

## ДИНАМИКА КОНТУРОВ С УПРЕЖДЕНИЕМ ЗАВИСИТ ОТ ТИПА РЕГУЛЯТОРА В НЕПРЯМОЙ ВЕТКЕ РЕГУЛЯЦИИ

© 2015 г. М.А. Дук\* \*\*, А.М. Самсонов\* \*\*, М.Г. Самсонова\*\*

\*Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе, 194021, Санкт-Петербург, Политехническая ул., 26;

\*\*Санкт-Петербургский государственный политехнический университет, 195251, Санкт-Петербург, Политехническая ул., 29

E-mail: duk@mail.ioffe.ru, samsonov@math.ioffe.ru, samson@spbcas.ru

Поступила в редакцию 23.12.14 г.

В генных сетях часто встречается мотив в виде контура с упреждением, в котором транскрипционный фактор регулирует экспрессию гена-мишени как напрямую, так и опосредованно, действуя на другой регулятор, который также контролирует ген-мишень. Представлены результаты математического моделирования контуров с упреждением, в которых в непрямой ветке регуляции в качестве репрессора выступают транскрипционный фактор или миРНК. Изучено поведение таких контуров во времени. Показано, что замена второго транскрипционного фактора на миРНК изменяет динамику контуров с упреждением и придает биологической системе новые свойства, критически важные для тонкой настройки протекающих в ней процессов.

*Ключевые слова:* контуры с упреждением, миРНК, контуры с двумя транскрипционными факторами, динамика контуров, шум.

Генные сети живого организма имеют модульную структуру и содержат некоторые характерные повторяющиеся подструктуры, называемые мотивами [1]. Математические модели таких мотивов, основанные на уравнениях химической кинетики, дают ценную информацию для понимания фундаментальных особенностей динамики генных сетей.

Одним из часто встречающихся в генных сетях мотивом является контур с упреждением, в котором транскрипционный фактор (ТФ) регулирует экспрессию гена-мишени как напрямую, так и опосредованно, действуя на другой регулятор (второй ТФ или миРНК), который также контролирует ген-мишень. По типу суммарного влияния ветвей регуляции на ген-мишень контуры с упреждением принято разделять на когерентные и некогерентные. В когерентных контурах обе ветви регуляции – прямая и опосредованная – оказывают одинаковое влияние на экспрессию мишени, а в некогерентных – противоположное.

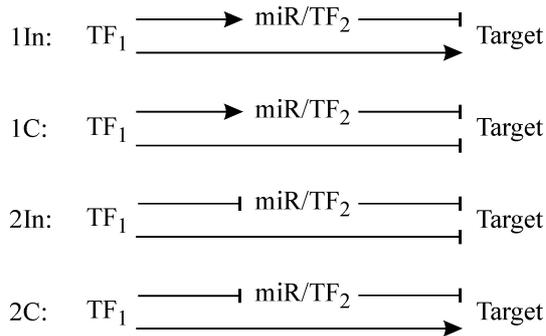
Мы будем рассматривать контуры, содержащие два ТФ, и контуры с ТФ и миРНК в качестве второго регулятора. Ограничиваясь контурами, в которых второй регулятор подавляет экспрессию мишени, мы получаем четыре

возможные конфигурации контуров, схематично изображенные на рис. 1. Обозначим когерентный контур, в котором обе ветви подавляют экспрессию мишени, как 1С, а некогерентный контур, в котором обе ветви активируют экспрессию мишени, как 2С. Некогерентный контур, в котором прямая ветвь активирует экспрессию мишени, а опосредованная – подавляет ее, назовем 1п-контуром, а некогерентный контур, в котором прямая ветвь подавляет экспрессию мишени, а опосредованная – активирует, назовем 2п-контуром. Для краткости, когда речь идет о контурах с двумя ТФ, будем писать «контуры 2ТФ», а когда о контурах с ТФ и миРНК – «контуры с миРНК». В 2ТФ-контурах ТФ, действующий на обе ветви регуляции, обозначим как ТФ первого уровня, а ТФ в непрямой ветви – как ТФ второго уровня.

Описанные выше контуры хорошо известны, часто встречаются в клетке, и существует много работ, связанных с изучением их функций [2,3].

Роль миРНК в регуляторных генных сетях активно изучается в последнее десятилетие. По имеющимся оценкам экспрессия более 30% генов в клетках животных регулируется посредством миРНК (см., например, обзор [4]). В работе [1] было высказано предположение, что роль миРНК в клетке заключается в подавлении

Сокращение: ТФ – транскрипционный фактор.



**Рис. 1.** Схема рассматриваемых контуров.  $TF_1$  – транскрипционный фактор первого уровня, регулирует продукцию целевого белка и второго регулятора, в роли которого может быть второй транскрипционный фактор  $TF_2$  или миРНК (miR). Target – ген-мишень. Стрелки означают активацию, стрелки, заканчивающиеся вертикальной черточкой, означают репрессию.

молекулярного шума; эта гипотеза получила подтверждение в теоретическом исследовании способности контуров 1In с миРНК подавлять шум [5]. Позднее исследование различных контуров с миРНК показало, что способность таких контуров к подавлению шума в рамках рассмотренных моделей зависит как от типа контура, так и от параметров модели [6].

В работах [2,3] исследованы функции контуров 2ТФ в зависимости от того, какими логическими связями можно описать схему контура.

Рассматривая контур, в котором две ветви регуляции активируют экспрессию гена-мишени, будем называть его контуром с логическим элементом «И», если для экспрессии гена-мишени необходимы оба регулятора, если же для экспрессии достаточно одного регулятора, то такой контур будет подобен элементу «ИЛИ». Распространим это правило на все контуры: если действие регуляторов на мишень перемножается, то реализуется элемент «И», а если складывается, то возникает элемент «ИЛИ», но в данной работе будут рассмотрены контуры 2ТФ с логикой «И».

Большое внимание в литературе уделяется исследованию некогерентного контура 1In, например, в работе [5] показана способность 1In-контура с миРНК подавлять шум, а функции 1In-контура с 2ТФ изучены в работах [7–9], где установлено, что такие контуры особым образом реагируют на увеличение количества ТФ первого уровня: сначала наблюдается резкое увеличение («отклик») количества продукта гена-мишени, а потом начинается «адаптация» к новому количеству регулятора, т.е. количество продукта гена-мишени стремится к старому зна-

чению, хотя количество регулятора изменилось. В работах [8,9] было показано, что форма этого отклика и способность к адаптации зависят не от абсолютного значения количества ТФ первого уровня, а только лишь от относительного изменения этого количества. Следует отметить, что результаты, полученные в данной работе, указывают на то, что способность контуров к адаптации не является абсолютно присущим им свойством, а зависит как от используемых коэффициентов математической модели, так и от типа самой модели, что будет рассмотрено далее.

Одна из проблем математического моделирования биологических систем заключается в том, что, даже построив математическую модель, зачастую невозможно точно измерить все параметры, входящие в нее, и поэтому требуется подгонка параметров к результатам экспериментов. Математические модели, описывающие контуры с упреждением, довольно сложны, и в силу этого исследуются обычно либо в стационарном режиме, либо численно. При исследовании стационарного режима, очевидно, дифференциальные уравнения заменяются алгебраическими, и пропадает зависимость поведения модели от времени. При этом сравнить поведение разных контуров при исследовании стационарного режима невозможно, так как несложно подобрать набор параметров, при которых контуры с разной структурой приходят к одному и тому же стационарному состоянию. Численное решение уравнений математической модели, описывающей контур, тоже не дает полной информации о динамике контуров, так как оно строится для заданного набора параметров, и для выяснения зависимости решения от какого-либо параметра необходимо производить вычисления снова. Аналитические решения дифференциальных уравнений гораздо информативнее, так как имеют вид функций от параметров, одинаковых для каждого набора этих параметров, и наглядно показывают, как функция зависит от любого из параметров задачи, позволяют оценить ее поведение во времени и сравнить аналитические решения для контуров, имеющих различную структуру, не прибегая к дополнительным вычислениям. К сожалению, большинство систем дифференциальных уравнений, которыми описывают биологические системы, слишком сложны и не могут быть решены в замкнутой форме. Однако мы показали [10], что системы уравнений для контуров с упреждением могут решаться последовательно, и уравнения, входящие в эти системы, могут быть решены аналитически при некоторых предположениях о коэффициентах.

Даже при этих ограничениях полученные решения позволяют проверить правильность найденных численных решений и сравнить их между собой для контуров с миРНК и контуров 2ТФ.

Сравнительный анализ динамических режимов функционирования контуров с упреждением с миРНК и 2ТФ представляет значительный интерес, так как контуры с двумя ТФ широко распространены в геномных сетях прокариот, а контуры с миРНК встречаются только у эукариотических организмов. Такой анализ приводит к постановке вопроса о том, какие новые свойства и особенности привносит в контуры с упреждением замена второго ТФ на миРНК? К сожалению, как при исследовании роли контуров 2ТФ, так и при исследовании контуров с миРНК используются математические модели, основанные на весьма различных предположениях о биологических процессах, что сильно затрудняет сравнение результатов.

В данной работе сравнительный анализ динамического поведения контуров с упреждением с двумя ТФ и с ТФ и миРНК выполнен с использованием единого подхода, основанного на нелинейных кинетических дифференциальных уравнениях. Для удобства сравнения коэффициенты моделей подобраны так, чтобы контуры одинакового типа, но с разными регуляторами приходили бы к одним и тем же стационарным значениям.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Рассмотрим динамику контуров с упреждением (см. рис. 1), где скорость продукции целевого белка геном-мишенью регулируется транскрипционным фактором как напрямую, так и посредством второго регулятора, которым может быть миРНК (контуры с миРНК) или другой транскрипционный фактор второго уровня (контуры 2ТФ).

Для математического описания контуров с миРНК используем модель, предложенную в работе [5] для Пп-контура и основанную на предположении, что миРНК останавливает трансляцию целевой мРНК, действуя таким образом на скорость продукции целевого белка, но при этом не разрушая целевую мРНК. Запишем дифференциальные уравнения, определяющие динамику количества молекул компонентов во времени  $t$ . Обозначим количество молекул мРНК первого ТФ как  $w$ , а количество молекул первого ТФ как  $q$ . Уравнения для  $q$  и  $w$  одинаковы и для контуров с миРНК и для контуров 2ТФ и имеют вид:

$$\frac{dw}{dt} = k_w - g_w w; \quad \frac{dq}{dt} = k_q w - g_q q, \quad (1)$$

где  $k_w, k_q$  – коэффициенты продукции соответствующих веществ (обозначенных нижним индексом), а  $g_w, g_q$  – коэффициенты их деградации.

Опишем динамику контуров с миРНК уравнениями для количества  $s$  молекул миРНК, количества  $r$  молекул мРНК целевого белка и количества  $p$  молекул целевого белка, которые имеют вид:

$$\begin{aligned} \frac{ds}{dt} &= k_s(q) - g_s s; \\ \frac{dr}{dt} &= k_r(q) - g_r r; \\ \frac{dp}{dt} &= k_p(s)r - g_p p, \end{aligned} \quad (2)$$

где  $g_s, g_r, g_p$  – соответствующие коэффициенты распада, а функции продукции имеют вид функций Хилла:  $k_p(s) = \frac{k_p h_p^2}{s^2 + h_p^2}$ ,  $k_{r,s}(q) = \frac{k_{r,s} h_{r,s}^2}{q^2 + h_{r,s}^2}$  – в том случае, если имеет место репрессия со стороны первого ТФ, или  $k_{r,s}(q) = \frac{k_{r,s} q^2}{q^2 + h_{r,s}^2}$  – в случае

активации, где  $k_p, k_r, k_s$  – константы, показывающие максимально возможный уровень продукции, а  $h_p, h_r, h_s$  – константы диссоциации, показывающие количество молекул регулятора, при котором скорость продукции будет равна половине от максимально возможной.

Для контуров 2ТФ запишем уравнения для количества  $y$  молекул мРНК ТФ второго уровня, количества  $j$  молекул транскрипционного фактора второго уровня и количеств  $r$  и  $p$  молекул мРНК целевого белка и молекул самого целевого белка соответственно, которые имеют вид:

$$\begin{aligned} \frac{dy}{dt} &= k_y(q) - g_y y; \quad \frac{dj}{dt} = k_j s - g_j j; \\ \frac{dr}{dt} &= k_r(q,j) - g_r r; \quad \frac{dp}{dt} = k_p r - g_p p, \end{aligned} \quad (3)$$

где  $g_y, g_j, g_r, g_p$  – соответствующие коэффициенты распада. Здесь же введены величины  $k_y(q) = \frac{k_y h_y^2}{h_y^2 + q^2}$  – для описания репрессии или  $k_y(q) = \frac{k_y q^2}{h_y^2 + q^2}$  – в случае активации, причем  $k_r(q,j) = k_r k_1(q) k_2(j)$ ;  $k_y, k_j, k_r, k_p$  – соответствующие константы, показывающие максимально возможный уровень продукции,

$$k_1(q) = \frac{h_r^2}{h_r^2 + q^2}, \quad k_2(j) = \frac{h_j^2}{h_j^2 + j^2} - \text{в случае репрессии}$$

со стороны соответствующего регулятора или

$$k_1(q) = \frac{q^2}{h_r^2 + q^2}, \quad k_2(j) = \frac{j^2}{h_j^2 + j^2} - \text{в случае активации}$$

со стороны регулятора. Константы диссоциации  $h_y$ ,  $h_r$ ,  $h_j$  задают количество молекул соответствующего регулятора, при котором скорость продукции будет равна половине максимально возможной.

Так как уравнения (1) для количества молекул мРНК и транскрипционного фактора первого уровня в контурах 2ТФ и в контурах с миРНК одинаковы, то их точные решения совпадают и имеют вид:

$$w = \left( w_0 - \frac{k_w}{g_w} \right) \exp(-g_w t) + \frac{k_w}{g_w}; \quad (4)$$

$$q = a_q \exp(-g_w t) + b_q \exp(-g_q t) + c_q,$$

где  $a_q$ ,  $b_q$ ,  $c_q$  – константы, зависящие от начального количества первого ТФ первого уровня и коэффициентов продукции и распада.

Для решения уравнения для количества молекул миРНК  $s$  в контуре с миРНК необходимо вычислить интеграл вида:

$$\int \frac{dz}{h_s^2 + (a_q z^{-g_w/g_s} + b_q z^{-g_q/g_s} + c_q)^2},$$

где  $z = \exp(g_s t)$ . Решение в замкнутой форме можно найти не для любых отношений коэффициентов  $g_w/g_s$ ,  $g_q/g_s$ , стоящих в показателях степеней в знаменателе. Удастся найти точные решения при некоторых связях между скоростями распада. Соотношения  $g_w = 2g_s = 2g_q$ ,  $2g_w = 2g_s = g_q$  для краткости можно назвать «медленным распадом миРНК», так как миРНК распадается в два раза медленнее, чем ТФ или его мРНК. Соотношения  $g_w = g_s = 2g_q$ ,  $2g_w = g_s = g_q$  определяют «быстрый распад миРНК», так как миРНК распадается в два раза быстрее, чем ТФ или его мРНК, и, наконец,  $g_w = g_s = 3g_q$  – «очень быстрый распад миРНК». В случаях «медленного» и «быстрого» распада миРНК аналитическое решение будет иметь одинаковый вид, различаться будут только константы, входящие в решение, приведенное ниже. В случае «очень быстрого» распада миРНК решение более громоздко и здесь не приводится. При решении уравнения для количества молекул мРНК целевого белка возникает интеграл похожего вида, для вычисления которого требуются аналогичные предположения относительно соотношений  $g_w/g_r$ ,  $g_q/g_r$ .

Обратимся к системе уравнений, описывающей контур с 2ТФ. Если взять уравнения для количества  $w$  молекул мРНК ТФ первого уровня, количества  $q$  молекул ТФ первого уровня, количества  $u$  молекул мРНК ТФ второго уровня и количества  $j$  молекул ТФ второго уровня, то мы получим систему уравнений, описывающих *линейный* контур, в котором один белок напрямую регулирует продукцию второго белка. Почти все уравнения для линейного контура тоже можно решить в замкнутой форме. Уравнение для мРНК ТФ второго уровня имеет решение в предположениях относительно  $g_y$ , аналогичных тем, какие были сделаны относительно  $g_s$ . Для получения количества молекул ТФ второго уровня  $j$  необходимо вычислить интеграл вида:  $\int u \exp(g_j t) dt$ , который удастся вычислить в замкнутой форме только при  $2g_j = 2g_q = g_y$ .

Для сравнения контуров с миРНК и контуров 2ТФ запишем точные решения в одних и тех же предположениях относительно соотношения коэффициентов, что можно сделать при  $g_w = g_s = g_y = g_r = 2g_q = 2g_j$ , т.е. для случая, когда скорость распада всех РНК, участвующих в рассматриваемых контурах, в два раза больше скоростей распада ТФ. Точные решения уравнений для количества молекул миРНК  $s$  и мРНК целевого белка  $r$  для контуров с миРНК после преобразований примут вид:

$$s = a_s + b_s \exp(-g_q t) + c_s \exp(-g_s t) +$$

$$+ d_s \exp(-g_s t) \left[ \alpha_1 \ln((\exp(g_q t) - \xi_1)^2 + \xi_2^2) + \right.$$

$$+ \beta_1 \ln((\exp(g_q t) - \xi_3)^2 + \xi_4^2) -$$

$$- 2\alpha_2 \arctan \left[ \frac{\exp(g_q t) - \xi_1}{\xi_2} \right] -$$

$$\left. - 2\beta_2 \arctan \left[ \frac{\exp(g_q t) - \xi_3}{\xi_4} \right] \right]; \quad (5)$$

$$r = a_r + b_r \exp(-g_q t) + c_r \exp(-g_r t) +$$

$$+ d_r \exp(-g_r t) \left[ \tilde{\alpha}_1 \ln((\exp(g_q t) - \tilde{\xi}_1)^2 + \tilde{\xi}_2^2) + \right.$$

$$+ \tilde{\beta}_1 \ln((\exp(g_q t) - \tilde{\xi}_3)^2 + \tilde{\xi}_4^2) -$$

$$- 2\tilde{\alpha}_2 \arctan \left[ \frac{\exp(g_q t) - \tilde{\xi}_1}{\tilde{\xi}_2} \right] -$$

$$\left. - 2\tilde{\beta}_2 \arctan \left[ \frac{\exp(g_q t) - \tilde{\xi}_3}{\tilde{\xi}_4} \right] \right];$$

где  $a_{s,r}$ ,  $b_{s,r}$ ,  $c_{s,r}$ ,  $d_{s,r}$ ,  $\alpha_{1,2}$ ,  $\beta_{1,2}$ ,  $\xi_{1,2,3,4}$ ,  $\tilde{\alpha}_{1,2}$ ,  $\tilde{\beta}_{1,2}$ ,  $\tilde{\xi}_{1,2,3,4}$  – константы, зависящие от начальных условий и от коэффициентов продукции и распада.

Решения уравнений для количества молекул мРНК ТФ второго уровня  $y$  и количества молекул этого ТФ  $j$  для контуров 2ТФ имеют более громоздкий вид:

$$\begin{aligned}
 y = & a_y + b_y \exp(-g_y t) + c_y \exp(-g_y t) + d_y \exp(-g_y t) \left\{ \alpha_1 \ln((\exp(g_q t) - \xi_1)^2 + \xi_2^2) + \right. \\
 & \left. + \beta_1 \ln((\exp(g_q t) - \xi_3)^2 + \xi_4^2) - 2\alpha_2 \arctan \left[ \frac{\exp(g_q t) - \xi_1}{\xi_2} \right] - 2\beta_2 \arctan \left[ \frac{\exp(g_q t) - \xi_3}{\xi_4} \right] \right\}, \\
 j = & e_j t \exp(-g_j t) + a_j + b_j \exp(-g_y t) + c_j \exp(-g_j t) + \\
 & d_j \exp(-g_j t) \left\{ \alpha_1 \left( \frac{\xi_1 \exp(g_j t) - R_1}{R_1 \exp(g_j t)} \ln[(\exp(g_j t) - \xi_1)^2 + \xi_2^2] - \frac{2\xi_2}{R_1} \arctan \left[ \frac{\xi_2}{\exp(g_j t) - \xi_1} \right] \right) + \right. \\
 & + \beta_1 \left( \frac{\xi_3 \exp(g_j t) - R_2}{R_2 \exp(g_j t)} \ln[(\exp(g_j t) - \xi_3)^2 + \xi_4^2] - \frac{2\xi_4}{R_2} \arctan \left[ \frac{\xi_4}{\exp(g_j t) - \xi_3} \right] \right) + \\
 & + \alpha_2 \left( \frac{\xi_2}{R_1} \ln[(\exp(g_j t) - \xi_1)^2 + \xi_2^2] - \frac{2(\xi_1 \exp(g_j t) - R_1)}{R_1 \exp(g_j t)} \arctan \left[ \frac{\exp(g_j t) - \xi_1}{\xi_2} \right] \right) + \\
 & \left. + \beta_2 \left( \frac{\xi_4}{R_2} \ln[(\exp(g_j t) - \xi_3)^2 + \xi_4^2] - \frac{2(\xi_3 \exp(g_j t) - R_2)}{R_2 \exp(g_j t)} \arctan \left[ \frac{\exp(g_j t) - \xi_3}{\xi_4} \right] \right) \right\}, \quad (6)
 \end{aligned}$$

где  $R_1 = \xi_1^2 + \xi_2^2$ ,  $R_2 = \xi_3^2 + \xi_4^2$ ,  $a_{y,j}$ ,  $b_{y,j}$ ,  $c_{y,j}$ ,  $d_{y,j}$ ,  $e_j$ ,  $\alpha_{1,2}$ ,  $\beta_{1,2}$ ,  $\xi_{1,2,3,4}$  – константы, зависящие от начальных условий и от коэффициентов продукции и распада компонентов; выражения для них достаточно сложны и здесь не приводятся.

Уравнение для количества молекул целевого белка  $p$  в контурах с мРНК и уравнение для количества молекул мРНК целевого белка  $r$  в контурах 2ТФ решались численно на основании предыдущих полученных аналитических решений.

Для исследования подавления шума контурами в каждый контур добавлялся шум к ТФ первого уровня и сравнивался с шумом, получившимся в целевом белке, для чего использовали стандартную процедуру MATLAB, дающую на выходе гауссовый белый шум  $\xi$ . Так как белый шум в чистом виде есть некоторая абстракция, то в качестве добавочной шумовой компоненты был построен вектор  $z$  с корреляционной функцией вида  $K(\tau) = \exp(-|\tau|)$  с помощью процедуры:

$$z(i) = \exp(-0,1)z(i-1) + \sqrt{1 - \exp(-0,2)}\xi(i). \quad (7)$$

Вектор  $z$  является дискретной моделью процесса Орнштейна–Уленбека, являющегося стационарным марковским гауссовым процессом. Полученный вектор  $z$  добавлялся к количеству молекул транскрипционного фактора  $q$ . Для

оценки шума количества молекул ТФ первого уровня  $q$  и целевого белка  $p$  вычисляли с шумовой добавкой и без нее. После этого были найдены величины:

$$N_A = \frac{\max_t |q(t) - q_n(t)|}{\max_t q(t)}, \quad N_B = \frac{\max_t |p(t) - p_n(t)|}{\max_t p(t)},$$

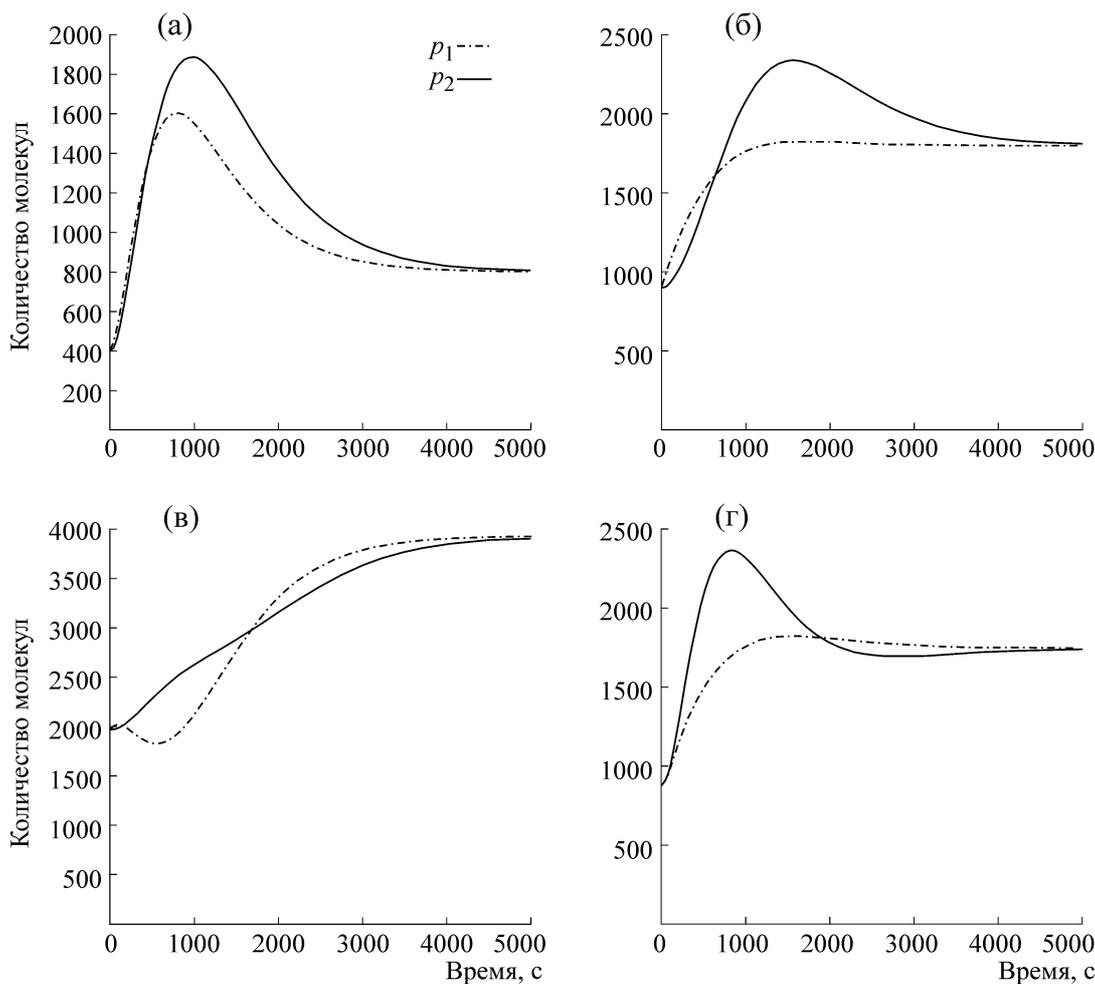
где  $q(t)$ ,  $p(t)$  – количества молекул ТФ и целевого белка соответственно в системе без шума, а  $q_n(t)$ ,  $p_n(t)$  – количества молекул ТФ и целевого белка в системе с шумом. Для того чтобы оценить, стал ли относительный уровень шума в целевом белке больше или меньше, чем относительный уровень шума в ТФ, рассчитывали величину:

$$\varepsilon = \frac{N_B - N_A}{N_A} \quad (8)$$

для каждого контура, которую затем усредняли по 100 проведенным вычислительным экспериментам с добавлением шума.

Для построения графиков использовался такой набор коэффициентов модели:

$$\begin{aligned}
 k_w = 0,06, k_q = 0,04, k_s = k_y = 0,5, k_r = 0,8, k_p = 0,08, \\
 h_s = h_r = h_y = 200, h_p = h_j = 60, \\
 g_w = g_s = g_r = g_y = 2g_q = 2g_j = 2g_p = 0,004.
 \end{aligned}$$



**Рис. 2.** Динамика количества молекул целевого белка в контурах с миРНК и контурах 2ТФ.  $p_1$  – количество молекул целевого белка в контуре с миРНК;  $p_2$  – соответствующая величина в контуре 2ТФ. Контурь 1С (а), 1n (б), 2С (в), 2n (г) (см. рис. 1).

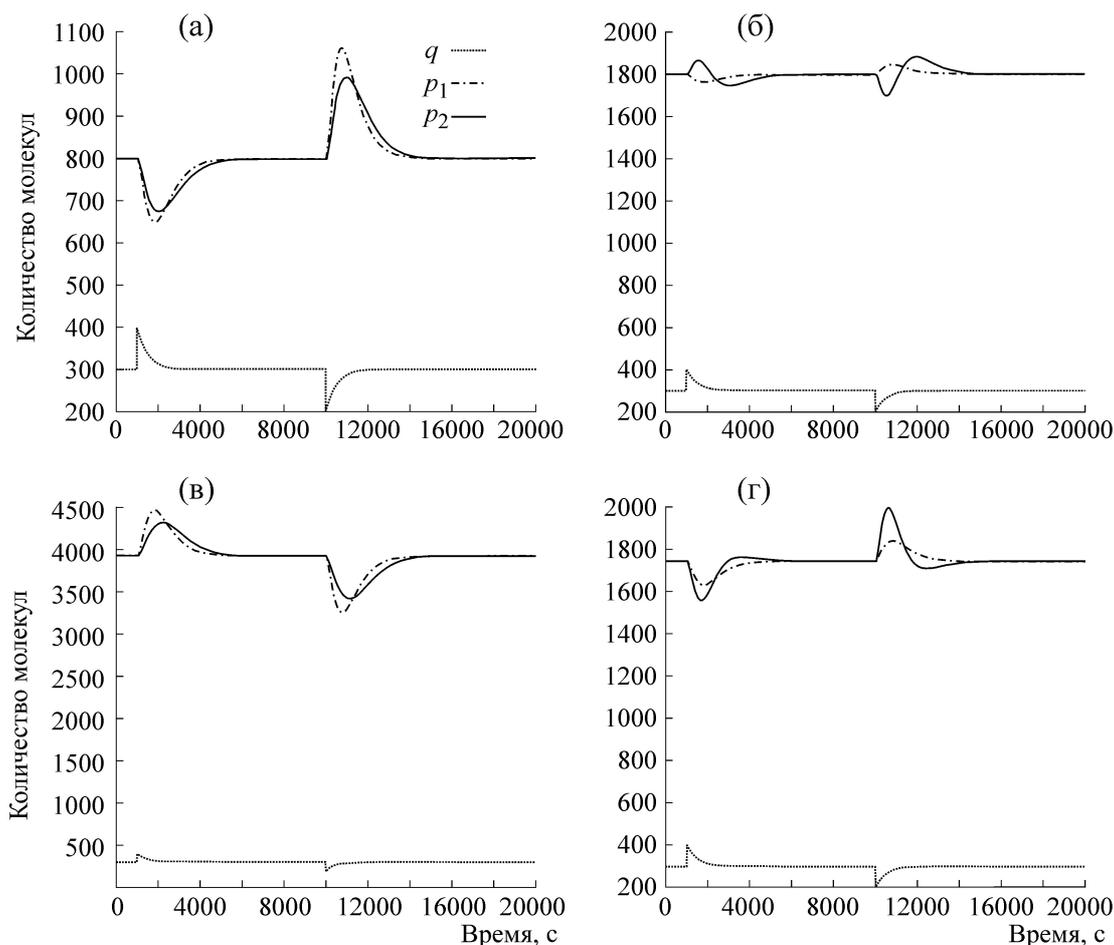
## РЕЗУЛЬТАТЫ

Было проведено сравнение временной динамики контуров с миРНК и с двумя ТФ. На рис. 2 приведена зависимость от времени количества  $p$  молекул целевого белка во всех четырех контурах в случае регуляции посредством миРНК или посредством 2ТФ. Как видно из рисунка, некогерентные контуры 2ТФ показывают большее отклонение от стационара, чем такие же контуры с миРНК. Вместе с тем контуры с миРНК достигают стационарного значения быстрее, чем контуры 2ТФ.

Была исследована реакция контуров на возможное резкое изменение количества ТФ первого уровня в системе, после которого система возвращается в исходное состояние. Для этого в системе в стационарном состоянии в некоторый момент количество молекул ТФ первого уровня резко изменялось на  $Q$  молекул, после

чего система постепенно возвращалась в первоначальное состояние.

На рис. 3 показана динамика количеств  $p$  молекул целевого и  $q$  молекул ТФ первого уровня соответственно во всех четырех контурах в случае регуляции с помощью миРНК или с помощью ТФ второго уровня при введении в систему, находящуюся в стационаре,  $Q = 100$  молекул ТФ первого уровня, и после возвращения ее в стационарное состояние – удалении из системы такого же количества молекул. Видно, что любое изменение количества ТФ в случае *когерентных* контуров приводит к отклику в виде экстремума, и в случае контуров с миРНК этот пик выше, чем в случае контуров 2ТФ, т.е. реакция когерентных контуров острее. В некогерентных контурах реакция различна: некогерентные контуры с миРНК показывают меньшее отклонение от стационара в ответ на воздействие, в отличие от контуров 2ТФ, кроме



**Рис. 3.** Динамика количества молекул целевого белка в контурах с миРНК и соответствующих им контурах 2ТФ при искусственном единичном вводе в систему извне  $Q = 100$  молекул ТФ первого уровня, при условии, что до этого система находилась в стационарном состоянии и при последующем удалении из системы  $Q = 100$  молекул, когда система вернулась в стационарное состояние.  $q$  – количество молекул ТФ первого уровня,  $p_1$  и  $p_2$  – количества молекул целевого белка в контурах с миРНК и 2ТФ соответственно. (а) – контур 1С, (б) – контур 1п, (в) – контур 2С, (г) – контур 2п (см. рис. 1).

того, некогерентные контуры 2ТФ дают волнообразную форму отклика.

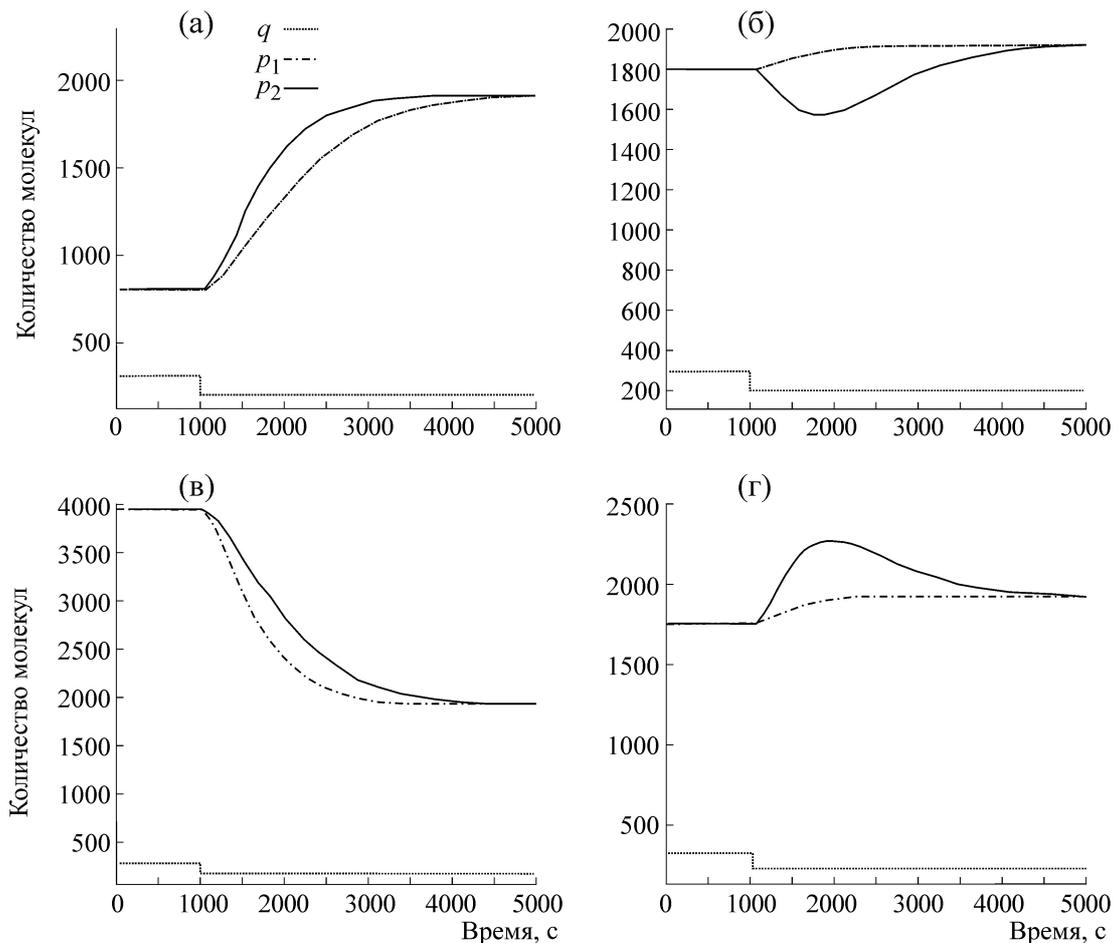
Таким образом, можно заключить, что некогерентные контуры с миРНК слабо реагируют на случайное воздействие, а когерентные контуры с миРНК сильно реагируют на воздействие. Интересно также, что отклик в виде максимума или минимума у когерентных контуров с миРНК возникает быстрее, чем у аналогичных контуров 2ТФ.

Пусть количество регулятора меняется в некоторый момент времени и после этого фиксируется на новом уровне. Из литературы известно [8,9], что некогерентные контуры 2ТФ при изменении входного сигнала показывают сначала «отклик» в виде максимума или минимума, а потом «адаптацию», когда количество целевого белка стремится к прежнему своему уровню. Чтобы изучить способность кон-

туров к адаптации, изменим в некоторый момент времени количество  $q$  ТФ первого уровня на  $Q$  молекул и будем поддерживать это количество молекул на новом уровне. Биологически это соответствует ситуации, когда клетка в силу изменения условий вырабатывает другое количество молекул регулятора.

Была рассмотрена реакция всех – когерентных и некогерентных контуров с миРНК и контуров 2ТФ – на событие такого типа.

Для примера на рис. 4 показано поведение контуров в случае уменьшения количества ТФ первого уровня, полученное в результате численного решения уравнений для количества  $p$  молекул целевого белка в рассматриваемых контурах. Видно, что некогерентные контуры действительно показывают сначала отклик, а потом некоторую адаптацию, приходя к новому стационарному значению, близкому к старому



**Рис. 4.** Динамика количества молекул целевого белка в контурах с миРНК и контурах 2ТФ при уменьшении стационарного значения количества молекул ТФ первого уровня на  $Q = 100$ , при условии, что до этого система находилась в стационарном состоянии.  $q$  – Количество молекул ТФ первого уровня,  $p_1$  и  $p_2$  – количество молекул целевого белка в контурах с миРНК и 2ТФ соответственно. Обозначения панелей, как на рис. 3.

значению, которое одинаково и для контуров с миРНК и для контуров 2ТФ в силу выбранных нами коэффициентов. Различие же в поведении контуров 2ТФ и контуров с миРНК заключается в том, что контуры 2ТФ показывают сильный отклик, а контуры с миРНК – нет.

Когерентные контуры ведут себя по-другому: в них при изменении количества ТФ первого уровня количество целевого белка монотонно убывает или возрастает к новому стационарному значению, значительно отличающемуся от старого.

Отметим, что адаптация у некогерентных контуров очень сильно зависит от значений коэффициентов уравнений. Покажем это на примере, в котором количество молекул ТФ первого уровня увеличилось в два раза, т.е.  $q_2 = 2q_1$ , где  $q_1$  – начальное стационарное значение количества молекул ТФ первого уровня. Можно записать условие соотношения коэффициентов, необходимое для абсолютной адапта-

ции, т.е. для того, чтобы при изменении количества ТФ первого уровня целевой белок после отклика возвращался бы в точности к старому стационарному значению, хотя значение регулятора уже будет новым. Для простоты положим, что  $h_y = h_r = H$ , и обозначим  $h_j = h$ ,  $k_j^2 k_y^2 = K$ ,  $g_j^2 g_y^2 = G$ , тогда формула связи коэффициентов для 1п-контура 2ТФ будет иметь вид:

$$h^2 = \frac{4Kq_1^4}{G(H^2 + 4q_1^2)(H^2 + q_1^2)} \tag{9}$$

Важно, что и контуры с миРНК, и контуры 2ТФ приводят к одним и тем же стационарным значениям, т.е. адаптация системы к новым условиям не является особенностью контуров 2ТФ, а контуры различаются только на *малых временах* по силе отклика на изменение условий.

Аналогичное формуле (9) условие для контура 2In будет иметь вид:

$$h^2 = \frac{KH^4}{G(H^2 + 4q_1^2)(H^2 + q_1^2)} \quad (10)$$

Несложно показать, что в этих же условиях *когерентные* контуры не способны к адаптации. Для 1С- и 2С-контуров необходимые условия абсолютной адаптации будут иметь вид соответственно:

$$h^2 = -\frac{Kq_1^2[5H^2 + 4q_1^2]}{G(H^2 + 4q_1^2)(H^2 + q_1^2)} < 0,$$

$$h^2 = -\frac{KH^2[H^2 + 5q_1^2]}{G(H^2 + 4q_1^2)(H^2 + q_1^2)} < 0,$$

что, очевидно, невозможно, поэтому когерентные контуры неспособны к адаптации при изменении количества молекул ТФ первого уровня в том смысле, что стационарное количество молекул целевого белка сильно меняется при изменении количества молекул регулятора.

Рассмотрим реакцию контуров на внесение шума в количество молекул ТФ первого уровня и их способность к подавлению шума в зависимости от типа контура и от вида регуляторов в них.

Пусть шум вносится в количество молекул ТФ первого уровня в виде выражения (7), и для каждого контура вычисляется среднее значение величины  $\bar{\epsilon}$  по 100 проведенным численным экспериментам согласно формуле (8). Результаты таких численных экспериментов приведены в таблице. Очевидно, что отрицательные значения величины  $\bar{\epsilon}$  показывают, что относительный шум в количестве молекул целевого белка будет меньше, чем относительный шум в количестве молекул ТФ, и, следовательно, такой контур подавляет шум. Заметим, однако, что не всегда отрицательное *среднее* значение величины  $\bar{\epsilon}$  однозначно указывает на эффективное уменьшение шума в контуре. Мы рассмотрели не только среднее значение величины  $\bar{\epsilon}$ , но и ее значение в каждом численном эксперименте, и обнаружили, что шум подавлялся во всех 100 экспериментах только в некогерентных контурах. Именно поэтому величина  $\bar{\epsilon}$  для этих контуров принимает наименьшие отрицательные значения (таблица). Этот результат виден на рис. 5, где показаны значения величины  $\bar{\epsilon}$  во всех 100 экспериментах для 1С- и 1Пн-контуров при регуляции как с помощью миРНК, так и с помощью 2ТФ. Видно, что в 1С-контуре появляются положительные значения этой величины, т.е. отклонение от среднего в целевом белке было больше, чем внесенное отклонение в ТФ, и шум не был подавлен. В наших экс-

Среднее значение  $\bar{\epsilon}$  для контуров 2ТФ и контуров с миРНК

Контур	1С	1Пн	2С	2Пн
2ТФ	<b>-0,46</b>	-0,76	<b>-0,52</b>	-0,64
миРНК	-0,29	<b>-0,91</b>	-0,35	<b>-0,78</b>

Примечание. 1С, 2С – когерентные контуры 1 и 2 типа, 1Пн, 2Пн – некогерентные контуры 1 и 2 типа (см. рис. 1). Наиболее эффективное подавление шума в контуре каждого типа (1С, 2С, 1Пн, 2Пн) выделено жирным шрифтом.

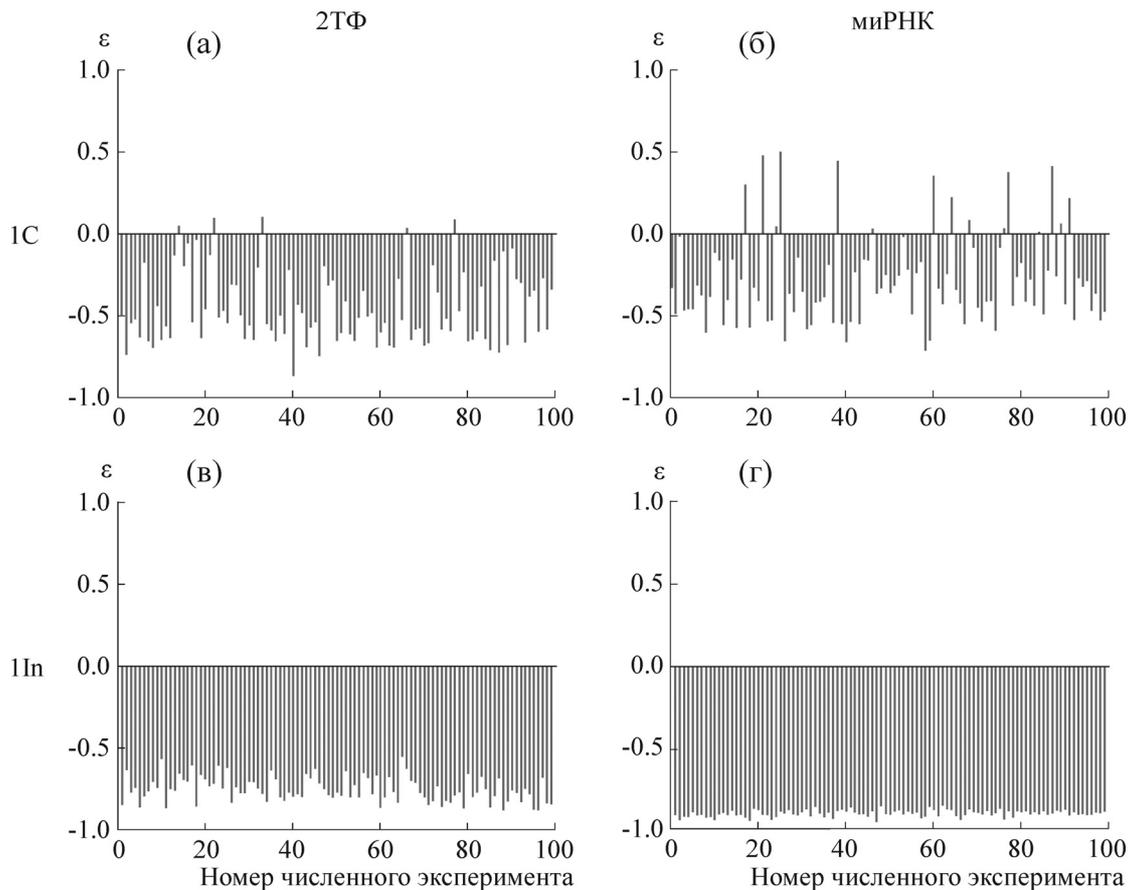
периментах положительные значения  $\bar{\epsilon}$  наблюдались только у когерентных контуров, причем у контуров 2ТФ таких случаев было меньше, чем у контуров миРНК, поэтому среднее значение величины  $\bar{\epsilon}$  для контуров первого типа меньше, чем для второго (см. таблицу).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнение временной динамики контуров с миРНК и с двумя ТФ выявило их принципиальные различия. Реакция некогерентных контуров на единичное внезапное изменение количества ТФ первого уровня говорит о том, что в ответ на воздействие некогерентные контуры с миРНК показывают меньшее отклонение от стационара, чем контуры 2ТФ. Это означает, что некогерентные контуры с миРНК менее чувствительны к случайным изменениям концентрации регулятора в биологической системе, что может играть важнейшую роль в системах, где изменение уровня целевого белка может привести к серьезным последствиям, и поэтому любые колебания в уровне целевого белка нежелательны.

Этот вывод подтверждается результатами, полученными для случая, когда количество ТФ первого уровня в некоторый момент изменяется и остается постоянным. В этих условиях оба типа некогерентных контуров способны к адаптации, т.е. в стационаре количество молекул целевого белка приближается к таковому до воздействия, но при этом контуры 2ТФ сильнее реагируют на изменение в начальный момент времени.

Когерентные контуры неспособны к адаптации, причем контуры с миРНК на малых временах показывают большее отклонение от стационара, чем контуры 2ТФ. Также можно отметить, что отклик у когерентных контуров с миРНК возникает быстрее, чем у аналогичных контуров 2ТФ, поэтому можно сделать вывод о том, что когерентные контуры с миРНК могут обеспечивать сильную и максимально быструю реакцию биологической системы на изменение



**Рис. 5.** Величина  $\epsilon$  в 100 экспериментах у контуров 2ТФ и контуров с миРНК: (а) – контур IC с двумя транскрипционными факторами, (б) – аналогичный контур с миРНК, (в) – контур IIp с двумя транскрипционными факторами, (г) – аналогичный контур с миРНК.

условий. Таким образом, замена второго ТФ на миРНК изменяет динамическое поведение контуров с упреждением и придает биологической системе новые свойства, критически важные для тонкой настройки протекающих в ней процессов.

Из таблицы видно, что некогерентные контуры с миРНК подавляют шум лучше всего, а когерентные контуры с миРНК – хуже всего. Этот результат почти очевиден, если вспомнить вывод, полученный для единичного случайного события. Шум в количестве молекул ТФ есть, в сущности, серия небольших случайных изменений этого количества, и когерентные контуры с миРНК дают достаточно сильный и быстрый отклик на каждое такое случайное изменение, а некогерентные контуры с миРНК, наоборот, дают наименьший отклик. Отметим, что все значения  $\epsilon$  во всех экспериментах для некогерентных контуров отрицательны, т.е. внесенный в них шум подавлен.

Когерентные контуры плохо подавляют внешний шум и в случае регуляции с помощью

миРНК, и в случае регуляции с помощью 2ТФ, однако способны обеспечить быструю и сильную реакцию системы на изменение внешних условий. И хотя контуры с миРНК лучше справляются с этой задачей, они хуже всего реагируют на присутствие молекулярного шума. Поэтому, когда молекулярный шум достаточно высок, когерентные контуры 2ТФ могут обеспечить более устойчивое функционирование биологической системы, чем аналогичные контуры с миРНК

Мы показали, что во всех контурах с миРНК количество целевого белка быстрее приходит к стационарному значению, чем в аналогичных контурах 2ТФ, причем как в когерентных, так и в некогерентных контурах, как в нормальных условиях, так и при изменении количества ТФ первого уровня, кратковременном или постоянном. Если рассмотреть найденные нами точные решения, то причина такой «задержки» у контуров 2ТФ очевидна. В решении для контуров 2ТФ присутствует слагаемое, пропорциональное  $\sim t \cdot \exp(-gt)$ , где  $g$  – константа дегра-

дации, которое убывает медленнее других слагаемых, поэтому количество молекул второго регулятора в контурах 2ТФ медленнее выходит на стационар, чем в контурах с мРНК, а значит, и вся система приходит в стационарное состояние позже.

Время выхода на стационар имеет большое значение для биологической системы в условиях ограниченности времени жизни клетки. Контур с мРНК обеспечивают более быстрое достижение системой стационарного уровня, что может быть весьма важно для белков, которые вовлекаются в большое количество последующих процессов, а также для жизненно важных белков, и именно присутствие мРНК, а не ТФ в качестве второго регулятора в этих процессах обеспечивает необходимую скорость их протекания.

Важно отметить, что способность некогерентных контуров к адаптации зависит от заданных коэффициентов в уравнении, т.е. от типа биологической системы. Так, например, коэффициенты, использованные для контура  $2In$  при построении рис. 4, близки к коэффициентам, удовлетворяющим условию (9), что и приводит к адаптации в рассмотренном примере. Однако условие (9) содержит в себе начальное количество молекул ТФ первого уровня, поэтому нельзя найти соотношение, которое приводило бы к абсолютной адаптации при любых уровнях первого ТФ. Заметим однако, что эта величина содержится и в числителе и в знаменателе, и максимальная степень ее одинакова. Если количество ТФ первого уровня значительно больше константы диссоциации  $H$ , то условие адаптации практически не будет зависеть от  $q_1$ . Такое соотношение величин использовано, например, в работе [8], соответственно и главные выводы об абсолютной адаптации контуров делаются с использованием этого предположения.

В случае контура  $2In$  условие (10) абсолютной адаптации содержит  $q_1$  только в знаменателе, поэтому для начальных значений количества молекул, далеких от нуля, это условие всегда будет включать абсолютное значение количества молекул ТФ первого уровня. Таким образом, для некогерентных контуров можно найти такие соотношения коэффициентов, при которых после отклика на изменение количества ТФ уровень целевого белка вернется в точности к старому значению. Однако в рамках используемой математической модели эти соотношения не будут универсальными, так как в них есть зависимость от исходного количества молекул регулятора. Биологический смысл этого вывода почти очевиден: адаптация – это

процесс, который происходит в организме в ответ на налагаемые извне условия, но при этом зависит от состояния организма. Отметим, что полученное нами соотношение коэффициентов, необходимое для абсолютной адаптации, верно только в рамках конкретной используемой модели, и для других математических моделей условия адаптации будут выглядеть иначе.

Модель, использованная в данной работе для математического описания контуров с мРНК, основана на предположении, что мРНК останавливает трансляцию целевой мРНК. В последнее время появились данные о том, что у животных существует еще один механизм действия мРНК: посредством деградации мРНК гена-мишени [11–13]. В статье [6] мы показали, что в рамках математической модели, исходящей из предположения о таком механизме, когерентные контуры более эффективно гасят шум, вызванный флуктуацией числа молекул ТФ первого уровня, чем такие же контуры в модели с остановкой трансляции. Однако вопрос о способности контуров с мРНК к адаптации в рамках модели с деградацией мРНК гена-мишени остается открытым и требует дальнейшего изучения.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 14-01-00334) и Программы Министерства образования и науки Российской Федерации.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. H. Heranz and S. Cohen, *Genes & Development* **24**, 1339 (2010).
2. S. Magnan and U. Alon, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **100** (21), 11980 (2003).
3. U. Alon, *Nature Rev. Genetics* **8**, 450 (2007).
4. N. Bushati and S. Cohen, *Annu. Rev. Cell Development. Biol.* **23**, 175 (2007).
5. M. Osella, C. Bosia, D. Corá, and M. Caselle, *PLoS Comput. Biol.* **7** (3), e1001101 (2010).
6. M. A. Duk, M. G. Samsonova, and A. M. Samsonov, *BMC Genomics* 2014, **15** (Suppl 12); S9 doi:10.1186/1471-2164-15-S12-S9.
7. S. Kaplan, A. Bren, E. Dekel, and U. Alon, *Molec. Syst. Biol.* **4**, 203 (2008).
8. L. Goentoro, O. Shoval, M. W. Kirschner, and U. Alon, *Molec. Cell* **36**, 894 (2009).
9. O. Shoval, L. Goentoro, Y. Hart, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **107** (36), 15995 (2010).
10. M. A. Duk, A. M. Samsonov, and M. G. Samsonova, *Proc. Intern. Conf. «Days on Diffraction – 2013»*, IEEE Publ., pp. 42–46 (2013).
11. J. H. Park and C. Shin, *BMB Rep.* **47** (8), 417 (2014).

12. A. Baccarini, H. Chauhan, T. J. Gardner, et al., *Curr. Biol.* **21**, 369 (2011).  
13. E. Levine, P. McHale, and H. Levine, *PLoS Comput. Biol.* **3** (11), e233 (2007).

## The Dynamics of Feed-Forward Loop Depends on Regulator Type in Indirect Pathway

M.A. Duk\* \*\*, A.M. Samsonov\* \*\*, and M.G. Samsonova\*\*

*\*Ioffe Physical-Technical Institute, Polytekhnicheskaya ul. 26, St. Petersburg, 194021 Russia*

*\*\*St. Petersburg State Polytechnic University, Polytekhnicheskaya ul. 29, St. Petersburg, 195251 Russia*

Gene networks contain a recurring motif, called the feed-forward loop, in which a transcription factor regulates target expression directly and indirectly via the second regulator. Here we present the results of mathematical modeling of feed-forward loops with either the transcription factor or miRNA as a repressor in the indirect pathway. We showed that the substitution of the transcription factor with miRNA changes the dynamic behavior of the feed-forward loop and lends new properties critical for biological system functioning.

*Key words: feed-forward loop, miRNA, loops with two transcription factors, dynamics of loop, noise*