

МИНОБРНАУКИ РОССИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
**«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»**

Кафедра динамического моделирования и биомедицинской инженерии
наименование кафедры

**Математическое и схемотехническое моделирование генетического
осциллятора**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

студента (ки) 4 курса 4081 группы

направления 12.03.04 «Биотехнические системы и технологии»
код и наименование направления

институт физики
наименование факультета, института, колледжа
Лайло Валерия Викторовна
фамилия, имя, отчество

Научный руководитель
м.н.с , к.ф.-м.н.
должность, уч. степень, уч. звание

Сказкина В.В. подпись, дата
инициалы, фамилия

Зав. кафедрой
д.ф.-м.н., доцент
должность, уч. степень, уч. звание

Караваев А.С. подпись, дата
инициалы, фамилия

Введение Синтетическая биология — направление, которое развивает генную инженерию, переходя от перемещения некоторых генов среди организмов, к формированию искусственного генома. Генетический осциллятор (репрессилятор) 1-ая в синтетической биологии генная регуляторная сеть, искусственно сконструированная в 2000 г. Осциллятор искусственного происхождения в клетке, основан на функциях данных клеток, который схож с электрической схемой, он также может быть выключен или включен, другими словами, генетические часы, которые позволяют совершать процессы, происходящие в бактериальных клетках. Существует еще один механизм, известный как «чувство кворума» («quorum sensing», далее QS) — способность микроорганизмов координировать собственные действия за счет посредством секреции молекулярных сигналов, с его помощью можно регулировать колонию клеток.

Исследование генетических осцилляторов искусственного происхождения в первую очередь актуально, поскольку они представляют собой простые модификациями таких ключевых биологических процессов, как клеточный цикл и циркадные ритмы. Их изучение необходимо для понимания естественных генных сетей и разработки биотехнологических приложений. Кроме того, данная тема важна для исследователей, работающих в области микробиологии и генетики микроорганизмов, а еще в прикладных областях (врачебная наука, аграрное производство и др.).

В дополнение к генетическим осцилляторам, изучение QS систем также является актуальным. Поскольку они имеют немаловажную значимость в регуляции большого количества клеточных процессов у бактерий. Однако QS системы достаточно детально изучены лишь у небольшого количества бактерий и мало исследованы молекулярные механизмы QS регуляции различных типов и роль QS систем в метаболизме микроорганизмов. По этой причине бесспорно, явление QS регуляции требует последующих глубоких и подробных исследований.

Для создания искусственного генома с помощью генетического осциллятора требуется наличие сложных математических моделей, которые будут описывать работу репрессилятора.

Основной целью данной дипломной работы является теоретическое описание генетического осциллятора и его анализ математического моделирования для реализации в виртуальной среде MultiSim в виде схемотехнической модели.

В задачи данной работы входят:

- Обзор литературы по тематике генетических осцилляторов.
- Описание механизма «чувство кворума» («quorum sensing», QS).
- Описание генетического осциллятора и его видов.
- Изучение математического моделирования и принципа работы генетического осциллятора.
- Реализация математической модели генетического осциллятора в виртуальной среде MultiSim в схемотехническом виде.

1. Quorum sensing «чувство кворума». Феномен quorum sensing (QS) регуляции был обнаружен впервые около 30 лет назад при изучении биолюминесценции у светящейся морской бактерии *Vibrio fischeri*. Долгое время считалось, что QS регуляция используется только этой бактерией и только для регуляции весьма необычного в микробном мире процесса — биолюминесценции. Однако в последние 10 лет выяснилось, что QS регуляция широко распространена и что QS системы участвуют в контроле большого количества клеточных процессов.

Системы типа QS играют ключевую роль во многих процессах бактериальной клетки. Они участвуют во взаимодействии бактерий с высшими организмами, регуляции вирулентности бактерий, формировании биопленок, регуляции экспрессии генов, связанных с синтезом токсинов, антибиотиков и других

вторичных метаболитов, а также различных ферментов и т.д. QS системы функционируют как глобальные факторы регуляции. Особый интерес вызывает роль QS в регуляции процессов взаимодействия патогенных бактерий с эукариотическим организмом. Как известно, инфекционный процесс происходит при достижении достаточно больших популяций патогенных бактерий, когда начинают функционировать QS системы регуляции. Увеличение концентрации сигнальных молекул в среде приводит к синхронному синтезу факторов вирулентности, способствующих разрушению тканей организма при инфекции. Такие скоординированные действия бактерий способствуют успешному преодолению ими иммунного ответа инфицированного организма. С помощью АИ (низкомолекулярные сигнальные молекулы — аутоиндукторы) осуществляется коммуникация (межклеточная передача информации) бактерий, принадлежащих к одному или разным видам, родам и даже семействам.

Благодаря коммуникации бактерии могут скоординированно регулировать экспрессию генов во всей популяции, что способствует выживанию бактерий в неблагоприятных условиях среды.

2. Генетический осциллятор – репрессилятор. Репрессилятором называют первую в синтетической биологии генную регуляторную сеть, искусственно сконструированную в Гарвардском университете в 2000 г. Синтетическая биология развивает генную инженерию (это комплекс методов, приемов и технологий, применяемых для проведения манипуляций с генами), переходя от перемещения нескольких генов между организмами к созданию искусственного генома. Геном в свою очередь – это совокупность наследственного материала, заключённого в клетке организма. Репрессилятор состоит как минимум из трёх элементов, генов и их промоторов, белковые продукты каждого из которых односторонне ингибируют транскрипцию соседнего гена. В биологических исследованиях репрессиляторы использовались для построения клеточных моделей и понимания функций клеток. Все

реперессиляторы в большей степени способны демонстрировать синхронизацию, присущую естественным биологическим системам и влияющим на них факторам.

3. Математическая модель. Репрессиляторы это такие математические модели, которые описывают экспрессию генов и процессы синтеза белка. В клетках у нас есть определенные участки генов, которые экспрессируют и синтезируют определенные белки. Эти белки активируют экспрессию других генов, при этом белки, выделяемые вторыми генами, ингибируют экспрессию генов предыдущих. И они все вот так по колечку друг другу передаются. То есть есть один ген он активизирует следующий ген, следующий активизирует еще следующий, а последний активизирует первый ген. При этом синтез белка от первого подавляет третий, третий подавляет второй. Иными словами, они по такому кругу один другого активирует, а другой подавляет. Так по этому колечку передается активационный сигнал. Происходит регуляция белков в клетке.

Система дифференциальных уравнений, описывающих динамику репрессилятора с обратной связью, принимает вид:

$$\begin{aligned}\dot{A} &= -A + \frac{\alpha}{1+C^n}, & \dot{B} &= -B + \frac{\alpha}{1+A^n}, \\ \dot{C} &= -C + \frac{\alpha}{1+B^n} + \kappa \frac{s}{1+s}, & \dot{s} &= -(k_{s0} + \eta)s + k_{s1}B.\end{aligned}$$

Нелинейность Хилла, представленная выше, описывается достаточно сложной функцией, но именно эта функция в модели даёт ингибирование, то есть определенные затухания. Такую нелинейность можно записать более простой функцией, которую легче реализовать в схемотехническом моделировании и радиофизическом эксперименте.

Систему уравнений, описывающих репрессилятор можно записать в виде:

$$\begin{aligned}x' &= b1 * (-x + (1-x)*c*\exp(-a*z)) \\ y' &= b2 * (-y + (1-y)*c*\exp(-a*x))\end{aligned}$$

$$z' = b_3 * (-z + (1-z) * c * \exp(-a * y) + Q * (y + y_1))$$

Такое преобразование нужно для дальнейшей реализации схемы в Multisim.

4. Схемотехническое моделирование репрессилятора. Среда Multisim – это уникальная возможность моделирования и анализа электрических схем. У такого подхода есть множество преимуществ: экономия времени на конструировании, размещения деталей к режиму разводки без переключений режимов. Безрежимное редактирование – это наиболее эффективный способ размещения и соединения компонентов. Кроме традиционного анализа, Multisim позволяет пользователям подключать к схеме виртуальные приборы. Концепция виртуальных инструментов – это простой и быстрый способ увидеть результат с помощью имитации реальных событий.

4.1 Система Ресслера. Опробуем аналоговое моделирование на более простой системе. В качестве примера возьмем классическую модель нелинейной динамики - систему Рёсслера.

Запишем для системы Рёсслера дифференциальную систему уравнений:

$$\begin{cases} \frac{dx}{dt} = -y - z + A \sum \delta(t - nT) \\ \frac{dy}{dt} = x - py \\ \frac{dz}{dt} = q + z(x - r) \end{cases}$$

Перепишем данную систему в интегральной форме:

$$\begin{cases} x = - \int (y + z - A \sum \delta(t - nT)) dt \\ y = \int (x - py) dt \\ z = \int (q + z(x - r)) dt \end{cases}$$

Построим схему в соответствии с этой системой уравнений в среде MULTISIM

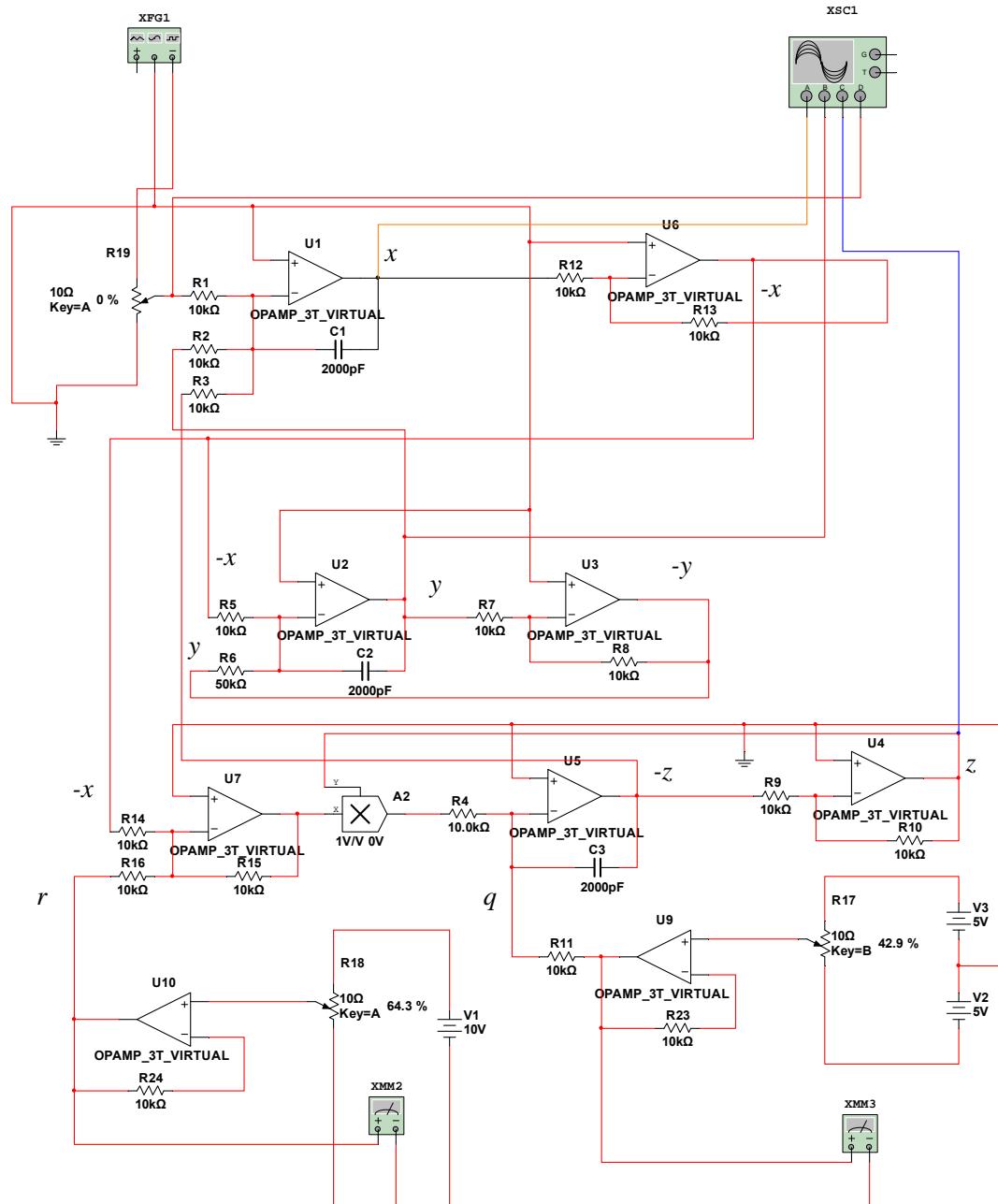


Рисунок 1 - Схемотехническая модель системы Ресслера в Multisim

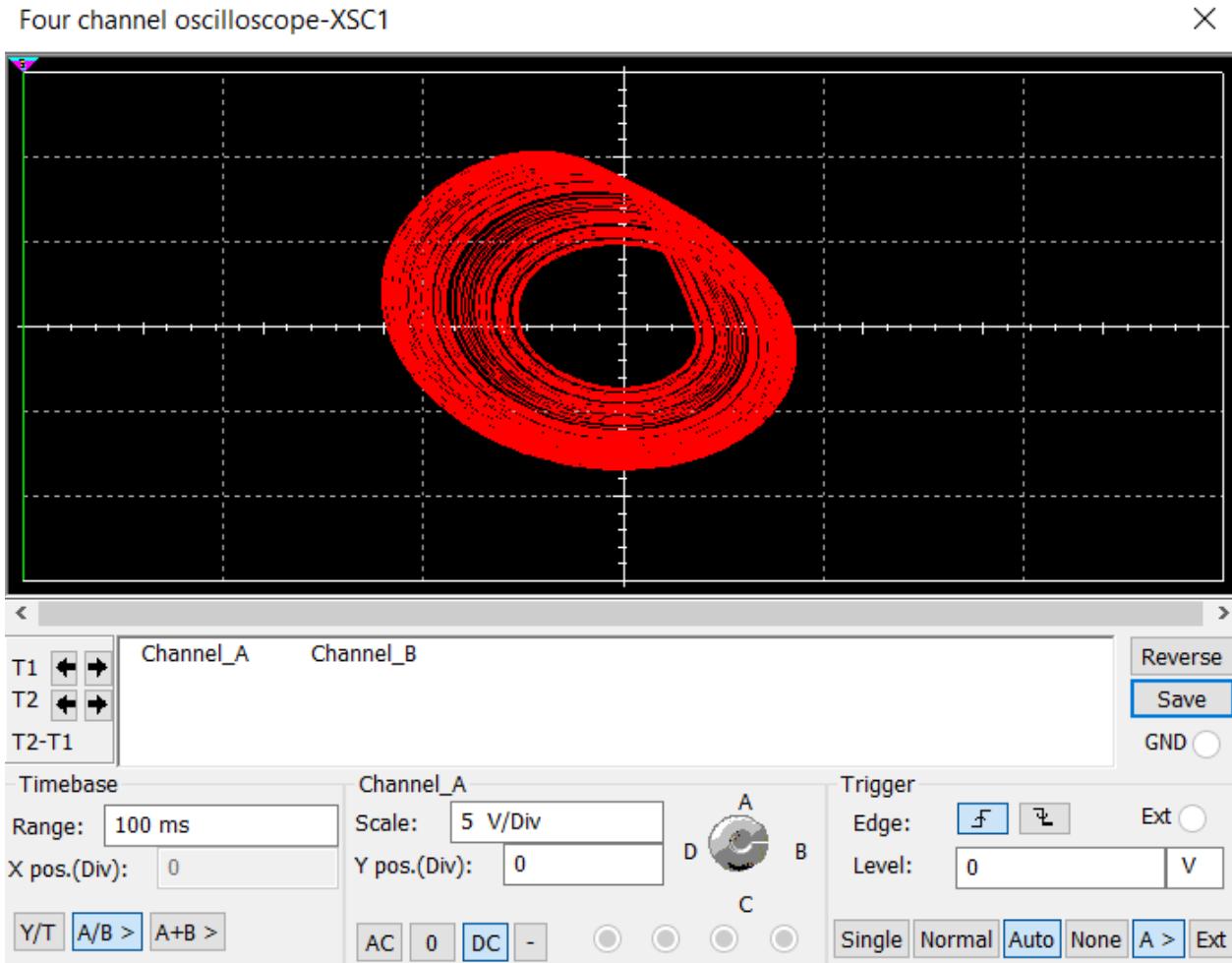


Рисунок 2 – Фазовый портрет на осциллографе в среде Multisim для системы Ресслера

Мы реализовали схемотехническую модель системы Ресслера в виртуальной среде Multisim. На фазовом портрете мы видим, что аттрактор в этом случае – хаотический аттрактор – фрактально устроенное множество, которое сосредоточено в ограниченной области фазового пространства, образ беспорядочных колебаний.

4.2 Реализация генетического осциллятора в виртуальной среде MULTISIM. Аналогичным образом делаем схемотехническое моделирование репрессилятора.

Для этого запишем систему уравнений для генетического осциллятора в

виде:

$$x' = b_1 * (-x + (1-x) * c * \exp(-a * z))$$

$$y' = b_2 * (-y + (1-y) * c * \exp(-a * x))$$

$$z' = b_3 * (-z + (1-z) * c * \exp(-a * y) + Q * (y + y_1))$$

Построим схему в соответствии с этой системой уравнений

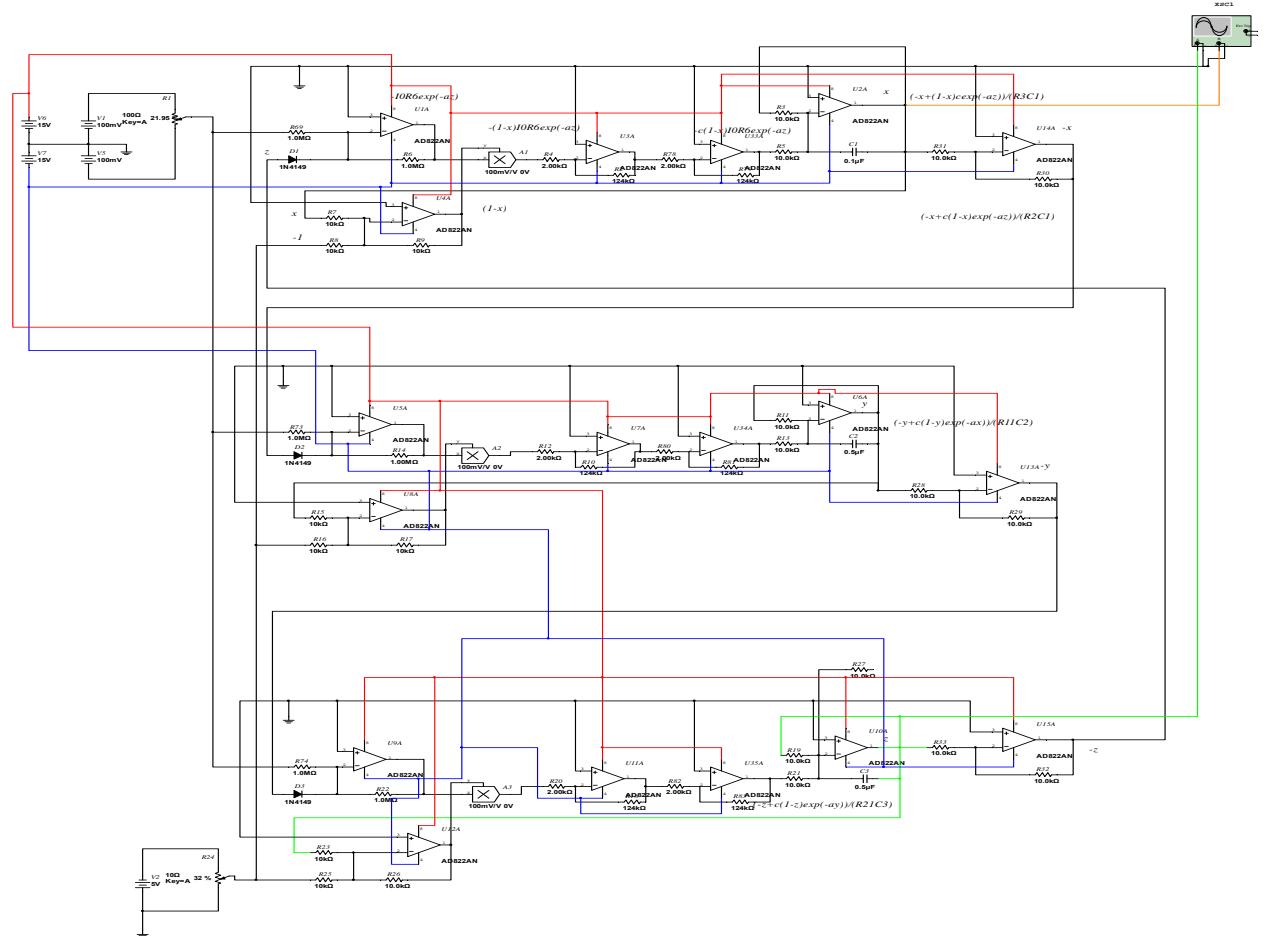


Рисунок 3 – Схема репрессоратора в среде Multisim

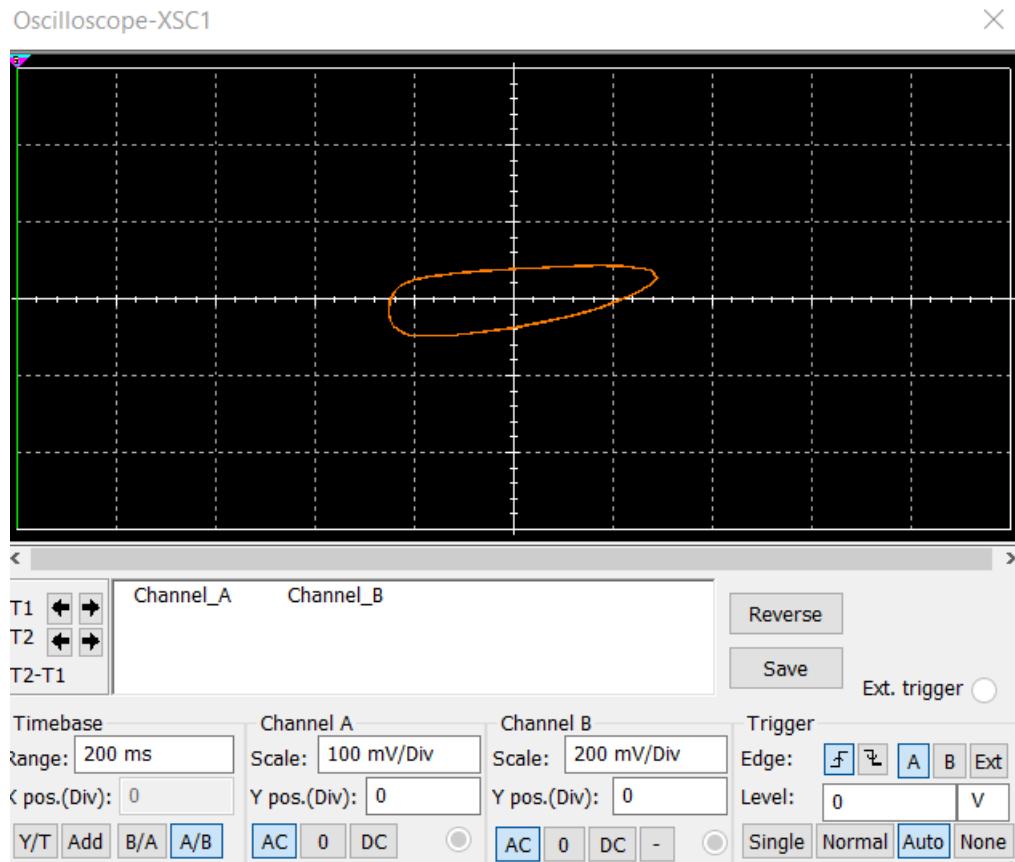


Рисунок 4 – Фазовый портрет репрессилятора в Multisim

На рисунке 4 представлен фазовый портрет реализованной схемотехнической модели генетического осциллятора в виртуальной среде Multisim. Временные реализации и фазовые портреты схемотехнической модели очень близки с численной моделью. Система уравнений репрессилятора представляет собой аттрактор-цикл – замкнутая кривая в фазовом пространстве.

Заключение. В данной работе для достижения цели, были раскрыты понятие и сущность quorum sensing «чувство кворума», генетического осциллятора со всеми его характеристиками и математическими моделями; реализовано построение в среде Multisim схемы репрессилятора изображены его показания на виртуальном осциллографе.

Построение экспериментов на реальных биологических объектах очень дорогостоящие и сложные процессы, поэтому есть математические модели, которые демонстрируют различную сложную динамику. Именно их мы и использовали в данной работе для того, чтобы проверить насколько эта

динамика является реальной для таких систем. Эти математические модели нужны для создания радиофизической модели, которая будет максимально приближено работать в соответствии с биологической моделью. Соответственно это может заменить эксперимент на биологических объектах или как минимум дать возможность отработать методологию такого эксперимента перед реальным.