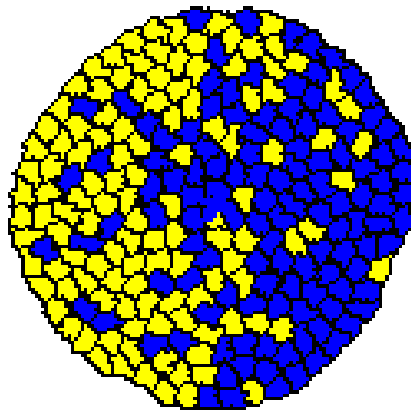


Pràctica 2 de biologia del desenvolupament



STEP: 250900

Laboratori integrat IV

Grau de genética

Curs 2021-2022

Introducció:

L'objectiu d'aquesta pràctica és que els alumnes puguin veure en funcionament exemples dels mecanismes de formació de patró que s'han exposat a teoria. Aquests mecanismes són l'adhesió diferencial, el creixement diferencial i la migració de cèl·lules individuals per quimiotaxis. Aquests són exemples de mecanismes que en el desenvolupament animal permeten transformar un patró inicial, es a dir una distribució de tipus cèl·lulars en l'espai, en un patró posterior en el desenvolupament, es a dir una altra distribució de tipus cèl·lulars en l'espai. Aquesta pràctica permetrà als alumnes explorar per si mateixos com canvis en les interaccions gèniques en aquests mecanismes donen lloc a diferents tipus de transformacions de patró i així aprofundir en la comprensió d'aquests processos fonamentals del desenvolupament animal. La pràctica es basa en la simulació d'aquests mecanismes mitjançant un model computacional realista de lliure accés.

La pràctica consistirà en un grup d'exercicis en els que els alumnes hauran de modificar la força d'interacció entre varis productes gènics (força d'unió entre proteïnes d'adhesió cèl·lular per al cas de l'adhesió diferencial, secreció i difusivitat del quimioattractor en el cas de la quimiotaxis) per tal d'aconseguir diferents transformacions de patró des d'un patró inicial senzill a un patró final problema. En aquest sentit els exercicis seran molt similars als problemes fets durant l'assignatura de biologia del desenvolupament. La diferència esta en que en aquest cas, donada la velocitat i fiabilitat amb la que els ordinadors poden fer les operacions lògiques necessàries per a aquest mecanismes (això no es possible per a altres), els alumnes poden veure la solució de molts d'aquests problemes ràpidament. Així els alumnes podran adquirir una percepció directa i més exhaustiva de l'espectre de transformacions de patró possible per cada mecanisme mitjançant un auto-aprenentatge manipulatiu directe guiat per el model i el professor de practiques. Aquesta forma d'entendre les formacions de patró, directament per l'alumne modificant els paràmetres genètics del model i veient que passa a nivell de patró, complementa les explicacions més detallades, però que requereixen necessàriament més esforç cognitiu per part de l'alumne per a ser generalitzades, donades durant els

seminaris. Essencialment es pretén que els alumnes aprenguin pel joc, en el model, com funciona l'adhesió diferencial, el creixement diferencial i la quimiotaxis.

Per a realitzar la practica no serà necessari entendre els fonaments matemàtics del model, malgrat es un dels models matemàtics més utilitzats per a la simulació del desenvolupament. La base matemàtica del model només s'explicarà als alumnes que ho desitgin. Per als mecanismes estudiats el model es comporta d'una forma molt semblant al sistemes reals, l'avantatge és que el model és més fàcil de manipular de forma que és més fàcil entendre els efectes dels diferents mecanismes. En els sistemes reals aquests mecanismes solen actuar alhora de forma que és més difícil discernir que és el que fa cadascun. En aquest sentit aquest model és una eina útil per a simplificar l'aprenentatge d'aquests mecanismes.

El model i el programa:

El model que utilitzarem és el "Pott's model" en la seva implementació 2D mitjançant un intuïtiu programa de simulació anomenat BioCellSim. Aquest software és de lliure accés sota llicència GNU.

Aquest software es pot instal·lar executant el fitxer BioCellSim_Win32_v1.0.msi que trobarem a D:\docència\genètica o que podrem baixar-nos des de pcwww.liv.ac.uk/~mf0u4027/biocell/BioCellSim_Win32_v1.0.msi

El programa funciona carregant uns fitxers amb extensió ".bft" que són fitxers xml en els que s'especifiquen tan el patró inicial com els valors dels paràmetres del model per cada simulació; aquests es paràmetres es poden modificar com es detalla seguidament per a cada exercici. Aquests fitxers es carreguem anant al menú "File" de la finestra que apareix d'executar el fitxer "BioCell.exe" (en el directori del programa i un cop instal·lat aquest) i seleccionant "Open" i "Template" i elegint el fitxer .btf corresponent a cada exercici (com es detalla seguidament).

Els fitxers .btf per cadascun dels exercicis es troben al directori D:

\docència\genètica\labintIV i al campus virtual en el directori de material docent
BD/templates

Per al exercici 1 farem servir el fitxer “cellsorting.btf”

Per al exercici 2 farem servir el fitxer “quimiotaxis.btf”

Per al exercici 2 farem servir el fitxer “credif.btf”

Funcionament bàsic del programa:

Menú Simulation:

Per començar la simulació un cop carregat un fitxer .bft sencillament cal premer F5 (o anar al menú “Simulation” i seleccionar “Start”). Per aturar premer F6 o anar al menú “Simulation” i seleccionar “Stop”.

Menú Window:

Anant al menu “Windows” i seleccionant “Cell and Chemical” podreu veure en pantalla no només les cèl.lules sinó també la concentració de morfogens en l'espai (en les simulacions en les que n'hi hagin).

Menú File:

Aquí podrem guardar simulacions i amb les modificacions en les paràmetres que hàgim fet.

A més l'opció “Save Screenshots” ens permetrà guardar en imatges l'evolució del model i el patró final aconseguit. Un cop seleccionada aquesta opció s'aniran guardant imatges de l'evolució d'aquesta a intervals regulats de 100 passos de temps o

iteracions. Aquestes imatges es guarden al directori UoL\BioCellSim\un_nom. El un_nom es un directori que té com nom la data del dia i alguns números de forma que es puguin trobar fàcilment. El directori UoL pot estar al directory "Program Files" o a D: dependent de l'aula d'informàtica. El que considerarem com a patró final serà el patró observable en la última imatge enregistrada. Això dependrà només de quan es decideixi aturar la simulació. Les imatges es guarden per defecte en el format d'imatge .tif.

Exercicis:

Els exercicis s'hauran d'entregar. L'avaluació d'aquesta part de les pràctiques es basarà en aquestes entregues. Cada exercici implica entregar un patró solució. Aquests s'han d'entregar en un fitxer pdf en el que es presenti una imatge amb cada patró final i al costat de cada imatge els valors dels paràmetres que s'han utilitzat per aconseguir-ho (quins paràmetres són aquests es detalla seguidament). Això es pot fer senzillament inserint cada patró, cada imatge tif, en un fitxer word i després convertint-ho tot a pdf.

Els exercicis es poden entregar des del mateix dia de les pràctiques fins a una setmana després. Si feu les pràctiques en parelles envieu un sol fitxer per parella.

Exercici 1: Adhesió diferencial

L'objectiu d'aquest exercici es trobar patrons finals diferents com els que s'indiquen a les figures. Això s'ha d'aconseguir des del patró inicial present al fitxer cellsorting.btf i canviant les forces d'adhesió entre el tipus cèl.lular blau i el groc. Per canviar aquestes forces cal, abans de començar la simulació, anar al menú "Edit" i triar "Cell adhesion". Aquí ens apareixerà una finestreta amb una taula en la que s'especifiquen les forces d'adhesió entre les cèl.lules de diferents colors, incloent-hi les forces d'adhesió entre les cèl.lules de cada color per si mateixes (en la diagonal de la taula). Fixeu-vos que, contraintuitivament, els valors numèrics baixos indiquen grans forces d'unió. Un cop modificant aquests valors cal apretar el botó "Update" i ja es pot començar la simulació. Cada cop que es vulguin provar noves combinacions d'aquests paràmetres

s'haurà d'anar al menú "File" i triar "Reload" o premer F9 i tornar a començar la simulació.

Exercici 1a:

Les cèl.lules blaves a l'interior de l'embrió i les cèl.lules grogues recobrint la superfície de l'embrió.

Exercici 1b:

Les cèl.lules grogues a l'interior de l'embrió i les cèl.lules blaves recobrint la superfície de l'embrió.

Exercici 1c:

Les cèl.lules blaves i les grogues totalment barrejades de forma que cada cèl.lula groga tendeixi a estar rodejada de cèl.lules blaves i cada cèl.lula blava tendeixi a estar rodejada de grogues.

Exercici 1d:

Un patró com el de la portada

Exercici 1e:

Un patró com el de la portada però en el que totes les cèl.lules grogues són a un costat i totes les blaves al altre. Es a dir que hi hagi una frontera recta entre els dos territoris de cèl.lules.

Exercici 1f: Patró en el que cap cèl.lula esta en contacte amb les altres.

Exercici 2: Quimiotaxis:

El fitxer quimiotaxis.bft especifica un grup de cèl.lules grogues que es senten atretes per una senyal difusible vermella emesa des de la cèl.lula vermella.

Des del patró inicial al fitxer quimiotaxis.bft es poden canviar els varis paràmetres anant al menú "Edit" i seleccionant "Modifiers". Apareixerà una finestra. A dalt de tot de la finestra hi ha un menú. Seleccioneu "Red Chemical". Apareixeran uns valors que podeu modificar apretant sobre ells amb el ratolí.

Els valors que podeu modificar són.

-Decay: Taxa de degradació de la mol.lecula senyal vermella. Penseu que aquest és un paràmetre intrínsec de la senyal vermella. Aquest paràmetre senzillament especifica quant ràpid es perd la senyal per degradació en cada punt de l'espai.

-Kinetics: Taxa de difusió o difusivitat mol.lecular de la senyal vermella.

-Production: Taxa de producció de la senyal vermella per les cèl.lules vermelles

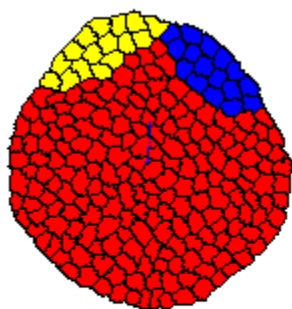
Exercici 2a: Aconsegueix un patró final en el que les cèl.lules grogues arribin a entrar en contacte amb la cèl.lula vermella. Recorda que des les opcions del menú "windows" pots veure la concentració de la senyal en l'espai. Si el programa peta aconsegueix un patró final just abans de que peti.

Exercici 2b: Com el 2a però aconsegueix que les cèl.lules grogues migrin individualment. Es a dir que moltes cèl.lules grogues arribin amb poc o cap contacte entre elles. Per a aconseguir això et caldrà modificar l'adhesió.

Exercici 3: Creixement diferencial:

Obre el fitxer "credif.bft". El patró inicial consta de 3 tipus cèl.lulars que proliferen a la mateixa taxa de divisió. Per canviar els parametres de proliferació aneu al menú "Edit" i seleccioneu "Modifiers", apareixerà la mateixa finestra que abans. Aquest cop al menú de dalt seleccioneu "Proliferation of Red" o "Proliferation of Blue" o "Proliferation of Yellow". Aquí podeu modificar el parametre "End Step" que especifica fins a quina iteració tenim divisió de les cèl.lules del color que hagueu elegit. El paràmetre "Run step" especifica cada quantes iteracions tenim que les cèl.lules d'un color concret es divideixen.

Exercici 3a: Produiu un patró com aquest:



STEP: 10500