

АВТОМАТИЗИРОВАННОЕ ПРОЕКТИРОВАНИЕ КЛЕТОЧНЫХ СИСТЕМ С ЗАДАНЫМИ СВОЙСТВАМИ

Жарков И. Д., Докукина И. В., Грачёва М. Е., Грачёв Е. А.

(Россия, Москва)

На основе минимизации функционала невязки для модели межклеточного перераспределения ионов кальция на различных входных воздействиях разработан алгоритм оценивания параметров клеточных систем. В качестве примера построены модели нескольких «логических элементов», действующих на основе ионообменных процессов.

Введение. Получение биологических систем с заданными особенностями поведения является одним из перспективных направлений биотехнологии. Особую важность приобретает не только воздействие на метаболизм отдельной клетки, но и создание клеточных комплексов, проявляющих устойчивое коллективное поведение.

В данной работе в качестве примера задачи, где возникает необходимость исследования таких клеточных комплексов, рассматриваются процессы перераспределения и транспорта Ca^{2+} в многоклеточных структурах с точки зрения выявления возможных логических свойств у системы взаимодействующих клеток. Экспериментально обнаруженные периодические колебания количества Ca^{2+} в цитозоле отдельных клеток [1] и распространение волны возбуждения Ca^{2+} между соседними клетками [2] позволяют надеяться на возможность реализации в многоклеточных системах сложных моделей поведения Ca^{2+} .

Описание модели. Рассмотрим на малом числе клеток (5 клеток) влияние различного числа щелевых контактов на перерас-

пределение Ca^{2+} в клетках, или, влияние различных значений величин коэффициентов связи между парами клеток на логические свойства процессов перераспределения Ca^{2+} в клеточной системе.

Пусть 5 клеток связаны между собой как показано на рис. 1. Количество щелевых контактов между парой клеток i и j зададим коэффициентом щелевой связи γ_{ij} . Матрица коэффициентов щелевой связи γ_{ij} предполагается симметричной. Рассматривалась следующая матрица коэффициентов:

$$\|\gamma_{ij}\| = \begin{pmatrix} 0 & \gamma_{12} & \gamma_{13} & \gamma_{14} & \gamma_{15} \\ \gamma_{12} & 0 & \gamma_{23} & \gamma_{24} & \gamma_{25} \\ \gamma_{13} & \gamma_{23} & 0 & 0 & \gamma_{35} \\ \gamma_{14} & \gamma_{24} & 0 & 0 & \gamma_{45} \\ \gamma_{15} & \gamma_{25} & \gamma_{35} & \gamma_{35} & 0 \end{pmatrix}$$

Нулевые значения коэффициентов γ_{34} и γ_{43} соответствуют отсутствию связи между клетками 3 и 4.

В представленной модели в качестве механизма распространения межклеточной волны, которая проявляется в увеличении количества Ca^{2+} в цитозоле клеток, рассматривается диффузия IP_3 через щелевые контакты. При этом внешняя стимуляция, приводящая к продукции IP_3 , может действовать только на клетки 1 и 2. В модели это изменение IP_3 задается функцией от времени

$$\text{для клеток, являющихся входами системы } J_{\text{synl}} = \begin{cases} 4 \sin(t), t < \pi \\ 0, t \geq \pi \end{cases}$$

при наличии внешнего воздействия и $J_{\text{synl}} = 0$ при его отсутствии.

Кроме того, в модель включается член, описывающий распад IP_3

$$[3] \text{ в каждой клетке: } J_{\text{deg}} = \frac{V_p \text{IP}_3 k_p}{k_p + \text{IP}_3}. \text{ В отсутствие этого члена}$$

уровни Ca^{2+} в клетках достигают нефизиологически больших зна-

чений с течением времени [2]. Значения всех параметров см. в табл. 1.

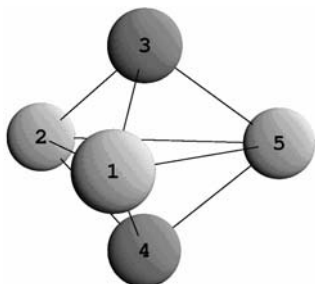


Рис. 1. Конфигурация меж-клеточных взаимодействий для 5 клеток. 1 и 2 – входные клетки, 5 – выходная клетка, 3 и 4 – промежуточные клетки, каждая из которых связана с обоими входами и выходом

Для описания внутриклеточных потоков в представленной работе используется так называемая минимальная модель [4] осциллирующий Ca^{2+} , в которой с помощью системы обыкновенных дифференциальных уравнений моделируется механизм Ca^{2+} -зависимого высвобождения Ca^{2+} из двух внутренних пулов Ca^{2+} : IP_3 -зависимого и IP_3 -независимого. В представленной работе вводится явная зависимость скорости высвобождения Ca^{2+} из IP_3 -зависимого пула от количества IP_3 в клетке.

Таким образом, межклеточное пере-распределение Ca^{2+} для двух клеток описывается следующей системой обыкновенных дифференциальных уравнений (параметры системы см. в табл. 1):

$$\begin{aligned} \frac{dCa_{cyt(i)}}{dt} &= k_{in} + k_{inIP_3} IP_{3(i)} - k_{out} Ca_{cyt(i)} + (k_{pool} Ca_{pool(i)} + \\ &+ k_{rel} \frac{Ca_{pool(i)}^2}{K_1^2 + Ca_{pool(i)}^2} \frac{Ca_{cyt(i)}^4}{K_2^2 + Ca_{cyt(i)}^4}) - k_{serca} \frac{Ca_{cyt(i)}^2}{K_3^2 + Ca_{cyt(i)}^2}, \\ \frac{dCa_{pool(i)}}{dt} &= k_{serca} \frac{Ca_{cyt(i)}^2}{K_3^2 + Ca_{cyt(i)}^2} - k_{rel} \frac{Ca_{pool(i)}^2}{K_1^2 + Ca_{pool(i)}^2} \frac{Ca_{cyt(i)}^4}{K_2^2 + Ca_{cyt(i)}^4}, \end{aligned}$$

$$\frac{dIP_{3(i)}}{dt} = J_{syn} - J_{deg} + \gamma_{ij}(IP_{3(j)} - IP_{3(i)}),$$

где индексы i и j обозначают номера клеток.

Типичные результаты моделирования для двух смежных клеток приведены на рис. 2. При концентрации IP_3 около 1 мкМ в первой клетке возникают осцилляции цитозольного Ca^{2+} . Поскольку концентрация IP_3 достигает нужного уровня во второй клетке позже, чем в первой, то и осцилляции цитозольного Ca^{2+} во второй клетке возникают после определенной временной задержки.

Таблица 1. Параметры модели

Обозначение	Значение	Обозначение	Значение
k_{in}	$1 \text{ мкМ} \cdot \text{с}^{-1}$	k_{out}	6 с^{-1}
k_{inIP_3}	1 с^{-1}	k_{pool}	1 с^{-1}
k_{rel}	$500 \text{ мкМ} \cdot \text{с}^{-1}$	k_{serca}	$65 \text{ мкМ} \cdot \text{с}^{-1}$
K_1	2 мкМ	K_2	0.9 мкМ
K_3	1 мкМ	V_p	0.01 с^{-1}
k_p	1 мкМ		

Задача построения логических элементов. Будем считать, что клетки 1 и 2 на рис. 1 подвергаются воздействию стимуляции, а выходной сигнал снимается с клетки 5 (рис. 1). При этом входной сигнал кодируется наличием (логическая 1) или отсутствием (логический 0) воздействия на клетку IP_3 .

Присвоим выходному сигналу значение «логическая 1», если в момент окончания действия первого импульса IP_3 ($t = 3.14$ сек для выбранной функции J_{syn}) количество цитозольного Ca^{2+} в клетке 5 превышает пороговое значение $Ca_{cvt}(\text{max}) = 1.5 \text{ мкМ}$, а «логический 0», если в тот же момент времени количество цито-

зольного Ca^{2+} в клетке 5 оказывается ниже порогового значения $\text{Ca}_{\text{cyt}}(\text{min}) = 0.2$ мкМ. В качестве пороговых концентраций выбраны значения, близкие к минимуму и максимуму значений концентрации Ca^{2+} , достигаемых при осцилляциях в цитозоле клетки в модели [4]. Другими словами, в качестве выхода логической системы используются мгновенные значения концентраций Ca^{2+} , что соответствует, скорее, не амплитуде, а фазе колебаний.

Описание применения генетического алгоритма. Для моделирования функциональных элементов на основе клеточной системы подбираются коэффициенты связи γ_{ij} между клетками. Для каждого из трех логических элементов «И», «ИЛИ», «исключающее ИЛИ» подбирался свой набор коэффициентов.

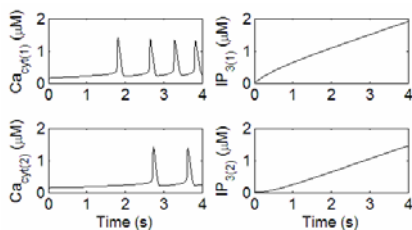


Рис. 2. Межклеточное перераспределение Ca^{2+} для двух клеток. Продукция IP_3 осуществляется только в первой клетке

Проблема построения системы с заданными свойствами формулировалась в виде задачи оптимизации функционала качества. Суть данного метода заключается в следующем: вводится целевой функционал, который показывает, насколько поведение системы соответствует желаемому. Его параметрами являются коэффициенты связи между клетками.

Для всех возможных значений входов системы суммируются квадраты расстояний между фактическим выходом системы и идеальным выходом. При совпадении поведения системы с желаемым данный функционал достигает минимально возможного (нулевого) значения. При такой постановке, задача построения целевой системы сводится к минимизации функционала. Различия

между желаемым и наблюдаемым поведением называется невязкой, соответственно минимизируемый функционал называется функционалом невязки.

Для всех комбинаций входов каждого логического элемента формируются идеальные (целевые) ответы. Например, для логического элемента «И» (см. табл. 2) функция требуемых (идеальных) ответов будет следующей: $Id_{And}(i, j) = 1.5$ мкМ, если $i = 1$, $j = 1$ и 0.2 мкМ - для любых других значений входных сигналов i и j . Можно написать функционал невязки вида:

$$F_{And}(\mathbf{k}) = \sum_{i=0,1} \sum_{j=0,1} (Ca_{цит(5)}(\mathbf{k}, i, j) - Id_{And}(i, j))^2$$
, где $Ca_{цит(5)}(\cdot)$ - концентрация цитозольного Ca^{2+} в выходной клетке в зависимости от вектора коэффициентов связи \mathbf{k} , и значений входных сигналов i и j . На коэффициенты связи накладывается ограничение $0 < k_i < 1$ и для построения модели логического элемента решается задача минимизации функционала $F_x(k_1, \dots, k_n)$ при условии $0 < k_i < 1$.

Таблица 2. Значения логических функций

	логическое И		логическое ИЛИ		исключающее ИЛИ	
	0	1	0	1	0	1
0	0	0	0	1	0	1
1	0	1	1	1	1	0

Предварительный анализ функций $F_x(k_1, \dots, k_n)$ дает большое количество локальных оптимумов, что говорит о необходимости использования методов глобального поиска субоптимальных решений. Среди подобных методов можно выделить метод поиска с эмуляцией отжига, впервые описанный в работе [5] и генетические алгоритмы, детальное исследование которых было проведено, например, в работе [6].

Для решения поставленной задачи использовались генети-

ческие алгоритмы. Они известны как более медленные, по сравнению с методом эмуляции отжига, но потенциально способны находить решения более высокого качества.

Генетические алгоритмы производят оптимизацию исследуемой функции на основе процесса, моделирующего биологическую эволюцию: выбирается некоторое количество точек в пространстве аргументов - они рассматриваются как набор «особей», образующих популяцию. Упорядоченная последовательность аргументов оптимизируемой функции рассматривается как «геном» некоторой «особи», в данном случае это набор коэффициентов целевой связи. На каждом шаге алгоритма моделируются три процесса: «мутация», «скрещивание» и «отбор». «Мутация» - это спонтанное изменение одного из параметров-«генов», составляющих «геном» каждой «особи». «Скрещивание» - случайный выбор пары «особей» («родителей») и обмен случайными участками «генома». «Отбор» - выбор наиболее приспособленных «особей», то есть, совокупностей аргументов, для которых достигаются значения функционала, более близкие к оптимуму, чем остальные. Существует большое разнообразие генетических алгоритмов, в которых варьируются конкретные процедуры для «скрещивания», «мутаций» и «отбора», вероятности различных событий, а также способы представления аргументов функции совокупностью «генов».

Таблица 3. Ответы моделей

	логическое И		логическое ИЛИ		исключающее ИЛИ	
	0	1	0	1	0	1
0	0.184	0.224	0.184	1.504	0.184	1.506
1	0.256	1.503	1.506	1.501	1.501	0.309

Для оптимизации функции ошибки системы на различных входных воздействиях, разработан следующий генетический алгоритм оценивания параметров клеточных систем. Сначала задается популяция из «особей» x_1, \dots, x_n , представленных векторами коэффициентов целевой связи.

На каждой итерации для каждого x_i выбираются случайные целые числа a , b и c , и строится партнер $y_i = x_a + \delta(x_b - x_c)$, где δ - масштабный фактор. Затем x_i скрещивается с y_i , в соответствии с вероятностью скрещивания (вероятность, что «ген» будет взят из x_i), что дает «потомка» z_i . Далее x_i «соревнуется» с z_i за право занимать позицию x_i в популяции – на позиции i остается вектор параметров, при котором достигается меньшее значение функционала невязки.

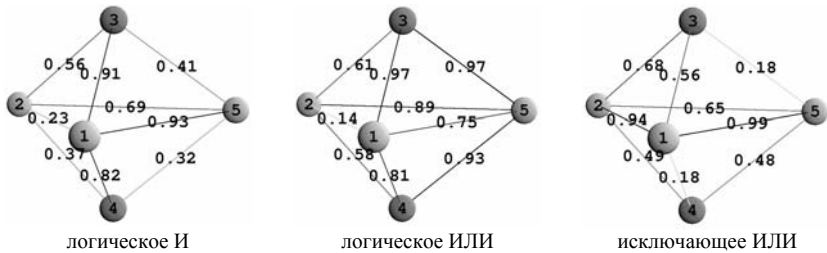


Рис. 3. Три набора коэффициентов щелевой связи. Поведение каждой из трех систем можно интерпретировать как работу логических элементов

После смены нескольких поколений в качестве решения берется совокупность параметров, доставляющая исследуемому функционалу минимальное из наблюдавшихся результатов значение. Найденная таким образом точка в пространстве параметров корректируется далее с помощью локальных методов поиска оптимума.

В данной работе объем популяции n составляет 50 «особей», значение масштабного фактора δ равно 0.6, а вероятность скрещивания - 0.5. Для решения поставленной задачи поиска удовлетворительных субоптимальных решений требуется от 10 до 20 поколений описанного генетического алгоритма.

Результаты. Наборы коэффициентов щелевой связи, полученные в результате минимизации функции невязки с помощью

генетического алгоритма для трех логических элементов «И», «ИЛИ», исключающее «ИЛИ» показаны на рис. 3. Результаты моделирования трех логических элементов объединены в табл. 3. Зависимость изменений количества Ca^{2+} в цитозоле клеток от времени для логического элемента «И» приведена на рис. 4.

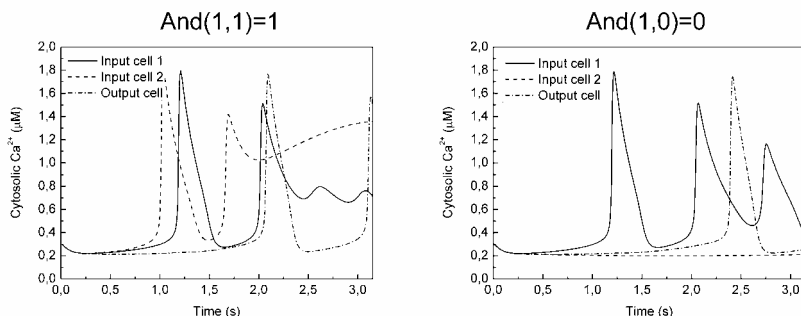


Рис. 4. Межклеточное перераспределение Ca^{2+} для пяти клеток. Поведение системы можно интерпретировать как работу логического элемента «И»

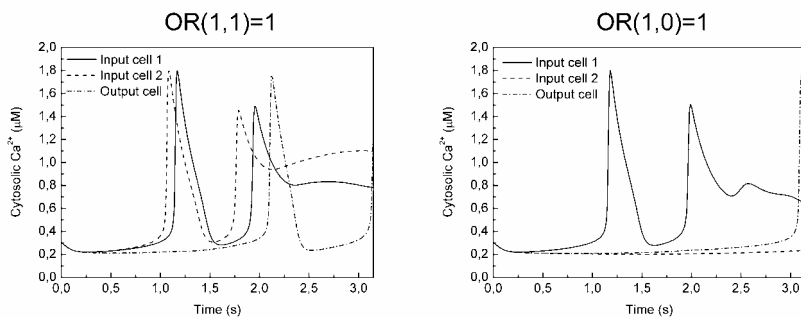


Рис. 5. Межклеточное перераспределение Ca^{2+} для пяти клеток. Поведение системы можно интерпретировать как работу логического элемента «ИЛИ»

Следует отметить, что при прочих равных условиях различные наборы коэффициентов щелевой связи между клетками приводят к различному характеру изменений $Ca_{цит}$ со временем во

входных клетках 1 и 2 (см. рис. 4 и рис. 5).

Таким образом, показана возможность автоматического подбора параметров межклеточных соединений для достижения нужного поведения клеточной системы, а также возможность изменения заданного поведения в широких пределах.

Выводы. Было бы чересчур смелым утверждать, что процесс перераспределения Ca^{2+} в смежных клетках с различными коэффициентами целевой связи можно интерпретировать как систему логических элементов, хотя бы потому, что здесь используются различные кодировки входных и выходных значений. Однако по результатам проведенного исследования можно сделать вывод, что поведение цитозольного Ca^{2+} в данной клетке в значительной степени определяется структурой ее взаимосвязей с другими клетками.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Evans J.H., Sanderson M.J. Intracellular calcium oscillations induced by ATP in airway epithelial cells // *Am. J. Physiol.*, 1999. 277. L30-L41.
2. Sanderson M.J., Charles A.C., Dirksen E.R. Mechanical stimulation and intercellular communication increases intracellular Ca^{2+} in epithelial cells // *Cell Regul.*, 1990. 1. 585-596.
3. Sneyd J., Wetton B.T.R., Charles A.C., Sanderson M.J. Intercellular calcium waves mediated by diffusion of inositol trisphosphate: a two-dimensional model. *Am. J. Physiol.*, 1995. 268. C1537-C1545.
4. Goldbeter A., Dupont G., Berridge M.J. Minimal model for signal-induced Ca^{2+} oscillations and for their frequency encoding through protein phosphorylation // *PNAS USA*, 1990. 87. 1461-1465.
5. Kirkpatrick S., Gelatt C. D. and Vecchi M. P. Optimization by simulated annealing // *Science*, 1983. 220. 671-680.
6. Holland J. H. *Adaption in Natural and Artificial Systems* // University of Michigan Press, Ann Arbor, Michigan, 1975.

**COMPUTER-AIDED DESIGN OF CELLULAR SYSTEMS
WITH PREDEFINED PROPERTIES**

Zharkov I. D., Dokukina I. V., Gracheva M. E., Grachev E. A.

(Russia, Moscow)

The algorithm of parameterization of cellular systems, which based on minimization of a residual functional for the model of intercellular calcium signaling is proposed. Models of several «logical elements», which are based on ion-exchange processes are constructed.