

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Нижегородский государственный университет  
им. Н.И. Лобачевского

Т.В. Лаптева  
М.В. Иванченко

## МАТЕМАТИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ ГЕННОЙ РЕГУЛЯЦИИ

Учебно-методическое пособие

Рекомендовано методической комиссией факультета вычислительной  
математики и кибернетики для студентов магистратуры ННГУ,  
обучающихся по направлению подготовки  
010400 «Прикладная математика и информатика»  
магистерская программа «Математическое моделирование»

Нижний Новгород  
2014

УДК 537.86, 530.182  
ББК В 312.2, 22.311  
Л-24

Л-24 Лаптева Т.В., Иванченко М.В. Математические модели генной регуляции: Учебно-методическое пособие. Нижний Новгород: Нижегородский госуниверситет, 2014. 24 с.

Рецензент: к.ф.-м.н. **О.И. Канаков**

Процессы генной регуляции в живых клетках носят динамический характер и являются крайне сложным объектом исследований как в силу большого числа взаимно регулирующихся генов, так и топологии этих взаимодействий. Для понимания этих процессов необходимо прежде всего изучить принципы динамики малых генных сетей, которые, например, могут быть экспериментально реализованы методами синтетической биологии. Цель данного пособия – дать представление о современных математических подходах и методах в этой области, в первую очередь в рамках нелинейной динамики.

Пособие предназначено для студентов магистратуры факультета вычислительной математики и кибернетики ННГУ, специализирующихся в области математического моделирования. Рекомендуется при изучении дисциплин “Математическое моделирование живых систем”, “Математическое моделирование”. Для успешного усвоения материала необходимо предварительное изучение дисциплины “Дифференциальные уравнения”.

Учебно-методическое пособие разработано при поддержке гранта РФФИ 13-02-00918.

Ответственный за выпуск: председатель методической комиссии  
факультета вычислительной математики и кибернетики ННГУ  
к.ф.-м.н., доцент **В.П. Савельев**

УДК 537.86, 530.182  
ББК В 312.2, 22.311

© Т.В. Лаптева, М.В. Иванченко 2014  
© Нижегородский государственный  
университет им. Н.И. Лобачевского, 2014

# Содержание

Введение	4
1. Математические модели транскрипционной регуляции	5
2. Автоколебания	9
3. Бистабильный элемент	12
4. Последовательная активность генов. Репресселятор	15
5. Коллективная динамика	17
Заключение	20
Литература	21

# Введение

Разработка и исследование математических моделей функционирования живых организмов является одним из самых актуальных естественнонаучных направлений. В частности, большое внимание уделяется вопросам регуляции жизнедеятельности клеток за счет динамических процессов взаимной активации и деактивации генов [1]. Такие ансамбли взаимодействующих генов называют генными сетями или цепями [2].

Помимо естественных систем, включающих тысячи генов, методы генной инженерии позволяют создавать малые искусственные генные сети, которые могут быть изучены достаточно детально, как экспериментально, так и теоретически [3]. Синтетические генные сети обычно состоят из нескольких взаимодействующих генов, которые встраиваются в живую клетку и практически не взаимодействуют с собственными генами клетки. Хотя искусственные генные сети, доступные для реализации на текущем уровне развития синтетической биологии, существенно уступают в сложности реальным генным сетям живых клеток, они служат хорошей экспериментальной основой для проверки математических моделей, методов и подходов к описанию регуляторных сетей, в том числе, естественных.

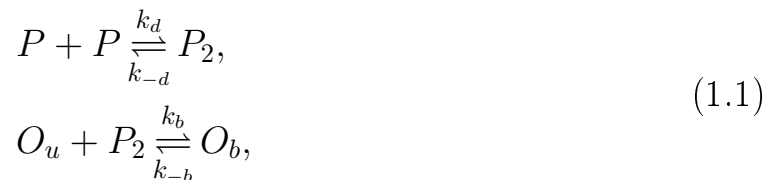
К настоящему времени нелинейная динамика является основным математическим аппаратом исследования динамики сетей генной регуляции. Ее результаты блестяще подтверждаются биологическими экспериментами. Так, на основе синтетических генных сетей реализованы бистабильные элементы-переключатели [4], автоколебательные элементы-осцилляторы [5, 6] и счетчики событий [7].

Цель данного учебного пособия – дать представление об основных методах математического моделирования динамики синтетической генной регуляции [8], привести примеры исследования базовых моделей и их динамических режимов, провести краткий обзор основных результатов и актуальных направлений исследования.

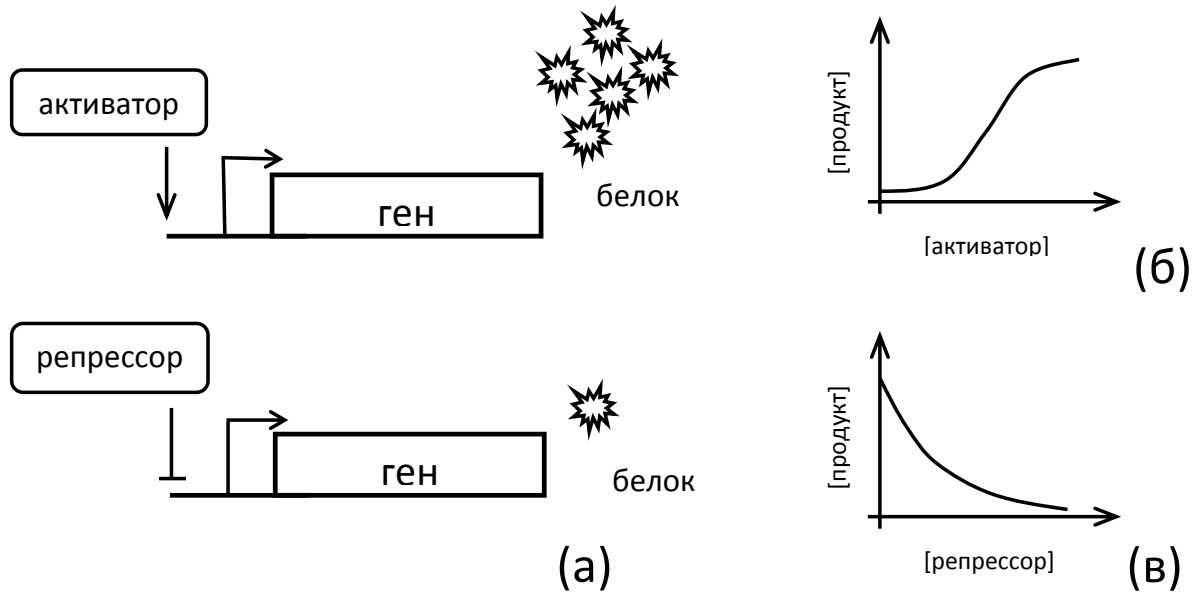
# 1. Математические модели транскрипционной регуляции

В основе математических моделей динамики транскрипционной регуляции лежат кинетические уравнения биохимических процессов, которые обеспечивают производство белков в клетке. Непосредственным регулятором экспрессии гена является промотор, область ДНК, предшествующая кодирующей ген последовательности. При конструировании синтетической геновой сети в ее составе предусматриваются транскрипционные факторы – белки, которые могут связываться с используемыми промоторами и модулировать таким образом активность гена. Различают регулируемые и постоянно активные промоторы. Регулируемые промоторы содержат элементы последовательности ДНК, называемые сайтами оператора, связываясь с которыми транскрипционные активаторы усиливают, а транскрипционные репрессоры ослабляют связывание РНК-полимеразы с этим участком ДНК и, как следствие, экспрессию гена в целом (рис. 1).

Рассмотрим метод построения математической модели на примере простейшего промотора, содержащего единственный сайт оператора [8]. Многие белки, используемые в синтетической биологии, приобретают свойства транскрипционных регуляторов только в состоянии олигомеров (комплексов из нескольких молекул белка, обычно двух или четырех), поэтому в нашем примере используем случай димера. Предположим также, что число молекул ДНК и транскрипционного фактора в клетке постоянно. Тогда можно записать следующие химические реакции:



где  $P$  и  $P_2$  обозначают одиночные молекулы и димеры белка,  $O_b$  и  $O_u$  – связанные с димером белка и свободные операторы соответственно, а  $k_d$ ,  $k_{-d}$ ,  $k_b$ ,  $k_{-b}$  – кинетические коэффициенты прямых и обратных реакций.



**Рис. 1:** Два основных типа транскрипционной регуляции – активация и репрессирование генов (а), типичный вид зависимости скорости генерации белка-продукта от концентрации молекул транскрипционного активатора (б) и репрессора (в)

Для соответствующих концентраций в равновесном состоянии получаем

$$\begin{aligned}
 k_d P^2 &= k_{-d} P_2, \\
 k_b O_u P_2 &= k_{-b} O_b, \\
 O_u + O_b &= N = \text{const},
 \end{aligned}
 \tag{1.2}$$

где последнее уравнение вытекает из предположения о постоянстве числа молекул ДНК в клетке, и, следовательно, постоянства полного числа операторов.

Решая эти уравнения, получаем выражения для числа связанных и свободных операторов в виде так называемых функций Хилла [9]:

$$\begin{aligned}
 O_b &= N \frac{(P/K)^2}{1 + (P/K)^2}, \\
 O_u &= N \frac{1}{1 + (P/K)^2}, \\
 K &= \sqrt{\frac{k_{-b} k_{-d}}{k_b k_d}}.
 \end{aligned}
 \tag{1.3}$$

Здесь параметр  $K$  носит название константы Хилла и может быть интерпретирован как концентрация транскрипционного фактора, при которой половина операторов связана. Степень при концентрации мономера белка (в

данном случае 2) называется коэффициентом Хилла или кооперативностью и соответствует степени олигомеризации транскрипционного фактора (заметим, что в случае сложного взаимодействия с промотором наилучшее совпадение с экспериментально измеренным откликом может дать дробная степень).

Итак, динамика концентрации продукта экспрессии гена, белка  $X$ , может быть записана следующим образом:

$$\dot{x} = \alpha_b N \frac{(P/K)^2}{1 + (P/K)^2} + \alpha_u N \frac{1}{1 + (P/K)^2} - r_{deg}(x), \quad (1.4)$$

где  $\alpha_b, \alpha_u$  – скорости производства белка геном со связанным и свободным операторами соответственно, а  $r_{deg}(x)$  – функция, описывающая зависимость скорости деградации белка  $X$  от его концентрации в клетке. Для гена, регулируемого транскрипционным активатором, коэффициенты соотносятся как  $\alpha_b \gg \alpha_u$ , а для регулируемого транскрипционным репрессором –  $\alpha_b \ll \alpha_u$ .

Биохимические процессы в клетке представляют собой набор дискретных молекулярных событий. В отдельной клетке число копий синтетического гена обычно не превосходит нескольких десятков, поэтому эффекты дискретности могут наблюдаться в эксперименте [10]. В связи с этим результаты анализа нелинейных дифференциальных уравнений зачастую проверяются в численном моделировании соответствующих марковских случайных процессов [11], в данном случае – согласно уравнениям (1.1).

В простейшем случае эффект деградации белка может достигаться за счет уменьшения его концентрации в процессе роста и деления клетки. Тогда имеет место так называемая экспоненциальная деградация

$$r_{deg} = \gamma x, \quad (1.5)$$

где  $\gamma$  – некоторый кинетический коэффициент. Во многих случаях, однако, процесс деградации желательно ускорить и (или) сделать контролируемым. Для этого ген модифицируется специальной меткой, которая делает синтетический белок-продукт видимой целью для молекулярных механизмов клеточной деградации. Скорость деградации при этом становится зависимой от числа участвующих в процессе молекул-ферментов (точнее – ограниченной этим числом), и формализм Хилла дает

$$r_{deg} = \gamma \frac{x}{K_m + x}, \quad (1.6)$$

где  $K_m$  – некоторая константа [12]. Заметим, что хотя в некотором диапазоне зависимость (1.6) аппроксимируется линейной (1.5), необходимо пом-

нить, что нелинейное ограничение может качественно изменить динамику исследуемой системы.

Важно иметь в виду, что процесс производства белка состоит из нескольких промежуточных этапов: прикрепление РНК-полимеразы к ДНК и создание матричной РНК (транскрипция), транспорт мРНК из ядра (у эукариотов), создание рибосомой белковой аминокислотной последовательности по мРНК (трансляция), олигомеризация белка к конечной функциональной форме (обычно димер или тетрамер) [8]. Моментальное изменение скорости наработки белка при изменении концентрации транскрипционного фактора, заложенное в уравнении (1.4), является не более чем аппроксимацией. Как мы увидим в следующем разделе, реальная динамика может оказаться существенно отличной.

Существует два основных подхода к построению более реалистичных моделей. Первый состоит в более детальном описании процесса. Например, можно выделить этапы транскрипции и трансляции (считая, что результатом последней является функциональный белок). Тогда получим систему дифференциальных уравнений второго порядка:

$$\begin{aligned} \dot{m} &= \alpha_b N \frac{(P/K)^2}{1 + (P/K)^2} + \alpha_u N \frac{1}{1 + (P/K)^2} - r_m(m), \\ \dot{x} &= r_{tl}m - r_x(x), \end{aligned} \quad (1.7)$$

где  $m$  – количество молекул мРНК,  $r_m(m)$ ,  $r_x(x)$  – функции деградации мРНК и конечного белка,  $r_{tl}$  – скорость трансляции. Модель может быть детализирована и далее, например, учетом кинетики олигомеризации белка-продукта. Основная проблема этого подхода состоит в том, что количественные значения параметров промежуточных реакций в подавляющем большинстве случаев неизвестны.

Другим распространенным подходом является феноменологическое описание каскада биохимических реакций как системы с задержкой:

$$\dot{x} = \alpha_b N \frac{(P(t - \tau)/K)^2}{1 + (P(t - \tau)/K)^2} + \alpha_u N \frac{1}{1 + (P(t - \tau)/K)^2} - r_{deg}(x), \quad (1.8)$$

где  $\tau$  как было показано в [13] – некоторый хорошо определенный параметр.



## 2. Автоколебания

Рассмотрим, наверное, простейший пример регуляторной генной динамики – модель авторепрессора. Биологически он может быть реализован в виде гена с промоутером, ингибируемым белком – продуктом экспрессии гена (рис. 2(а)). С точки зрения нелинейной динамики это система с отрицательной обратной связью, которая при определенных условиях может демонстрировать неустойчивость стационарного режима и возникновение автоколебаний через бифуркацию Андронова-Хопфа [14]. Действительно, в недавнем эксперименте подобный синтетический генный осциллятор был сконструирован, как и более сложный вариант, дополнительно содержащий транскрипционный активатор [6]. В природных генных сетях подобные принципы организации автоколебаний обнаруживаются, например в циркадных осцилляторах, управляющих суточной активностью клеток [15].

Легко видеть, что для любого значения коэффициента Хилла  $n$  одномерная модель

$$\dot{x} = \frac{\alpha}{1 + x^n} - x, \quad (2.1)$$

где часть параметров исключена за счет масштабирования переменной и времени, имеет единственное устойчивое состояние равновесия (рис. 2(б)), являющееся корнем полинома

$$x_0^{n+1} + x_0 - \alpha = 0. \quad (2.2)$$

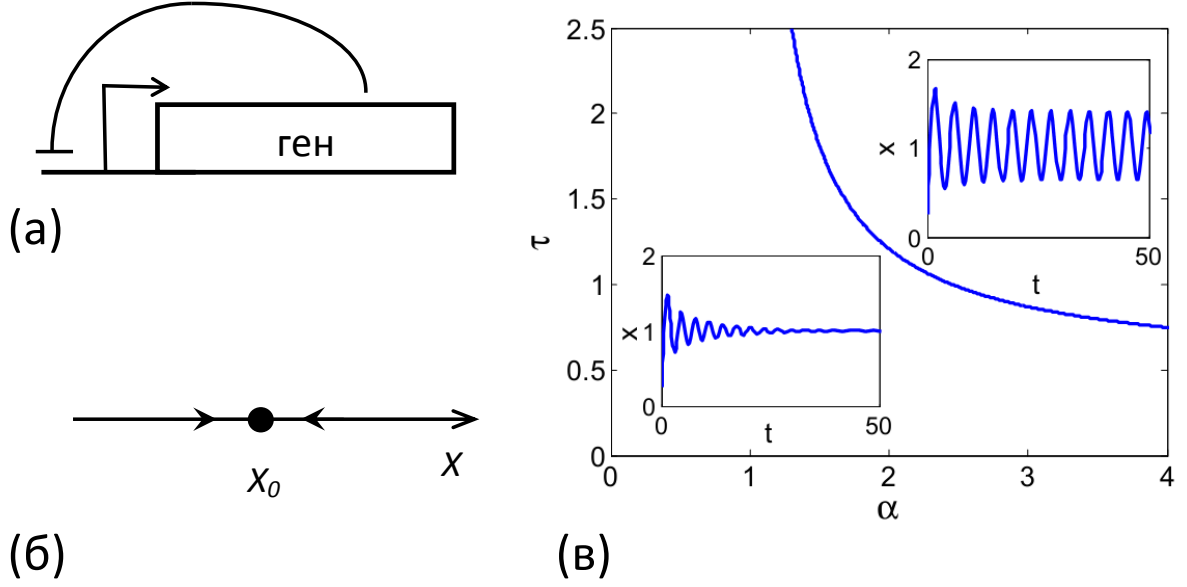
Интересно отметить, что учет динамики мРНК наподобие (1.7) не дает автоколебаний. Состояние равновесия в двумерном фазовом пространстве – либо устойчивый узел, либо фокус. Однако добавление третьего компонента (который может быть интерпретирован как промежуточная, неактивная форма белка, возможно требующая активации неким ферментом или разворачивания) позволяет получить автоколебательный режим, например в модели осциллятора Гудвина [16].

Более биологически ясная математическая модель системы с задержкой

$$\dot{x} = \frac{\alpha}{1 + x^n(t - \tau)} - x, \quad (2.3)$$

также демонстрирует автоколебания. В самом деле, линеаризуя систему (2.3) вблизи состояния равновесия (2.2)

$$x(t) = x_0 + \xi(t), \quad |\xi(t)/x_0| \ll 1, \quad (2.4)$$



**Рис. 2:** Принципиальная схема авторепрессора (а), (б) глобально асимптотически устойчивое состояние равновесие в одномерной модели без задержки (2.1); (в) разбиение пространства параметров  $\{\alpha, \tau\}$  модели с задержкой (2.3) на области стационарной и автоколебательной динамики и типичные реализации

после несложных преобразований получаем

$$\dot{\xi}(t) \approx n \left( \frac{x_0}{\alpha} - 1 \right) \xi(t - \tau) - \xi(t). \quad (2.5)$$

Предполагая  $\xi(t) \sim e^{\lambda t}$ , приходим к характеристическому уравнению

$$\lambda = n \left( \frac{x_0}{\alpha} - 1 \right) e^{-\tau\lambda} - 1. \quad (2.6)$$

В точке бифуркации Андронова-Хопфа характеристические показатели являются чисто мнимыми  $\lambda = \pm i\omega$  [14]. Разделяя действительную и мнимую части (2.6), получаем

$$\begin{aligned} \omega^2 &= n^2 (1 - x_0/\alpha)^2 - 1, \\ \cos \omega\tau &= -\frac{1}{n(1 - x_0/\alpha)}. \end{aligned} \quad (2.7)$$

Принимая во внимание, что  $x_0 \leq \alpha$  (2.2), получаем необходимое условие для возникновения автоколебаний  $n \geq 2$ . Заметим, что авторепрессор *LacI*, использовавшийся в эксперименте [6], становится транскрипционным фактором в состоянии тетрамера, то есть его кооперативность равна 4. Система (2.7) определяет соотношение между мнимой частью характеристического

показателя в точке бифуркации (которая может служить оценкой частоты автоколебаний недалеко от бифуркационной границы) и временем задержки:

$$\cos \omega \tau = -\frac{1}{\sqrt{1 + \omega^2}}. \quad (2.8)$$

В частности, для  $\omega > 1$  получаем  $\omega \tau \sim \pi/2$  и период  $T = 2\pi/\omega \sim 4\tau$ . Этот результат показывает, что период возникающих колебаний не обязательно близок по величине к времени задержки и может существенно превосходить его.

Бифуркационная кривая может быть получена численным решением уравнений (2.2) и (2.7). Пример такой кривой для  $n = 4$  и характерные динамические режимы представлены на рис. 2(в).

### 3. Бистабильный элемент

Другим крайне важным типом регуляторной динамики является возможность выбора системой одного из нескольких устойчивых состояний в зависимости от начальных условий, бистабильность или мультистабильность. Такое поведение может лежать в основе изменчивости поведения клеток в зависимости от внешней среды, внешних воздействий, от предыстории. Самым известным подобным контуром среди природных является, пожалуй, генный переключатель  $\lambda$ -бактериофага между пассивным и активным состояниями [17].

Синтетический аналог в виде взаимно репрессирующих генов (рис. 3(a)) был впервые экспериментально реализован в двух вариантах и исследован в работе [4]. В обоих контурах одним из репрессоров был выбран *lacI*, вторым – либо температурно-чувствительный  $\lambda$  репрессор, либо *tetR*. Переключение между состояниями с доминирующей экспрессией одного или другого репрессора было реализовано с помощью “импульсов” концентраций химических веществ, понижающих активность избранных репрессоров, либо “импульсов” температуры.

Простейшая математическая модель динамики взаимных репрессоров имеет вид

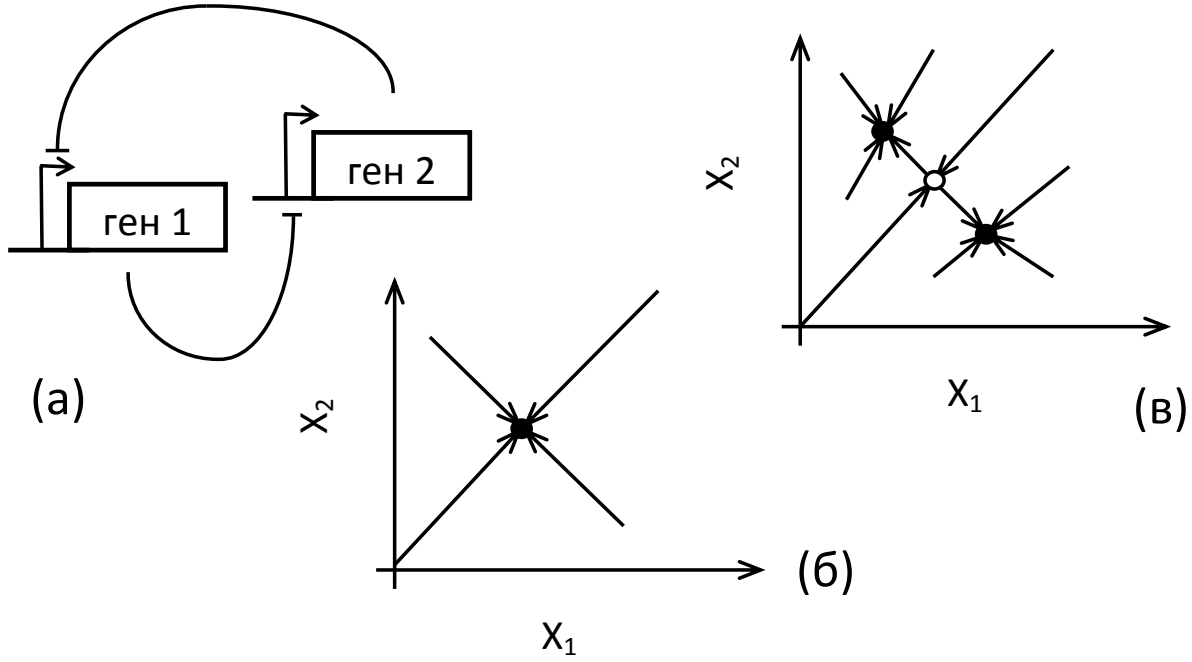
$$\begin{aligned}\dot{x}_1 &= \frac{K_1}{1 + x_2^{n_2}} - x_1, \\ \dot{x}_2 &= \frac{K_2}{1 + x_1^{n_1}} - x_2,\end{aligned}\tag{3.1}$$

где  $x_{1,2}$  – безразмерные концентрации молекул белков-репрессоров,  $n_{1,2}$  – их кооперативность,  $K_{1,2} > 0$  – скорости производства белков в отсутствие репрессирующего действия оппонента.

Рассмотрим частный случай  $K_1 = K_2 = K$ ,  $n_1 = n_2 = n$ . В силу симметрии системы уравнений (3.1) состояния равновесия либо лежат на биссектрисе  $x_1 = x_2$ , либо образуют симметричные пары  $(x_1, x_2)$ ,  $(x_2, x_1)$ . Решения первого типа являются корнями полинома

$$x^{n+1} + x - K = 0.\tag{3.2}$$

Согласно теореме Больцано-Коши уравнение (3.2) всегда имеет ровно один действительный положительный корень [18]. Линеаризация (3.1) в окрест-



**Рис. 3:** Принципиальная схема бистабильного элемента, построенного на базе двух взаимных репрессоров (а); качественный вид фазового портрета системы (3.1) в режимах (б) моностабильности и (в) бистабильности

ности этого состояния равновесия дает характеристическое уравнение

$$\lambda^2 + 2\lambda + 1 - \frac{n^2}{K^2} x^{2(n+1)} = 0 \quad (3.3)$$

с корнями

$$\lambda_{1,2} = -1 \pm \frac{n}{K} x^{n+1}. \quad (3.4)$$

Используя (3.2) и (3.4), получаем, что симметричное состояние равновесия устойчиво при

$$K < K^* = \frac{n}{n-1} \frac{1}{\sqrt[n]{n-1}} \quad (3.5)$$

и становится седловым при  $K > K^*$ . Отметим, что потеря устойчивости возможна, только если кооперативность репрессоров больше 1.

Для  $n = 2$  ( $K^* = 2$ ) несложно найти все состояния равновесия системы (3.1), воспользовавшись тем, что симметричное решение удовлетворяет уравнению (3.2). После понижения степени полинома, уравнение для асимметричных состояний равновесия будет иметь вид

$$x^2 - Kx + 1 = 0, \quad (3.6)$$

откуда

$$x_{1,2} = \frac{K \pm \sqrt{K^2 - 4}}{2}, \text{ при } K \geq K^* = 2. \quad (3.7)$$

Таким образом, при  $K = 2$  имеет место бифуркация трехкратного состояния равновесия, и при  $K > 2$  система действительно демонстрирует бистабильность (рис. 3(б), (в)). В одном из устойчивых состояний доминирует один из репрессоров ( $X_1 > X_2$ ), в другом – другой ( $X_1 < X_2$ ). Выбор состояния зависит от расположения начальных условий на фазовой плоскости относительно сепаратрис седла, или от положения изображающей точки в результате внешнего воздействия на систему.

Результаты исследования более общего случая  $K_1 \neq K_2$  и  $n_1 \neq n_2$  можно найти в работе [4]. Также интересно, что в работе [19] авторы исследовали влияние скорости принятия клеточных решений на исход процесса. В рассмотренной модели бифуркационные параметры (аналоги  $K_{1,2}$  в модели (3.1)) изменялись во времени так, что регуляторная система переходила от моностабильного состояния к бистабильному. Оказалось, что в условиях асимметрии между репрессорами прохождение бифуркационной точки с медленной скоростью приводило к режиму доминирования более сильного репрессора, в то время как быстрое прохождение обеспечивало практически равную вероятность доминирования сильного или слабого. Возможно, что именно эти эффекты играют существенную роль в процессах принятия генно-регулируемых клеточных решений в нестационарных условиях, таких как дифференциация, развитие клеток и онкогенез [20, 21, 22].

## 4. Последовательная активность генов. Репресселятор

Последовательная, упорядоченная активация генов является еще одним базовым типом генной регуляции. Первая экспериментальная реализация такой синтетической генной динамики – так называемый “репресселятор” – была выполнена в работе [5]. В конструкции контура авторы воплотили принцип игры “камень, ножницы, бумага”: каждый из трех репрессоров (*lacI*, *tetR* и *cI* λ-фага) ингибировал экспрессию “следующего”, как показано на рис. 4(а). В результате в надлежащих условиях наблюдалось возникновение автоколебаний с попеременной экспрессией генов.

Для теоретического анализа авторы использовали следующую математическую модель, детализирующую динамику каждой мРНК  $m_i$  и белка-продукта  $x_i$ :

$$\begin{aligned} \dot{m}_i &= \frac{\alpha}{1 + x_j^n} - m_i, \\ \dot{x}_i &= -\beta(x_i - m_i), \\ i &= \{lacI, tetR, cI\}, \\ j &= \{cI, lacI, tetR\}. \end{aligned} \tag{4.1}$$

Координаты состояний равновесия данной системы уравнений определяются из

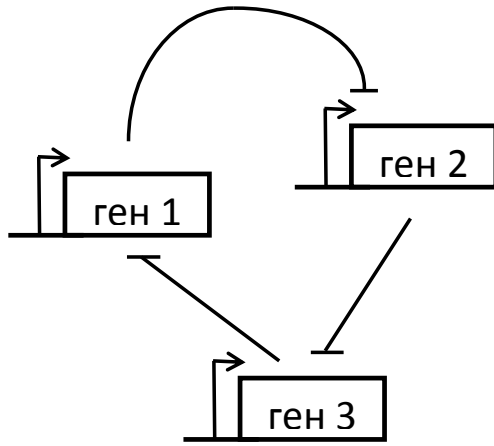
$$\begin{aligned} m_i &= x_i = x, \\ x^{n+1} + x - \alpha &= 0. \end{aligned} \tag{4.2}$$

Несложно показать, что положительное решение (4.2) всегда существует и единственно. Линеаризуя систему (4.1) вблизи состояния равновесия, получаем характеристическое уравнение

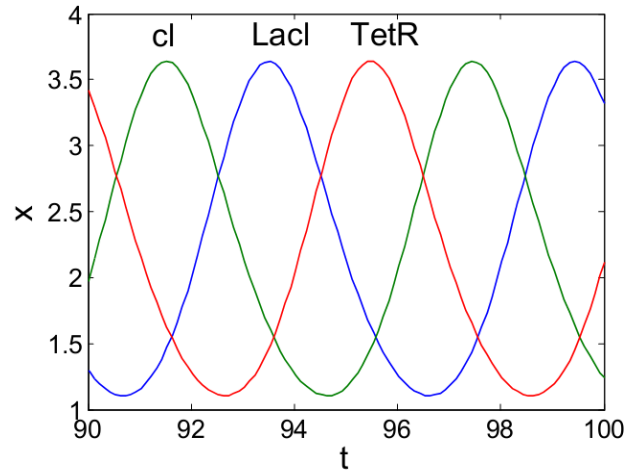
$$\begin{aligned} (1 + \lambda)^3(\beta + \lambda)^3 + \beta^3 d^3 &= 0, \\ d &= \frac{\alpha n x^{n-1}}{(1 + x^n)^2}, \end{aligned} \tag{4.3}$$

корни которого удовлетворяют

$$\begin{aligned} (1 + \lambda)(\beta + \lambda) + \beta d &= 0, \\ (1 + \lambda)(\beta + \lambda) + \frac{-1 \pm i\sqrt{3}}{2}\beta d &= 0. \end{aligned} \tag{4.4}$$



(a)



(б)

**Рис. 4:** Принципиальная схема контура на базе трех репрессоров (а); (б) пример последовательной автоколебательной динамики: показана динамика концентраций белков в клетке при  $n = 4$ ,  $\alpha = 10$ ,  $\beta = 5$ , над максимумами указаны названия конкретных белков-репрессоров, использовавшихся в работе [5]

Корни первого из уравнений всегда отрицательны. Корни второго могут удовлетворять критерию бифуркации Андронова-Хопфа  $\Re \lambda = 0$ ,  $\Im \lambda \neq 0$ . Область автоколебаний в пространстве параметров задается неравенством

$$\frac{(\beta + 1)^2}{\beta} < \frac{3d^2}{4 - 2d}. \quad (4.5)$$

В частности для репрессоров-димеров  $n = 2$  при  $\alpha = 10$  имеем координаты состояния равновесия  $x_i = m_i = 2$ , параметр  $d = 1.6$  и автоколебания при  $\beta < \frac{19+4\sqrt{21}}{5}$ . Пример последовательной автоколебательной генерации белков-репрессоров для  $\beta = 5$  представлен на рис. 4(б). Впоследствии, для систем дифференциальных уравнений с  $n$  репрессорами было показано существование не только периодических решений, но и мультистабильности состояний равновесия, а также гетероклинических циклов [23, 24].

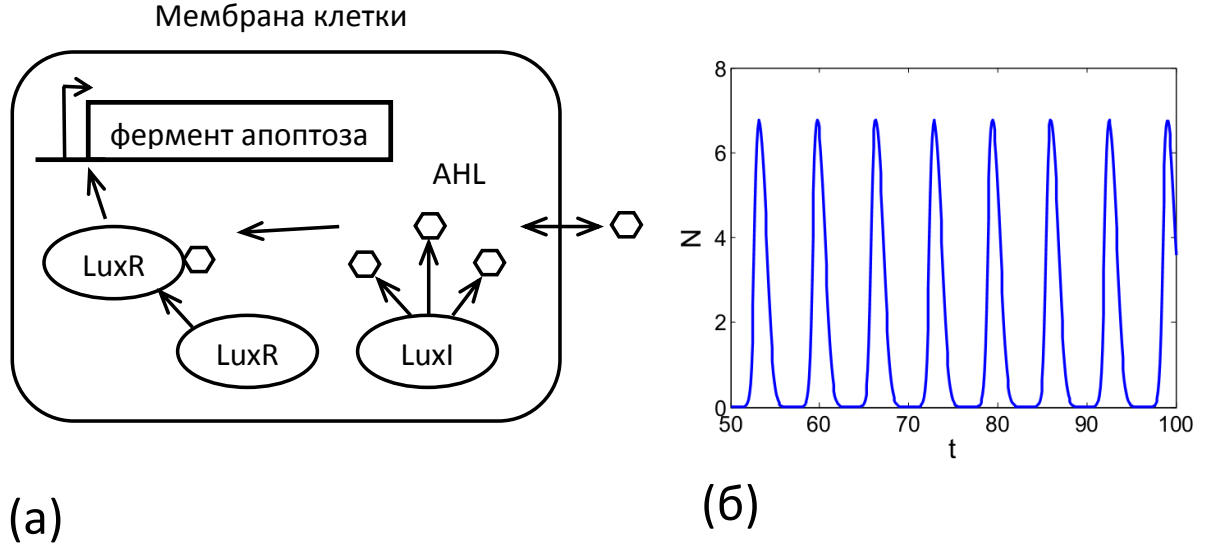


## 5. Коллективная динамика

До сих пор мы рассматривали способы организации динамики генной регуляции внутри одной клетки. Естественным дальнейшим шагом является инженерия межклеточного взаимодействия. Наиболее употребительный способ основан на природном механизме “кворум-сенсинга” (quorum sensing), который используется некоторыми бактериями и микроорганизмами [25]. Механизм основан на синтезе небольших молекул, которые могут легко диффундировать через мембрану клетки и служить лигандами, активирующими транскрипционные факторы (обычно применяются молекулы семейства N-ацил-гомосеринлактонов, англоязычная аббревиатура *AHL*). С помощью межклеточной коммуникации реализованы такие динамические эффекты, как синхронизация колебаний [26], взаимная синхронизация в больших ансамблях [27], синхронизация внешним периодическим сигналом [28], взаимная синхронизация клеточных колоний [29], режим взаимодействия “хищник-жертва” [30], формирование пространственных структур с помощью градиента AHL [31], выделение контуров для обработки изображений [32], а также продемонстрирована возможность выполнения логических операций с помощью клеток [33, 34]. Здесь мы рассмотрим одну из задач этого класса.

В благоприятных условиях клетки в колонии делятся, и их плотность возрастает, достигая со временем некоторого предельного значения. Ограничение роста может быть обусловлено рядом факторов, среди которых – ограниченное количество питательных веществ, физического пространства, скопление токсичных продуктов метаболизма. В этих условиях могут активироваться сигнальные регуляторные пути, тормозящие деление клеток. В поле синтетической биологии возникает задача об управлении численностью клеток в популяции с помощью искусственных регуляторных сетей. Помимо фундаментальной стороны вопроса присутствует и практическая. Например, может быть желательным не допустить “перенаселенности” колонии, когда полезная функциональность клеток может оказаться подавленной или ограничить рост одного из штаммов клеток в пользу другого.

Одна из возможных схем была реализована в работе [35]. Синтетический контур в каждой клетке содержит фермент *LuxI*, производящий молекулы *AHL*, которые в комплексе с белком *LuxR* являются транскрипционным активатором для другого фермента, активирующего процесс апоптоза – гибели



**Рис. 5:** Принципиальная схема синтетического контура, способного регулировать плотность клеток в популяции (а); (б) пример динамики плотности клеток в автоколебательном режиме  $k = 10$ ,  $d = 5$  (5.1)

клетки (рис. 5(а)). Концентрация молекул  $AHL$  в клетках и межклеточном пространстве пропорциональна плотности клеток, а весь контур работает как система отрицательной обратной связи [14].

В наиболее простом виде динамику генной регуляции можно описать уравнениями

$$\begin{aligned}
 \dot{N} &= N(k - N) - dEN, \\
 \dot{A} &= N - A, \\
 \dot{R} &= A - R, \\
 \dot{E} &= R - E,
 \end{aligned}
 \tag{5.1}$$

где  $N$ ,  $A$ ,  $R$ ,  $E$  – безразмерные концентрации клеток,  $AHL$ , комплекса  $AHL-LuxR$  и фермента апоптоза, соответственно,  $k$  – максимальная безразмерная концентрация клеток в отсутствие синтетической регуляции,  $d$  – коэффициент активации апоптоза ферментом.

Система (5.1) всегда имеет единственное нетривиальное состояние равновесия

$$N^* = A^* = R^* = E^* = \frac{k}{1 + d}.
 \tag{5.2}$$

Его устойчивость определяется корнями  $\lambda$  характеристического уравнения

$$(N^* + \lambda)(1 + \lambda)^3 + dN^* = 0.
 \tag{5.3}$$

Несложно показать, что состояние равновесия может терять устойчивость в результате бифуркации Андронова-Хопфа, которой на плоскости параметров  $(k, d)$  отвечает линия

$$\begin{aligned}k^* &= \frac{(3N + 1)(3N^2 + 9N + 8)}{(N + 3)^3}, \\ N^* &= \frac{k^*}{1 + d^*}.\end{aligned}\tag{5.4}$$

При  $d > d^*(k)$  система демонстрирует периодические колебания плотности клеток (рис. 5(б)). Колебания численности клеток также удалось получить в эксперименте [35].

# Заключение

Исследование механизмов генной регуляции является сегодня одной из наиболее актуальных задач нелинейной динамики. Особую привлекательность этой проблематике придают постоянно возрастающие возможности синтетической биологии, которые позволяют конструировать в хорошей степени изолированные и небольшие регуляторные системы, допускающие контролируемые эксперименты. В данном пособии мы постарались показать на простейших примерах, как методы нелинейной динамики могут быть использованы для анализа и предсказательной инженерии синтетических регуляторных генных сетей. Естественно, что в работах высокого уровня используются не только простейшие математические модели – низкоразмерные системы дифференциальных уравнений, но и многомерные системы, и стохастические модели, весьма детально описывающие молекулярные процессы в клетке и позволяющие достичь не только качественного, но и количественного согласования с экспериментом. Однако исследование таких моделей, как правило, сугубо численное и следует за качественным анализом низкоразмерных систем.

# Литература

- [1] Jacob, F. Genetic regulatory mechanisms in synthesis of proteins / F. Jacob, J. Monod // J. Mol. Biol. — 1961. — Vol. 3. — P. 318–356.
- [2] Hasty, J. Engineered gene circuits / J. Hasty, D. McMillen, J. J. Collins // Nature. — 2002. — Vol. 420. — P. 224–230.
- [3] Nandagopal, N. Synthetic biology: Integrated gene circuits / N. Nandagopal, M. B. Elowitz // Science. — 2011. — Vol. 333. — P. 1244–1248.
- [4] Gardner, T. S. Construction of a genetic toggle switch in escherichia coli / T. S. Gardner, C. R. Cantor, J. J. Collins // Nature. — 2000. — Vol. 403. — P. 339–342.
- [5] Elowitz, M. B. A synthetic oscillatory network of transcriptional regulators / M. B. Elowitz, S. Leibler // Nature. — 2000. — Vol. 403. — P. 335–338.
- [6] A fast, robust and tunable synthetic gene oscillator / J. Stricker, S. Cookson, M. R. Bennett, et al. // Nature. — 2008. — Vol. 456. — P. 516–519.
- [7] Synthetic gene networks that count / A. E. Friedland, T. K. Lu, X. Wang, et al. // Science. — 2009. — Vol. 324. — P. 1199–1202.
- [8] O'Brien, E. Modeling synthetic gene oscillators / E. O'Brien, E. van Itallie, M. R. Bennett // Math. Biosciences. — 2012. — Vol. 236. — P. 1–15.
- [9] Hill, A. V. The possible effects of the aggregation of the molecules of haemoglobin on its dissociation curves / A. V. Hill // J. Physiol. — 1910. — Vol. 40. — P. i–vii.
- [10] Stochastic gene expression in a single cell / M. B. Elowitz, A. J. Levine, E. D. Siggia, et al. // Science. — 2002. — Vol. 297. — P. 1183–1186.
- [11] Gillespie, D. T. Stochastic smulation of chemical kinetics / D. T. Gillespie // Annual Review of Physical Chemistry. — 2007. — Vol. 58. — P. 35–55.
- [12] Johnson, K. A. The original Michaelis constant: Translation of the 1913 Michaelis–Menten paper / K. A. Johnson, R. S. Goody // Biochemistry. — 2011. — Vol. 50 (39). — P. 8264–8269.
- [13] Bel, G. The simplicity of completion time distributions for common complex biochemical processes / G. Bel, M. Munsy, I. Nemenman // Phys. Biol. — 2010. — Vol. 7. — P. 1–9.
- [14] Некоркин, В. И. Лекции по основам теории колебаний: учебное пособие / Некоркин, В. И. — Нижний Новгород: Нижегородский госуниверситет, 2011. — P. 233.
- [15] Expression of a gene cluster kaiabc as a circadian feedback process in cyanobacteria / M. Ishiura, S. Kutsuna, D. Aoki, et al. // Science. — 1998. — Vol. 281. — P. 1519–1523.

- [16] Goodwin, B. C. Oscillatory behavior in enzymatic control processes / B. C. Goodwin // *Adv. Enzyme Regul.* — 1965. — Vol. 3. — P. 425–428.
- [17] Johnson A. D. Poteete, A. R. Lambda repressor and cro-components of an efficient molecular switch / A. R. Johnson, A. D. Poteete, G. Lauer, et al. // *Nature.* — 1981. — Vol. 294. — P. 217–223.
- [18] Фихтенгольц, Г. М. Основы математического анализа: в 2 т. Т.1 / Фихтенгольц, Г. М. — М.: Наука, 1968. — P. 423.
- [19] Nene, N. Speed-dependent cellular decision making in nonequilibrium genetic circuits / N. Nene, J. Garcia-Ojalvo, A. Zaikin // *PLoS ONE.* — 2012. — Vol. 7. — P. 1–7.
- [20] Bifurcation dynamics in lineage-commitment in bipotent progenitor cells / S. Huang, Y. P. Guo, G. May, et al. // *Dev. Biol.* — 2007. — Vol. 305. — P. 695–713.
- [21] Dynamic filopodia transmit intermittent delta-notch signaling to drive pattern refinement during lateral inhibition / M. Cohen, M. Georgiou, N. L. Stevenson, et al. // *Dev. Cell.* — 2010. — Vol. 19. — P. 78–89.
- [22] Epigenetic stem cell signature in cancer / M. Widschwendter, H. Fiegl, D. Egle, et al. // *Nat. Genet.* — 2007. — Vol. 39. — P. 157–158.
- [23] A generalized model of the repressilator / S. Müller, J. Hofbauer, L. Endler, et al. // *J. Math. Biol.* — 2006. — Vol. 53. — P. 905–937.
- [24] Strelkova, N. Transient dynamics around unstable periodic orbits in the generalized repressilator model / N. Strelkova, M. Barahona // *Chaos.* — 2011. — Vol. 21. — P. 023104(1)–023104(10).
- [25] Miller, M. B. Quorum sensing in bacteria / M. B. Miller, B. L. Bassler // *Annu. Rev. Microbiol.* — 2001. — Vol. 55. — P. 165–199.
- [26] Synchronizing genetic relaxation oscillators by intercell signaling / D. McMillen, N. Kopell, J. Hasty, et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2002. — Vol. 99. — P. 679–684.
- [27] Danino, T. A synchronized quorum of genetic clocks / T. Danino, O. Mondragón-Palomino, L. Tsimring // *Nature.* — 2010. — Vol. 463. — P. 326–330.
- [28] Entrainment of a population of synthetic genetic oscillators / O. Mondragon-Palomino, T. Danino, J. Selimkhanov, et al. // *Science.* — 2011. — Vol. 333. — P. 1315–1319.
- [29] Sensing array of radically coupled genetic biopixels / A. Prindle, P. Samayoa, I. Razinkov, et al. // *Nature.* — 2012. — Vol. 481. — P. 39–44.
- [30] A synthetic escherichia coli predator–prey ecosystem / F. K. Balagadde, H. Song, J. Ozaki, et al. // *Mol. Syst. Biol.* — 2008. — Vol. 4. — P. 187–194.
- [31] A synthetic multicellular system for programmed pattern formation / S. Basu, Y. Gerchman, C. H. Collins, et al. // *Nature.* — 2005. — Vol. 434. — P. 1130–1134.
- [32] A synthetic genetic edge detection program / J. J. Tabor, H. M. Salis, Z. B. Simpson, et al. // *Cell.* — 2009. — Vol. 137. — P. 1272–1294.

- [33] Tamsir, A. Robust multicellular computing using genetically encoded nor gates and chemical “wires” / A. Tamsir, J. J. Tabor, C. A. Voigt // *Nature*. — 2011. — Vol. 469. — P. 212–215.
- [34] Distributed biological computation with multicellular engineered networks / S. Regot, J. Macia, N. Conde, et al. // *Nature*. — 2011. — Vol. 469. — P. 207–211.
- [35] Long-term monitoring of bacteria undergoing programmed population control in a microchemostat / F. K. Balagadde, L. You, C. L. Hansen, et al. // *Science*. — 2005. — Vol. 309. — P. 137–140.

Татьяна Владимировна Лаптева  
Михаил Васильевич Иванченко

## МАТЕМАТИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ ГЕННОЙ РЕГУЛЯЦИИ

*Учебно-методическое пособие*

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение  
высшего образования  
«Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского».  
603950, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23.

Подписано в печать . Формат 60×84 1/16.  
Бумага офсетная. Печать офсетная. Гарнитура Таймс.  
Усл. печ. л. . Уч-изд. л.  
Заказ № . Тираж 50 экз.

Отпечатано в типографии Нижегородского госуниверситета  
им. Н.И. Лобачевского  
603600, г. Нижний Новгород, ул. Большая Покровская, 37