

Optimality and evolutionary tuning of the expression level of a protein

Erez Dekel & Uri Alon

Nature Vol 436, July 2005

Übersicht

- Hintergrund
- Mathematische Formulierung
(cost-benefit-theory)
- Theoretisches Optimum vs. biologische Evolution (serial dilution Experiment)
- Zusammenfassung

Hintergrund

- Expressionslevel von Protein ändert sich evolutionär über
 1. neutral evolutionary drift
 2. Selektion (von Mutanten mit erhöhter Fitness)

Hintergrund

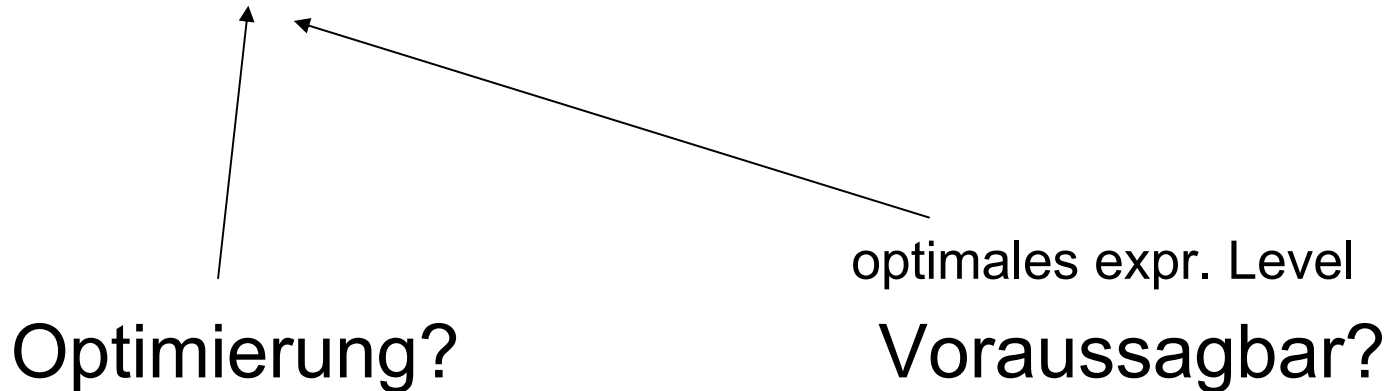
- Expressionslevel von Protein ändert sich evolutionär über
 1. neutral evolutionary drift
 2. **Selektion (von Mutanten mit erhöhter Fitness)**



Optimierung?

Hintergrund

- Expressionslevel von Protein ändert sich evolutionär über
 1. neutral evolutionary drift
 2. **Selektion (von Mutanten mit erhöhter Fitness)**

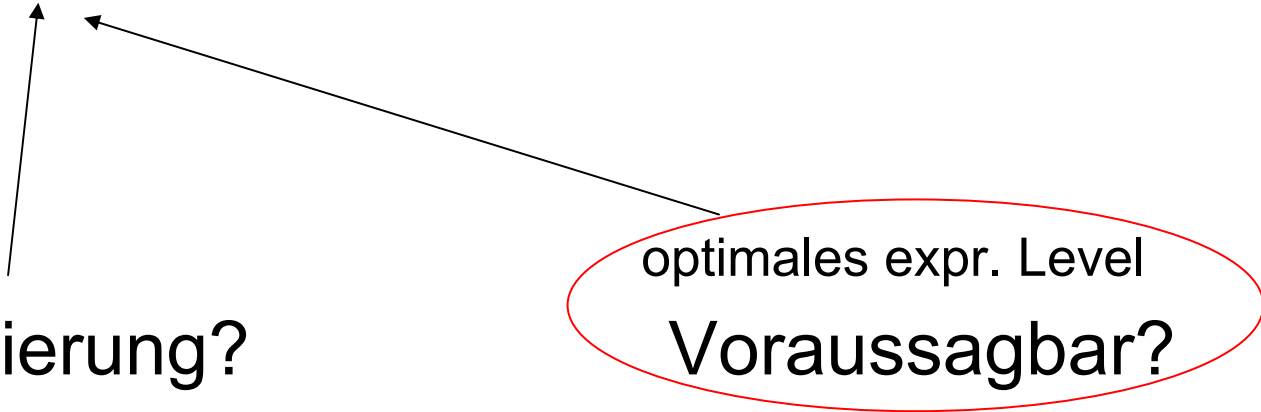


Hintergrund

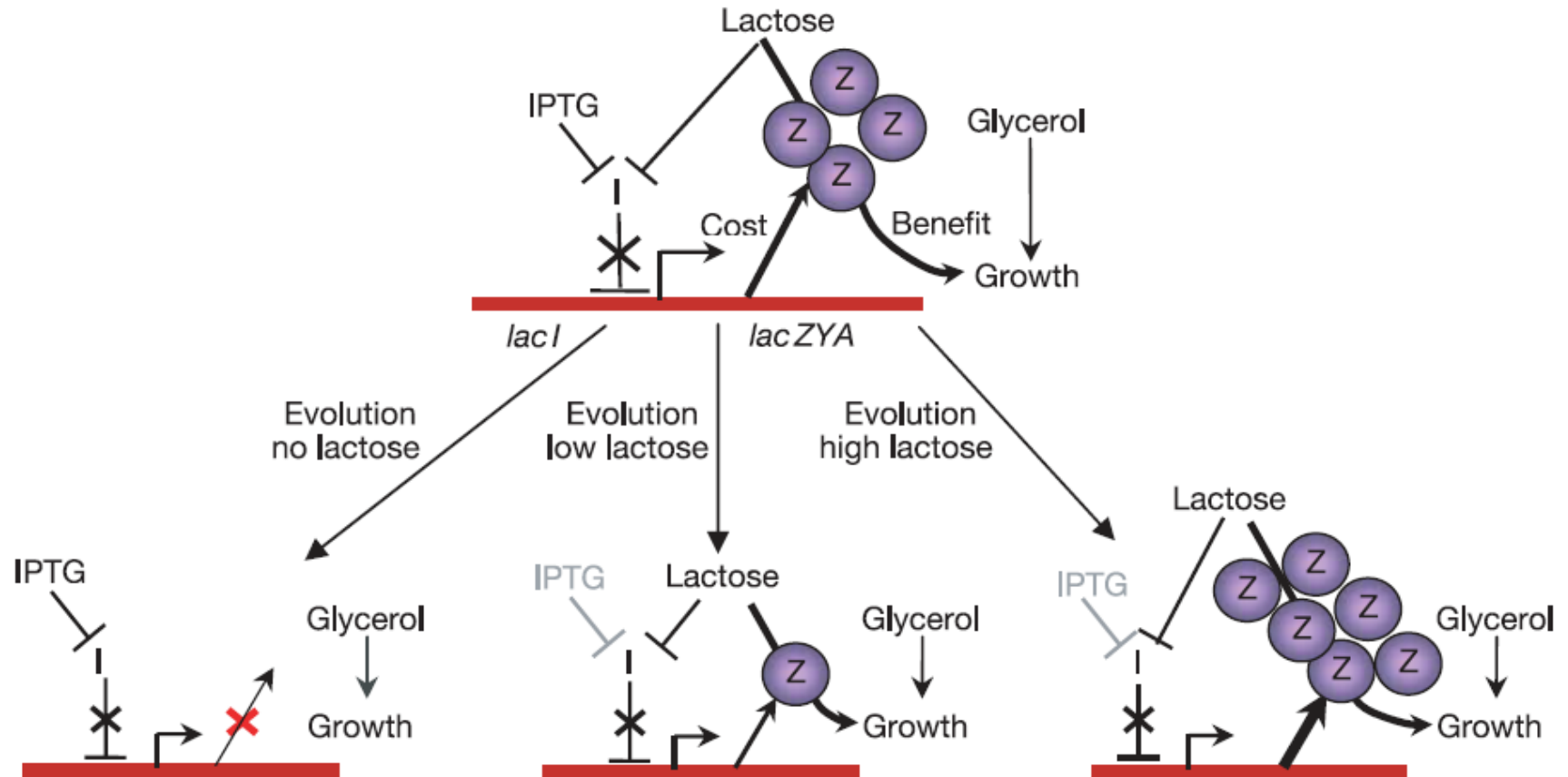
- Expressionslevel von Protein ändert sich evolutionär über
 1. neutral evolutionary drift
 2. **Selektion (von Mutanten mit erhöhter Fitness)**

Optimierung?

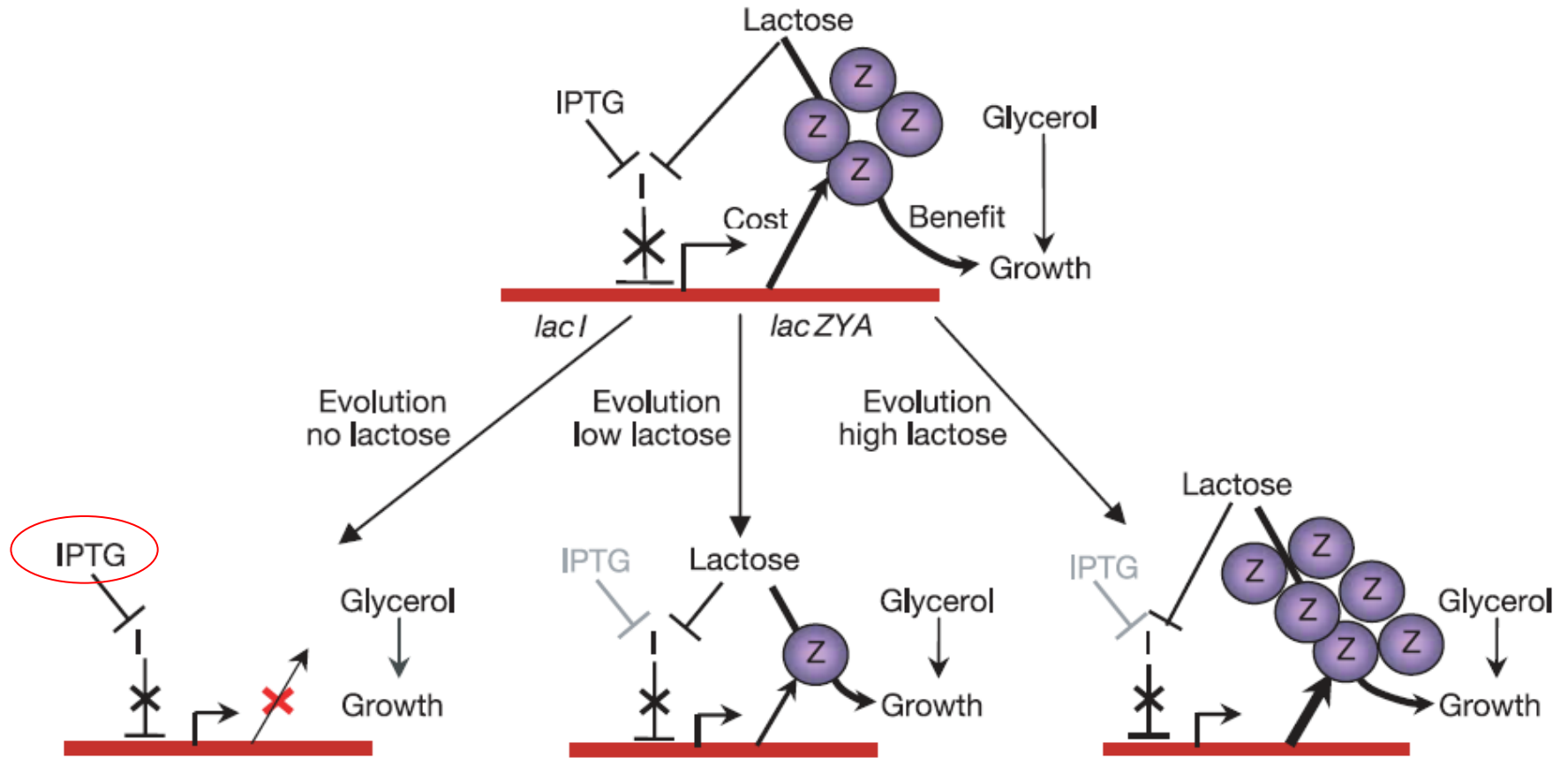
optimales expr. Level
Voraussagbar?



Untersuchtes System: Lac Operon von E.coli

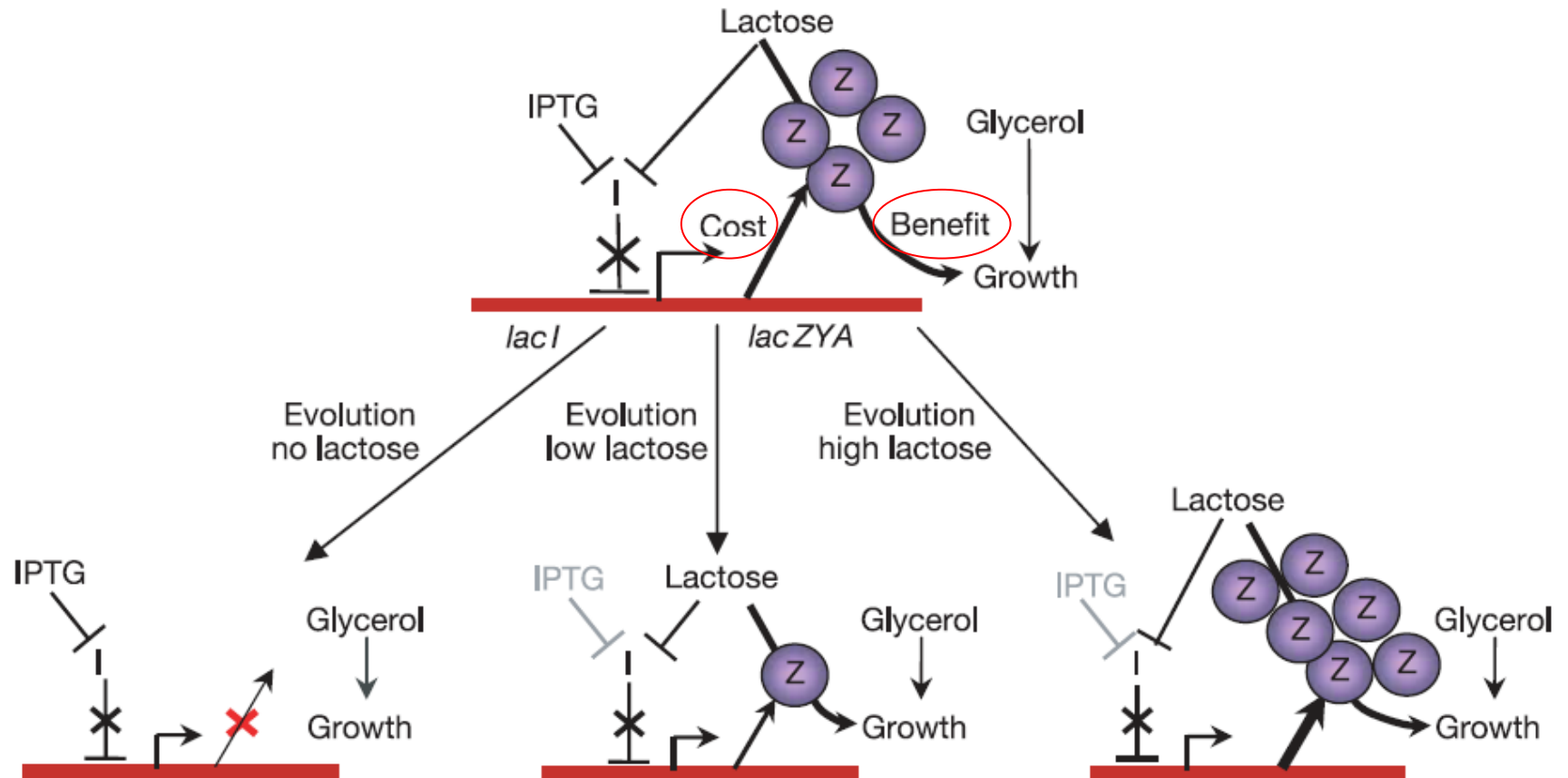


Untersuchtes System: Lac Operon von E.coli



IPTG induziert Lac Operon; wird nicht metabolisiert

Untersuchtes System: Lac Operon von E.coli



Mathematische Formulierung (cost-benefit-theory)

- Kosten := relative (gegenüber Zellen ohne Lac Produktion) Reduktion der Wachstumsrate wegen Belastung durch Produktion + Anwesenheit von Lac-Proteinen
- Nutzen := relative (gegenüber Zellen ohne Lactose) Zunahme der Wachstumsrate wegen Energiegewinn aus Lactose Metabolisierung
- Fitness := Nutzen - Kosten
- Ziel: $\max(\text{Fitness})$

Mathematische Formulierung (cost-benefit-theory)

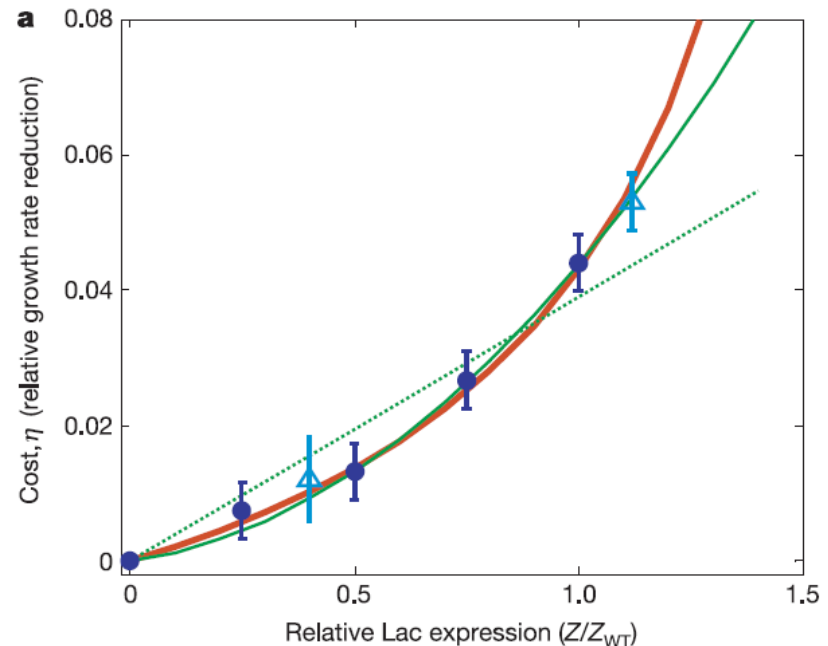
Wie bestimmt man die Kosten?

Messen der Wachstumsrate bei unterschiedlichen Konzentrationen von IPTG ohne Lactose

2 Kandidaten für Kostenfkt.

1. $\eta_1(Z) = \eta_0 Z + \eta'_0 Z^2$ —

2. $\eta_2(Z) = \frac{\eta_0 Z}{1 - Z/M}$ —



Z := Expressionslevel d. Lac Proteine
M := maximale Kapazität für Prod. nicht essentieller Proteine

Mathematische Formulierung (cost-benefit-theory)

Herleitung von: $\eta_2(Z) = \frac{\eta_0 Z}{1 - Z/M}$

$$g = \beta R / (K + R)$$

$$g(Z) = \beta(R - \varepsilon Z) / (K + R - \varepsilon Z)$$

$$\eta(Z) = (g(0) - g(Z)) / g(0) = \eta_0 Z / (1 - Z/M)$$

$$\eta_0 = \varepsilon K / R(K + R)$$

$$M = (K + R) / \varepsilon$$

Mathematische Formulierung (cost-benefit-theory)

Wie bestimmt man den Nutzen?

Messen der Wachstumsrate bei verschiedenen Konzentrationen von Lactose bei voll induziertem Lac System (IPTG)

Beobachtung

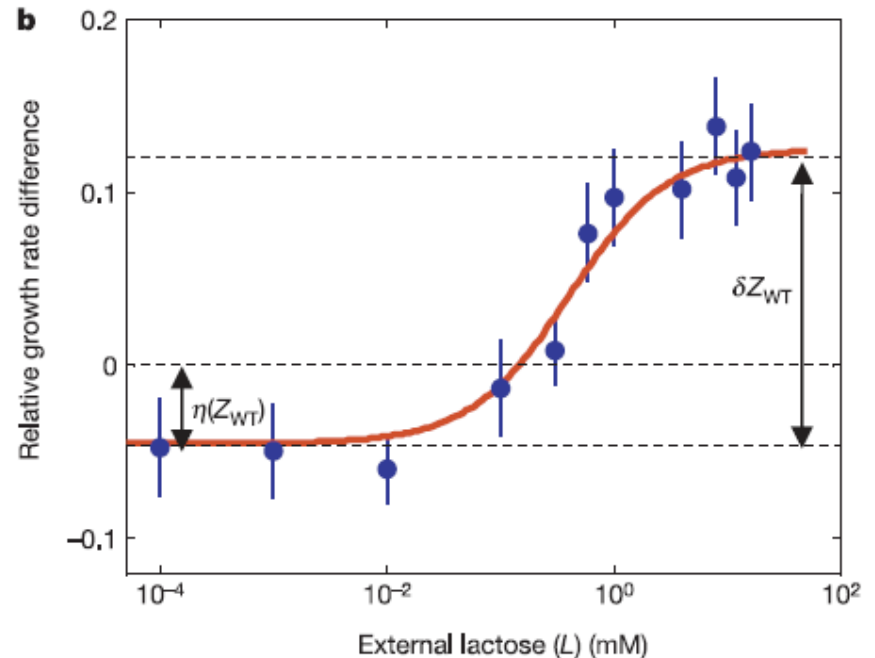
Nutzenfkt. beschrieben durch bekannte Transport & Katabolismus Kinetik



+Wachstum \approx Lactose-Abbau-Rate \approx Umsatz LacZ

Nutzenfkt: $B(Z) = \delta[ZL_{in}]$

L_{in} := Lactose konz. In Zelle
 δ := rel. Wachstums-Vorteil je LacZ Molek. (bei Lactose Sättigung)



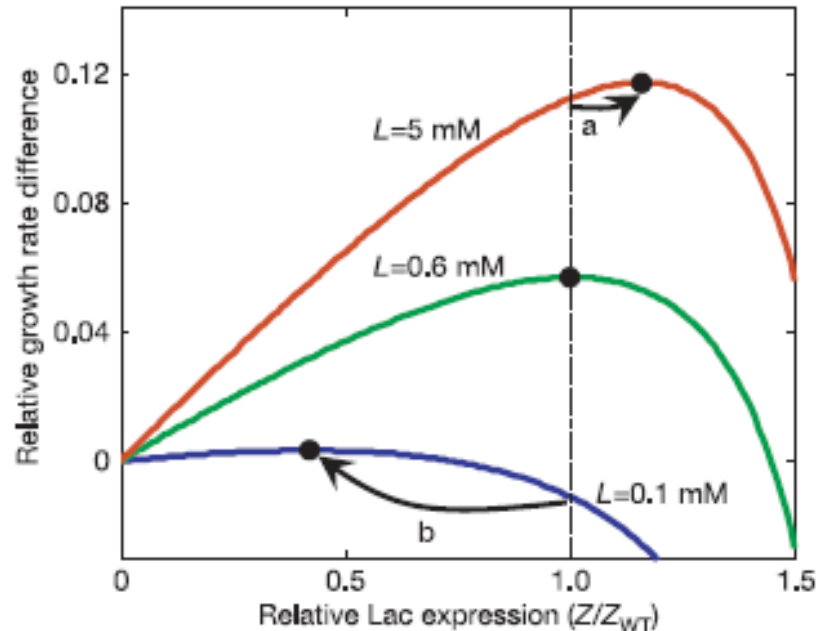
Mathematische Formulierung (cost-benefit-theory)

$$B(Z) = \delta [ZL_{in}]$$

LacZ Rate \approx Lactose Einstrom via LacY
(Wong, Gladney & Keasling (1997))

$$V_z[ZL_{in}] \approx V_Y[YL] \approx V_Y \frac{YL}{K_Y + L}$$

$$B(Z) = \delta \frac{ZL}{K_Y + L}$$



Wir erhalten die Fitnessfunktion g:

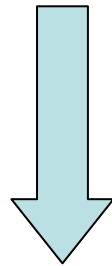
$$g = -\eta(Z) + B(Z) = -\frac{\eta_0 Z}{1 - Z/M} + \delta \frac{ZL}{K_Y + L}$$

Mathematische Formulierung (cost-benefit-theory)

Optimalität

Bestimme Z so, dass Fitness (g) für gegebene Lactose Konzentration maximiert wird.

Sehr einfach – löse $\frac{dg}{dZ} = 0$



$$Z_{\text{opt}} = M \left(1 - \sqrt{\frac{\eta_0 L + K_Y}{\delta L}} \right)$$

Theoretisches Optimum vs. biologische Evolution (serial dilution Experiment)

Fragestellung:

Verändert sich Lac-Expression bei E.coli über Generationen in Nährmedium mit hoher/niedriger Lactose Konzentration auf das theoretische Optimum?

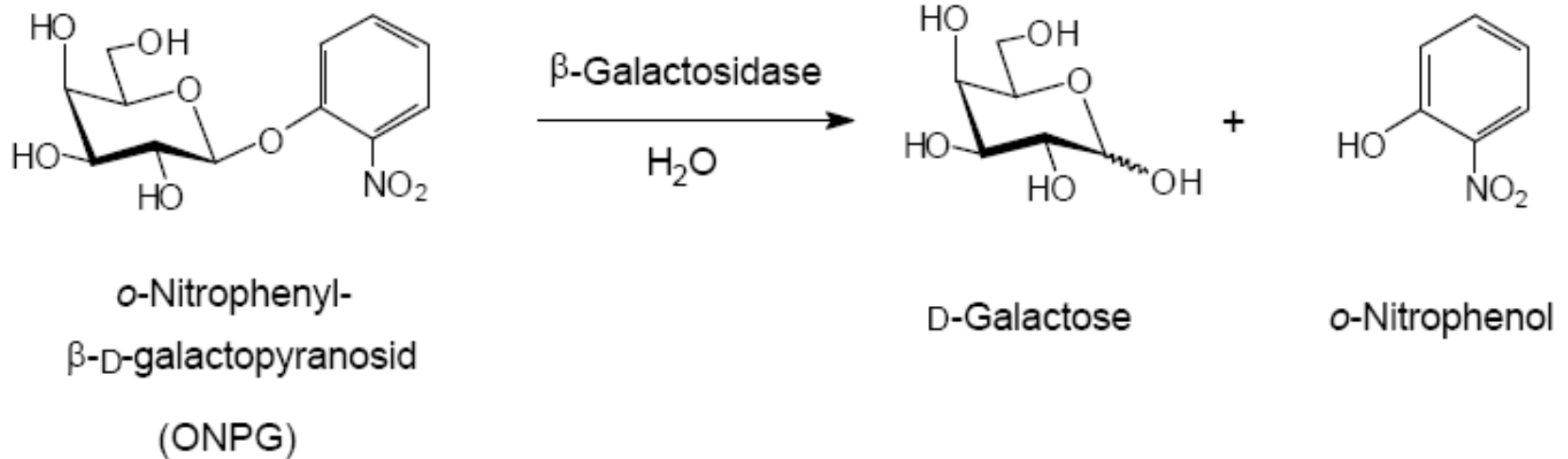
Versuchsaufbau:

- 7 x 10ml Kulturen (0mM, 0.1mM, 0.2mM, 0.5mM, 1mM, 2mM, 5mM)
- Bei 0mM und 0.1mM Testreihe IPTG Zusatz
- Verdünnung 1:100 alle 24 Std.
- alle 72 Std. einfrieren von Samples (-80°C)

Theoretisches Optimum vs. biologische Evolution (serial dilution Experiment)

Versuchsaufbau:

-Bestimmung d. Enzymaktivität von LacZ
mittels enzymatic assay (ONPG-
assay)



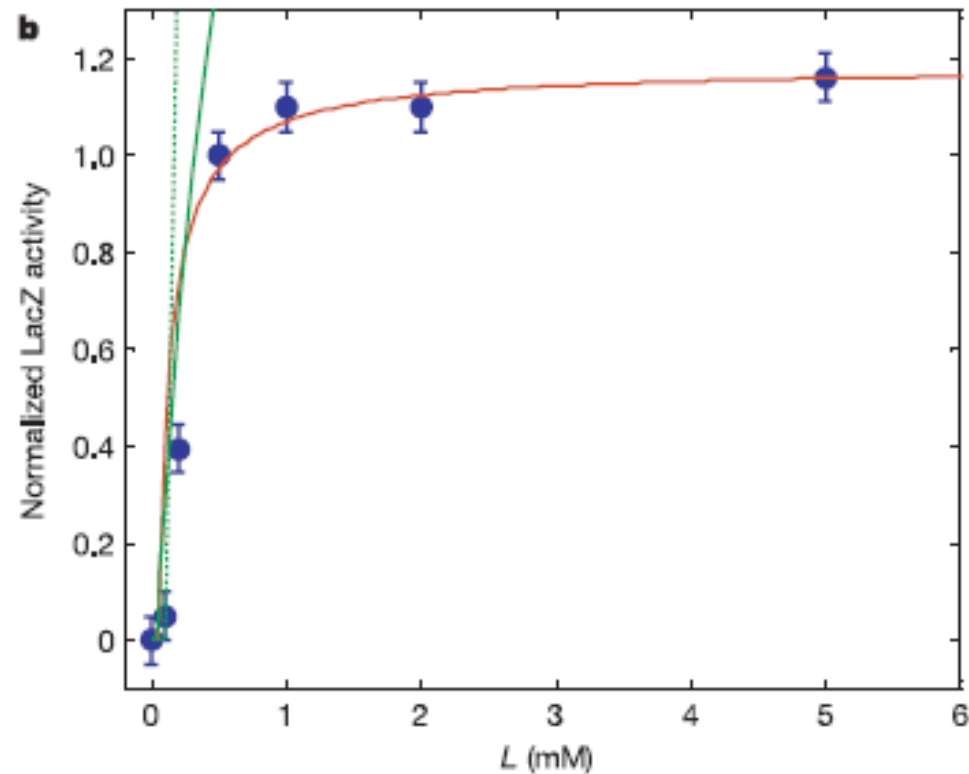
Theoretisches Optimum vs. biologische Evolution (serial dilution Experiment)

Versuchsaufbau:

- Bestimmung d. Enzymaktivität von LacZ mittels enzymatic assay (ONPG-assay)
- Bestimmung des LacZ Levels mittels quantitativer Gelelektrophorese

Ergebnisse:

- Änderungen der LacZ Aktivität und Expression
- LacZ Aktivität (je Molekül) unverändert
- LacZ Expression von adaptierten E.coli sehr nah an theoretischem Optimum



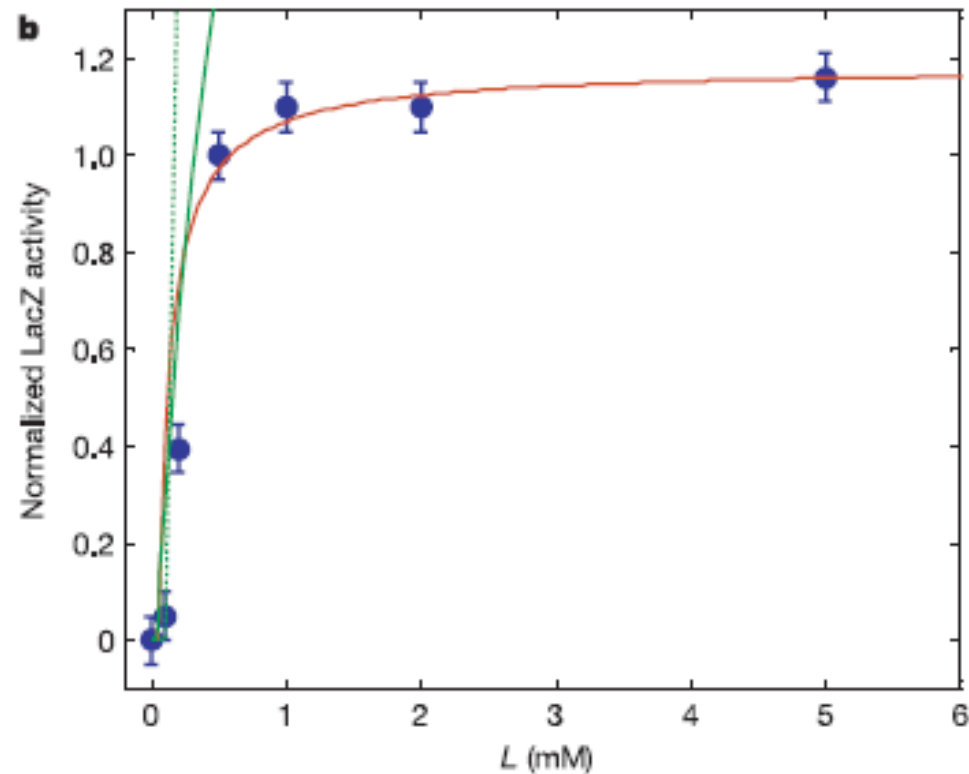
Theoretisches Optimum vs. biologische Evolution (serial dilution Experiment)

Versuchsaufbau:

- Bestimmung d. Enzymaktivität von LacZ mittels enzymatic assay (ONPG-assay)
- Bestimmung des LacZ Levels mittels quantitativer Gelelektrophorese

Ergebnisse:

- Änderungen der LacZ Aktivität und Expression
- LacZ Aktivität (je Molekül) unverändert
- LacZ Expression von adaptierten E.coli sehr nah an theoretischem Optimum



Theoretisches Optimum vs. biologische Evolution (serial dilution Experiment)

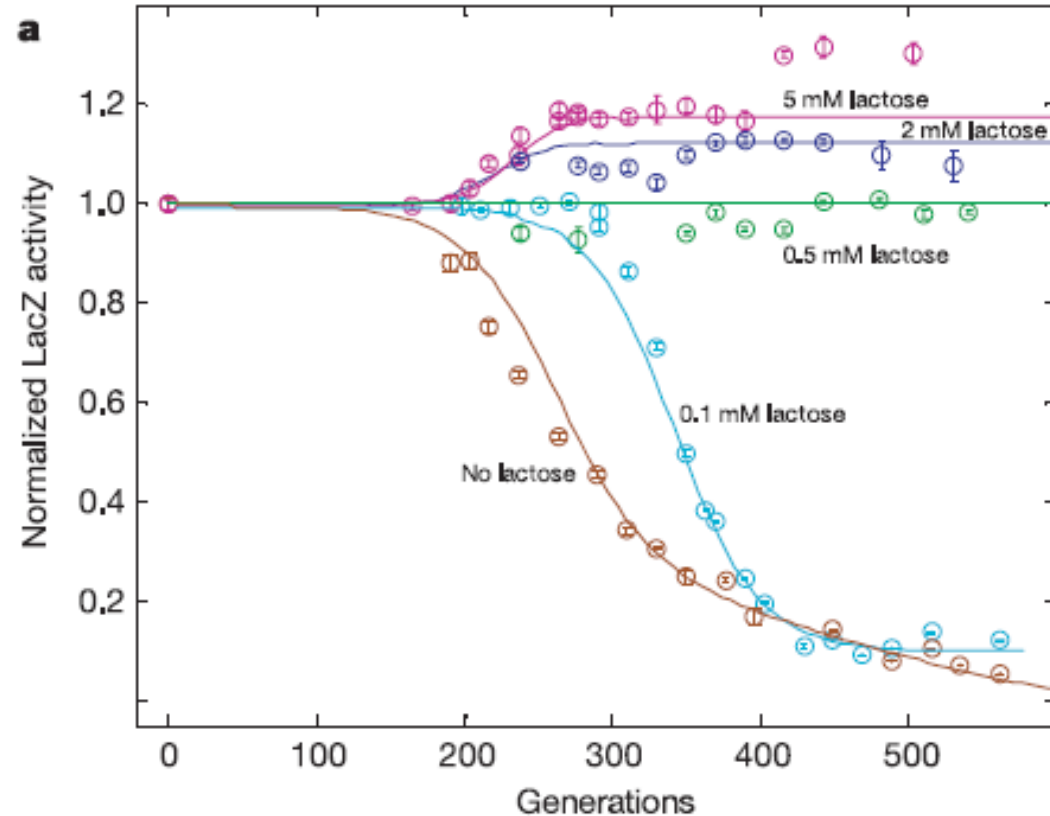
Populationsgenetik – Simulation

Einziger Parameter: Mutations-
wahrscheinlichkeit(p)

Ergebnisse:

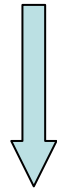
- $p \sim 10^{-7} - 3 \times 10^{-7}$

- einzelne Mutation anstatt
Kombination von Mutationen



Zusammenfassung und Ausblick

- Zellen können sich (relativ schnell) zu Expressionsleveln entwickeln die optimale Lösung einer Kosten – Nutzen Funktion darstellen
- Testen von Kosten – Nutzen Modellen für komplexere Genregulationsnetze



Formulierung und Test von Theorie über optimales Genregulations - Design

Quellen

Optimality and evolutionary tuning of the expression level of a protein
Erez Dekel & Uri Alon, Nature Vol 436, July 2005

Isolierung der β -Galactosidase aus *Kluyveromyces marxianus*.
Biochemisches Grundpraktikum. TU-Darmstadt