



دانشگاه تبریز

دانشکده علوم طبیعی

گروه زیست شناسی جانوری

پایان نامه

برای دریافت درجه ی کارشناسی ارشد در رشته ی بیوشیمی

عنوان

بررسی استواری در شبکه های متابولیک باکتری *E.coli* و مخمر *Saccharomyces cerevisiae* بر مبنای روش FCA

اساتید راهنما

دکتر مجید مهدوی

دکتر سید امیر مرعشی

پژوهشگر

حوا کوهستانی

شهریور ۹۲

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

تقدیر:

تقدیر به ساحت مقدس حضرت ولی عصر، امام زمان (عج)

تقدیر به :

پدرم برای تمامی دل نگرانی های پدارنه اش

مادرم برای اشک ها و لبخندهای پاکش، برای یک عمر ایثار و گذشتش

برادرم، صمیمی ترین دوست و بی ادعاترین تکیه گاهم

تقدیر به شیفتگان علم و تمام آنانی که روح و ذهن تشنه ی خویش را

با زلال روشنی و دانش سیراب می کنند.

نام خانوادگی دانشجو : کوهستانی نام : حوّا	
عنوان پایان نامه : بررسی استواری در شبکه های متابولیک باکتری <i>E.coli</i> و مخمر <i>Saccharomyces cerevisiae</i> بر مبنای روش FCA	
اساتید راهنما : دکتر مجید مهدوی، دکتر سیّد امیر مرعشی	
مقطع تحصیلی : کارشناسی ارشد دانشکده : علوم طبیعی	رشته : زیست شناسی جانوری تاریخ فارغ التحصیلی : شهریور ۹۲
گرایش : بیوشیمی تعداد صفحه : ۱۰۹	
کلید واژه ها : زیست شناسی سامانه ها، شبکه متابولیکی، استواری، فروپاشی، توپولوژی، ارتباطات شبکه ای، آنالیز همراهی شارها	
<p>چکیده : شبکه های متابولیکی یکی از مهم ترین انواع شبکه های عملکردی در سیستم های حیاتی هستند که تنظیم و کنترل آنها در میزان بقا و حیات بهینه ی گونه های موردنظر تاثیر بسزایی دارد چنانکه بطور مستقیم یا غیر مستقیم در تکثیر سلولی و تطابق و ارتباط با محیط خارج سلولی نقش دارد چرا که گونه های مختلف برای بقا نیازمند یک شبکه ی استوار و مقاوم در برابر آشوب های محیطی و جهش های داخل سلولی هستند و هرچه این شبکه انعطاف و سازگاری بیشتری داشته باشد توانایی سلول برای تطبیق با انواع محیط ها مثلا محیط کشت حداقل بیشتر خواهد بود. بررسی ها حاکی از این است که استواری شبکه با نظام ساختاری و توپولوژی شبکه ارتباط تنگاتنگی دارد. هدف از این تحقیق بررسی فاکتورهای موثر و میزان استواری در شبکه های متابولیکی و بررسی آستانه ی فروپاشی شبکه های متابولیک بر اساس روش آنالیز همراهی شارها است.</p> <p>در این بررسی با الهام از تئوری نفوذ، شبکه متابولیکی مدل های ژنوم - مقیاس از چهارده گونه ی متفاوت در معرض جهش های تصادفی قرار گرفته و آستانه ی فروپاشی شبکه متابولیکی مدل های مذکور محاسبه گردید. گونه هایی که برای ادامه ی تکثیر و حیات خود نیازمند محیط های بسیار خاص و انتخاب شده (نظیر برخی از باکتری های پاتوژن) هستند در مقایسه با یوکاریوت ها و باکتری هایی که در محیط های مختلف قابلیت رشد دارند، استواری کمتری نشان دادند. این پژوهش روشی معرفی می نماید که میان فنوتیپ و شرایط زندگی محیطی گونه ی منتخب و استواری شبکه متابولیکی آن ارتباطی منطقی ایجاد کرده و اثرات ناشی از جهش های داخلی و تغییرات محیطی را ارزیابی می نماید و در نهایت مقایسه کمی و کیفی میان داده حاصل ارائه خواهد کرد.</p>	

مقدمه

فصل اول

- ۱-۱- بررسی منابع و پیشینه ی پژوهشی ۱
- ۱-۱-۱- زیست شناسی سامانه ها ۱
- ۱-۱-۲- اهمیت بررسی زیست شناسی سامانه ها ۸
- ۱-۱-۳- بیوانفورماتیک و زیست شناسی سامانه ها..... ۸
- ۱-۱-۳-۱- ابزارهای بیوانفورماتیکی در زیست شناسی سامانه ها ۱۰
- ۱-۱-۴- مفهوم نمایش شبکه ای ۱۲
- ۱-۱-۴-۱- شبکه های آزاد مقیاس..... ۱۳
- ۱-۱-۴-۲- شبکه های جهان کوچک ۱۳
- ۱-۱-۴-۳- انواع شبکه های بیوشیمیایی ۱۴
- ۱-۱-۵- مدل سازی و انواع مدل ها..... ۱۵
- ۱-۱-۵-۱- مدل های سینتیکی..... ۱۶
- ۱-۱-۵-۲- مدل های ساختاری (توپولوژیکی)..... ۱۶
- ۱-۱-۵-۳- میکروارگانسیم ها و مدل سازی کامپیوتری..... ۱۸
- ۱-۱-۶- استواری زیستی..... ۱۹
- ۱-۱-۶-۱- استواری و تحمل خطا..... ۲۲
- ۱-۱-۷- مبدا استواری..... ۲۶
- ۱-۱-۷-۱- مکانیسم بازخورد منفی..... ۲۷
- ۱-۱-۷-۲- مکانیسم بازخورد مثبت..... ۲۸
- ۱-۱-۷-۳- مکانیسم روش های فرعی ۲۹

۳۰	۱-۱-۴-۷- مازولاریته
۳۱	۱-۱-۵-۷- تجزیه
۳۳	۱-۱-۸- اهداف پژوهش

فصل دوم

۳۴	۱-۲- مدل ها و روش ها
۳۴	۱-۱-۲- مبانی نظری روش های آزمایش
۳۴	۱-۱-۱-۲- آنالیز همراهی شارها
۴۱	۱-۱-۲- تئوری نفوذ
۴۳	۱-۱-۳- برنامه ی COBRA Toolbox
۴۶	۱-۲- مدل های In Silico مورد آزمایش
۴۶	۱-۲-۱-۲- ساکارومایسیس سروزیه (iIN800)
۴۷	۱-۲-۲- اسپیریلوس نیدولانس (iHD666)
۴۸	۱-۲-۳- آرابیدوپسیس تالیانا (AraGEM)
۴۹	۱-۲-۴- لاکتوکوکوس لاکتیس
۴۹	۱-۲-۵- ویبریو ولنیفوکوس (VvuMBEL943)
۵۰	۱-۲-۶- اشیشیا کولای (iAF1260)
۵۰	۱-۲-۷- مایکوباکتریوم توبرکلوزیس (iNJ661m)
۵۱	۱-۲-۸- متانوسارسینا بارکری (iAF692)
۵۲	۱-۲-۹- استافیلوکوکوس اورئوس (iSB619)
۵۳	۱-۲-۱۰- هلیکوباکتر پیلوری (iT341)
۵۴	۱-۲-۱۱- ترموتوگا ماریتیما
۵۴	۱-۲-۱۲- مایکوپلاسما ژنیتالیوم (iPS189)

۲-۱-۲-۱۳- مایکوپلازما نمونیا (iJW145)..... ۵۵

۲-۱-۲-۱۴- کلستریدیوم بیجرینکی (iCB925) ۵۵

فصل سوم

۳-۱-۱- نتایج ۵۷

۳-۱-۱-۱- نتایج حاصل از اجرای آنالیز استواری بر مبنای FCA در ساکارومایسیس سروزیه (iN800) ۵۸

۳-۱-۲-۱- نتایج حاصل از اجرای آنالیز استواری بر مبنای FCA در آسپرژیلوس نیدولانس (iHD666) ۶۰

۳-۱-۳-۱- نتایج حاصل از اجرای آنالیز استواری بر مبنای FCA در آراییدوپسیس تالیانا (AraGEM) ۶۲

۳-۱-۴-۱- نتایج حاصل از اجرای آنالیز استواری بر مبنای FCA در لاکتوکوکوس لاکتیس ۶۴

۳-۱-۵-۱- نتایج حاصل از اجرای آنالیز استواری بر مبنای FCA در ویبریو وولنیفوکوس (VvuMBEL943) ۶۶

۳-۱-۶-۱- نتایج حاصل از اجرای آنالیز استواری بر مبنای FCA در اشریشیا کولای (iAF1260) ۶۸

۳-۱-۷-۱- نتایج حاصل از اجرای آنالیز استواری بر مبنای FCA در مایکوباکتریوم توبرکلوزیس (iNJ661m) ۷۰

۳-۱-۸-۱- نتایج حاصل از اجرای آنالیز استواری بر مبنای FCA در متانوسارسینا بارکری (iAF692) ۷۲

۳-۱-۹-۱- نتایج حاصل از اجرای آنالیز استواری بر مبنای FCA در استافیلوکوکوس اورئوس (iSB619) ۷۴

۳-۱-۱۰-۱- نتایج حاصل از اجرای آنالیز استواری بر مبنای FCA در هلیکوباکتر پیلوری (iT501) ۷۶

۳-۱-۱۱-۱- نتایج حاصل از اجرای آنالیز استواری بر مبنای FCA در ترموتوگا ماریتیما ۷۸

۳-۱-۱۲-۱- نتایج حاصل از اجرای آنالیز استواری بر مبنای FCA در مایکوپلازما ژنیتالایوم (iPS189) ۸۰

۳-۱-۱۳-۱- نتایج حاصل از اجرای آنالیز استواری بر مبنای FCA در مایکوپلازما نمونیا (iJW145) ۸۲

۳-۱-۱۴-۱- نتایج حاصل از اجرای آنالیز استواری بر مبنای FCA در کلستریدیوم بیجرینکی (iCB925) ۸۴

فصل چهارم

۴-۱-۱- بحث و نتیجه گیری ۸۹

فهرست منابع ۹۳

صفحه	فهرست شکل ها	عنوان
۲۷	تنظیم گلوکز خون نمونه ای از مکانیسم بازخورد منفی در بدن	شکل ۱-۱ :
۲۸	فرآیند تولد نمونه ای از مکانیسم بازخورد مثبت در بدن	شکل ۲-۱ :
۳۱	ماژولاریته در بدن انسان	شکل ۳-۱ :
۳۸	نحوه ی جفت شدن واکنش ها در مسیرهای بیوشیمیایی	شکل ۱-۲ :
۴۱	آزمایش حذف باند واتسون - لیث	شکل ۲-۲ :
۴۳	فلسفه ی برنامه ی COBRA Toolbox	شکل ۳-۲ :

صفحه	فهرست نمودارها	عنوان
۱	نمودار افزایش تعداد ارجاع مقالات علمی به موضوع زیست شناسی سامانه ها	نمودار ۱-۱ :
۸۷	اعداد استواری حاصل از آنالیز FCA در چهارده مدل زیستی کامپیوتری	نمودار ۱-۳ :
۸۷	مقادیر p -value حاصل از مقایسه ی اعداد استواری در سه گروه زیستی	نمودار ۲-۳ :
۸۸	اعداد استواری حاصل از آنالیز FBA در چهارده مدل زیستی کامپیوتری	نمودار ۳-۳ :

هدف نهایی از رویکرد زیست شناسی سامانه ها یافتن ارتباط میان خصوصیات فنوتیپی و ویژگی های دینامیک اجزای تشکیل دهنده همانند متابولیت های اولیه و ثانویه و مسیرهای متابولیکی و ژنتیکی مرتبط با آنها است [۳-۱]. این ارتباط از اندام تا اجزای مولکولی بصورت سلسله مراتبی وجود داشته و باعث حفظ پیوستگی و عملکرد موجود زنده میگردد. شبکه در حالت کلی مجموعه ی اجزای تشکیل دهنده ی واحد موردنظر و واکنش های مرتبط برای تبدیل اجزا به هم را در نظر میگیرد و ارتباط کمی و کیفی میان زیرمجموعه های مختلف را بررسی می نماید. مثلا یک شبکه متابولیکی که مجموعه ای از واکنش های بیوشیمیایی است و یا ژن ها و شبکه ی تنظیمی مربوط به آن و یا شبکه ی برهم کنش های پروتئین-پروتئین [۴]. حالت های مختلف سامانه ها توسط اجزای تشکیل دهنده و شار واکنش ها تعیین میشود که در بعد کمی به ضرایب استکیومتری و توپولوژی شبکه واکنش ها مربوط میشود [۵].

استواری یکی از مشخصات خاص سیستم های بیولوژیکی است و به نظر میرسد جنبه ی بنیادین سیستم های پیچیده ای باشد که قابلیت تغییر دارند. خصوصیات مشترکی میان ارگانیسم های بیولوژیکی و سیستم های مهندسی پیچیده وجود دارد. ویژگی های ذاتی استواری با بوجود آمدن خصوصیات معماری خاصی در سیستم نهادینه میشوند. میان استواری، فروپاشی، عملکرد ارگانیسم و تقاضای منابع رابطه ای وجود دارد که رفتار سیستم را توضیح میدهد که شامل الگوهای شکست شبکه نیز هست. نگرش درست به مشخصات درونی یک سیستم پایدار به ما کمک خواهد کرد تا درک بهتری از بیماری های چند عاملی بدست آورده و اصولی برای طراحی درمان تعریف نماییم [۸-۶].

علاوه بر آن استواری به سیستم کمک می کند تا در برابر آشوب ها و جهش ها ساختار و عملکرد خود را حفظ کند. این پدیده در میان تمام گونه ها از سطوح ژنی تا سطوح سیستماتیک هموستناز مشاهده شده است. به عنوان مثال باکتری در برابر طیف گسترده ای از سموم در غلظت های مختلف پایداری نشان میدهد و قابلیت تطبیق با محیط مستقل از غلظت های لیگاندی برای آن وجود دارد [۹-۱۱].

در این پژوهش با الهام از تئوری نفوذ با رویکرد حذف باند، واکنش های شیمیایی شبکه متابولیکی که ستون های ماتریس استکیومتری را تشکیل میدهند، در معرض جهش های حذفی تصادفی قرار می گیرند و فرآیند تا رسیدن شبکه متابولیکی مدل مورد نظر (گونه منتخب) به فروپاشی و عدم کارایی شبکه ادامه پیدا می کند. آستانه ی فروپاشی بصورت عدد استواری شبکه متابولیکی محاسبه شده و معیار مقایسه میان شرایط زیستی و محیطی گونه ی مورد آزمایش و تحمل شبکه متابولیکی در برابر جهش های داخلی و آشوب های خارجی خواهد بود.

چهارده مدل کامپیوتری ژنوم - مقیاس شامل یوکاریوت ها و باکتری ها با شرایط رشد و تکثیر متفاوت انتخاب شده و تحت فرآیند حذف های تصادفی شبکه متابولیکی قرار گرفتند. نتایج حاکی است گونه هایی که برای رشد و تکثیر نیازمند محیط های با شرایط خاص هستند نسبت به مدل های یوکاریوتی و مدل های با پراکندگی زیاد و شرایط آزاد رشد و تکثیر، استواری متابولیک کمتری داشته و در برابر جهش ها بسیار آسیب پذیر تر عمل می کنند. این فرآیند می تواند الهام بخش مقابله با گونه های پاتوژن و یا حداکثر کردن بازده تولید در صنایع پزشکی و یا بیوتکنولوژی باشد چرا که با شناخت مسیرهای مختلفی که قادر به افزایش و یا کاهش کارایی متابولیک گونه هستند، دست ورزی و اعمال تغییرات در آنها تسهیل خواهد شد.

در فصل اول به بحث در مورد پیشینه ی زیست شناسی سامانه ها و اهمیت بررسی سیستماتیک ساختارهای زیستی می - پردازیم و همچنین اشاره ای به ارتباط بیوانفورماتیک و زیست شناسی سامانه ها خواهیم داشت. استواری زیستی و انواع مکانیسم های ایجاد استواری در ساختارهای زنده موضوع بعدی بحث در فصل اول خواهد بود.

فصل دوم به معرفی بنیان نظری آزمایش و تعریف کلی از آنالیز همراهی شارها FCA می پردازد. تئوری نفوذ و روش انجام آن در پژوهش حاضر نیز در ادامه معرفی می شود. مدل های کامپیوتری منتخب را معرفی نموده و با برنامه ی کبرا تولباکس آشنا خواهیم شد.

در فصل سوم جدول نتایج ارائه شده و در ادامه به بحث در مورد نتایج حاصل خواهیم پرداخت. برای تایید نتایج حاصل روش فوق با آزمایش آنالیز تعادل شارها FBA نیز مورد آزمون قرار گرفته و تایید شده است.

در نهایت با سپاس از اساتید محترم، امید است که پژوهش حاضر الهام بخش محققین و پژوهشگران عزیز در حیطه ی بررسی - های سیستماتیک و جامع نگر در زمینه ی ساختارهای زیستی بخصوص شبکه های متابولیکی باشد.

فصل اوّل

بررسی منابع

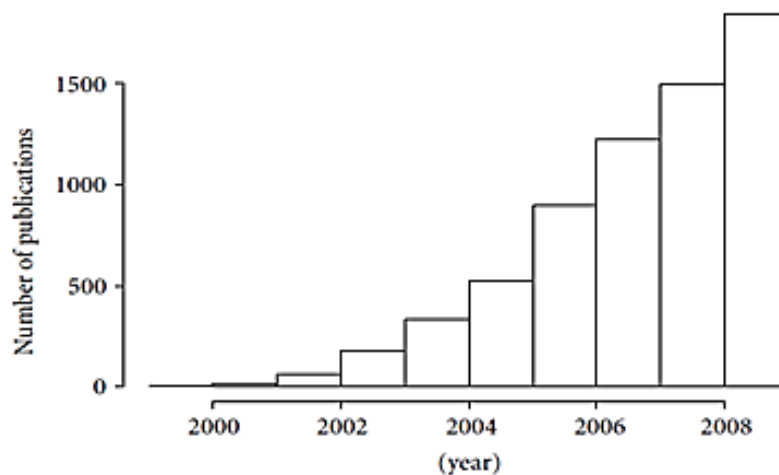
۱-۱- بررسی منابع و پیشینه ی پژوهشی

۱-۱-۱- زیست شناسی سامانه ها :

زیست شناسی سامانه ها را میتوان از چندین جنبه ی مختلف بررسی کرد. به عنوان زمینه ای از مطالعات، زیست شناسی سامانه ها بر هم کنش های میان اجزاء سامانه ی زیستی را مد نظر داشته و تاثیر برهم کنش ها در عملکرد و رفتار سیستم را تحلیل می نماید (برای نمونه نحوه ی ارتباط میان واکنش ها در مسیرهای متابولیکی) [۲۱].

اصطلاح زیست شناسی سامانه ها برای توضیح و تفسیر برخی تحقیقات میان رشته ای در زیست شناسی بکار گرفته شده است [۱]. زیست شناسی سامانه ها بطور گسترده و رسمی از زمان پایان پروژه ی ژنوم انسانی و ظهور تکنولوژیهای «اومیک»^۱ مثل متابولومیک، پروتئومیک و ترانس کریپتومیک وارد ادبیات زیست شناسی شد. ولی مبدا زیست شناسی سامانه ها به میانه قرن گذشته برمی گردد [۱۲]. به عنوان مثال یک تئوری عمومی توسعه یافته در مورد سامانه ها اواخر سالهای ۱۹۶۰ به زیست شناسی تعمیم یافت. تئوری کنترل متابولیک نیز بطور مستقل ارائه و شار متابولیک بعنوان یک «ویژگی سیستمی» معرفی شد [۱۳].

علاقه به زیست شناسی سامانه ها به سرعت در دهه های اخیر افزایش یافته و تعداد ارجاع دهی به مقالات چاپ شده در این حیطه موید مطلب است.



نمودار (۱-۱) : نمودار نرخ رشد ارجاعات در مقالات به مبحث زیست شناسی سامانه ها [۱۴].

^۱ . Omics

لازم به ذکر است که زیست شناسی سامانه‌ها دارای مرزهای مشخصی نیست و با زمینه‌های مختلف زیست شناسی و بیوتکنولوژی و صنعت همپوشانی دارد.

تعاریف بسیاری برای زیست شناسی سامانه‌ها ذکر شده است ولی تا کنون تعریف واحد و یکسانی که مورد پذیرش تمام مکاتب فکری بوده و تمام زمینه‌های ناهمگون این رشته را پوشش دهد ارائه نگردیده است. گفته می‌شود زیست شناسی سامانه‌ها بیش از اینکه یک زمینه علمی مستقل باشد بیشتر یک فرآیند و رویکرد است [۱۴]. در این زمینه همیشه جای بحث وجود دارد ولی چیزی که با قطعیت میتوان ادعا کرد این است که زیست شناسی سامانه‌ها اساساً وابسته به مدل سازی کامپیوتری و ریاضی است.

واژه ی ژنومیک در سال ۱۹۸۶ توسط توماس رودریک بکار برده شد و بعدها ژورنالی با همین نام منتشر شد که در ارتباط با قواعد ژنومی و توالی یابی DNA بود [۱۵]. در سال ۱۹۸۸، پروژه ی ژنوم انسانی^۲ کلید خورد [۱۶] و یک دهه ی بعد به پایان رسید. مشابه همین پروژه بر روی جانوران، باکتریها و گیاهان مختلفی صورت گرفته است. تاکید این پروژه‌ها بیشتر بر روی نقشه ی ژنی، توالی یابی و تعیین ژن‌ها بود. همزمان با حرکت رو به رشد توالی یابی ژنی هر روز بیشتر روشن میشد که توالی های ژنومی یافت شده تنها قسمت کوچکی از پیچیدگی های پنهان ژنومی را آشکار می کنند و در مقابل سوالات بسیاری در حیطه ی زیست شناسی مطرح می نمایند. در نتیجه تمایل روزافزونی برای یافتن ارتباط میان توالی ها و عملکرد مربوط به آنها ایجاد شده و ژنومیک به دو دسته ی «ژنومیک توالی^۳» و «ژنومیک عملکردی^۴» تقسیم شد [۱۷].

حقایقی چند وجود دارد که پیچیدگی ارتباط میان فنوتیپ ارگانسیم و ژنوتیپ را نشان میدهد:

۱. کمتر از دو درصد DNA انسان بطور مستقیم کد کننده ی پروتئین هستند.
۲. ژنوم ارگانسیم های یوکاریوتی تقریباً بطور کامل رونویسی میشوند.
۳. مقدار زیادی از RNA های رونویسی شده ای که پروتئین کد نمیکنند نقش بسیار مهمی در فرآیند تنظیمی دارند.
۴. نقش مهم و حیاتی تنظیمی های پس رونویسی و پس ترجمه ای در کنترل عملکرد محصولات ژنی که هم بصورت مکانی و هم بصورت زمانی انجام میشود.

^۲. HGP: Human Genome Project

^۳. Sequential Genomic

^۴. Functional Genomic

بنابراین مفهوم ژن در پنج سال گذشته موضوع بازبینی‌ها و تجدید نظرهای بسیاری بوده است. طرز تفکر سیستمی از همان ابتدای توسعه‌ی ژنومیک در میان جامعه‌ی محققین وجود داشت [۱۸]. «درک سیستمی»^۵ در قالب مدل‌های ریاضی، مجموعه‌ی کامل داده‌های ژنومی و تجربه‌ی مطالعات سیستم‌های پیچیده ظهور پیدا کرد [۱۹]. یکی از پیش‌درآمدهای تفکر سیستمی درک این مطلب بود که سامانه‌های زیستی از نظر تحلیل ریاضی در طبقه‌بندی سیستم‌های پیچیده قرار می‌گیرند. چنین سیستم‌های پیچیده‌ای در فیزیک و ریاضیات دارای کاربردهای مهم و فراوانی هستند و ارتباط مستقیم و دانش‌گردآوری شده در قواعد اساسی این شبکه‌ها قابل تعمیم به زیست‌شناسی است و به نظر می‌رسد وجود اطلاعات کامل توالی‌های ژنی و پایگاه‌های داده‌ای رسیدن به اهداف تفکر سیستمی را هدفی قابل دسترسی نموده است [۲۰].

دو رهیافت عمومی به زیست‌شناسی سامانه‌ها وجود دارد و محققین زیست‌شناسی سامانه‌ها نیز بر این اساس عموماً به دو دسته تقسیم می‌شوند (البته این تقسیم‌بندی لزوماً انحصاری نیست)، افراد عملگرا و افراد با رویکرد سیستمی. امالی و دوپره^۶ پیشنهاد کرده‌اند که هر دو گروه نیاز دارند تا تعریف روشنی از سیستم و تشکیل آن داشته باشند [۲۱]. نبود تعریف جامع در مورد سیستم ممکن است در برخورد اول باعث سردرگمی شود ولی مفهوم سیستم در زیست‌شناسی سامانه‌ها بستگی به مسئله‌ی مورد تحقیق از یک سو و نحوه‌ی انتخاب مدل‌سازی ریاضیاتی از سویی دیگر دارد. مدل‌سازی ریاضی روشی برای تفکر روشن و آگاهانه است.

سیستم‌های زیستی از تعداد زیادی اجزای عملکردی مختلف تشکیل شده‌اند که بسیار انتخاب شده هستند و اغلب بصورت غیر خطی برهم‌کنش دارند تا رفتارهای هماهنگی تولید کنند. چنین اجزایی می‌توانند مولکول‌هایی مجزا (مثل مولکول‌های موجود در شبکه‌ی سیگنال‌دهی یا متابولیسم) مجموعه‌ای از کمپلکس‌هایی که با هم برهم‌کنش دارند، مجموعه‌ای از فاکتورهای فیزیکی که توسعه و رشد یک ارگانیسم را بعهده دارند (ژن، mRNA، کمپلکس پروتئینی و یا سایر پروتئین‌های مرتبط)، سلول و بافت یک اندام و یا حتی کل یک ارگانیسم در جامعه‌ی اکوسیستمی نیز می‌تواند یک جزء محسوب شود. برای مثال چرخه‌ی سلولی مخمر ساکارومایسیس پامبه^۷ را در نظر بگیرید. مدل شبکه‌ی تنظیمی این سلول حدود ۲۰ جزء دارد که برهم‌کنش‌های آنها می‌تواند تقریباً در قالب ۱۲ معادله‌ی دیفرانسیل و ۳۰ پارامتر سینتیکی توضیح داده شود [۲۲]. رفتار دینامیک چنین شبکه‌ای از برهم‌کنشها را تنها می‌توان با استفاده از شبیه‌سازی‌های کامپیوتری و تئوری دینامیک سیستمی تحلیل کرد. مثال دیگر پاسخ سلولی مخمر به شوک هایپراسموتیک است و تنها با استفاده از مدل‌سازی ریاضی

⁵ . Systemic Understanding

⁶ . Omali and Dupree

⁷ . *Saccharomyces pombe*

میتوان برهم کنش های اجزای دخیل در این فرآیند را مشاهده و بررسی کرد [۲۳]. دلایل دیگری وجود دارد که چرا مفهوم «سیستم» دور از دسترس به نظر میرسد. نقش مدل های ریاضی خصوصاً در تولید فرضیات قابل آزمایش بطور مفصل بحث شده است [۱۱]. شاید امری که کمتر به آن پرداخت شده این است که مدل های ریاضی سیستم های زیستی برای نمایش دانش ما درباره ی این سیستم ها بطور گسترده ای در حال استفاده هستند. مثلاً مدل iAF1260 از شبکه متابولیکی باکتری *E. coli*^۸ نه تنها رفتار این باکتری را تحت جهش های ژنتیکی آزمایشگاهی پیش بینی میکند [۲۴] بلکه خود این مدل نمایشی کامل از ساختار و شبکه متابولیکی *E. coli* است. هیچ راه دیگری برای تفکر کمی در مورد سیستم های پیچیده فوق وجود ندارد مگر اینکه از توصیفات دقیق ریاضی استفاده شود. مدل های ریاضی و یا کامپیوتری فراتر از درک و شهود محض عمل کرده و مجموعه ای دقیق از دانش حال حاضر ما را در قالب سامانه ی مورد بررسی ارائه میکنند. ممکن است تفاوت های بسیاری در مقیاس و دامنه ی مدل های مختلف استفاده شده در زیست شناسی سامانه ها وجود داشته باشد. برای مثال، مدل ژنوم - مقیاس شبکه متابولیکی مخمر [۲۵] و مدل گلیکولیز مخمر را تصور کنید. مسئله ارجحیت یک مدل بر دیگری نیست چرا که این مدل ها دارای اهداف، مقیاس و ظرفیت های متفاوتی هستند. مدل اول یک مدل ژنوم - مقیاس از تمام شبکه متابولیکی است در حالیکه مدل دوم فقط مربوط به یک مسیر خاص شده و شامل توضیحات جزئی در مورد سنتتیک تک تک آنزیم ها و واکنش های مربوط به آنها می باشد. بنابراین با این مقایسه یک ویژگی خاص مدل های ریاضی آشکار میشود که مستقیماً با زیست شناسی سامانه ها ارتباط می یابد. هدف هر مدل ریاضی تشریح یکی از سطوح مختلف سیستمی است که به مسئله ی مورد آزمایش، محدودیت دانش ما در ارتباط با موضوع آزمایش، توانایی ما برای مشاهده ی آزمایشگاهی سامانه و یا فرضیه ی مورد علاقه بستگی دارد.

مدل های متابولیکی ژنوم - مقیاس عموماً از ذکر پارامترهای سینتیکی واکنش ها خودداری می کنند چرا که مدل های ژنوم - مقیاس باید جامع بوده و از طرفی اطلاعات دقیق سینتیکی برای بسیاری از این واکنش ها نیز شناخته شده نیست. در مقابل مدل های سینتیکی بیشتر به جزئیات میپردازند ولی جامعیت کمتری دارند. با این حال، مدل های سینتیکی قادرند اطلاعاتی در مورد شرایط پایدار و حتی شرایطی که از سوی محقق تعیین میشوند ارائه کنند. انتخاب صحیح سطح مورد بررسی یکی از مهم ترین و دشوارترین بخش های مدل سازی ریاضی و چالشی فراگیر در زیست شناسی سامانه هاست. (پارامترهای سینتیکی شامل ثابت سرعت و ثابت تعادل است که ثابت سرعت بستگی به ثابت عمومی گازها و انرژی اکتیواسیون دارد و وابسته به شرایط واکنش مثل دماست) چالش بعدی انتخاب مرزهای مدل است (مرزهایی که قابل تعریف برای مفهوم

⁸. *E. coli*

سیستمی باشد). انتخاب صحیح، نیازمند آشنایی دقیق با فرضیات آزمایش و تجربیات کافی در مدل سازی ریاضی است. سیستم های پیچیده دینامیک، اغلب ساختارهایی با طراحی ماژولار^۹ شکل میدهند [۲۶]. ماژولاریته هم باید درست درک شده و هم باید درست بکار گرفته شود تا مدل سازی بصورت بهینه صورت گیرد. در مطالعات ژنوم - مقیاس ارگانیسم های میکروبی، یکی از مرزهای مطلوب سیستم مرزهای سلولی است. در سایر موارد انتخاب مرزها با ابهام همراه است و محقق لازم است اطلاعات پایه ای از اجزا و نحوه ی جفت شدن این اجزا را بداند تا بتواند مرزهای سامانه را به درستی انتخاب کند. مثالهای ابتدایی از فرآیند انتخاب مرز شامل ساختار بافت در یک ارگانیسم پر سلولی یا زیر ساخت های مختلف سلولی در شبکه متابولیکی است (مثل میتوکندری، پروکسی زوم و غیره)، مواردی که باعث سخت تر شدن تعریف سامانه در زیست شناسی سامانه ها خواهد شد.

سامانه های زیستی را میتوان در چهار سطح مطالعه کرد : ساختار، رفتار، کنترل و طراحی. سطح ساختار به بررسی رابطه ی میان اجزای شبکه می پردازد و به دنبال زیرمجموعه ها و اجزایی است که دارای نقش حیاتی و مهم در شبکه هستند. هدف از مطالعه ی رفتاری پیش بینی یا شناخت رفتار سامانه بر مبنای ساختار شبکه است. بعنوان مثال پاسخ شبکه به جهش های وارد شده به آن منجر به شناخت رفتار نقاط حساس و آسیب پذیر شبکه خواهد شد. هدف از پژوهش حاضر بررسی رفتار شبکه ی متابولیک در برابر جهش های تصادفی و تغییرات ساختاری آن می باشد. پس از شناخت رفتار و خصوصیات سامانه این امکان بوجود می آید که بتوان تغییرات دلخواه و مطلوب را به شبکه اعمال کرد برای مثال میتوان باکتریهای تغییر یافته با قدرت تخریب مواد سمی و حذف آنها از محیط را به طریق مهندسی متابولیک حاصل نمود و در سطح کنترلی مطالعاتی صورت می گیرد که بتوان سامانه ای کاملاً جدید را مطابق اهداف مورد نظر طراحی کرد. طراحی سیستم های زیستی روز به روز بیشتر مورد توجه مجامع علمی قرار می گیرد [۴۶]. تحلیل سامانه های طراحی شده باید بر مبنای اطلاعات صحیح صورت گیرد تا منجر به پاسخ های اشتباه نگردد. شبکه های متابولیکی بیشتر از سایر سامانه ها مورد مطالعه و شناخت قرار گرفته اند و وجود مدل های با کیفیت ژنوم - مقیاس آنها را به ابزاری مفید در تحقیقات زیست شناسی سامانه ها تبدیل کرده است. سالیان متوالی است که محققین با مطالعه ی مکانیسم و پارامترهای بیوشیمیایی شبکه متابولیکی را تحلیل کرده اند. با تکیه بر این اطلاعات که مثلاً در مورد چندین آنزیم صورت گرفته است میتوان سامانه ای با تکیه بر معادلات دیفرانسیل عادی^{۱۰} تعریف کرد که رفتارهای دینامیک و پویای سامانه را تشریح میکند. مدل های متکی بر معادلات دیفرانسیل عادی ها مدل

^۹ . Modular

^{۱۰} . ODE : Ordinary Differential Equations

هایی هستند که در یک وضعیت زمانی معین با مشخص بودن پارامترهای مربوط به آن میتوان رفتارهای بعدی سامانه را پیش بینی کرد [۴۷] ولی بدلیل وجود نقص هایی نظیر مشخص نبودن پارامترها و مکانیسم بسیاری از واکنش ها این روش تضمین کننده ی پاسخ های مقبول در شرایط آزمایشگاهی نخواهد بود. بنابراین باید از استراتژیهای متفاوتی برای نزدیک تر کردن نتایج استفاده کرد. مدل سازی مبتنی بر قید، قیدهای فیزیکیوشیمیایی^{۱۱} مشخصی بر سامانه اعمال میکند تا مسیرها و حالت های غیر ممکن را استخراج نماید. مزیت تحلیل مبتنی بر قید این است که هیچ دانش اولیه ای غیر از مکانیسم و پارامترها مورد نیاز نیست و تنها بعنوان قیدهای تکمیلی به مدل اضافه میشوند. شبکه متابولیکی و شبکه ی ژنتیکی دو سامانه ی اصلی کنترل کننده ی سامانه های زیستی هستند و شناخت ارتباط میان این دو شبکه حائز اهمیت است ولی شبکه های متابولیکی اغلب بدون تنظیم مطالعه میشوند چرا که تحلیل شبکه های متابولیکی ژنوم - مقیاس راحت تر از شبکه های ژنوم - مقیاس تنظیم شونده با سیستم ژنی است. پیش بینی های انجام شده برای شارهای درون سلولی و فنوتیپ های رشد سلولی براساس مدل سازی های کامپیوتری با نتایج آزمایشگاهی و تجربی حاصل تطابق دارد [۴۸].

^{۱۱} . CBM : Constraint Based Modeling

۱-۱-۲- اهمیت بررسی سامانه ای ساختارهای زیستی:

«چرا بررسی سامانه ای ساختارهای زیستی مورد توجه محققین قرار گرفته است؟» استاس شوارتزمن^{۱۲} داستانی نقل میکند که پاسخ خوبی به این پرسش است. او وضعیت کنونی زیست شناسی را به شرایط ستاره شناسی و نجوم در دوره ی بیش از کپلر تشبیه میکند [۳۳]. طی هزاران سال مردم ستارگان و سیارات را با مشاهده ی آسمان شب رصد میکردند. آنها را نامگذاری نموده، برای صورتهای فلکی و سیارات نشانه و سمبل هایی برمیکزیدند و حرکت های پیچیده ی این اجرام آسمانی را ثبت میکردند. رویه ی مطالعه ی کیفی نجوم در پایان قرن ۱۶ با مطالعات عددی و محاسباتی تیکوبراهه به اوج خود رسید. در این زمان حرکات سیارات توصیف شده بود ولی به خوبی درک نشده بود. سپس کپلر با تئوری خود که در ابتدا بر مبنای داده های براهه تنظیم شده بود وارد عرصه ی نجوم شد. تئوری او مدارهایی بیضوی با مرکزیت خورشید برای سیارات متصور میشد. ۵۰ سال بعد قانون جاذبه ی عمومی نیوتن ساده سازی ها و اصلاحاتی وارد تئوری سیارات کپلر کرد که نتایج قابل قبول و خوبی در آن برهه ی زمانی ارائه نمود و شاید حتی عده ای ادعا کردند که نحوه ی حرکت سیارات بطور کامل درک و بررسی شده است. مدلی که کپلر در تئوری خود به توضیح آن پرداخت یک مدل ریاضی به مراتب ساده تر از حرکت سیارات بود. وسیله ای که او برای شبیه سازی این حرکت ساخت « نقشه نمای نجومی اسرار آمیز^{۱۳} » بود که اگر سیارات در مدارهای محاسبه شده قرار گیرند اندازه های مدار بعدی بدست خواهد آمد. در حالیکه این تطبیق اتفاقی داده ها فقط یک تصادف مطلوب^{۱۴} بود چرا که با ظهور قوانین نیوتن و جاذبه ی عمومی وجود اشتباه در محاسبات کپلر خود را نشان داد. زیست شناسی سامانه ها نیز با فرض پیچیده بودن سامانه های زیستی آغاز شد و هدف آن ارائه ی چارچوبی ساده تراز شبکه های مختلف زیستی بوده است. زیست شناسی سامانه ها اکنون رویه ای مشابه با تفسیر کپلری دارد که به دنبال یافتن روش ها و دلایل است ولی هدف، رسیدن به روشی نیوتنی برای درک اصول ابتدایی است که قابل تعمیم به رفتارهای پیچیده ی سامانه های زیستی باشد. همانطور که کپلر در محاسبات خود رخدادهای به ظاهر درست را پیش بینی کرد در زیست شناسی سامانه ها نیز باید نسبت به حصول نتایج به ظاهر درست ولی خلاف واقع هوشیار بود.

به نظر میرسد زیست شناسی سامانه ها در تضاد با فرضیه های کاهشی (ساده سازی سامانه) است. در برخی موارد محدود پاسخ مثبت است ولی مرزهای میان دو رویه عموماً با تحلیل های دقیق تر از میان برداشته میشوند. بعنوان مثال با تحلیل و بررسی اجزای یک مدار الکتریکی مثل گیت های منطقی و یا قطعات الکترونیکی میتوان نحوه ی کار و ارتباط مدار کلی را

¹² . Stas shvartsman

¹³ . Mysterium Cosmographicum

¹⁴ . Happy coincidences

درک کرد. در یک سامانه ی زیستی نیز با بررسی جزء به جزء ژن ها و پروتئین ها، مسیر برای شناخت بیشتر ارتباط بین اجزای شبکه ای و رفتار کلی سامانه هموارتر خواهد شد. بررسی سامانه ای به این دلیل مهم است چرا که مجموعه ی پروتئین ها و ژن ها قادر به انجام عملکردهایی هستند که ژن ها و پروتئین های منفرد قادر به انجام آن نیستند. مثلاً دو پروتئین در کنار هم کارآمدتر از یک پروتئین هستند و یا مجموعه ی ده پروتئین و ژن عملکرد بالاتری نسبت به مجموعه ی دو پروتئینی دارد.

۱-۳- بیوانفورماتیک و زیست شناسی سامانه ها :

اصطلاح بیوانفورماتیک در سالهای آغازین ۱۹۷۰ توسط بن هسپر و پائولین هاگو گ^{۱۵} به کار گرفته شد و هدف آنها از این اصطلاح توضیح تحقیقی بود که در حقیقت « مطالعه ی فرآیندهای اطلاعاتی در سیستم های زیستی » بوده است [۳۴]. یکی از ویژگی های بارز حیات مکانیسم های تولید و انتقال اطلاعات در اشکال مختلف آن است. انباشتگی اطلاعات طی تکامل، انتقال داده ها از DNA به سمت فرآیندهای داخل و خارج سلولی و تغییر چنین داده هایی در سطوح مختلف از جمله این موارد است. این دو محقق پیشنهاد کردند که علاوه بر بیوفیزیک و بیوشیمی ایجاد حیطه ای جدید به نام بیوانفورماتیک ضروری به نظر میرسد. نهایتاً در آغاز تولد زیست شناسی مولکولی وجود یک تم تحقیقاتی که جمع کننده ی اطلاعات، پردازش و ذخیره ی آنها در سیستم های زنده باشد تشخیص داده شد. با ورود نظریه های عمومی در مورد سامانه ها، راه برای پذیرش زیست شناسی نظری نیز هموارتر شد. استوارت کافمن^{۱۶} کتاب خود در مورد شبکه های بولی رندوم^{۱۷} را ارائه نمود که شبکه های تنظیمی سلولی را بررسی کرده و سلول را بعنوان یک جاذب در سیستم دینامیک چند بعدی فرض میکند. بعدها مبانی ریاضی این تحلیل در آزمایش های بررسی بیان ژن در نوتروفیل ها بکار آمد و اساس تجربی آزمایش ها را به زیبایی تفسیر کرد [۳۵].

به دنبال آن، مدل سازی هایی در مورد دینامیک نوسانگر آنزیم ها و اطلاعات مکانی و شرایط پایدار در تنظیم ژن صورت گرفت و بحث های داغی نیز دنبال داشت. سوالات مرتبط با مدل های تکاملی بیشتر به جهش ها و فرکانس تغییر آلل ها می پرداخت ولی اینکه چطور تکامل موجود زنده را به سیستمی پیچیده تبدیل میکند هنوز بررسی نشده بود. سیستم های هوش مصنوعی با الهام از سیستم های زنده مورد توجه محققین قرار گرفتند و سیستم عصبی و الگوی توزیع و پردازش اطلاعات آن

¹⁵ . Paulien Hogeweg and Ben Hesper

¹⁶ . Stuart Kauffman

¹⁷ . Boolean Random Networks