.

Failure to regulate TNF-induced NF-κB and cell death responses in A20-deficient mice.

Science 289, 2350-2354, 2000.

Sun, S. C. , Ganchi, P. A. , Ballard, D. W. , Greene, W. C.

NF-κB controls expression of inhibitor IκBα: evidence for an inducible autoregulatory pathway.

Science 259, 1912-1915,1993.

¡Muchas gracias!
A
B
Canada
United States
México
North Atlantic Ocean
Iceland
Finland
Sverige
Sweden
Norge
Norway
United Kingdom
Polska
Poland
Deutschland
Germany
France
Italia
Italy
España
Spain
Україна
Ukraine
Türkiye
Turkey
Россия
Russia
Kazakhstan
Mongolia
Iraq
Afghanistan
Pakistan
Algeria
Libya
مصر
Egypt
Saudi Arabia
India
中国
China
대한민국
S Korea
日本
Japan
Mauritania
Mali
Niger
Thailand
Venezuela
Colombia
Kenya
DR Congo
Tanzania
Indonesia
Brasil
Brazil
Perú
Bolivia
Angola
Namibia
Botswana
Madagascar
Indian Ocean
Australia
Chile
South Pacific Ocean
South Atlantic Ocean
South Africa
Argentina
©2010 Google - Datos de mapa ©2010 AND, Geocentre Consulting, MapLink, Tele Atlas, MapData Sciences Pty Ltd, PSMA - Términos de uso