

## **ДИНАМИКА ВОЗРАСТНОГО РАСПРЕДЕЛЕНИЯ КЛЕТОЧНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ**

**Минкевич И.Г.**

(Пушино)

Изучена распределенная модель непрерывной культуры микроорганизмов, описывающей влияние концентрации субстрата на возрастную структуру популяции в переходных процессах. Показано, что эти процессы носят колебательный характер, который не отражен в аналогичной сосредоточенной модели. В то же время распределенная модель сохраняет некоторые важные свойства сосредоточенной – временной масштаб переходных процессов и существование седловой точки на плоскости «клетки-субстрат». Выявлен феномен синхронизации культуры без изменения формы возрастного распределения клеток.

## **THE DYNAMICS OF AGE DISTRIBUTION OF CELLULAR POPULATIONS**

**Minkevich I.G.**

(Pushchino)

A distributed model of continuous microbial culture has been studied that describes the effect of substrate concentration on the population age structure during transients. Oscillatory behavior of these processes has been shown which is not inherent to the corresponding lumped model. Yet the distributed model retains some important features of the lumped model, viz., the time scaling of transients and the existence of saddle point on the plane “cells-substrate”. A phenomenon of culture synchronization at constant form of age distribution has been found.

Объект исследования – культура микроорганизмов, растущая в проточных хорошо перемешиваемых условиях в режиме хемостата [1]. Подавляющее большинство математических моде-

лей, описывающих такой объект, являются «сосредоточенными» – они используют аппарат обыкновенных дифференциальных уравнений (ОДУ). Вектор переменных включает в себя концентрацию биомассы или числа клеток и как минимум одну концентрацию какого-то источника питания, чаще всего компонента среды. Такой подход отражает взаимодействие популяции и среды, их влияние друг на друга.

Недостаток подобных моделей – резкое снижение их эффективности при необходимости учета физиологической гетерогенности клеток (различия по возрасту, размеру, внутриклеточному содержанию различных веществ).

Для описания таких свойств более эффективен другой подход – распределенные модели, которые используют для описания популяции функции распределения числа клеток по возрастам и другим переменным, описывающим неоднородность популяции. В данной работе мы даем сравнительный анализ простейшей сосредоточенной и простейшей распределенной моделей, описывающих поведение системы «популяция–среда». Такое сравнение необходимо как основа для понимания свойств распределенной модели.

Сосредоточенная модель культуры в безразмерной форме имеет вид [2]

$$\frac{dx}{dt} = ar(s)x - x \quad (1)$$

$$\varepsilon \frac{ds}{dt} = b[-ar(s)x + 1 - \varepsilon s] \quad (2)$$

Обозначения:  $x$  и  $s$  – концентрации биомассы и субстрата, влияющего на рост,  $r(s)$  – удельная скорость потребления субстрата, величины  $a$  и  $b$  связаны со скоростью подачи среды и физиологическими характеристиками клеток. Множитель при производной  $\frac{ds}{dt}$  равен  $\varepsilon = \frac{K_S}{S_0}$  – отношению размерной кон-

станты насыщения к размерной концентрации субстрата в подаваемой среде. Обычные значения  $K_S$  и  $S_0$  таковы, что  $\varepsilon \ll 1$ . Это важная особенность данной модели, которая, как правило,

не учитывалась в таких работах. Представляет интерес следующая форма  $r(s)$ , которая при  $\kappa \neq 0$  описывает субстратное ингибирование роста:

$$r(s) = \text{const} \times \frac{s}{1 + s + \kappa s^2} \quad (3)$$

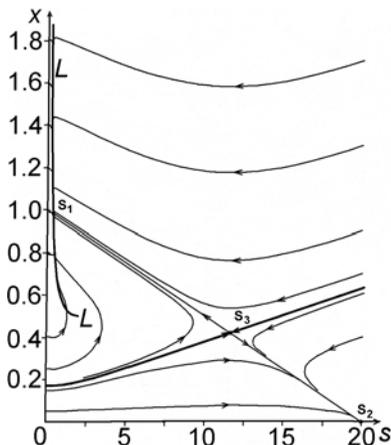


Рис. 1. Фазовый портрет динамической системы (1)–(2). S1 и S2 – устойчивые узлы, S3 – седло, L – линия медленного движения.

Отметим качественные особенности поведения сосредоточенной модели (1)–(2) (см. рис. 1):

1) отсутствие каких-либо колебательных свойств, что доказывается для системы второго порядка с такими правыми частями в общем виде;

2) ярко выраженное временное масштабирование переходных процессов. Переменная  $s$  – быстрая до тех пор, пока процесс не выходит на линию медленного движения L. На этой линии, согласно теореме Тихонова, уравнение (2) переходит в алгебраическое:

$$\varepsilon \frac{ds}{dt} \approx 0 \quad ar(s)x \approx 1 \quad (4)$$

Второе из этих равенств означает постоянство объемной скорости потребления субстрата на линии медленного движения.

Далее будет показано, что второе свойство сохраняется в соответствующей распределенной модели, а первое, напротив, меняется на противоположное.

Распределенная модель (безразмерная форма), учитывающая неоднородность популяции по возрастам, имеет вид [3]:

$$\frac{\partial n}{\partial t} + \frac{\partial n}{\partial \tau} = -[W(s, \tau) + 1]n(t, \tau) \quad (4)$$

$$n(0, t) = 2 \int_0^{\infty} W(s, \tau) n(\tau, t) d\tau \quad (5)$$

$$n(\tau, 0) = G(\tau) \text{ — известная функция} \quad (6)$$

$$\varepsilon \frac{ds}{dt} = -\rho(s) \int_0^{\infty} n(\tau, t) d\tau + 1 - \varepsilon s \quad (7)$$

$$s(0) = \text{известное значение} \quad (8)$$

$$W(s, \tau) = A\Theta(\tau - T(s)) \quad (9)$$

$$\rho(s) = \frac{s}{1 + s + \kappa s^2} \quad (10)$$

Обозначения:  $t$  — время,  $\tau$  — возраст клетки,  
 $n(\tau, t)$  — функция распределения концентрации числа клеток по возрастам  $\tau$  в момент  $t$ ,  $s(t)$  — концентрация субстрата,  
 $W(s, \tau)$  — удельная скорость деления клеток,  $\Theta(\tau - T(s))$  — ступенчатая функция ( $\Theta = 0$  при  $\tau < T(s)$ ,  $\Theta = 1$  при  $\tau \geq T(s)$ ).  
 $T(s(t))$  — возраст клеток, при котором они в данный момент времени становятся способными к делению и с увеличением возраста делятся со скоростью  $A = const$ .  
 $\rho(s)$  — удельная скорость потребления субстрата.

Отличия от сосредоточенной модели: а) вместо ОДУ (1) стоит уравнение Мак-Кендрика–Фон-Ферстера в частных производных (4); б) имеется краевое условие (5), описывающее деление клеток; в) начальное условие для концентрации клеток име-

ет более сложный вид (6), чем для ОДУ. Новизна этой распределенной модели: ■ прежде изучалась динамика возрастного распределения без учета влияния среды на клетки и клеток на среду; здесь записана совокупность уравнений для системы «клетки–среда». ■  $W(s, \tau)$  взята в виде ступенчатой функции по  $\tau$ .

При анализе результатов использованы величины:  
 $N(t) = \int_0^{\infty} n(\tau, t) d\tau$  – общая численность популяции,  
 $v(\tau, t) = n(\tau, t)/N(t)$  – функция распределения по возрастам, нормированная на единицу:  $\int_0^{\infty} v(\tau, t) d\tau \equiv 1$ . Величина  $v(0, t)$  характеризует долю новорожденных клеток в возрастном составе популяции.

Вероятность деления клеток описывается функцией  $P(\tau) = Ae^{-A(\tau-T)}\Theta(\tau-T)$ . На рис. 2 показана  $P(\tau)$  при малом ( $A=50, AT=10$ ) и большом ( $A=5, AT=1$ ) разбросе возрастов деления (в обоих случаях  $T=0,2$ ). Средний возраст деления для этой функции распределения равен  $T + 1/A$ , среднее квадратичное отклонение этих возрастов равно  $1/A$ . Параметр  $\alpha = AT$  характеризует отношение периода роста без деления к разбросу возрастов деления.

Согласование скоростей потребления субстрата и деления клеток взято из условия, что по прошествии  $\tau = T + 1/A$  масса клеток должна возрасти вдвое. Отсюда

$$T(s) = T_0 + \frac{T_1}{s} + T_2 s, \text{ где } T_1 = \left(1 + \frac{1}{\alpha}\right)T_0, T_2 = \kappa \left(1 + \frac{1}{\alpha}\right)T_0 \quad (11)$$

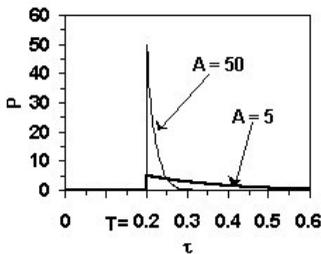


Рис. 2. Зависимость вероятности деления клеток от возраста (см. текст).

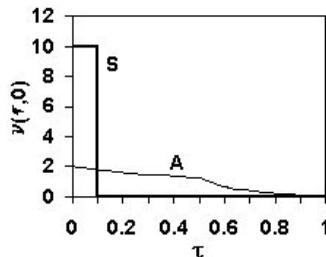


Рис. 3. Синхронное (S) и асинхронное (A) начальное возрастное распределение клеток

Стационарная форма возрастного распределения имеет вид [3]:

$$v^{st}(\tau) = 2 \exp[-\tau - A(\tau - T(s))\Theta(\tau - T(s))] \quad (12)$$

то есть состоит из двух экспонент, непрерывно сшитых при  $\tau = T(s)$ . Излом производной  $v^{st}(\tau)$  в этой точке связан с разрывной формой  $W(\tau)$  (ступенчатая функция). Зависимость (12) соответствует максимально возможному разбросу клеток по возрастам. Отклонение  $v(\tau, t)$  от формы, описываемой (12), а именно, преобладание какой-то возрастной группы в популяции, означает наличие так называемой возрастной синхронности популяции [4]. Культуру принято называть синхронной, если  $v(\tau, 0)$  имеет форму узкого пика. Распределение (12) будем называть асинхронным (см. рис. 3).

Ниже приведены результаты численного решения уравнений распределенной модели при следующих значениях параметров:  $\varepsilon = 0,001$ ,  $T_0 = 0,2$ ,  $\alpha = 1, 5$  или  $10$ ,  $\kappa = 0$  или  $0,005$ . В качестве начального возрастного распределения  $v(\tau, 0) = G(\tau)/N(0)$  принимались две функции от  $\tau$ , одна из которых имела вид (12) (асинхронная культура), а другая задавалась следующим образом:  $v(\tau, 0) = 10$  при  $0 < \tau < 0,1$ ,  $v(\tau, 0) = 0$  при  $\tau > 0,1$  (синхронная культура). Обе функции  $v(\tau, 0)$  показаны на рис. 3.

Как показало численное исследование, переходные процессы в микробной популяции носят колебательный характер. Это обусловлено существованием внутренней периодичности, а

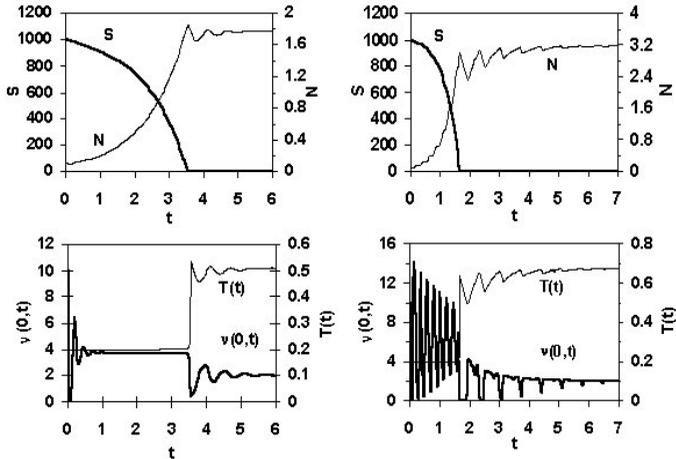
именно, естественной задержкой деления клеток в возрастном интервале от 0 до  $T$ . Колебания появляются, когда форма возрастного распределения отличается от установившейся [3], что означает наличие в начальный момент времени возрастной синхронности популяции. Затухание колебаний («расползание» синхронности) обусловлено разбросом возрастов деления.

На рис. 4 показано установление стационарного режима непрерывного роста при начальных концентрациях переменных  $N(0) = 0,1$ ,  $s(0) = 1000$ ; культура в начальный момент времени синхронизирована (см. выше). Субстратное ингибирование здесь отсутствует:  $K = 0$ . Колебания имеют место в концентрации субстрата (не видны на графике из-за малости амплитуды), в общей численности популяции, в доле новорожденных клеток  $\nu(0, t)$ . При высоких концентрациях субстрата  $T(s) \approx T_0 = const$ . При низких  $s$  значение  $T(s)$  резко возрастает и осциллирует вследствие колебаний  $s$ . Скорость затухания тем ниже, чем больше высота ступеньки  $A$  (чем меньше  $\alpha$ ).

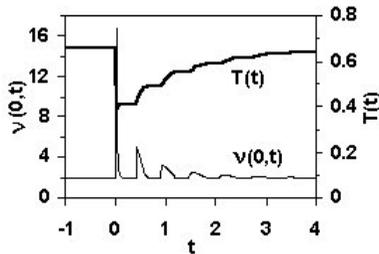
Представляют интерес две особенности популяции как колебательной системы, которые нехарактерны для «привычных» колебательных систем – увеличение амплитуды и изменение частоты колебаний после того, как безразмерная концентрация субстрата снижается до значений порядка 1 (размерная концентрация – до величины порядка константы насыщения скорости потребления субстрата).

При сильном затухании ( $\alpha = 1$ ) колебания вообще успевают прекратиться до такого снижения  $s$  и затем возбуждаются заново. Причиной является снижение  $s$ , вызывающее резкое увеличение внутреннего периода популяции  $T(s)$ . Из-за этого изменяется период колебаний. Кроме того, происходит новое для теории колебаний явление – быстрое изменение конфигурации стационарного возрастного распределения  $\nu^{st}(\tau)$ , соответствующего данным условиям роста (см. (12)), при малом изменении существующего возрастного состава популяции. Последнее приводит к тому, что степень отличия существующего на данный момент возрастного распределения от стационарного резко возрастает. В случае  $\alpha = 1$  возрастное распределение, имевшее

при  $t$  от 1 до 3,5 установившуюся форму ( $v(0,t)=const$ ,  $T(t)=const$ , см рис. 4), очень быстро становится нестационарным, практически не изменив свою форму. Это и есть причина вторичного возбуждения колебаний после довольно долгого периода постоянства  $v(0,t)$  и  $T$  (верхние графики рис. 4).



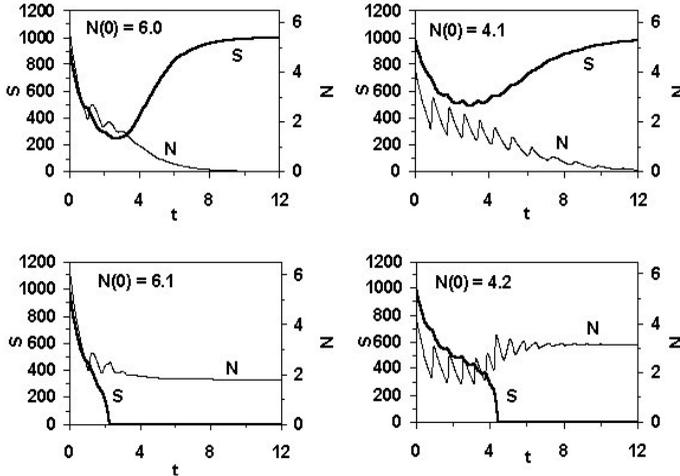
**Рис. 4.** Установление режима стационарного роста в хемостате из исходного состояния культуры, синхронизованного по возрастам. Левые графики:  $\alpha=1$ . Правые:  $\alpha=10$ .



**Рис. 5.** Переходный процесс после скачкообразного увеличения концентрации подаваемого субстрата вдвое.

Аналогичное явление – появление синхронности у асинхронной культуры – имеет место при смене подаваемой среды на другую, в которой концентрация субстрата выше, чем в первой. Тогда происходит резкое увеличение концентрации суб-

страта в клеточной суспензии, приводящее к столь же резкому уменьшению  $T(s)$  и интенсификации деления клеток. Затем синхронность затухает (рис. 5).

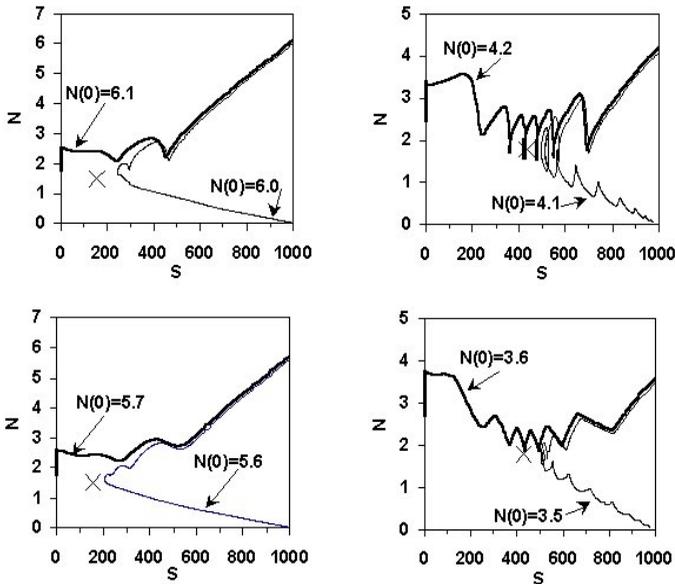


**Рис. 6.** Динамика культуры вблизи «сепаратрисы» при синхронном начальном возрастном распределении  $\nu(\tau, 0)$ . Левые графики – большой разброс возрастов деления ( $\alpha = 1$ ), Правые – малый разброс ( $\alpha = 10$ ). В обоих случаях сверху показано вымывание культуры, внизу – выход культуры на стационарный режим роста в хемостате. Везде  $s(0) = 1000$ ,  $N(0)$  указано на графиках.

Сосредоточенная модель популяции клеток показывает наличие седла в случае, когда субстрат оказывает ингибирующее действие на рост при высоких значениях  $s$  (рис. 1). Аналогичное свойство имеет место и у распределенной модели. Аналогом фазовой плоскости в этом случае является плоскость переменных  $\{N, s\}$ . Линии, описываемые кривыми  $N(t)$  и  $s(t)$  на этой плоскости, служат аналогами фазовых траекторий, но не являются ими в строгом смысле слова, так как совокупность переменных  $\{N, s\}$  не дает полного описания состояния системы. В качестве «сепаратрисы» можно рассматривать совокупность точек  $N_s(s)$  на плоскости  $\{N, s\}$ , таких, что при выборе начальных условий при одном и том же  $s$ , но при  $N$  несколько большем или меньшем  $N_s(s)$  кривые  $\{N(t), s(t)\}$  в конечном счете

сильно расходятся.

Расхождение трендов поведения популяции во времени видно на рис. 6. Рисунок 7 изображает те же зависимости на плоскости  $\{N, s\}$ , то есть в форме, аналогичной фазовому портрету сосредоточенной динамической системы. Данные, представленные на рис. 7, позволяют определить положение одной точки «сепаратрисы» – при  $s(0) = 1000$ .

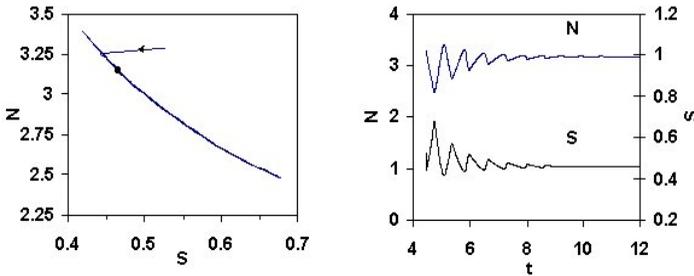


**Рис. 7.** Траектории установления стационарных состояний популяции клеток, проходящие вблизи «сепаратрисы». Показано по две траектории, одна из которых выводит систему в режим стационарного роста ( $N \neq 0$ ), а другая приводит к вымыванию культуры ( $N = 0$ ). Начальные состояния – верхний правый угол графиков. Левые графики – большой разброс возрастов деления ( $\alpha = 1$ ), Правые – малый разброс ( $\alpha = 10$ ). Начальное возрастное распределение сверху синхронное, внизу асинхронное, соответствующее в обоих случаях установившемуся режиму седловой точки. Место седла указано косым крестом. Везде  $s(0) = 1000$ ,  $N(0)$  указано на графиках.

Эта точка находится между значениями  $N(0)$ , указанными на графиках. Ее положение относительно слабо зависит от сте-

пени синхронности начального возрастного распределения, и в гораздо большей степени от разброса возрастов деления. Траектории имеют сложную самопересекающуюся форму, поскольку данная система имеет размерность не второго порядка (в классическом понимании динамической системы как объекта, описываемого ОДУ), а бесконечного порядка.

Важной особенностью всех графиков рис. 7 является то, что приближение к режиму стационарного роста ( $N \neq 0$ ) происходит вдоль линии медленного движения (ЛМД). Существование ЛМД выводится из уравнения (7) на основании рассуждений, аналогичных теореме Тихонова для ОДУ. Уравнение ЛМД:  $\rho(s)N \approx 1$ . Эта часть траекторий расположена очень близко к оси ординат. Для одного из четырех случаев, представленных на рис. 7, она изображена в увеличенном масштабе на рис. 8. Из него видно, что траектория входит в ЛМД горизонтально (из-за разного масштаба скоростей изменения  $s(t)$  и  $N(t)$ ), а затем обходит отрезок ЛМД, совершая колебания вокруг стационарной точки. Прижатость траекторий к ЛМД является причиной того, что  $s(t)$  и  $N(t)$  колеблются в противофазе.



**Рис. 8.** Динамика популяции на линии медленного движения в случае малого разброса возрастов деления ( $\alpha = 10$ ) и синхронного начального возрастного распределения. Слева – траектория, приводящая систему к ЛМД и затем совершающая колебания в окрестности ЛМД. Точка – устойчивое стационарное состояние. Справа – поведение системы во временном представлении (близость к ЛМД или отклонение от нее здесь не видны).

Таким образом, распределенная модель, сохраняя некоторые качественные свойства сосредоточенной, обладает намного более разнообразным поведением.

**Литература.**

1. Перт С.Дж. Основы культивирования микроорганизмов и клеток. 1978, Москва: Мир. 331.
2. Minkevich I.G., Utkina L.I. Biotechnol. Bioeng. 1979. **21**(3): p. 357-391.
3. Minkevich, I.G., Abramychov A.Y. Bull. Math. Biol. 1994. **56**(5): p. 837-862.
4. Zeuthen, E., ed. Synchrony in Cell Division and Growth. 1964, Interscience Publ. NY.