



## НЕЛИНЕЙНАЯ ДИНАМИКА СИНТЕТИЧЕСКИХ СЕТЕЙ ГЕННОЙ РЕГУЛЯЦИИ

*М.В. Иванченко, О.И. Канаков, Р.А. Котельников, И.Б. Крылов*

Синтетические регуляторные элементы, встроенные в клетку, могут функционировать в известной степени независимо от основной, природной системы. Экспериментальные и теоретические исследования малых синтетических сетей позволяют лучше понять динамические механизмы генной регуляции в целом. Цель данной статьи – дать представление о современных математических подходах и методах в этой области, в первую очередь, в рамках нелинейной динамики.

*Ключевые слова:* Нелинейная динамика, математическое моделирование, генная регуляция.

### Введение

Жизнедеятельность клетки регулируется динамическими процессами взаимной активации и деактивации генов, составляющих геном клетки [1]. Такие ансамбли взаимодействующих генов называют генными сетями или цепями [2]. Подход синтетической биологии заключается в построении малых искусственных генных сетей, 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. Искусственные генные сети имеют и собственные привлекательные перспективы практического применения в здравоохранении [4, 5], биоэнергетике [6], экологии [7] и в других областях.

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 [8], автоколебательные элементы – осцилляторы [9, 10] и счетчики событий [11]. В данной статье рассмотрены методы математического моделирования динамики синтетической генной регуляции [12], приведены примеры исследования базовых моделей и динамических режимов, а также дан краткий обзор основных современных результатов и актуальных направлений исследований.

## 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 генной 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 [12]. Многие белки, использующиеся в синтетической биологии, приобретают свойства транскрипционных регуляторов только в состоянии олигомеров (комплексов из нескольких молекул белка, обычно двух или четырех). Для иллюстрации в нашем примере используем случай димера. Предположим также, что число молекул ДНК и транскрипционного

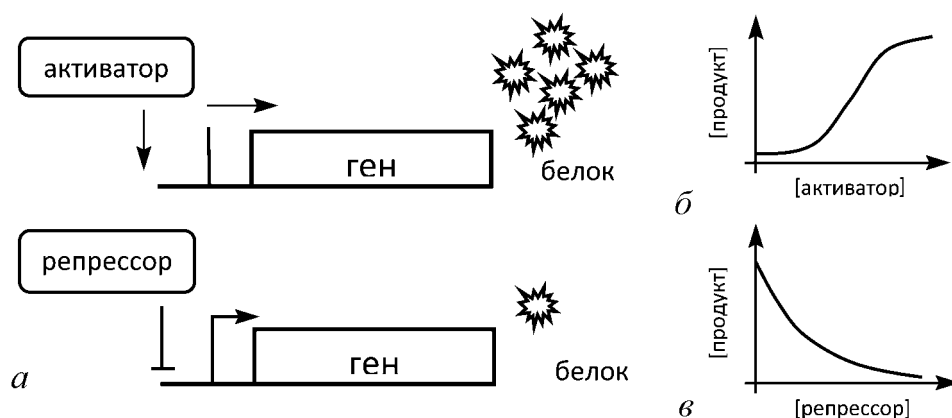


Рис. 1. Два основных типа транскрипционной регуляции – активация и репрессирование генов (а); типичный вид зависимости скорости генерации белка-продукта от концентрации молекул транскрипционного активатора (б) и репрессора (в)

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;  $k_d, k_{-d}, k_b, k_{-b}$  – кинетические коэффициенты прямых и обратных реакций. Для соответствующих концентраций в равновесном состоянии получаем

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

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 [13]

$$\begin{aligned} O_b &= N \frac{(P/K)^2}{1 + (P/K)^2}, \\ O_u &= N \frac{1}{1 + (P/K)^2}, \\ K &= \sqrt{\frac{k_{-b} k_{-d}}{k_b k_d}}. \end{aligned} \quad (3)$$

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:

$$\dot{x} = \alpha_b N \frac{(P/K)^2}{1 + (P/K)^2} + \alpha_u N \frac{1}{1 + (P/K)^2} - r_{deg}(x), \quad (4)$$

где  $\alpha_b, \alpha_u$  – скорости производства белка геном со связанным и свободным операторами, соответственно;  $r_{deg}(x)$  – 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 [14]. В связи с этим результаты анализа нелинейных дифференциальных уравнений зачастую проверяются в численном моделировании соответствующих марковских случайных процессов [15], в данном случае – согласно уравнениям (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

$$r_{deg} = \gamma x, \quad (5)$$

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

$$r_{deg} = \gamma \frac{x}{K_m + x}, \quad (6)$$

где  $K_m$  – некоторая константа. Заметим, что хотя в некотором диапазоне зависимость (6) аппроксимируется линейной (5), необходимо помнить, 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 рибосомной белковой аминокислотной последовательности по мРНК (трансляция), олигомеризация белка к конечной функциональной форме (обычно димер или тетрамер). Моментальное изменение скорости наработки белка при изменении концентрации транскрипционного фактора, заложенное в уравнении (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

$$\begin{aligned} \dot{m} &= \alpha_b N \frac{(P/K)^2}{1 + (P/K)^2} + \alpha_u N \frac{1}{1 + (P/K)^2} - r_m(m), \\ \dot{x} &= r_{tl}m - r_x(x), \end{aligned} \quad (7)$$

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

$$\dot{x} = \alpha_b N \frac{(P(t - \tau)/K)^2}{1 + (P(t - \tau)/K)^2} + \alpha_u N \frac{1}{1 + (P(t - \tau)/K)^2} - r_{deg}(x), \quad (8)$$

где  $\tau$  – некоторый хорошо определенный параметр, как было показано в [16].

## 2. Автоколебания

Рассмотрим простейший пример регуляторной генной динамики – модель авторепрессора. Биологически он может быть реализован в виде гена с промотором, ингибируемым белком – продуктом экспрессии гена (рис. 2, *a*). 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. Действительно, в недавнем эксперименте подобный синтетический генный осциллятор был сконструирован, как и более сложный вариант, дополнительно содержащий транскрипционный активатор [10]. В природных генных сетях подобные принципы организации автоколебаний обнаруживаются, например, в циркадных осцилляторах, управляющих суточной активностью клеток [17].

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

$$\dot{x} = \frac{\alpha}{1 + x^n} - x, \quad (9)$$

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

$$x_0^{n+1} + x_0 - \alpha = 0. \quad (10)$$

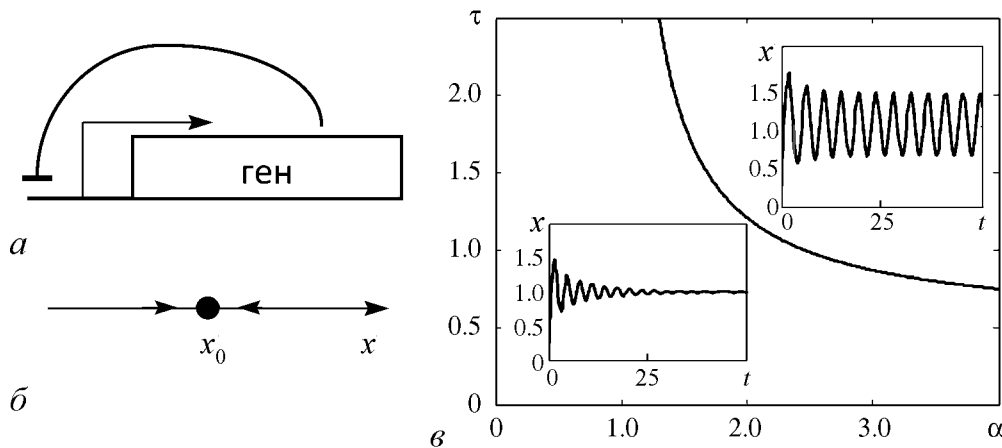


Рис. 2. *a* – принципиальная схема авторепрессора; *b* – глобально асимптотически устойчивое состояние равновесия в одномерной модели без задержки (9); *c* – разбиение пространства параметров  $\{\alpha, \tau\}$  модели с задержкой (11) на области стационарной и автоколебательной динамики и типичные реализации

Интересно отметить, что учет динамики мРНК наподобие (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 [18].

Более биологически ясная математическая модель системы с задержкой

$$\dot{x} = \frac{\alpha}{1 + x^n(t - \tau)} - x \quad (11)$$

также демонстрирует автоколебания. В самом деле, линеаризуя систему (11) вблизи состояния равновесия (10)

$$x(t) = x_0 + \xi(t), \quad |\xi(t)/x_0| \ll 1, \quad (12)$$

после несложных преобразований получаем

$$\dot{\xi}(t) \approx n \left( \frac{x_0}{\alpha} - 1 \right) \xi(t - \tau) - \xi(t). \quad (13)$$

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

$$\lambda = n \left( \frac{x_0}{\alpha} - 1 \right) e^{-\tau\lambda} - 1. \quad (14)$$

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

$$\begin{aligned} \omega^2 &= n^2 (1 - x_0/\alpha)^2 - 1, \\ \cos \omega\tau &= -\frac{1}{n(1 - x_0/\alpha)}. \end{aligned} \quad (15)$$

Принимая во внимание, что  $x_0 \leq \alpha$  (10), получаем необходимое условие для возникновения автоколебаний  $n \geq 2$ . Заметим, что авторепрессор *LacI*, использовавшийся в эксперименте [10], становится транскрипционным фактором в состоянии тетрамера, то есть его кооперативность равна 4. Система (15) определяет соотношение между мнимой частью характеристического показателя в точке бифуркации (которая может служить оценкой частоты автоколебаний недалеко от бифуркационной границы) и временем задержки

$$\cos \omega\tau = -\frac{1}{\sqrt{1 + \omega^2}}. \quad (16)$$

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 (10) и (15). Пример такой кривой для  $n = 4$  и характерные динамические режимы представлены на рис. 2, в. Более глубокий анализ динамики системы авторепрессора заинтересованный читатель может найти в работе [19].

### 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 [20].

Синтетический аналог в виде взаимно репрессирующих генов (рис. 3, а) был впервые экспериментально реализован в двух вариантах и исследован в работе [8]. 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

$$\begin{aligned} \dot{x}_1 &= \frac{K_1}{1 + x_2^{n_2}} - x_1, \\ \dot{x}_2 &= \frac{K_2}{1 + x_1^{n_1}} - x_2, \end{aligned} \quad (17)$$

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 (17), 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

$$x^{n+1} + x - K = 0. \quad (18)$$

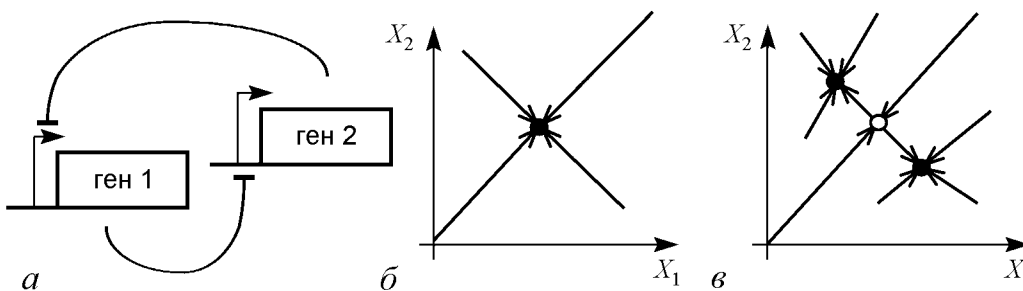


Рис. 3. а – принципиальная схема бистабильного элемента, построенного на базе двух взаимных репрессоров; качественный вид фазового портрета системы (17) в режимах моностабильности (б) и бистабильности (в)

Легко видеть, что (18) всегда имеет ровно один действительный положительный корень. Линеаризация (17) в окрестности этого состояния равновесия дает характеристическое уравнение

$$\lambda^2 + 2\lambda + 1 - \frac{n^2}{K^2}x^{2(n+1)} = 0 \quad (19)$$

с корнями

$$\lambda_{1,2} = -1 \pm \frac{n}{K}x^{n+1}. \quad (20)$$

Используя (18) и (20), получаем, что симметричное состояние равновесия устойчиво при

$$K < K^* = \frac{n}{n-1} \frac{1}{\sqrt[n]{n-1}} \quad (21)$$

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 (17), воспользовавшись тем, что симметричное решение удовлетворяет уравнению (18). После понижения степени полинома, уравнение для асимметричных состояний равновесия будет иметь вид

$$x^2 - Kx + 1 = 0, \quad (22)$$

откуда

$$x_{1,2} = \frac{K \pm \sqrt{K^2 - 4}}{2}, \text{ при } K \geq K^* = 2. \quad (23)$$

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 [8].

Интересное развитие работы в области динамических механизмов принятия клеточных решений получили в недавней статье [21]. В ней авторы исследовали влияние скорости принятия клеточных решений на исход процесса. В рассмотренной ими модели бифуркационные параметры (аналоги  $K_{1,2}$  в модели (17)) 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.



Эти эффекты, по мнению авторов, могут играть существенную роль в процессах принятия генно-регулируемых клеточных решений в нестационарных условиях, таких как дифференциация, развитие клеток и онкогенез [22–24].

#### 4. Последовательная активность

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 [9]. В конструкции контура авторы воплотили принцип игры «камень, ножницы, бумага»: каждый из трех репрессоров (*LacI*, *TetR*, *cI*  $\lambda$ -фага) ингибировал экспрессию «следующего», как показано на рис. 4, *a*. 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  $x_i$ :

$$\begin{aligned} \dot{m}_i &= \frac{\alpha}{1 + x_j^n} - m_i, \\ \dot{x}_i &= -\beta(x_i - m_i), \\ i &= \{lacI, tetR, cI\}, \\ j &= \{cI, lacI, tetR\}. \end{aligned} \quad (24)$$

Координаты состояний равновесия данной системы уравнений определяются из

$$\begin{aligned} m_i &= x_i = x, \\ x^{n+1} + x - \alpha &= 0. \end{aligned} \quad (25)$$

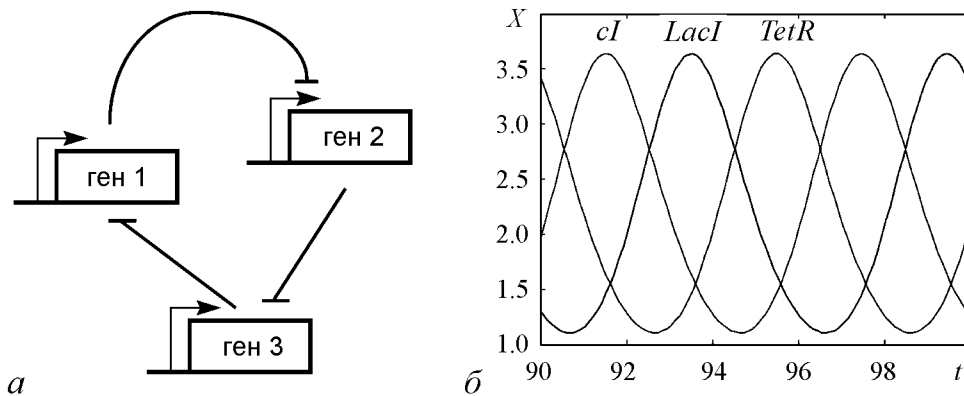


Рис. 4. *a* – принципиальная схема контура на базе трех репрессоров; *b* – пример последовательной автоколебательной динамики: показана динамика концентраций белков в клетке при  $n = 4$ ,  $\alpha = 10$ ,  $\beta = 5$ , над максимумами указаны названия конкретных белков-репрессоров, использовавшихся в работе [9]

Несложно показать, что положительное решение (25) всегда существует и единственно. Линеаризуя систему (24) вблизи состояния равновесия, получаем характеристическое уравнение

$$(1 + \lambda)^3(\beta + \lambda)^3 + \beta^3 d^3 = 0, \quad (26)$$

$$d = \frac{\alpha n x^{n-1}}{(1 + x^n)^2},$$

корни которого удовлетворяют

$$(1 + \lambda)(\beta + \lambda) + \beta d = 0, \quad (27)$$

$$(1 + \lambda)(\beta + \lambda) + \frac{-1 \pm i\sqrt{3}}{2}\beta d = 0.$$

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

$$\frac{(\beta + 1)^2}{\beta} < \frac{3d^2}{4 - 2d}. \quad (28)$$

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  $\beta < (19 + 4\sqrt{21})/5$ . Пример последовательной автоколебательной генерации белков-репрессоров для  $\beta = 5$  представлен на рис. 4, б.

Пионерские результаты [9] стимулировали большой объем исследований [25, 26]. В частности, для систем дифференциальных уравнений с  $n$  репрессорами было показано существование не только периодических решений, но и мультистабильности состояний равновесия, а также гетероклинических циклов [27, 28].

## 5. Коллективная динамика

До сих пор мы рассматривали способы организации динамики генов 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 [29]. 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 [30], взаимная синхронизация в больших ансамблях [31], синхронизация внешним периодическим сигналом [32], взаимная синхронизация клеточных колоний [33], режим взаимодействия «хищник-жертва» [34],

формирование пространственных структур с помощью градиента AHL [35], выделение контуров для обработки изображений [36], а также продемонстрирована возможность выполнения логических операций с помощью клеток [37, 38]. 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. Сдерживание 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 [39]. 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 клетки (рис. 5, а). Концентрация молекул AHL в клетках и межклеточном пространстве пропорциональна плотности клеток, а весь контур работает как система отрицательной обратной связи.

В наиболее простом виде динамику генной регуляции можно описать уравнениями

$$\begin{aligned} \dot{N} &= N(k - N) - dEN, \\ \dot{A} &= N - A, \\ \dot{R} &= A - R, \\ \dot{E} &= R - E, \end{aligned} \quad (29)$$

где  $N, A, R, E$  – безразмерные концентрации клеток, AHL, комплекса AHL – LuxR и фермента апоптоза, соответственно;  $k$  – максимальная безразмерная концентрация

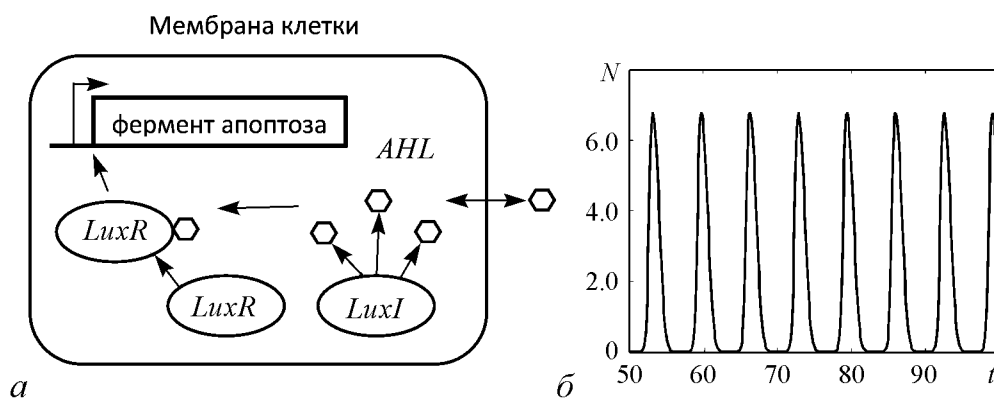


Рис. 5. а – принципиальная схема синтетического контура, способного регулировать плотность клеток в популяции; б – пример динамики плотности клеток в автоколебательном режиме  $k = 10, d = 5$  (29)

клеток в отсутствие синтетической регуляции;  $d$  – коэффициент активации апоптоза ферментом.

Система (29) всегда имеет единственное нетривиальное состояние равновесия

$$N^* = A^* = R^* = E^* = \frac{k}{1+d}. \quad (30)$$

Его устойчивость определяется корнями  $\lambda$  характеристического уравнения

$$(N^* + \lambda)(1 + \lambda)^3 + dN^* = 0. \quad (31)$$

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

$$k^* = \frac{(3N + 1)(3N^2 + 9N + 8)}{(N + 3)^3}, \quad (32)$$

$$N^* = \frac{k^*}{1 + d^*}.$$

При  $d > d^*(k)$  система демонстрирует периодические колебания плотности клеток (рис. 5, б). В эксперименте колебания численности клеток также получить удалось [39].

### 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 обзоре на простейших примерах показано как методы нелинейной динамики могут быть использованы для анализа и предсказательной инженерии синтетических регуляторных генных сетей. Естественно, в работах высокого уровня используются не только простейшие математические модели – низкоразмерные системы дифференциальных уравнений, но и многомерные системы, и стохастические модели, весьма детализировано описывающие молекулярные процессы в клетке и позволяющие достичь не только качественного, но и количественного согласования с экспериментом. Исследование таких моделей, как правило, сугубо численное и следует за качественным анализом низкоразмерных моделей.

Помимо экспериментально реализованных систем существует много интересных теоретических предсказаний, которые только ожидают своего эксперимента. Среди них отдельно отметим мультистабильность и кластеризацию в условиях антагонистического взаимодействия между клетками [40], коллективные механизмы дифференциации клеток в условиях мультистабильности и кластерообразования [41], зависимость режима синхронизации (синфазной или противофазной) от характеристик транскрипции и кинетики мРНК [42], влияние скорости изменения параметров

и интенсивности шума на результат конкуренции синтетических подсетей [21, 43]. Несомненно, в ближайшем будущем нас ждут экспериментальные подтверждения, по крайней мере, некоторых из них, а также новые увлекательные открытия.

*Работа выполнена при поддержке гранта ФЦП «Кадры», соглашение № 14.В37.21.1234, и гранта РФФИ 13-02-00918-а.*

## **Библиографический список**

1. *Jacob F., Monod J.* Genetic regulatory mechanisms in synthesis of proteins // *J. Mol. Biol.* 1961. Vol. 3. P. 318.
2. *Hasty J., McMillen D., Collins J.J.* Engineered gene circuits // *Nature.* 2002. Vol. 420. P. 224.
3. *Nandagopal N., Elowitz M.B.* Synthetic Biology: Integrated Gene Circuits // *Science.* 2011. Vol. 333. P. 1244.
4. *Lu T.K., Khalil A.S., Collins J.J.* Next-generation synthetic gene networks // *Nat. Biotechnol.* 2009. Vol. 27. P. 1139.
5. *Ro D.K. et al.* Production of the antimalarial drug precursor artemisinic acid in engineered yeast // *Nature.* 2006. Vol. 440. P. 940.
6. *Lee S.K. et al.* Metabolic engineering of microorganisms for biofuels production: From bugs to synthetic biology to fuels // *Curr. Opin. Biotechnol.* 2008. Vol. 19. P. 556.
7. *Sayler G.S., Simpson M.L., Cox C.D.* Emerging foundations: Nano-engineering and bio-microelectronics for environmental biotechnology // *Curr. Opin. Microbiol.* 2004. Vol. 7. P. 267.
8. *Gardner T.S., Cantor C.R., Collins J.J.* Construction of a genetic toggle switch in *Escherichia coli* // *Nature.* 2000. Vol. 403. P. 339.
9. *Elowitz M.B., Leibler S.* A synthetic oscillatory network of transcriptional regulators // *Nature.* 2000. Vol. 403. P. 335.
10. *Stricker J. et al.* A fast, robust and tunable synthetic gene oscillator // *Nature.* 2008. Vol. 456. P. 516.
11. *Friedland A.E. et al.* Synthetic gene networks that count // *Science.* 2009. Vol. 324. P. 1199.
12. *O'Brien E.L., van Itallie E., Bennett M.R.* Modeling synthetic gene oscillators // *Math. Biosciences.* 2012. Vol. 236. P. 1.
13. *Hill A.V.* The possible effects of the aggregation of the molecules of haemoglobin on its dissociation curves // *J. Physiol.* 1910. Vol. 40. No. vi-vii.
14. *Elowitz M.B. et al.* Stochastic gene expression in a single cell // *Science.* 2002. Vol. 297. P. 1183.
15. *Gillespie D.T.* Stochastic smulation of chemical kinetics // *Annual Review of Physical Chemistry.* 2007. Vol. 58. P. 35.
16. *Bel G., Munsky M., Nemenman I.* The simplicity of completion time distributions for common complex biochemical processes // *Phys. Biol.* 2010. Vol. 7. P. 016003.

17. *Ishiura M. et al.* Expression of a gene cluster kaiABC as a circadian feedback process in cyanobacteria // *Science*. 1998. Vol. 281. P. 1519.
18. *Goodwin B.C.* Oscillatory behavior in enzymatic control processes // *Adv. Enzyme Regul.* 1965. Vol. 3. P. 425.
19. *Mather W. et al.* Delay-induced degrade-and-fire oscillations in small genetic circuits // *Phys. Rev. Lett.* 2009. Vol. 102, P. 068105.
20. *Johnson A.D. et al.* Lambda Repressor and cro-components of an efficient molecular switch // *Nature*. 1981. Vol. 294. P. 217.
21. *Nene N., Garcia-Ojalvo J., and Zaikin A.* Speed-dependent cellular decision making in nonequilibrium genetic circuits // *PLoS ONE*. 2012. Vol. 7. P. e40085.
22. *Huang S. et al.* Bifurcation dynamics in lineage-commitment in bipotent progenitor cells // *Dev. Biol.* 2007. Vol. 305. P. 695.
23. *Cohen M. et al.* Dynamic filopodia transmit intermittent delta-notch signaling to drive pattern refinement during lateral inhibition // *Dev. Cell.* 2010. Vol. 19. P. 78.
24. *Widschwendter M. et al.* Epigenetic stem cell signature in cancer // *Nat. Genet.* 2007. Vol. 39. P. 157.
25. *Bennett M.R. et al.* Transient dynamics of genetic regulatory networks // *Biophys. J.* 2007. Vol. 92. P. 3501.
26. *Buse O., Perez R., Kuznetsov A.* Dynamical properties of the repressilator model // *Phys. Rev. E.* 2010. Vol. 81. P. 066206.
27. *Muller S. et al.* A generalized model of the repressilator // *J. Math. Biol.* 2006. Vol. 53. P. 905.
28. *Strelkova N., Barahona M.* Transient dynamics around unstable periodic orbits in the generalized repressilator model // *Chaos*. 2011. Vol. 21. P. 023104.
29. *Miller M.B., Bassler B.L.* Quorum sensing in bacteria // *Annu. Rev. Microbiol.* 2001. Vol. 55. P. 165.
30. *McMillen et al.* Synchronizing genetic relaxation oscillators by intercell signaling // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2002. Vol. 99. P. 679.
31. *Danino T. et al.* A synchronized quorum of genetic clocks // *Nature*. 2010. Vol. 463. P. 326.
32. *Mondragon-Palomino O. et al.* Entrainment of a population of synthetic genetic oscillators // *Science*. 2011. Vol. 333. P. 1315.
33. *Prindle A. et al.* Sensing array of radically coupled genetic biopixels // *Nature*. 2012. Vol. 481. P. 39.
34. *Balagadde F.K. et al.* A synthetic Escherichia coli predator-prey ecosystem // *Mol. Syst. Biol.* 2008. Vol. 4. P. 187.
35. *Basu S. et al.* A synthetic multicellular system for programmed pattern formation // *Nature*. 2005. Vol. 434. P. 1130.
36. *Tabor J.J. et al.* A synthetic genetic edge detection program // *Cell*. 2009. Vol. 137. P. 1272.
37. *Tamsir A., Tabor J.J., Voigt C.A.* Robust multicellular computing using genetically encoded NOR gates and chemical 'wires' // *Nature*. 2011. Vol. 469. P. 212.

38. *Regot S. et al.* Distributed biological computation with multicellular engineered networks // *Nature*. 2011. Vol. 469. P. 207.
39. *Balagadde F.K. et al.* Long-term monitoring of bacteria undergoing programmed population control in a microchemostat // *Science*. 2005. Vol. 309. P. 137.
40. *Ullner E., Zaikin A. et al.* Multistability and clustering in a population of synthetic genetic oscillators via phase-repulsive cell-to-cell communication // *Phys. Rev. Lett.* 2007. Vol. 99. P. 148103.
41. *Koseska A. et al.* Cooperative differentiation through clustering in multicellular populations // *J. of Theor. Biol.* 2010. Vol. 263. P. 189.
42. *Potapov I., Volkov E., Kuznetsov A.* Dynamics of coupled repressilators: The role of mRNA kinetics and transcription cooperativity // *Phys. Rev. E*. 2011. Vol. 83. P. 031901.
43. *Nene N., Zaikin A.* Interplay between path and speed in decision making by high-dimensional stochastic gene regulatory networks // *PLoS ONE*. 2012. Vol. 7. P. e40085.

*Нижегородский госуниверситет  
им. Н.И. Лобачевского*

*Поступила в редакцию 15.05.2013*

## NONLINEAR DYNAMICS OF SYNTHETIC GENE REGULATORY CIRCUITS

*M. V. Ivanchenko, O. I. Kanakov, R. A. Kotelnikov, I. B. Krylov*

Built in a cell synthetic gene regulatory elements may function rather independently on the original natural system. Experimental and theoretical studies of small synthetic networks allow for a better understanding of fundamental dynamical mechanisms of gene regulation. This paper gives an introduction to the modern mathematical approaches and methods in this field, primarily in the framework of nonlinear dynamics.

*Keywords:* Nonlinear dynamics, mathematical modeling, gene regulation.



*Иванченко Михаил Васильевич* – родился в 1981 году. Окончил радиофизический факультет Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского (2004), там же защитил кандидатскую и докторскую диссертации (2007, 2011). В настоящее время является заведующим кафедрой биоинформатики ННГУ. Область научных интересов – нелинейная динамика, математическая биология. Имеет около 40 печатных работ по данной тематике. Был удостоен медали Российской академии наук в конкурсе 2004 года на лучшие научные работы по направлению «Общая физика и астрономия».

603950 Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23  
Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского  
Национальный исследовательский университет  
E-mail: [ivanchenko.mv@gmail.com](mailto:ivanchenko.mv@gmail.com)



*Канаков Олег Игоревич* – родился в Нижнем Новгороде (1981). Окончил Нижегородский государственный университет (2004). Защитил диссертацию на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности "Радиофизика" в области теории нелинейных колебаний и волн (ННГУ, 2007). Работает в ННГУ в должности доцента кафедры теории колебаний и автоматического регулирования. Область научных интересов - взаимодействие волн в нелинейных решеточных системах, динамика синтетических генных систем, динамика биологических сред. Соавтор 14 журнальных статей и 4 учебно-методических пособий.

603950 Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23  
Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского  
Национальный исследовательский университет  
E-mail: okanakov@rf.unn.ru



*Котельников Роман Андреевич* – родился в Нижнем Новгороде (1991). Окончил бакалавриат факультета вычислительной математики и кибернетики Нижегородского государственного университета по специальности прикладная математика и информатика. В настоящий момент учится в магистратуре ННГУ на кафедре математического обеспечения ЭВМ. Научные интересы - нелинейная динамика в системной биологии, биоинформатика, обработка изображений.

603950 Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23  
Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского  
Национальный исследовательский университет  
E-mail: roman.kotelnikov@gmail.com



*Крылов Илья Борисович* – родился в Нижнем Новгороде (1991). Окончил с отличием бакалавриат факультета ВМК ННГУ. В настоящее время является магистрантом второго года обучения и ассистентом кафедры биоинформатики факультета ВМК ННГУ. С 2011 года активно занимается научной деятельностью в области математического моделирования, компьютерного обучения, биоинформатики и суперкомпьютерных технологий. Имеет две статьи в журналах из списка ВАК.

603950 Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23  
Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского  
Национальный исследовательский университет  
E-mail: krylov.ib@gmail.com