

Моделирование микробных популяций

Галина Юрьевна Ризниченко

119992 Москва ГСП-2, Ленинские горы,
Московский государственный университет им.
М.В.Ломоносова, Биологический ф-т, каф.
Биофизики, к.119

тел (495)9390289; Факс (495)9391115;

E-mail: riznich@biophys.msu.ru



План лекции

- *Микробные популяции как объект моделирования и управления.*
- *Непрерывная культура микроорганизмов. Модель Моно.*
- *Микроэволюционные процессы в микробных популяциях.*
- *Двухвозрастная модель.*
- *Непрерывные возрастные распределения.*



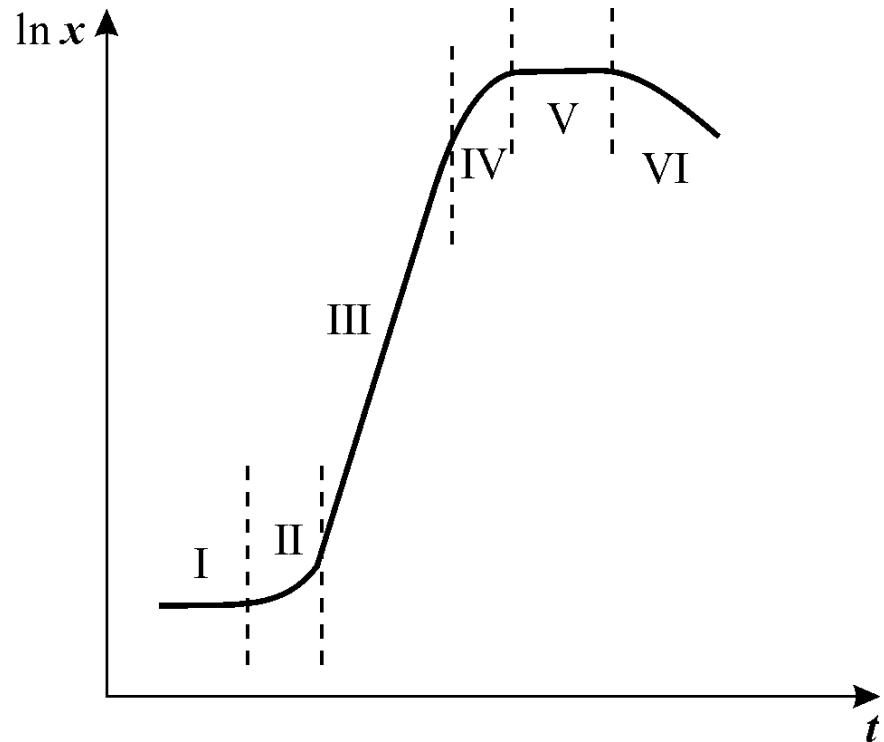
Преимущества микробных культур

Микроорганизмы имеют высокое отношение поверхности к объему и поэтому высокие интенсивности обмена с окружающей средой. С этим связаны:

- высокие скорости размножения микроорганизмов,
- большой прирост биомассы,
- высокая скорость роста микробных популяций
- высокая скорость микроэволюционных процессов в микробных сообществах.

Кривая роста микробной культуры при периодическом культивировании

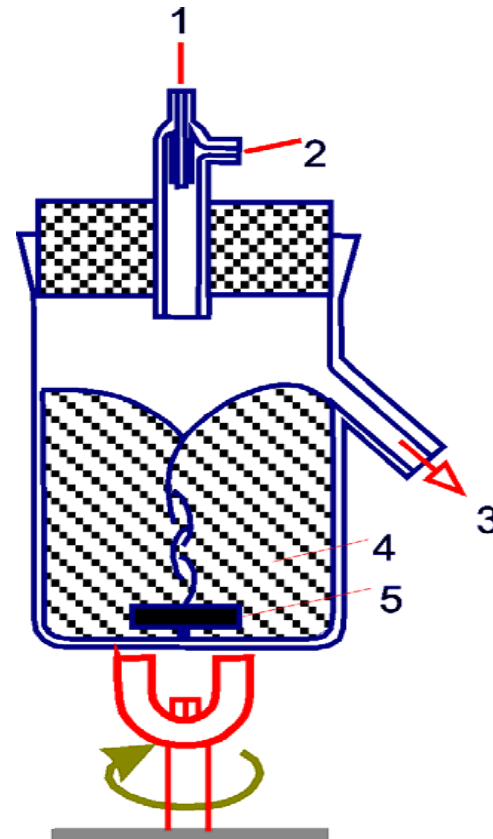
I – лаг-фаза;
II – фаза ускорения роста;
III – фаза экспоненциального роста;
IV – фаза замедления роста;
V – фаза стационарная;
VI – фаза отмирания культуры



Установка непрерывного культивирования

- 1 – регулятор
- 2 – поступление субстрата,
- 3 – отток (вымывание) смеси субстрата и биомассы,
- 4 – культура внутри культиватора,
- 5 – мешалка

$$\frac{dx}{dt} = x(\mu - v)$$





Типы культиваторов

- Хемостат – поддерживается постоянной скоростью протока
- Турбидостат - поддерживается оптическая плотность культуры
- Оксистат – концентрация кислорода
- рН –стат – рН
- И т.д.



Модель Моно (J. Monod “Recherches sur la croissance des cultures bacteriennes”, 1942)

Формула Моно

$$\frac{dx}{dt} = \frac{\mu_m S}{K_s + S} x$$

μ_m - максимальная скорость роста микроорганизмов при данных условиях;
 K_s - константа, численно равная концентрации субстрата, при которой скорость роста культуры равна половине максимальной

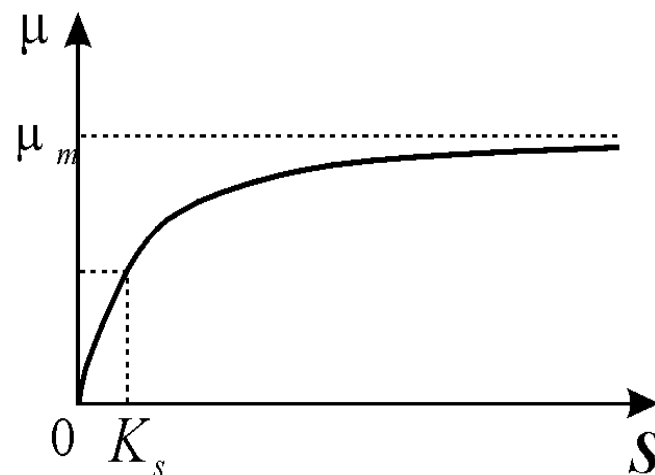


График зависимости скорости роста от концентрации субстрата в соответствии с формулой Моно

Модель Моно роста культуры микроорганизмов

$$\frac{dx}{dt} = \mu(S)x - D(x),$$

$$\frac{dS}{dt} = DS_0 - \alpha \mu(S)x - DS,$$

$$\mu(S) = \frac{\mu_m S}{K_m + S}$$

S - концентрация субстрата; x - концентрация клеток в культиваторе

S_0 - концентрация субстрата, поступившего в культиватор

D - скорость потока (разбавления) культуры

α^{-1} - “экономический” коэффициент, показывающий,

какая часть поглощенного субстрата идет на приращение биомассы.

Безразмерные уравнения Моно

$$x' = \frac{\alpha x}{K_S}, \quad y' = \frac{S}{K_S}, \quad y_0 = \frac{S_0}{K_S};$$

$$t' = t\mu_m, \quad D' = \frac{D}{\mu_m}$$

(штрихи опущены)

$$\frac{dx}{dt} = \mu(y)x - Dx,$$

$$\frac{dy}{dt} = -\mu(y)x + D(y_0 - y)$$

$$\mu(y) = \frac{y}{1 + y}$$

безразмерная
концентрация
биомассы

безразмерная
концентрация
субстрата

Стационарные решения системы Моно (хеMOSTAT)

Режим вымывания

$$\bar{x}_1 = 0, \quad \bar{y}_1 = y_0;$$

Рабочий режим $\frac{y}{1+y} - D = 0$

$$\bar{x}_2 = y_0 \frac{D}{1-D}, \quad \bar{y}_2 = \frac{D}{1-D}$$

$$\frac{dx}{dt} = \mu(y)x - Dx,$$

$$\frac{dy}{dt} = -\mu(y)x + D(y_0 - y)$$

$$\mu(y) = \frac{y}{1+y}$$

Скорость вымывания

Биомасса – положительная величина

$$\bar{x}_2 = y_0 - \frac{D}{1-D} > 0$$

$$y_0 - y_0 D - D > 0$$

$$D(1 + y_0) < y_0$$

$$D < \frac{y_0}{1 + y_0}$$

Граничное значение скорости потока называется скоростью вымывания. В безразмерном виде его величина равна:

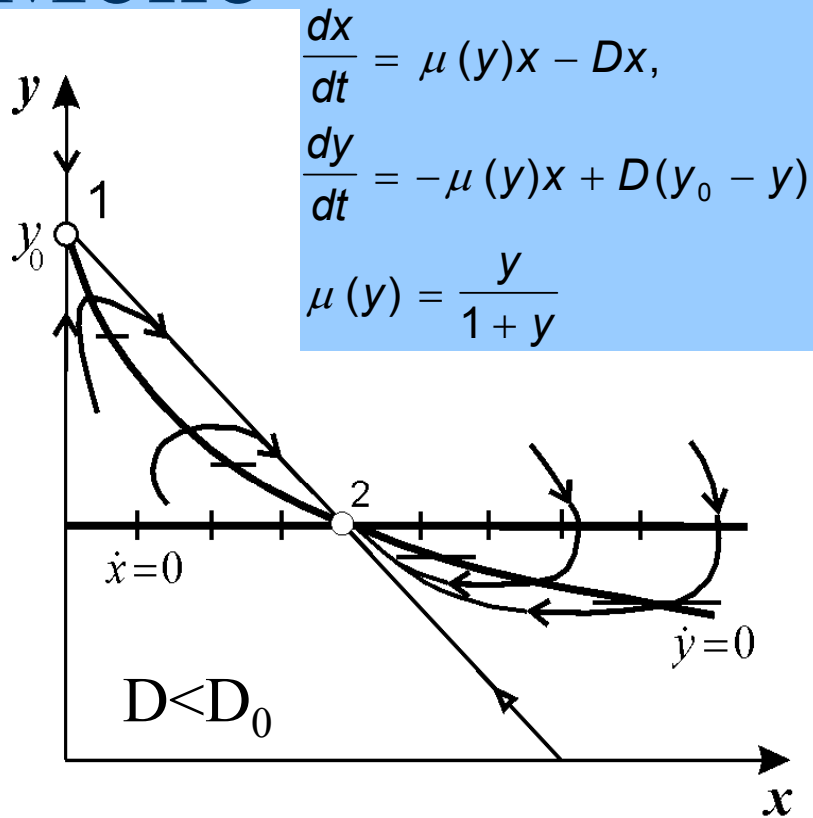
$$D \leq \frac{y_0}{1 + y_0} = D_0$$

$$D_0 = \frac{\mu_m S_0}{K_S + S_0}$$

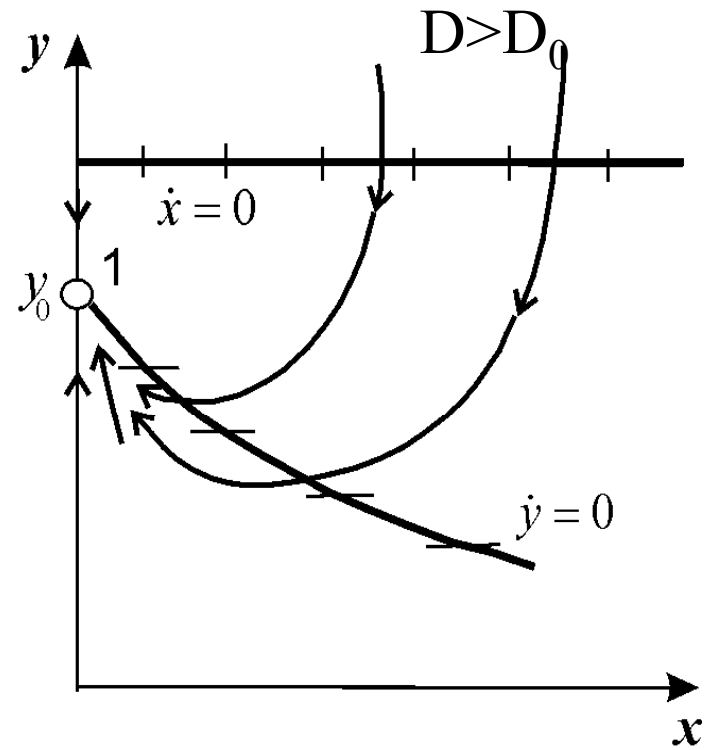
$$y_0 = \frac{S_0}{K_S}$$

Фазовые портреты модели

Моно



a



б

a – стационарный режим работы, *б* – режим вымывания.

Ингибирующее действие субстрата и продукта

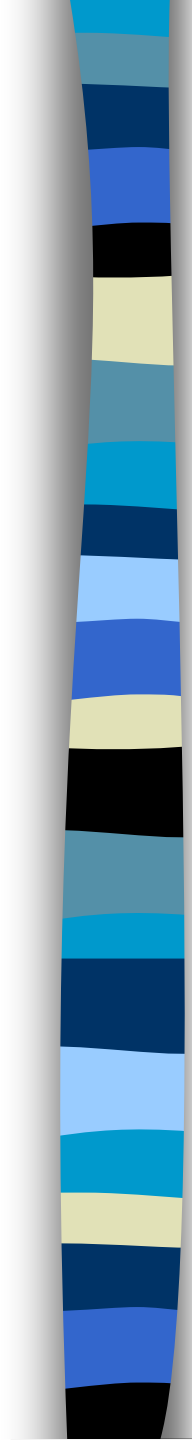
при больших концентрациях субстрат может оказывать ингибирующее действие,

$$\mu(S) = \frac{\mu_m S}{K_m + S + AS^2}$$

Формула Моно-Иерусалимского.

$$\mu(S) = \frac{\mu_m S}{(K_m + S)(K_P + P)}$$

В таких системах возможны мультистационарные режимы



Последствие действия радиации

Соотношение живых и неживых клеток

$$\frac{dx_{\text{жс}}}{dt} = \mu(S)x_{\text{жс}} - Dx_{\text{жс}}$$

$$\frac{dx_{\text{н}}}{dt} = -Dx_{\text{н}}$$

$$\frac{dS}{dt} = D(S_0 - S) - \alpha\mu(S)x_{\text{жс}}$$

$$x_{\text{жс}} + x_{\text{н}} = x$$

Пусть $\mu = \mu_{\max} = \text{const}$
(не зависит от концентрации субстрата)

a_0 – соотношение живых и неживых клеток в начальный момент времени

$$\frac{x_{\text{жс}}}{x} = \frac{a_0 e^{\mu_{\max} t}}{1 + a_0 e^{\mu_{\max} t}}$$

Какие мутанты лучше выживают и почему?



- “Экономичные” мутанты, способные более полно использовать субстрат.
- Более “резистентные” мутанты, менее чувствительные к воздействию внешнего фактора.
- Мутанты с пониженными скоростями отмирания.
- Менее “мутабельные” мутанты.
- Быстро растущие и быстро отмирающие мутанты
- Мутанты с увеличенной максимальной скоростью роста
- Мутанты, способные противостоять вымыванию из ферментера: прилипать к стенкам или слипаться в комки и выпадать на дно.

Печуркин Николай Савельевич

русский советский биофизик, специалист в области эволюционной теории, экспериментальной экологии, управляемого микробного синтеза. Профессор Красноярского государственного университета.



Двухвозрастная культура (Наталья Вячеславовна Степанова, Физфак МГУ)

$$\frac{dN_1}{dt} = \frac{2}{T_2} N_2 - \frac{1}{T_1} N_1 - DN_1,$$

$$\frac{dN_2}{dt} = \frac{1}{T_1} N_1 - \frac{1}{T_2} N_2 - DN_2$$

N_1 - «молодые» клетки, не способные к делению

N_2 - «старые» клетки, способные к делению

Скорость деления

$$T_2^{-1} = \omega = \omega_0 \left[a + b I^n \right]^{-1}$$

$$I = F(N_2)$$

I - концентрация
ингибирующего
метаболита

Система в безразмерных переменных

$$x = \frac{N_1}{N_0}, \quad y = \frac{N_2}{N_0}, \quad t' = \frac{t}{T_1}, \quad \sigma = \omega_0 T_1, \quad \delta = DT_1$$

$$\frac{dN_1}{dt} = \frac{2}{T_2} N_2 - \frac{1}{T_1} N_1 - DN_1,$$
$$\frac{dN_2}{dt} = \frac{1}{T_1} N_1 - \frac{1}{T_2} N_2 - DN_2$$

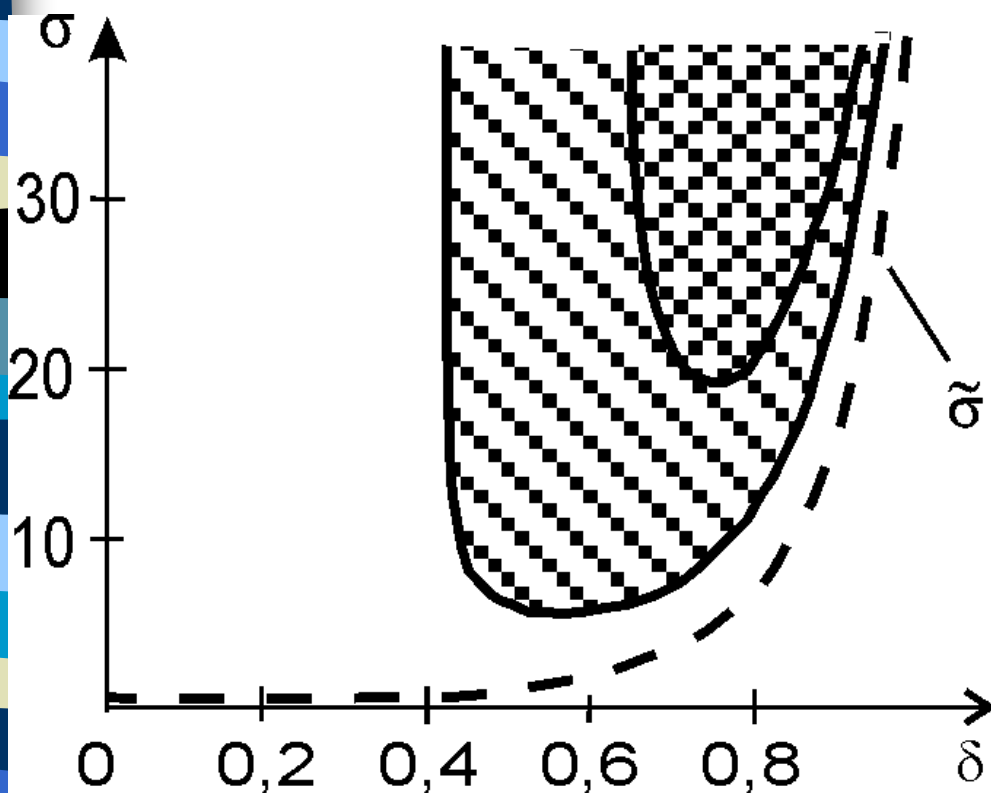
$$\frac{dx}{dt} = \frac{2\sigma y}{1 + y^n} - (\delta + 1)x,$$

$$\frac{dy}{dt} = x - \delta y - \frac{\sigma y}{1 + y^n}$$

Ингибиторы
выделяются только
старыми клетками

n – порядок
ингибирования

Параметрические области
 неустойчивости стационарного
 ненулевого решения при $n=2$ (двойная
 штриховка) и $n=3$ (простая штриховка)



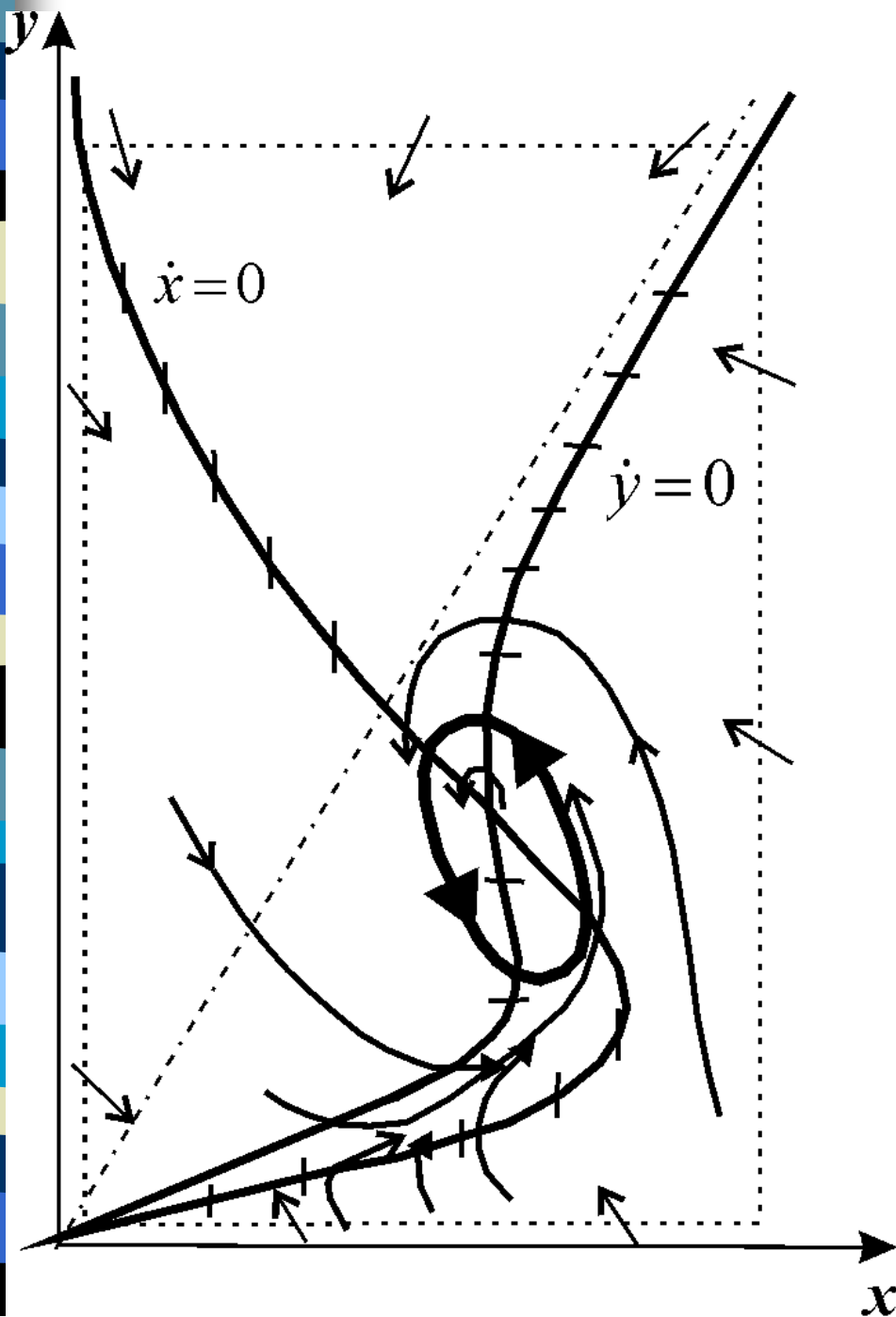
$$\bar{x} = 2\sigma\bar{y} \frac{1}{1-\delta},$$

$$\bar{y} = \frac{(1-\delta)}{(1+\delta)\sigma} - 1$$

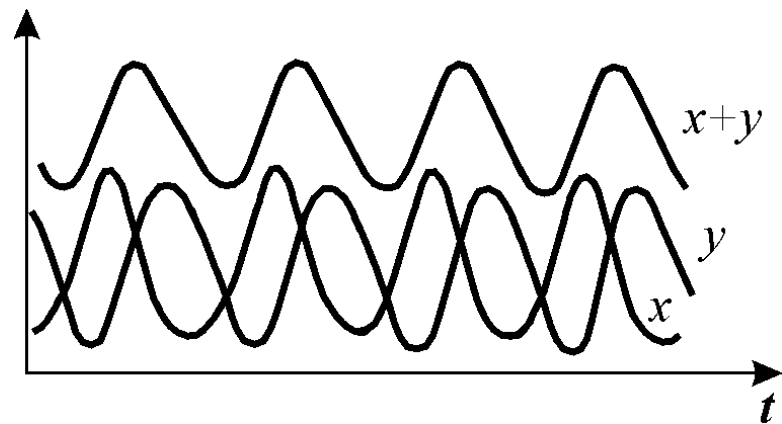
$$\frac{dx}{dt} = -\frac{2\sigma y}{1+y^n} - (\delta+1)x,$$

$$\frac{dy}{dt} = x - \delta y - \frac{\sigma y}{1+y^n}$$

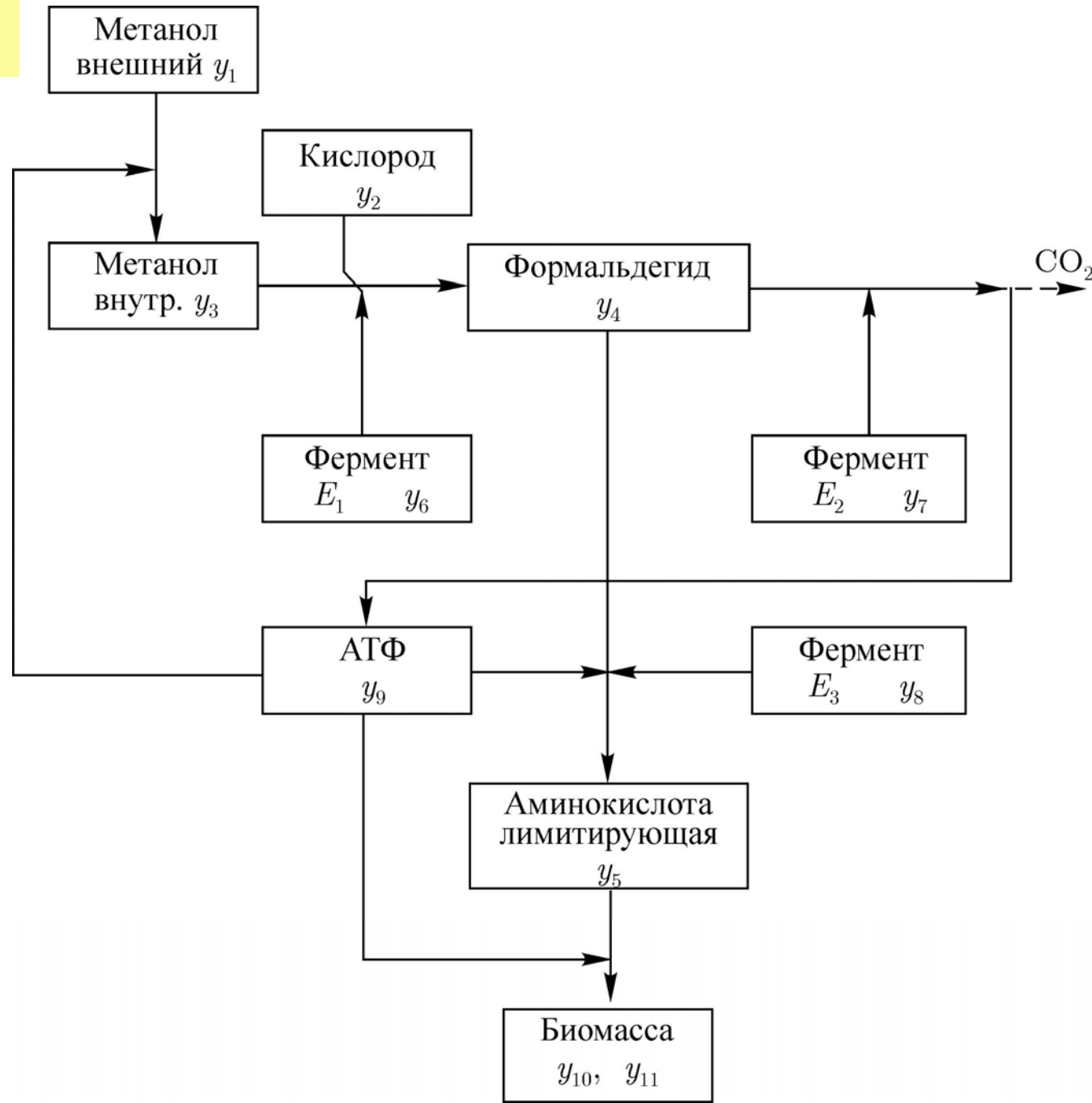
$n=2$



Фазовый портрет системы в области неустойчивости ненулевого стационарного решения. Жирная линия – предельный цикл



Рост метанол-
усваивающих
дрожжей в
проточном
культиваторе



Общая модель роста хемотратной культуры метанолусваивающих дрожжей

$$F_1 \frac{F_1^m y_2 y_3}{(y_3 + k_{m3})(y_2 + k_{m2})},$$

$$F_2 \frac{F_2^m k_i y_4 y_2}{(y_4 + k_{m4})(y_2 + k_{m2})(y_9 + k_i)},$$

$$F_3 \frac{F_3^m y_4 y_9}{(y_4 + k_{m4})(y_9 + k_{m9})}.$$

$$\frac{dy_1}{dt} = (y_1^0 - y_1)D - (f_i - f_e)y_{10},$$

$$\frac{dy_2}{dt} = (y_2^0 - y_2)D + k_0(C_H - y_2) - f_{02},$$

$$\frac{dy_3}{dt} = [F(f_i - f_e) - F_1 y_6] / \nu_0,$$

$$\frac{dy_4}{dt} = (F_1 y_6 - F_2 y_7 - F_3 y_8) / \nu_0,$$

$$\frac{dy_5}{dt} = (\gamma_1 F_3 y_8 - \gamma_2 \omega) / \nu_0,$$

$$\frac{dy_6}{dt} = \nu_1 \omega - y_6 d_1,$$

$$\frac{dy_7}{dt} = \nu_2 \omega - y_7 d_2,$$

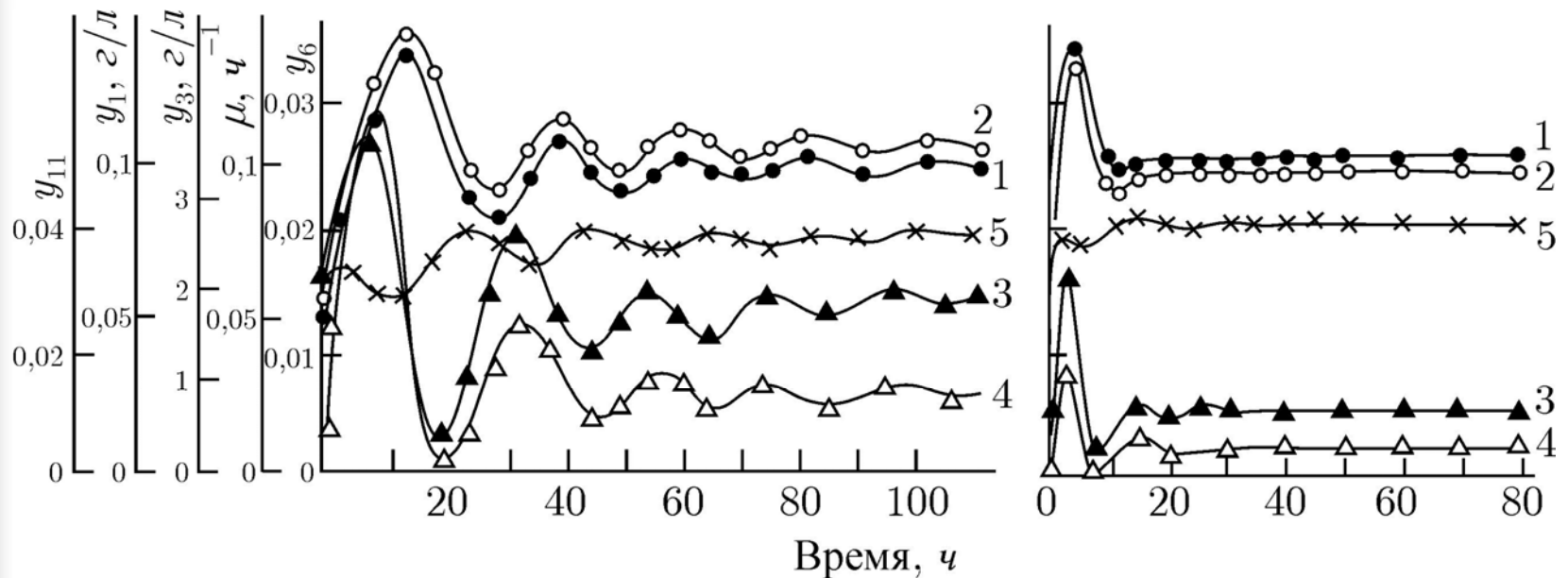
$$\frac{dy_8}{dt} = \nu_3 \omega - y_8 d_3,$$

$$\frac{dy_9}{dt} = [\chi_1 F_2 y_7 - \chi_2 F_3 y_8 - \chi_3 (f_i - f_e)] / \nu_0,$$

$$\frac{dy_{10}}{dt} = (\alpha - \beta)y_{10} - Dy_{10},$$

$$\frac{dy_{11}}{dt} = \alpha - y_{10} - Dy_{11}.$$

Кинетика изменений внутриклеточного уровня алкоголь-оксидазы уо (1), мгновенной удельной скорости роста (2), внутриклеточной у3 (3) и остаточной у1 (4) концентраций субстрата, суммарной биомассы (числа клеток у11 (5) в модели во время переходного процесса при изменении скачком скорости потока от $D = 0,05 \text{ ч}^{-1}$ к $D = 0,1 \text{ ч}^{-1}$ при значениях констант: а – $C2 = 20 \text{ г}^2/\text{м}^2$; $V10 = 0,01$; $Km3 = 0,1 \text{ г/л}$; б – $C2 = 20 \text{ г}^2/\text{м}^2$; $V10 = 0,05$; $Km3 = 0,1 \text{ г/л}$





Модели *E.coli*

- The version (2011) of the *E. coli* metabolic network model was published in and named *iJO1366*
- Orth, JD et al. (2011) A comprehensive genome-scale reconstruction of Escherichia coli metabolism--2011. *Mol. Syst. Biol.* .

- 2251 reactions,
- 1136 unique metabolites,
- 1366 genes.

- ***E. coli* core model**
- The core *E. coli* model is a small-scale model of the central metabolism of *E. coli*.,
- 134 genes,
- 95 reactions,
- 72 metabolites.

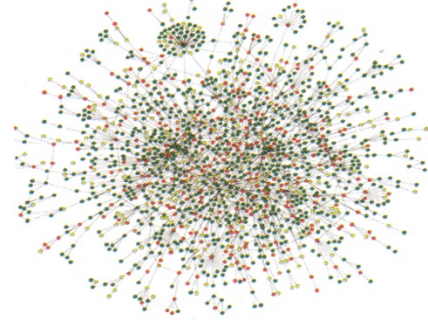
Soft

для моделирования
метаболических и
регуляторных систем в
клетках

Systems Biology

- CellDesigner <http://www.celldesigner.org>
- COPASI (Comple Pathway Simulator) <http://www.copasi.org>
- PyBios <http://pybios.molgen.mpg.de>
- SBML (Systems Biology Markup Language) <http://www.sbml.org>
- BioPAX <http://www.biopax.org>
- Systems Biology Grafical Notification <http://www.sbgng.org>
- Biomodels <http://biomodels.net>

Protein-protein
interactions in yeast cell



E.coli

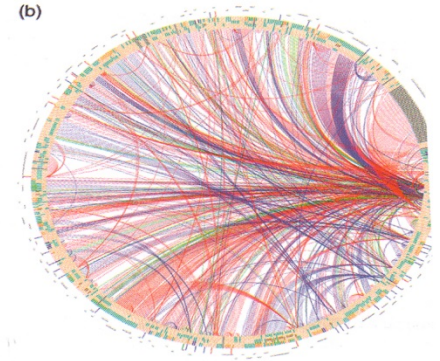


Figure 8.1 Biological networks. (a) Network of protein-protein interactions in yeast. From Jeong et al. [4]. (b) Regulatory interactions between *E. coli* genes. Genes shown as colored segments associated with the structural description of the gene's main function.

Curve colors express the nature of relation (red: inhibition, blue: activation, green: dual regulation), and the traces around the circle indicate autoregulation. Courtesy of S. Ortiz, L. Rico, and A. Valencia.