УДК 577.31

ДИНАМИЧЕСКОЕ ПОВЕДЕНИЕ ИЗОЛИРОВАННОГО РЕПРЕССИЛЯТОРА С ОБРАТНОЙ СВЯЗЬЮ

Е. И. Волков, Б. А. Журов

Физический институт имени П. Н. Лебедева РАН, г. Москва, Россия

Методами численного анализа бифуркаций исследовано динамическое поведение модели, описывающей известный в литературе синтетический генетический осциллятор (репрессилятор), построенный в виде кольца из трёх генов. Белковые продукты каждого гена ингибируют активность следующего соседнего гена, что обеспечивает существование предельного цикла. В кольцо репрессилятора добавлена одна обратная связь, обусловленная производством сигнальных молекул, активирующих экспрессию одного из генов в кольце. Показано, что такая система из 4-х обыкновенных дифференциальных уравнений демонстрирует разнообразное и необычное мультистабильное поведение: сосуществование устойчивого предельного цикла и устойчивого стационарного состояния. На границах интервалов параметров, где возникает такое сосуществование, происходят гомоклинические бифуркации седло—узел. Число гомоклинических переходов увеличивается с ростом амплитуды цикла, если характерные времена динамики белков и сигнальной молекулы сближаются. При этом предельный цикл испытывает прямые и обратные бифуркации удвоения периода.

ВВЕДЕНИЕ

Проектирование и исследование искусственных генетических сетей является важной задачей синтетической биологии. Основной целью таких исследований является изучение простых искусственно сконструированных элементов с целью упрощения понимания механизмов функционирования реальных генетических регуляторных сетей живых организмов [1]. Примерами таких искусственных элементов могут служить триггер, простейшие логические схемы [2] и репрессилятор — первая искусственная генетическая сеть, продемонстрировавшая автоколебательное поведение после её внедрения в бактериальные клетки [3]. Несмотря на простоту искусственных генетических сетей по сравнению с реальными, эксперименты по их конструированию и изучению довольно трудоёмки и дороги: кроме того, при проведении таких экспериментов сложно осуществлять контроль параметров, определяющих динамику изучаемой системы. Поэтому важнейшую роль в этой области исследований играет численный эксперимент и аналоговое моделирование, с помощью которых возможно обнаружить различные динамические режимы системы, а затем подтвердить наличие таких режимов в биологических сетях. При аналоговом моделировании в исследуемую электрическую схему достаточно просто вводятся различные шумы, неизменно присутствующие и в биологических системах [4]. На настоящий момент созданы электрические схемы, имитирующие процессы транскрипции (синтеза мРНК), трансляции (синтеза белка) и ингибирования транскрипции [5].

Некоторые искусственные генетические сети, в том числе упомянутые выше, имеют аналоги среди электронных устройств. Во многом изучение генетических регуляторных сетей можно сравнить с конструированием электронных вычислительных машин: вначале конструируются простейшие элементы, такие, как триггеры, сумматоры, ячейки памяти; затем на их основе проектируются более сложные системы, такие, как процессор, постоянное запоминающее устройство и другие. Однако электро-биологическая аналогия [6] может применяться не только для конструирования и анализа искусственных генетических сетей: применение могут найти и электрические

Е. И. Волков, Б. А. Журов

774

схемы, созданные на основе генетических сетей. Примером может служить электронный генератор, созданный на основе простой колебательной генетической сети — репрессилятора [7].

Репрессилятор состоит как минимум из трёх элементов, генов и их промо́торов, белковые продукты каждого из которых однонаправленно ингибируют транскрипцию соседнего гена. Обозначим эти элементы a, b и c, тогда топология сети устроена следующим образом: ген a кодирует белок, подавляющий транскрипцию с гена b, белковый продукт гена b подавляет транскрипцию с гена c, и белковый продукт гена c, замыкая цикл, подавляет транскрипцию с гена a. С точки зрения электро-биологической аналогии репрессилятор похож на кольцевой инвертор, но со специфической функцией ингибирования [8].

Математическая модель, описывающая динамику репрессилятора и представляющая собой систему из шести обыкновенных дифференциальных уравнений, впервые была предложена в работе [3]. Там же представлены результаты экспериментов, демонстрирующих хоть и очень зашумлённое, но автоколебательное поведение репрессилятора. В работе [9] рассмотрена обобщённая модель репрессилятора, исследована устойчивость стационарного состояния, показано, что потеря устойчивости стационарным состоянием при увеличении управляющего параметра приводит к появлению устойчивого предельного цикла через бифуркацию Андронова—Хопфа.

Большую роль в изучении динамического поведения искусственных генетических сетей играет связь между такими сетями, находящимися в разных клетках. В работах [10, 11] предложен вариант межклеточной связи, основанной на механизме кворум-сенсинга, или чувства плотности популяции [12]. Такая межклеточная связь обеспечивается введением в клетку плазмиды, содержащей два гена (b1 и r). Ген b1 кодирует белок B1, синтезирующий маленькую молекулу (аутоиндуктор); ген r кодирует белок R, который является свободным рецептором аутоиндуктора и в комплексе с ним активирует транскрипцию с определённых генов клетки. Предполагается, что белок, являющийся рецептором аутоиндуктора, находится в избытке, поэтому в математическую модель концентрации этого белка не входят. Аутоиндуктор может свободно диффундировать через клеточную мембрану и быстро перемещаться во внешней среде, что является основой для предположения об обеспечении аутоиндуктором взаимодействия между клетками, а также о квазистационарности концентрации аутоиндуктора в среде. В известных моделях репрессилятора комплекс аутоиндуктор—R-белок активирует транскрипцию с гена c. В свою очередь ген b1, белковый продукт которого синтезирует аутоиндуктор, имеет промотор, совпадающий с промотором одного из трёх генов репрессилятора [11]. Таким образом, концентрация белка B1, отвечающего за синтез аутоиндуктора, пропорциональна концентрации одного из трёх белков репрессилятора.

При изучении взаимодействия и синхронизации набора осцилляторов важно принимать во внимание то, как на динамику системы (внутри одной клетки) влияет обратная связь, появляющаяся при добавлении сигнальной молекулы в схему генетического контура. Такое исследование для репрессилятора с обратной связью, основанной на механизме кворум-сенсинга, было проведено в работах [13, 14]. В работе [13] показано, что при добавлении в систему аутоиндуктора увеличение скорости транскрипции приводит к появлению устойчивого и неустойчивого стационарных состояний, сосуществованию предельного цикла и устойчивого стационарного состояния и, далее, к исчезновению предельного цикла через бифуркацию бесконечного периода. В работе [14] в числе прочих рассмотрен случай одинаковых времён деградации белка и мРНК, а также показано, что в таком случае в системе возможны хаотические режимы и сосуществование нескольких устойчивых предельных циклов или предельного цикла с хаотическим аттрактором.

Для качественного понимания влияния основных параметров на динамику осциллятора можно сделать редукцию основной системы, заменив «быстрые» уравнения (в нашем случае уравнения, определяющие динамику мРНК) на алгебраические равенства. Стоит отметить также, что редукция может сократить необходимое количество вычислений и в случае моделирования по-

ведения колонии клеток. Редукция для системы репрессилятора без обратной связи проведена, например, в работе [15].

В работе [16] опубликованы предварительные результаты исследования редуцированной модели репрессилятора с обратной связью, основанной на механизме кворум-сенсинга, а также электронного аналога репрессилятора. При этом обратная связь введена следующим образом [17]: промотор гена b1, белковый продукт которого отвечает за синтез аутоиндуктора, совпадает с промотором гена b. Поэтому в математической модели вместо концентрации белка B1 используется концентрация белка В, домноженная на некоторую константу. В данной работе продолжено рассмотрение редуцированной модели репрессилятора с обратной связью. Проведено детальное исследование бифуркаций, соответствующих переходам между колебательным и стационарным режимами, рассмотрена роль скорости транскрипции, величины коэффициента Хилла, а также интенсивности воздействия аутоиндуктора на скорость транскрипции с гена-мишени. Показано, что при близких временах деградации белка и мРНК в системе при изменении силы воздействия аутоиндуктора имеют место каскады удвоения периода, перемежающиеся интервалами параметров, где единственным аттрактором является устойчивое стационарное состояние.

1. ОПИСАНИЕ МОДЕЛИ

Динамика репрессилятора с обратной связью описывается безразмерной системой из семи обыкновенных дифференциальных уравнений, три из которых описывают динамическое поведение мРНК $(a, b \, \mathrm{u} \, c)$, три — динамическое поведение белков $(A, B \, \mathrm{u} \, C)$ и одно — динамическое поведение аутоиндуктора (s) [11, 17]:

$$\dot{a} = -a + \frac{\alpha}{1+C^n}, \qquad \dot{b} = -b + \frac{\alpha}{1+A^n}, \qquad \dot{c} = -c + \frac{\alpha}{1+B^n} + \kappa \frac{s}{1+s}; \tag{1}$$
$$\dot{A} = \beta (a-A), \qquad \dot{B} = \beta (b-B), \qquad \dot{C} = \beta (c-C); \tag{2}$$

$$B(a-A), \qquad \dot{B} = \beta (b-B), \qquad \dot{C} = \beta (c-C); \qquad (2)$$

$$\dot{s} = -k_{s0}s + k_{s1}B - \eta s. \tag{3}$$

Изменение во времени концентраций мРНК описывается процессами синтеза (с учётом ингибирования со стороны белков, кодируемых соседними генами) и деградации. Репрессия описывается функцией Хилла $\alpha/(1+P^n)$, где P — концентрация белка-ингибитора, n — коэффициент Хилла или коэффициент кооперативности, определяющий ступенчатость функции Хилла, α — скорость транскрипции в отсутствие ингибитора. Предполагается, что динамика белков представлена линейными процессами синтеза и деградации; β — отношение константы скорости деградации белка к константе скорости деградации мРНК.

Аутоиндуктор внутри клетки испытывает деградацию со скоростью k_{s0} , синтез со скоростью, пропорциональной концентрации белка В (в силу упомянутого выше совпадения промоторов генов b и b1, коэффициент пропорциональности k_{s1}) и диффундирует во внешнюю среду с константой диффузии η . Функция $\kappa s/(1+s)$ определяет активацию транскрипции с целевого гена аутоиндуктором, κ — скорость транскрипции с гена, который кодирует белок, являющийся рецептором аутоиндуктора.

В случае, когда константа скорости деградации белка мала по сравнению с константой скорости деградации мРНК, т. е. $\beta \ll 1$, концентрации мРНК можно считать быстрыми переменными и провести редукцию системы, заменив уравнения (1) на алгебраические равенства [15]. Кроме того, из системы можно исключить параметр β , перенормировав время и переобозначив параметры аутоиндуктора следующим образом:

$$k_{s0}/\beta \longrightarrow k_{s0}, \quad k_{s1}/\beta \longrightarrow k_{s1}, \quad \eta/\beta \longrightarrow \eta.$$

В итоге система дифференциальных уравнений, описывающих динамику репрессилятора с обратной связью, примет вид

$$\dot{A} = -A + \frac{\alpha}{1 + C^n}, \qquad \dot{B} = -B + \frac{\alpha}{1 + A^n}, \dot{C} = -C + \frac{\alpha}{1 + B^n} + \kappa \frac{s}{1 + s}, \qquad \dot{s} = -(k_{s0} + \eta)s + k_{s1}B.$$
(4)

2. РЕЗУЛЬТАТЫ

2.1. Репрессилятор без аутоиндуктора

Рассмотрим изменение динамического поведения системы в зависимости от параметров n и α (в отсутствие аутоиндуктора). На плоскости (α, n) репрессилятор может находиться либо в устойчивом стационарном, либо в устойчивом автоколебательном режимах. Переход между этими режимами осуществляется через бифуркацию Андронова—Хопфа и может возникать при варьировании как скорости транскрипции α , так и коэффициента кооперативности n [3]. При этом существует критическое значение $n^* \equiv 2$, такое, что при $n \leq n^*$ колебания отсутствуют при любых значениях α . Коэффициент кооперативности n характеризует кинетику ингибирования, и при достаточно больших его значениях во временном ряду можно чётко выделить интервал деградации — экспоненциальное затухание при высоком уровне ингибитора и, соответственно, низком уровне транскрипции с гена. При этом колебания имеют релаксационный характер и амплитуду порядка α (см. рис. 1 δ). При малых n релаксационный характер теряется, и амплитуда в меньшей степени зависит от α (см. рис. 1a).

2.2. Репрессилятор под воздействием аутоиндуктора

Предположим теперь, что значения α и n таковы, что в системе присутствует устойчивый предельный цикл, но с небольшой амплитудой. Рассмотрим эволюцию фазовых траекторий при



Рис. 1. Временны́е развёртки концентраций белка *B* и функции $\alpha/(1+P^n)$, где P = A — концентрация ингибитора. Значения параметров на панели (*a*) $\alpha = 40$, n = 2,2 (отсутствует релаксационный характер колебаний, нельзя чётко выделить интервалы активации и деградации); (*b*) — $\alpha = 40$, n = 3,3 (можно чётко выделить интервал активации, занимающий одну третью часть периода)

777



Рис. 2. Однопараметрическое продолжение предельного цикла и стационарного состояния: демонстрируется сосуществование предельного цикла и устойчивого стационарного состояния при малой амплитуде колебаний. Сплоппные участки чёрной линии соответствуют устойчивому стационарному состоянию, штриховые — неустойчивому, знаком «×» обозначены бифуркации седло—узел (LP), знаком « \blacksquare » — бифуркации седло—узел (LP), знаком « \blacksquare » — бифуркации Андронова— Хопфа (AHB). Продолжение предельного цикла представлено серыми кривыми, обозначающими максимум и минимум концентрации белка *B*. Значения параметров $\alpha = 20$; n = 3,3; $k_{s1} = 0,5$; $k_{s0} =$ $= \eta = 10$

изменении уровня влияния аутоиндуктора, определяемого параметром κ . Стоит упомянуть, что в реальных биологических системах процессы, связанные с синтезом аутоиндуктора, обычно протекают быстрее процессов синтеза белков, поэтому сначала обратим внимание на случай быстрого аутоиндуктора.

При наличии в системе обратной связи белок B играет двоякую роль: во-первых, ингибирует транскрипцию с гена c и, соответственно, подавляет синтез белка C; во-вторых, в условиях данной математической модели, активирует производство аутоиндуктора, тем самым активируя синтез белка C. Это приводит к появлению двух разнонаправленных воздействий аутоиндуктора, эффект которых целесообразно рассмотреть в зависимости от параметра κ , характеризующего уровень активации аутоиндуктором синтеза белка C.

Увеличение степени влияния аутоиндуктора приводит к уменьшению амплитуды колебаний и при некотором критическом значении $\kappa_{\rm HB}$ — к исчезновению предельного цикла через бифуркацию Андронова—Хопфа (см. рис. 2) ¹. Это вызвано в первую очередь тем, что активация аутоиндуктором транскрипции с гена *с* происходит практически одновременно с ингибированием со стороны белка *B*. Вследствие этого с увеличением параметра κ увеличивается временно́й интервал активации гена *с* и скорость транскрипции с гена на протяжении периода приближается к постоянному значению. Это приводит к выходу системы на устойчивое стационарное состояние, которое характеризуется малыми концентрациями всех трёх белков репрессилятора.

Увеличение воздействия аутоиндуктора приводит также к появлению устойчивого и неустойчивого стационарных состояний через седло-узловую бифуркацию. Устойчивое стационарное состояние соответствует случаю малой концентрации A и большой концентрации $B \sim \alpha$ и появляется за счёт двоякой роли белка B (даже при больших B, за счёт активации со стороны аутоиндуктора, концентрация белка C достаточна для полного ингибирования белка A). Неустойчивое стационарное состояние имеет три собственных числа с отрицательной действительной частью (два из которых являются комплексно-сопряжёнными) и является седло-фокусом. Трёхмерное устойчивое многообразие седло-фокуса является в данном случае границей между областями притяжения устойчивого предельного цикла и устойчивого стационарного состояния.

Таким образом, при малых амплитудах колебаний белков в системе наблюдается сосуществование устойчивого предельного цикла и устойчивого стационарного состояния на отрезке $\kappa \in [\kappa_{\text{LP}_1}, \kappa_{\text{HB}}]$. Кроме того, на отрезке $\kappa \in [\kappa_{\text{HB}}, \kappa_{\text{LP}_2}]$ рассматриваемая система функционирует в режиме триггера.

При увеличении скорости транскрищии α или коэффициента кооперативности n, амплитуда цикла возрастает, что приводит к появлению ещё одного качественного эффекта, вызывае-

 $^{^1}$ Параметрические продолжения выполнены с использованием пакета МАТСОNТ [18].



Рис. 3. Однопараметрическое продолжение стационарного состояния (сплошные и штриховые участки чёрной линии, левая шкала) и предельного цикла. Продолжение предельного цикла представлено серыми кривыми, обозначающими максимум и минимум концентрации белка *B* (серые сплошные линии, левая шкала), а также период колебаний (серые штриховые линии, правая шкала). Стационарные состояния и бифуркации седло—узел и Андронова—Хопфа обозначены так же, как на рис. 2, знаком « $\mathbf{*}$ » обозначены гомоклинические бифуркации (HomB), которые возникают при больши́х амплитудах предельного цикла и обусловлены приближением максимальных значений концентраций белков к неустойчивому стационарному состоянию. Значения параметров $\alpha = 150$; n = 3,3; $k_{s1} = 0,25$; $k_{s0} = \eta = 10$

мого аутоиндуктором. При продолжении предельного цикла по параметру κ , начиная с $\kappa = 0$, максимумы концентраций белков приближаются к значению, соответствующему неустойчивому стационарному состоянию. Это приводит к увеличению периода колебаний за счёт попадания фазовой точки в поле малых скоростей вблизи стационарного состояния (см. зависимость периода предельного цикла на рис. 3). При приближении параметра κ к некоторому критическому значению κ_{HomB1} период колебаний увеличивается до бесконечности. При $\kappa = \kappa_{\text{HomB}}$ одномерное неустойчивое многообразие, соединяющее седло-фокус и предельный цикл, становится гомоклинической траекторией и сливается с предельным циклом (см. рис. 46). При $\kappa > \kappa_{\text{HomB}}$ одномерное неустойчивое многообразие соединяют седло-фокус с устойчивым стационарным состоянием (см. рис. 46). При этом предельный цикл в системе отсутствует. Описанный переход от колебательного режима к стационарному носит название гомоклинической бифуркации. При дальнейшем увеличении параметра κ при некотором значении κ_{HomB2} наблюдается рождение предельного цикла через гомоклиническую бифуркацию (см. рис. 3, точка HomB2), обусловленное отмеченным выше уменьшением амплитуды колебаний при увеличении уровня воздействия аутоиндуктора и, как следствие, отдалением предельного цикла от неустойчивого стационарного состояния.

Таким образом, когда характерный временной масштаб аутоиндуктора меньше, чем у основной системы, увеличение степени влияния аутоиндуктора на систему приводит к снижению амплитуды колебаний и переходу от колебательного режима к стационарному через бифуркацию





Рис. 4. Особые фазовые траектории: предельный цикл до гомоклинической бифуркации (a); гомоклиническая траектория в момент гомоклинической бифуркации (b) и одномерное неустойчивое многообразие, соединяющее устойчивое и неустойчивое стационарные состояния (b). Чёрные точки соответствуют устойчивому стационарному состоянию, светлые — неустойчивому

Андронова—Хопфа. При этом система переходит к стационарному режиму, соответствующему низким концентрациям всех белков. При бо́льших амплитудах также возможен переход от колебательного режима к стационарному и обратно (через гомоклиническую бифуркацию). В случае бо́льших амплитуд система переходит к стационарному режиму, соответствующему больши́м значениям концентрации белка *B*.

2.3. Случай равных временных масштабов

Описанные выше переходы между колебательным и стационарным режимами обусловлены изменением амплитуды и появлением пары стационарных состояний. Ещё одно качественное изменение динамического поведения системы может быть вызвано изменением временно́го масштаба динамики аутоиндуктора. Выше значения параметров были таковы, что аутоиндуктор являлся быстрой переменной, и в некотором приближении можно было считать, что концентрация аутоиндуктора в каждый момент времени была пропорциональна концентрации белка B. Уменьшение параметров k_{s0} , k_{s1} и η приводит к тому, что характерные времена изменения концентраций белков и аутоиндуктора становятся сравнимыми, и основная система начинает быстрее реагировать на воздействие аутоиндуктора. При малых значениях параметров α и n однопараметрическое продолжение системы по параметру κ совпадает с ранее рассмотренным случаем быстрого аутоиндуктора, при увеличении α и n проявляется «точечное» воздействие аутоиндуктора.

Выше было отмечено, что увеличение степени воздействия аутоиндуктора приводит к уменьшению амплитуды колебаний системы. Здесь из-за быстрой реакции системы уменьшение амплитуды может происходить в узком временном интервале. При уменьшении амплитуды колебаний системы вследствие воздействия аутоиндуктора уменьшается и амплитуда колебаний самого аутоиндуктора, за этим следует увеличение амплитуды колебаний системы вследствие меньшей амплитуды колебаний аутоиндуктора, затем опять амплитуда колебаний уменьшается



Рис. 5. Однопараметрическое продолжение стационарного состояния (сплошные и штриховые участки чёрной линии) и предельного цикла по параметру к. Продолжение предельного цикла представлено серыми кривыми, обозначающими максимум концентрации белка B (серые линии в нижней части рисунка, левая шкала) и период колебаний T (серые линии в верхней части рисунка, правая шкала). Бифуркации удвоения периода (PD) обозначены символами «*». Значения параметров $\alpha = 65; n = 3,3; k_{s1} = 0,025; k_{s0} = \eta = 1$

и т. д. Вследствие указанного чередования величины амплитуд колебаний во временны́х рядах концентраций белков могут образоваться два локальных максимума. Фазовая точка возвращается в своё исходное положение за время, равное удвоенному периоду.

Приведённое выше качественное рассуждение, справедливое при сравнимых скоростях деградации аутоиндуктора и белков, подтверждается бифуркационным анализом, представленным на рис. 5. В момент бифуркации удвоения периода основной цикл теряет устойчивость и рождается новый цикл с периодом 2T. При дальнейшем увеличении параметра κ амплитуда колебаний системы глобально падает, поэтому имеет место и обратный переход — от удвоенного периода к одинарному (см. точку PD₂ на рис. 5).

В случаях ещё большей амплитуды колебаний (при бо́льших значениях α и n) описанный переход, связанный с удвоением периода, может повторяться несколько раз подряд. Например, при $\alpha = 150$ система переходит от периода T к периоду 2T, затем — к периоду 4T и затем — в обратном порядке (см. рис. 6).

Немаловажно отметить, что бифуркация удвоения периода приводит к локальному (между точками бифуркаций удвоения периода) увеличению амплитуды колебаний относительно основного продолжения. При этом предельный цикл приближается к неустойчивому стационарному состоянию ². Существует критическое значение α , при котором увеличение параметра κ приводит к гомоклинической бифуркации предельного цикла с удвоенным периодом (см. рис. 7). Вследствие этого гомоклинические бифуркации могут присутствовать не только на основном

 $^{^2}$ Стоит отметить, что совпадение, например, на рис. 5, максимума концентрации белка и стационарного значения концентрации не означает «столкновения» предельного цикла и стационарного состояния в трёхмерном пространстве, а означает лишь их близость



Рис. 6. Однопараметрическое продолжение предельного цикла и стационарного состояния. Предельный цикл, стационарное состояние, бифуркации удвоения периода, седло—узел и Андронова— Хопфа представлены так же, как на рис. 5. Гомоклинические бифуркации (HomB) обозначены отрезками толстой штриховой линии. Увеличение параметра α приводит к повторному удвоению периода предельного цикла. В точке PD₁ теряет устойчивость основной предельный цикл и рождается новый цикл с периодом 2T; в точке PD₃ теряет устойчивость предельный цикл с удвоенным периодом и рождается предельный цикл с периодом 4T. В точках PD₄ и PD₂ имеет место обратный переход. Как и в случае «быстрого» аутоиндуктора, при бо́льших α основной предельный цикл два раза претерпевает гомоклиническими бифуркацию (точки HomB₁ и HomB₂), при этом между последовательными гомоклиническими бифуркациями единственным устойчивым аттрактором является устойчивое стационарное состояние. Значения параметров $\alpha = 150$; n = 3,3; $k_{s1} = 0,025$; $k_{s0} = \eta = 1$

продолжении предельного цикла (см. например рис. 6), но и на продолжении предельного цикла с удвоенным периодом (см. рис. 7).

С увеличением параметра α число возникающих подряд бифуркаций удвоения периода устремляется к бесконечности, а последовательность бифуркационных значений параметра κ к некоторому критическому значению κ^* . Таким образом, возникает каскад Фейгенбаума, и при критическом значении κ^* система переходит к хаосу (например, при $\alpha = 200$ существует отрезок хаотической динамики между точками PD₇ и PD₈ на рис. 7). Однако интервалы значений параметра κ , на которых система демонстрирует хаотическое поведение, малы по сравнению с интервалами регулярной динамики. Кроме того, старший ляпуновский показатель мал, что говорит о слабом хаосе, который не представляет большого интереса.

3. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Показано, что в модели простого кольцевого осциллятора, демонстрирующего автоколебательное поведение в очень широком диапазоне управляющих параметров, возникает сложная мультистабильная динамика, если добавить к циклическому ингибированию соседей одну активирующую обратную связь. Такая связь обусловлена производством сигнальной молекулы, синтезируемой под контролем того же промотора, что и один из генов цепочки, и активирующей транскрипцию соседнего гена. В модели качественно реализовано столкновение ингибирующего



Рис. 7. Однопараметрическое продолжение предельного цикла. Сплошные линии соответствуют устойчивому предельному циклу, пунктирные — неустойчивому, обозначения бифуркаций такие, как на рис. 6. Увеличение амплитуды предельного цикла с удвоенным периодом приводит к гомоклиническим бифуркациям на продолжениях предельных циклов с периодами 2T, 4T и т. д. Таким образом, появляются дополнительные интервалы параметра κ , на которых устойчивый предельный цикл отсутствует и единственным аттрактором является устойчивое стационарное состояние. Значения параметров $\alpha = 200$; n = 3,43; $k_{s1} = 0,025$; $k_{s0} = \eta = 1$

и активирующего воздействий на один нелинейный элемент контура.

Рассмотрены два режима функционирования репрессилятора, различающихся соотношением характерных времён изменения концентраций аутоиндуктора и белков основного кольца. В случае «быстрого» аутоиндуктора основным эффектом от введения сигнальных молекул является появление устойчивого стационарного состояния с высокой концентрацией белка, промотор которого совпадает с промотором для гена-производителя аутоиндуктора. Это стационарное состояние сосуществует с предельным циклом в широкой области управляющих параметров; сепаратрисой является неустойчивая ветвь стационарного состояния. Важно отметить это обстоятельство, поскольку сосуществование устойчивого цикла и стационарного состояния обычно связывается с рождением цикла в субкритической бифуркации Андронова—Хопфа, например, в исследовании динамики нейрона [19].

С увеличением скорости транскрипции амплитуда предельного цикла растёт, и он испытывает бифуркации бесконечного периода при изменении скорости активации гена-мишени, зависящей от аутоиндуктора. При относительно малых скоростях этой активации цикл «налипает» на стационарное состояние и происходит гомоклиническая бифуркация (точка HomB₁ на рис. 3), которая встречается в литературе [20, 21]. При росте активности аутоиндуктор уменьшает амплитуду цикла в рассматриваемом контуре, и, как только амплитуда станет меньше размера сепаратрисы, появляется ещё одна гомоклиническая бифуркация (точка HomB₂ на рис. 3) внутри области устойчивости стационарного состояния. Насколько нам известно, такая динамика не является типичной для образования гомоклинических структур.

Если концентрации белков и аутоиндуктора изменяются на близких характерных временах, то динамика становится ещё более разнообразной, т. к. с ростом активности аутоиндуктора предель-

ный цикл испытывает бифуркации удвоения периода, число которых растёт с ростом амплитуды цикла за счёт усиления транскрипции. На устойчивых ветвях продолжения предельных циклов с удвоенным, учетверённым и т. д. периодами возникают гомоклинические бифуркации, и вся область по управляющему параметру κ разбивается на отрезки, где устойчивым является только стационарное состояние (рис. 7).

Набор динамических режимов и их чередование весьма устойчивы по отношению к изменениям параметров модели. Зафиксируем значения параметров $\alpha = 100$; n = 3,3, $k_{s1} = 0,25$, $k_{s0} = \eta = 10$ и рассмотрим интервалы изменения каждого из них, на которых сохраняются динамические режимы, рассмотренные выше. Сосуществование предельного цикла с устойчивым стационарным состоянием присутствует при $\alpha > 7$, n > 2,5, $k_{s1} < 0,4$, $0 < k_{s0} + \eta$. При уменьшении параметров k_{s1} , k_{s0} и η до значений 0,025, 1 и 1 соответственно, на продолжениях по параметру κ появляются бифуркации удвоения периода. Такие переходы сохраняются при $\alpha > 27$, n > 3, $k_{s1} < 0,15$, $0,3 < k_{s0} + \eta < 3,5$. Таким образом, рассмотренные в настоящей работе динамические режимы и бифуркации существуют в широком диапазоне управляющих параметров, и для демонстрации таких режимов в реальных экспериментах не требуется точная настройка.

Рассмотренная в настоящей работе модель представляет собой редуцированную версию синтетического генетического осциллятора. Полная 7-мерная модель (уравнения (1)-(3)) репрессилятора с обратной связью была теоретически изучена ранее [14]. В полной модели кинетика концентраций всех мРНК не предполагается очень быстрой, что приводит к появлению дополнительных временны́х масштабов в системе, а также переходных процессов, оказывающих существенное влияние на динамическое поведение. Основное отличие динамического поведения полной системы от редуцированной заключается в том, что в первой системе имеет место нерегулярная динамика в широком диапазоне параметров. Также в полной системе наблюдается чередование хаотического поведения с регулярными колебаниям с нечётными периодами 3, 5, 7, ..., — и фазовая мультистабильность, выраженная сосуществованием двух или трёх предельных циклов, а также предельного цикла с хаотическим аттрактором. Указанные режимы могут теоретически присутствовать и в редуцированной модели, однако параметрические интервалы их существования настолько малы, что на практике их наблюдение не представляется возможным.

Генетические схемы, в которых ингибирующие и активирующие влияния на скорость транскрипции сосредоточены на одном и том же гене, вполне ожидаемы в реальных процессах регуляции экспрессии генов и уже рассматривались в литературе. Например, в работе [20] рассмотрен вариант репрессилятора с дополнительной ингибирующей связью между двумя соседними генами, которая действует в направлении, обратном основному направлению ингибирования в контуре репрессилятора. Усиление воздействия такой связи на систему приводит к росту амплитуды колебаний, сосуществованию предельного цикла и устойчивого стационарного состояния и гомоклинической бифуркации. В работе [21] рассмотрен класс осцилляторов, состоящих из трёх элементов и имеющих топологию кольца с одной дополнительной связью, а также приведены примеры существования осцилляторов такого типа в реальных генетических сетях. Показано, что для схем такого класса характерными динамическими режимами являются бистабильность и гомоклиническая бифуркация. Таким образом, модель, рассмотренная в данной работе, при небольших значениях параметра связи основного контура и аутоиндуктора схожа с известными моделями трёхэлементных генетических осцилляторов с дополнительной связью по зависимости динамического поведения от параметра связи. Однако данная модель отличается вторым переходом через гомоклиническую бифуркацию и триггерным режимом, а также бифуркациями удвоения периода. Схожесть осциллятора, рассмотренного в настоящей работе, с осцилляторами из работы [21] позволяет предполагать наличие таких осцилляторов в реальных генетических сетях.

Редуцированная модель была использована для построения электронной версии репрессилятора [7] и в настоящее время дополнена аналоговым блоком, имитирующим обратную связь [16]. Получены первые результаты, показывающие согласие между численными и аналоговыми исследованиями. Отметим, что исследование синтетических генетических схем может дать рекомендации для разработки электронных контуров, демонстрирующих важные для приложений мультистабильные динамические режимы.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проекты 12–02–00529-а и 11–01–00392-а) и фонда «Династия».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. Elowitz M., Lim W. A. // Nature. 2010. V. 468, No. 7326. P. 889.
- 2. Hasty J., McMillen D., Collins J. J. // Nature. 2002. V. 420, No. 6912. P. 224.
- 3. Elowitz M. B., Leibler S. // Nature. 2000. V. 403, No. 6767. P. 335.
- 4. Eldar A., Elowitz M. B. // Nature. 2010. V. 467, No. 7312. P. 167.
- 5. Simpson M. L., Cox C. D., Peterson G. D., et al. // Proc. IEEE. 2004. V. 92, No. 5. P. 848.
- 6. De Rubertis G., Davies S. W. // IEEE Trans. NanoBioscience. 2003. V. 2, No. 4. P. 239.
- 7. Hellen E. H., Volkov E., Kurths J., et al. // PloS One. 2011. V. 6, No. 8. Art. no. e23286.
- 8. Mandal M. K., Sarkar B. C. // Indian J. Pure Appl. Phys. 2010. V. 48. P. 136.
- 9. Müller S., Hofbauer J., Endler L., et al. // J. Math. Biology. 2006. V. 53, No. 6. P. 905.
- 10. McMillen D., Kopell N., Hasty J., et al. // Proc. Nat. Acad. Sci. 2002. V. 99, No. 2. P. 679.
- Garcia-Ojalvo J., Elowitz M. B., Strogatz S. H. // Proc. Nat. Acad. Sci. 2004. V. 101, No. 30. P. 10955.
- 12. Waters C. M., Bassler B. L. // Ann. Rev. Cell Dev. Biol. 2005. V. 21. P. 319.
- 13. Потапов И. С., Волков Е. И. // Компьютерные исследования и моделирование. 2010. С. 403.
- 14. Potapov I., Zhurov B., Volkov E. // Chaos. 2012. V. 22, No. 2. Art. no. 023117.
- 15. Buse O., Perez R., Kuznetsov A. // Phys. Rev. E. 2010. V. 81, No. 6. Art. no. 066206.
- 16. Hellen E. H., Dana S. K., Zhurov B., et al. // PloS One. 2013. V. 8, No. 5. Art. no. e62997.
- 17. Ullner E., Zaikin A., Volkov E. I., et al. // Phys. Rev. Lett. 2007. V. 99, No. 14. Art. no. 148103.
- 18. Dhooge A., Govaerts W., Kuznetsov Yu. A., et al. MATCONT and CL MATCONT: Continuation toolboxes in Matlab. 2006.
- 19. Guttman R., Lewis S., Rinzel J. // J. Physiology. 1980. V. 305, No. 1. P. 377.
- 20. Li W., Krishna S., Pigolotti S., et al. // J. Theoretical Biology. 2012. V. 307. P. 205.
- 21. Tyson J. J., Novak B. // Ann. Rev. Phys. Chemistry. 2010. V. 61. P. 219.

Поступила в редакцию 23 апреля 2013 г.; принята в печать 31 октября 2013 г.

DYNAMIC BEHAVIOR OF ISOLATED REPRESSILATOR WITH FEEDBACK

E. I. Volkov and B. A. Zhurov

Dynamic behavior of the model describing the literature-known synthetic genetic oscillator (repressilator), which is constructed as a three-gene ring, is studied by the methods of numerical analysis of bifurcations. The protein products of each gene inhibit activity of the subsequent neighbor gene, which ensures the limit-cycle existence. One feedback caused by production of the signal molecules activating expression of a ring gene is added to the repressilator ring. Such a system of four ordinary

differential equations is shown to demonstrate diversified and unusual multistable behavior, i.e., coexistence of the stable limit cycle and stable stationary state. Homoclinic saddle-node bifurcations occur on the parameter-interval boundaries where such a coexistence is observed. The number of homoclinic transitions increases with increasing cycle amplitude, if the characteristic times of the protein and signal-molecule dynamics converge. In this case, the limit cycle undergoes forward and backward period-doubling bifurcations.