

## МОДЕЛИРОВАНИЕ СЕТИ ГЕНОВ GAP В ДРОЗОФИЛЕ В УСЛОВИЯХ ИЗМЕНЧИВОСТИ МОРФОГЕНА VICOID

© 2015 г. С.А. Андреев, М.Г. Самсонова, В.В. Гурский\*

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

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

E-mail: samson@spbcas.ru

Поступила в редакцию 12.12.14 г.

На ранних стадиях эмбриогенеза плодовой мушки дрозофилы картины экспрессии генов сегментации формируются под влиянием материнских градиентов транскрипционных факторов, которые запускают пространственно локализованную экспрессию в каскаде сегментационных генов. Одним из таких активаторов является Vcd. Исследована одна из моделей регуляции в сети генов gap в условиях вариации концентрации этого белка. Показано, что известная информация о топологии взаимодействий генов в сети не достаточна для объяснения экспериментальных данных по сдвигам anteriorno-го домена экспрессии гена *hb* при изменении концентрации Vcd в эмбрионе. В результате моделирования с учетом этих данных выявляется новая топология, определяющая правильные сдвиги домена экспрессии *hb*. Полученные результаты свидетельствуют о том, что взаимодействия в тройке генов *hb*, *Kr* и *gt* являются ключевыми для правильного поведения картины экспрессии *hb* при вариации концентрации Vcd. Проведенное исследование позволяет уточнить границы применимости феноменологических моделей генных сетей.

*Ключевые слова:* дрозофила, гены сегментации, *Vicoid*, *hunchback*, генные сети, математическое моделирование.

Экспрессия материнских генов является первичным и важнейшим источником позиционной информации на ранних стадиях эмбрионального развития многоклеточных организмов. Продукты материнских генов образуют широкие градиенты концентраций, и их считывание и интерпретация приводят к детерминации судьбы клеток, а также определяют пространственное расположение клеток в эмбрионе. В результате детерминации в эмбрионе формируется пространственно неоднородная картина экспрессии генов, называемая паттерном.

Плодовая мушка дрозофила является классической модельной системой для изучения роли материнских градиентов в формировании позиционной информации. У этого организма функционируют три системы материнских генов, координирующих формирование пространственного паттерна вдоль главной, anteriorno-постериорной (А-П) оси эмбриона. Антериорная система представлена anteriorno-постериорным градиентом белкового продукта гена *bicoid* (*bcd*), являющегося транскрипционным фактором [1].

Постериорная система включает постериорно-антериорный градиент транскрипционного фактора Caudal (*Cad*). Этот градиент возникает из-за репрессии трансляции мРНК *cad*, изначально равномерно распределенной в цитоплазме ооцита, под действием Vcd. Другой постериорно-антериорный градиент образован белком Nanos, РНК-связывающим фактором, основной функцией которого является блокировка трансляции равномерно распределенной мРНК транскрипционным фактором Hunchback (*Hb*) в постериорной части эмбриона [2].

Терминальная система, определяющая образование терминальных структур эмбриона (акрона и тельсона), представляет собой сигнальный путь, ключевым компонентом которого является тирозин-киназный рецептор *torso*. Эта система осуществляет активацию терминальных зиготических gap-генов *tailless* (*tll*) и *huckebein* на полюсах эмбриона [3].

Интересно, что системы материнских градиентов предвосхищают разбиение тела эмбриона дрозофилы на два отдела – головной и туловищный. В формировании эмбрионального паттерна в этих отделах вовлекаются разные зиготические гены и разные регуляторные взаи-

Сокращение: А-П – anteriorno-постериорный.

модействия [4–6]. В дальнейшем, на стадии ранней гастрюляции, на границе этих двух разных систем формирования паттерна возникает головная бороздка – первый морфологический признак программ детерминации судьбы клеток и дифференцировки [7,8].

Несмотря на большой объем публикаций, посвященных координирующей роли материнских факторов в образовании пространственно локализованной экспрессии генов в эмбрионе, исследования последних лет показали неоднозначность и сложность функционирования материнских систем. Парадоксально, что большинство неясностей и противоречивых данных на сегодня касаются наиболее изученной антериорной системы, а именно гена *bcd*.

Согласно теории позиционной информации и иллюстрирующей ее модели французского флага, положение клеток, способных отвечать на локализованные биохимические сигналы, в поле развивающейся ткани определяется путем пассивного считывания пороговых концентраций градиента белка-морфогена [9]. На основании исследований, проведенных в 80-е годы прошлого века, был сделан вывод, что градиент *Vcd* обладает классическими функциями морфогена. Развитие всех антериорных структур эмбриона дрозофилы полностью зависит от *Vcd*, а в отсутствие *Vcd* головные и грудные структуры замещаются постериорными [10]. Было также показано, что микроинъекция мРНК *bcd* приводит к формированию антериорных структур вблизи сайта инъекции. Наконец, в экспериментах по изменению числа копий *bcd* было продемонстрировано, что пороговые значения концентраций этого градиента устанавливают позиции зиготических генов-мишеней вдоль оси А-П. Оказалось, что увеличение дозы *bcd* (три–шесть копий) приводит к сдвигу областей экспрессии генов-мишеней *Vcd* – генов *gar* и *pair-rule* – в постериорном направлении, а уменьшение дозы (1 копия) – в антериорном [11].

Однако дальнейшие результаты во многом усложнили представления об установлении границ зиготических генов градиентом *Vcd*. Было выяснено, что смещение областей экспрессии генов-мишеней при изменении дозы *bcd* зависит от положения этих областей относительно уровня концентрации *Vcd*. Антериорные области наиболее чувствительны к изменению дозы *bcd*, а позиции более постериорных областей экспрессии реагируют в меньшей степени, что приводит к сужению паттерна в случае увеличения дозы и к его растяжению в случае ее уменьшения. Но даже антериорные области смещаются в меньшей степени, чем можно было бы

предположить согласно стандартной модели считывания пороговых концентраций морфогенетического градиента [12,13]. Более того, недавние исследования показали, что на ранних этапах эмбрионального развития области экспрессии генов-мишеней смещаются в полном соответствии с увеличением или уменьшением дозы *bcd*, и лишь в дальнейшем генная сеть частично адаптируется к данному изменению [14].

Эти результаты указывают на то, что расшифровка механизмов интерпретации информации, заложенной в градиенте *Vcd*, возможна только в контексте генной сети, с учетом взаимодействий материнских систем и зиготических генов-мишеней. В отличие от экспериментальных подходов, основанных на использовании мутантов и генетических конструктов, математическое моделирование позволяет рассмотреть такие взаимодействия в интактном состоянии, адекватно описать их последствия и сформулировать гипотезы для дальнейшей экспериментальной проверки.

В этой статье мы разработали и изучили динамическое поведение математической модели, описывающей позиционную динамику экспрессии генов-мишеней в туловищном отделе у эмбрионов с измененным числом копий *bcd*. Мы показали, что модель корректно описывает экспериментальные данные по варибельности паттерна *Nb* только ценой дефектов паттернов остальных генов *gar*, а также выявили ключевые регуляторные взаимодействия в сети, ответственные за этот эффект в модели.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для моделирования экспрессии в сети генов *gar* была использована модель, предложенная в работах [15–18]. Модель описывает экспрессию генов *hb*, *Kruppel (Kr)*, *giant (gt)* и *knirps (kni)* и состоит из следующих уравнений:

$$\frac{du_i^a}{dt} = R^a g \left( \sum_{b=1}^N T^{ab} u_i^b(t) + \sum_{c=1}^K E^{ac} v_i^c(t) + h^a \right) - \lambda^a u_i^a(t) + D^a(n) [(u_{i-1}^a(t) - u_i^a(t)) + (u_{i+1}^a(t) - u_i^a(t))], \quad (1)$$

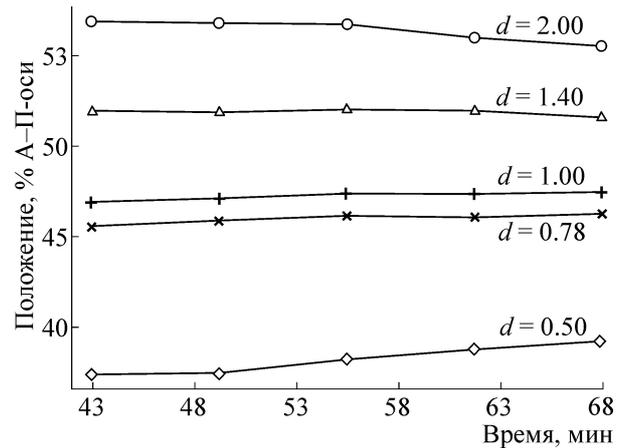
где  $u_i^a(t)$  – концентрация белка  $a$ -го гена в  $i$ -м ядре эмбриона на А-П-оси в момент  $t$ , динамика которой определяется в уравнениях модели тремя процессами – синтезом, деградацией и диффузией. Константа  $R^a$  определяет максимальную интенсивность синтеза  $a$ -го белка. Функция  $g$  описывает регуляцию синтеза и имеет форму гладкой монотонной функции переключения с нуля (ген неактивен) до единицы (ген экспрес-

сируется с максимальной интенсивностью). Аргумент этой функции включает в себя все регуляторы  $a$ -го гена. В их число входят сами гены  $gap$ , регулирующие друг друга посредством своих продуктов экспрессии  $u_i^b(t)$  ( $N = 4$ ), а также  $K$  дополнительных регуляторов  $u_i^c(t)$  ( $K = 3$ ), представляющих концентрации материнских белков  $Vcd$  и  $Cad$ , а также терминального белка ГП. Веса  $T^{ab}$  и  $E^{ac}$  определяют силу регуляторного влияния соответствующих транскрипционных факторов. Константа  $h^a$  определяет порог базального уровня экспрессии. Распад белка моделируется как линейное слагаемое в уравнении с кинетической константой  $\lambda^a$ . Последнее слагаемое в уравнении описывает диффузию белка в одномерной цепочке ядер с параметром диффузии  $D^a(n)$ , значение которого зависит от номера цикла деления ядер  $n$  в силу уменьшения расстояния между соседними ядрами после каждого деления.

Динамика белков-продуктов генов  $gap$  моделируется во временном интервале от начала цикла деления 13 до конца цикла 14А. Симметричность паттернов экспрессии в дорсовентральном направлении в эмбрионе позволяет редуцировать задачу к одномерной цепочке ядер вдоль А-П-оси, из которых рассматриваются те, которые попадают в интервал от 35 до 92% длины эмбриона. В этой пространственной области система генов  $gap$  и рассмотренные регуляторы формируют замкнутую систему. Поскольку белковые продукты генов  $gap$  только начинают появляться в начале цикла 13, в качестве начальных условий в модели берутся нулевые концентрации для всех этих белков, кроме белка  $Hb$ , чья концентрация на начало 13-го цикла представляет собой пространственный градиент материнского происхождения.

Модель успешно применялась для описания паттернов экспрессии генов  $gap$  дикого типа [16,17,22] и нуль-мутантов по гену  $Kr$  [18]. На сегодняшний день эта модель предлагает наиболее точную аппроксимацию существующих экспериментальных данных по экспрессии генов сегментации, а также правильно предсказывает вариабельность таких картин экспрессии, наблюдаемую в естественных условиях [17,19,20].

Для моделирования ответа генов  $gap$  на более масштабную вариабельность материнских факторов, были использованы опубликованные ранее экспериментальные данные по экспрессии гена  $hb$  при разных концентрациях белка  $Vcd$  в трансгенных линиях дрозофил. В этих экспериментах концентрацию  $Vcd$  выражали через количество доз этого белка, причем доза, равная единице, соответствовала концентрации  $Vcd$



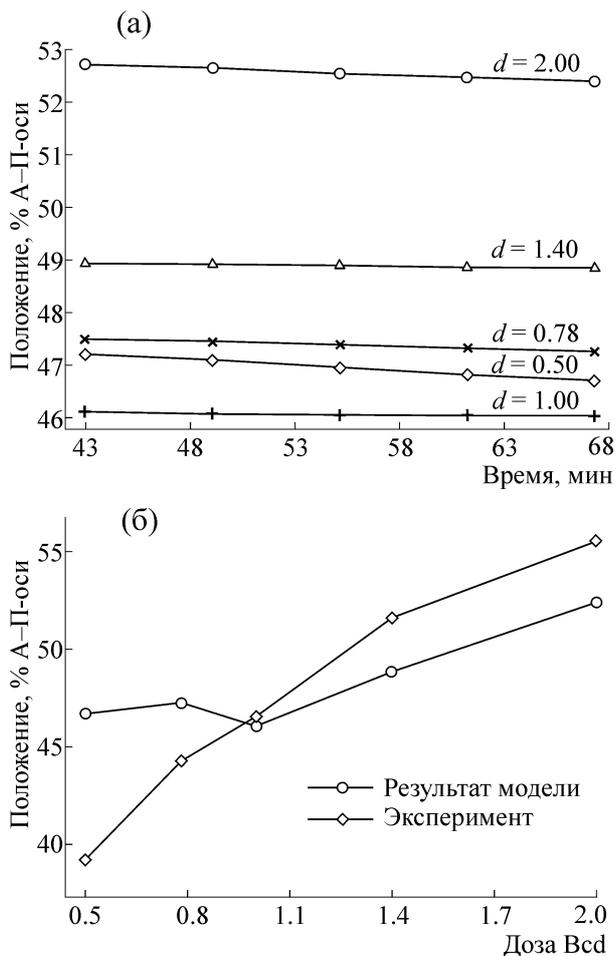
**Рис. 1.** Ответ гена  $hb$  на изменение дозы белка  $Vcd$  по экспериментальным данным из работы [14]. Каждая из пяти линий соответствует динамике постериорной границы anteriorного домена в паттерне экспрессии  $Hb$  для соответствующей трансгенной линии дрозофил с дозой  $Vcd$   $d$ . Временная шкала отсчитывается от начала 13-го цикла деления. По оси ординат отложено положение границы в процентах от длины эмбриона. Рисунок построен путем оцифровки рисунка S7,D из дополнительных материалов к статье [14].

у эмбрионов дикого типа [14]. На рис. 1 показана динамика постериорной границы anteriorного домена экспрессии гена  $hb$  для пяти доз белка  $Vcd$ .

Новые значения всех параметров в модели (1) находились численной минимизацией функционала качества, определяющего близость решения в модели к экспериментальным данным по концентрациям и сдвигам anteriorного домена  $Hb$  при вариации дозы  $Vcd$ . На первом этапе исследования функционал выбирался следующим образом:

$$F_1 = \sum_{a,i,j} (u_i^a(t_j) - u_{i,dat}^a(t_j))^2 + \sum_{d,k} \theta_d (x^{hb}(t_k, d) - x_{dat}^{hb}(t_k, d))^2 + P(q), \quad (2)$$

где  $u_i^a$  и  $u_{i,dat}^a$  — концентрация  $a$ -го белка в  $i$ -м ядре, полученная из решения модельных уравнений (1) и из экспериментальных данных соответственно;  $x^{hb}$  и  $x_{dat}^{hb}$  — постериорная граница anteriorного домена в паттерне экспрессии  $Hb$ , вычисленная из решения  $u_i^{Hb}$  для белка  $Hb$  и из экспериментальных данных  $u_{i,dat}^{Hb}$ , соответственно, в момент  $t_k$  и для дозы  $Vcd$ , обозначенной через  $d$ . Веса  $\theta_d$  подбирались эмпирически в ходе оптимизации для баланса между разными вкладками в функционал. Суммирова-



**Рис. 2.** Ответ гена *hb* на изменение дозы Vcd в модели (1) с значениями параметров из работы [17], в сравнении с экспериментальными данными из рис. 1. (а) – Динамика постериорной границы anteriорного домена Hb в решении модельных уравнений при различных дозах Vcd *d*. (б) – Положение этой границы в зависимости от дозы Vcd *d* в фиксированный момент времени ( $t = 68$  мин) в решении и экспериментальных данных.

ние производится по всем белкам *a*, по всем ядрам *i* из интервала 35–92% длины эмбриона на А-П-оси (30 ядер в 13-м и 58 ядер в 14-м клеточных циклах), по девяти временам  $t_j$  (один в цикле деления 13 и восемь в цикле 14А), для которых имеются экспериментальные данные, по дозам Vcd *d*, а также по пяти временам  $t_k$ , для которых есть экспериментальные данные для границы Hb (см. рис. 1). Функция  $P(q)$  от вектора параметров  $q = (T^{ab}, E^{ac}, h^a)$ , входящих в аргумент функции  $g$  в (1), играет роль штрафной функции (регуляризационный член), призванной контролировать размер области поиска в пространстве параметров:  $P$  принимает меньшие значения при меньших значениях нормы вектора параметров (см. детали в работе [18]).

На втором этапе исследования минимизировался функционал, в котором близость решения по концентрациям контролировалась только для Hb:

$$F_2 = \sum_{i,j} (u_i^{Hb}(t_j) - u_{i,dat}^{Hb}(t_j))^2 + \sum_{d,k} \theta_d (x^{hb}(t_k, d) - x_{dat}^{hb}(t_k, d))^2 + P(q). \quad (3)$$

Функционалы (2) и (3) минимизировались методом разностной эволюции [20].

Граница  $x^{hb}$  вычислялась как положение в локальной области на А-П-оси, соответствующей формированию постериорной границы anteriорного домена белка Hb, в котором решение для этого белка в модели достигало полумаксимальной величины.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Модель (1) была исследована ранее в разных контекстах, в частности были получены значения параметров, при которых решение правильно описывает экспериментальные данные по экспрессии генов *gar* в диком типе и *Kr*-мутантах [15–20]. Эти значения находились путем численной минимизации аналога функционала (2), в котором отсутствовали слагаемые с  $x^{hb}$ . Однако вычисления показали, что при таких значениях параметров решение неправильно описывает сдвиги паттерна экспрессии гена *hb* при изменении дозы Vcd (рис. 1, 2). Таким образом, предложенная ранее модель сети генов *gar* не описывает механизмы, ответственные за формирование паттернов экспрессии, устойчивых к сильным возмущениям морфогенов.

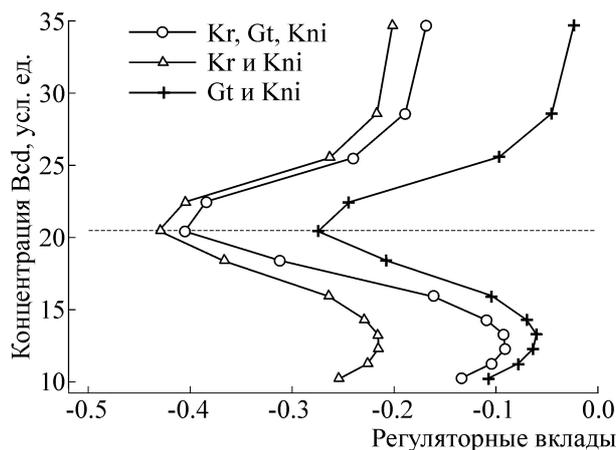
Из рис. 1 следует, что с ростом дозы Vcd *d* постериорная граница anteriорного домена Hb в целом смещается в постериорную область, что соответствует активирующей роли Vcd [23]. В модели этот эффект проявляется лишь частично, т.е. при увеличении дозы Vcd граница  $x^{hb}$  сдвигается постериорно значительно меньше и не для всех интервалов изменения *d* (рис. 2б). Можно отметить три фазы изменения границы Hb в модели: она смещается постериорно при увеличении *d* от 0,50 до 0,78, затем anteriорно при увеличении *d* от 0,78 до 1,00, и наконец снова постериорно при дальнейшем увеличении *d*. Фаза с anteriорными сдвигами  $x^{hb}$  не может быть объяснена прямым влиянием Vcd и, следовательно, является результатом межгенных взаимодействий в сети генов *gar*.

Чтобы выяснить, какие взаимодействия в сети вносят основной вклад в такое немоно-

тонное поведение  $x^{hb}$  как функции от дозы Vcd, был проведен регуляторный анализ модели (1), в ходе которого исследовались регуляторные вклады в экспрессию Hb в окрестности  $x^{hb}$  и изменение этих вкладов при вариации концентрации Vcd в уравнениях («кривые ответа» регуляторных вкладов на изменение Vcd). Регуляторным вкладом от транскрипционного фактора  $b$  в экспрессию гена  $a$  называется слагаемое из аргумента функции синтеза  $g$  в (1) вида  $T^{ab}u_i^b(t)$ , если  $b$  – ген gap, или  $E^{ab}v_i^b(t)$  для внешних регуляторов ( $bcd, cad, tll$ ). Регуляторный вклад от нескольких генов представляется в виде суммы вкладов отдельных генов. Таким образом, чем больше доля какого-то транскрипционного фактора в общем регуляторном вкладе в ген  $a$  (полная сумма в аргументе функции  $g$ ), тем сильнее его влияние на экспрессию этого гена относительно остальных регуляторов.

Помимо  $hb$ , Vcd в модели активируют остальные гены gap –  $Kr, gt$  и  $kni$ . Из литературы известно, что продукты этих генов являются репрессорами  $hb$  [4,23]. Поэтому кривые, описывающие регуляторные вклады этих трех репрессоров (совместно или попарно), теоретически должны определять поведение постериорной границы anteriорного домена  $hb$  при изменении концентрации Vcd. Вычисления показывают, что кривые ответа на изменение дозы Vcd этих регуляторных вкладов немонотонны (рис. 3). Репрессия Hb усиливается в ответ на совместное действие  $Kr, Gt$  и  $Kni$  при росте концентрации Vcd в районе средних значений этой концентрации (кривая ответа уходит дальше в область отрицательных значений аргумента функции  $g$  при росте концентрации Vcd). Описанная немонотонность этой кривой определяет аналогичную немонотонность зависимости  $x^{hb}$  от концентрации Vcd на рис. 2б.

Такой характер зависимости совместных регуляторных вкладов  $Kr, gt$  и  $kni$  от концентрации Vcd можно объяснить следующим образом. Главным регулятором  $hb$  в области формирования постериорной границы anteriорного домена Hb является репрессор  $Kni$  [16–20,22,23]. При малых концентрациях Vcd в этой пространственной области экспрессия  $hb$  находится под контролем двух из трех генов gap –  $gt$  и  $kni$ . Это следует из того факта, что кривая регуляторного вклада от трех генов gap на рис. 3 близко подходит к кривой регуляторного вклада от этих двух генов в нижней части рисунка, т.е. влияние третьего гена ( $Kr$ ) не приводит к расхождению этих двух кривых и, следовательно, очень мало в этой области концентраций Vcd.  $Gt$  в модели является слабым



**Рис. 3.** Кривые ответа различных регуляторных вкладов в регуляцию гена  $hb$  на изменение концентрации Vcd. Показан суммарный регуляторный вклад от трех ТФ ( $Kr, Gt, Kni$ ), а также суммарные вклады от комбинаций из двух ТФ, вычисленные (как описано в тексте) в момент  $t = 55$  мин от начала 13-го цикла деления и для пространственного положения на оси А-П, равного 47% длины эмбриона, – примерного расположения границы  $x^{hb}$  в эмбрионах дикого типа. Горизонтальная пунктирная линия отмечает концентрацию Vcd в таких эмбрионах.

активатором  $hb$  [16–20,22,23], и задняя граница его anteriорного домена формируется вблизи  $x^{hb}$ , но ближе к переднему концу эмбриона. Поэтому при росте концентрации Vcd активация от  $Gt$  способствует постериорному сдвигу  $x^{hb}$ . Однако Vcd также является активатором  $Kr$ , вследствие чего при росте концентрации Vcd anteriорно сдвигается anteriорная граница (ближайшая к  $x^{hb}$ ) домена  $Kr$ . В результате этого при дальнейшем увеличении концентрации Vcd растет репрессирующее влияние  $Kr$  на  $hb$  и на  $gt$ , и это приводит к тому, что регуляторный вклад  $Gt$  ослабевает, а вклад  $Kr$  растет в окрестности  $x^{hb}$ . Это выражается в том, что кривая вкладов от трех генов на рис. 3 отходит от кривой вкладов  $Kni$  и  $Gt$  и приближается очень близко к кривой вкладов  $Kni$  и  $Kr$ . Таким образом, в соответствующей области концентраций Vcd в тройке генов gap эксклюзивными регуляторами задней границы переднего домена Hb являются  $Kni$  и  $Kr$ , что для дикого типа впервые было описано в работе [16].

Таким образом, немонотонный характер изменения регуляторных вкладов в экспрессию  $hb$  и, как следствие, такой же немонотонный характер сдвигов  $x^{hb}$  при изменении концентрации Vcd связаны с переходом регуляторного контроля границы Hb от пары  $Gt$  и  $Kni$  к паре  $Kr$  и  $Kni$  [20]. Взаимодействия в тройке Hb,

Значения параметров в модели (1), полученные численной оптимизацией с модифицированным функционалом (3)

	Hb	Kr	Gt	Kni	Cad	Tll	Bcd
<i>hb</i>	0,0209	-0,0007	0,0218	-0,1114	0,0041	0,0026	0,0256
<i>Kr</i>	-0,0252	0,0351	-0,0421	-0,0431/9%	0,0235	-0,2014	0,1186
<i>gt</i>	-0,0375/5%	<b>-0,1052/48%</b>	0,0096	0,0030	0,0234	-0,0108	<b>0,1996/28%</b>
<i>kni</i>	-0,0878/3%	-0,0004	-0,0169	0,0134	0,0197	<b>-0,0448/71%</b>	0,0133
R	15,00	10,35	15,00	15,00			
D	0,16	0,16	0,16	0,16			
$\lambda$	9,51	15,88	9,62	13,16			

Примечание. Первые пять строк содержат значения элементов регуляторной матрицы  $T^{ab}$  (столбцы 2–5) и  $E^{ac}$  (столбцы 6–8). В первой строке таблицы приведены названия транскрипционных факторов, в первом столбце – названия генов-мишеней и другие параметры. Через черту приведены величины абсолютной разницы значения параметра с таким же значением из работы [17], причем эта разница вычислена в процентах от максимального значения регуляторных параметров в таблице ( $T^{Tll,Kr} = -0,2014$ ); разница приведена в таблице только для параметров, для которых она составляет более 1%. Три регуляторных параметра с максимальной разницей отмечены жирным шрифтом. Последние три строки содержат значения параметров  $R^a$ ,  $\lambda^a$  и  $D^a$  (коэффициент диффузии в 14-м клеточном цикле) для соответствующих транскрипционных факторов из первой строки таблицы. Значения параметра  $h^a$  фиксировались в ходе оптимизации:  $h^a = -2,5$ .

Gt, Kr являются ключевыми для этого феномена.

Чтобы выяснить, является ли неправильный отклик положения границы домена Hb на изменение дозы Bcd в модели принципиальной трудностью самой модели или есть следствие выбранных значений параметров, была проведена новая численная оптимизация значений параметров. В ходе этой оптимизации минимизировался модифицированный функционал, характеризующий близость решения модели к экспериментальным данным по экспрессии генов *gar*, а также близость границы  $x^{hb}$  в модели к соответствующей границе в экспериментальных данных при четырех дозах Bcd:  $d = 0,50; 0,78; 1,0; 1,4; 2,0$ , где доза  $d = 1,0$ , как было указано выше, соответствует концентрации этого белка у эмбрионов дикого типа. На первом этапе численно минимизировался функционал (2), в котором контролировалась близость решения к данным по концентрациям всех белков. Этот функционал получался просто добавлением к функционалу, использовавшемуся в работе [18], слагаемых, контролирующих близость  $x^{hb}$  к соответствующим экспериментальным значениям. В результате многочисленных запусков оптимизации с различными значениями весов  $\theta$  был выбран лучший набор значений параметров. Поскольку экспериментальные данные по сдвигам картин экспрессии генов *gar* были известны только для Hb, на втором этапе были получены результаты по численной минимизации

функционала (3), в котором близость решений и данных по концентрациям контролировалась также только для Hb. Примерно треть запусков с таким функционалом заканчивалось с набором значений параметров, которые давали решение, качественно близкое к тому, что получалось при значениях параметров, полученных в случае с функционалом (2).

В результате анализа полученных значений параметров были выбраны консенсусные значения (таблица). Все качественные свойства топологии регуляторных взаимодействий в сети генов *gar* описываются этими значениями [16–20]. Более того, значения большинства регуляторных параметров получились очень близкими к значениям, которые были получены без учета информации о вариации доз Bcd [17]. Исключение составляют три параметра, которые значительно изменились (таблица). Во-первых, уменьшилась активация экспрессии *gt* под действием Bcd. Такое уменьшение активации привело к тому, что антериорный домен Gt перестал формироваться в решении. Во-вторых, Kr стал меньше репрессировать *gt*. Это связано с тем, что сильная репрессия уже не нужна в антериорной области в силу отсутствия там домена Gt (использование штрафной функции в функционале качества ведет к большей вероятности нахождения меньших значений параметров), а также связано с сохранением баланса между активацией (от Bcd) и репрессией (от Kr) для регуляции постериорного домена экс-

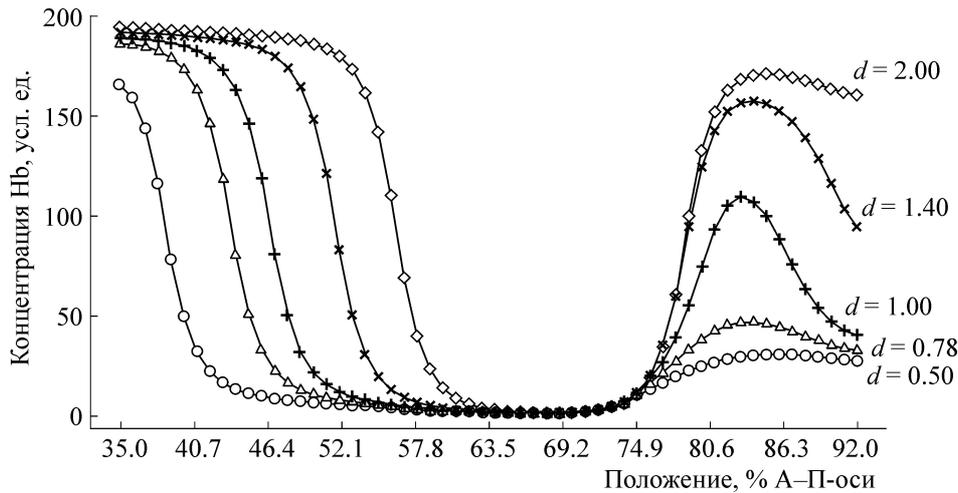


Рис. 4. Решение для Hb в модели с новыми значениями параметров при различных дозах Vcd  $d$ . Графики решения построены для момента  $t = 68$  мин от начала 13-го цикла деления.

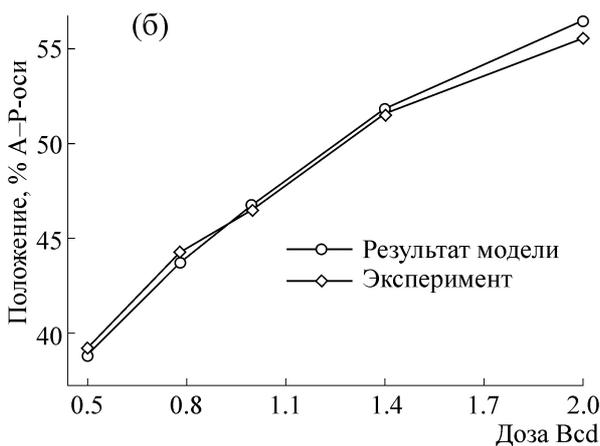
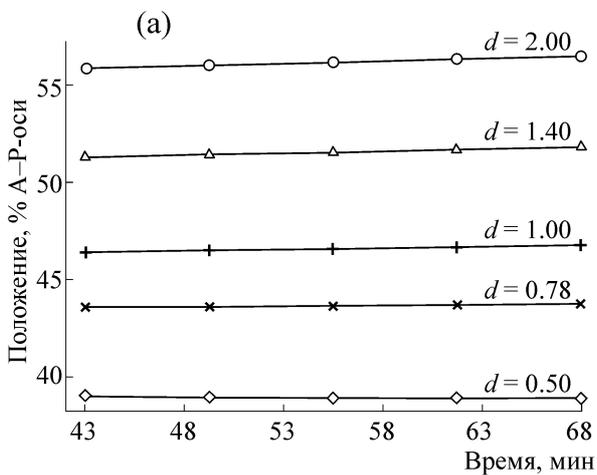


Рис. 5. Аналог рис. 2, но для новых значений параметров (таблица).

прессии *gt*. Наконец, значительно уменьшилась репрессия *kni* со стороны ПП.

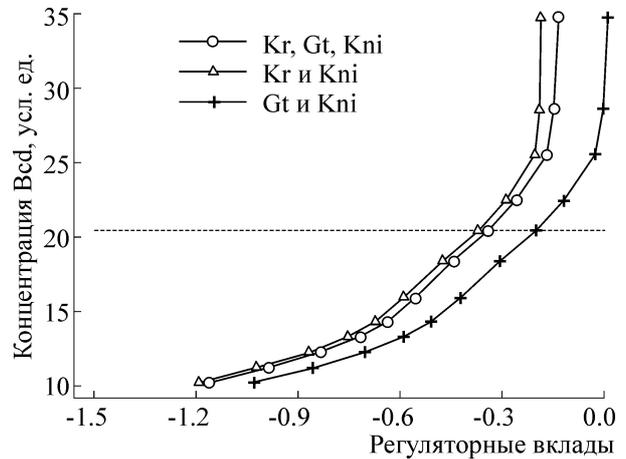


Рис. 6. Аналог рис. 3, но для новых значений параметров (таблица).

При таких изменениях в значениях параметров решение для Hb демонстрирует правильный ответ на изменение дозы Vcd (рис. 4–5). Кривая  $x^{hb}(d)$  (рис. 5б) практически совпадает с экспериментальной как в области малых доз Vcd, так и в области больших доз. Чтобы понять, каким образом изменения в значении параметров привели к улучшению качества подгонки модели к данным в этих двух диапазонах изменения концентрации Vcd, был проведен регуляторный анализ и построены кривые ответа регуляторных вкладов в экспрессию *hb* на изменение доз Vcd (рис. 6). В отличие от старых значений параметров (рис. 2), для новых значений кривая ответа является монотонной, т.е. при увеличении концентрации Vcd антериорный домен Hb всегда сдвигается к заднему концу эмбриона. Уменьшение активации экспрессии

*gt* под действием *Vcd* при новых значениях параметров и связанное с этим падение концентрации *Gt* в anteriорном домене приводит к ослаблению регуляторного воздействия *Gt* на *hb* в области, соответствующей  $x^{hb}$ . Как следствие, *Gt* больше не контролирует *hb* в этой окрестности, и вклад от генов *gar* в регуляцию  $x^{hb}$  при всех концентрациях *Vcd* почти полностью определяется вкладами только двух генов – *kni* и *Kr* (рис. 6). При малых дозах *Vcd* уровень активации *hb* в anteriорной области понижен (в отсутствие *Gt*) и потому  $x^{hb}$  сдвигается более синхронно с близкой границей области экспрессии *Kr*. При больших дозах *Vcd* активация *hb* увеличивается и  $x^{hb}$  сдвигается к заднему концу эмбриона, где значительно сильнее влияние репрессии от *kni*. Однако уменьшение репрессии *kni* со стороны самого постериорного регулятора – *Tll* – при новых значениях параметров в модели позволяет области экспрессии *Kni* более свободно сдвигаться постериорно. Следовательно,  $x^{hb}$  более свободно сдвигается к заднему концу эмбриона при больших дозах *Vcd*, что и определяет правильное поведение постериорной границы anteriорного домена *Hb* в этой области значений концентрации *Vcd*.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе исследована модель экспрессии в сети генов *gar* в условиях сильной вариации концентрации морфогена *Vcd*, которая, согласно дизайну эксперимента в работе [14], выражена через количество доз этого белка и варьирует в пределах от половины до двойной дозы (доза, равная единице, соответствует концентрации *Vcd* у эмбрионов дикого типа). Такое исследование является важным тестом модельного подхода, в котором значения параметров находятся подгонкой решения к экспериментальным данным по концентрациям продуктов экспрессии для дикого типа и/или для отдельных мутантных генотипов.

Полученные результаты позволяют выделить регуляторные взаимодействия между генами *hb* и *gt* как ключевые для правильного поведения anteriорного домена экспрессии *hb* при вариации дозы *Vcd*. В вариантах модели, в которых *Gt* участвует в регуляции экспрессии *hb* в anteriорном домене, сдвиги задней границы этого домена не соответствуют экспериментальным данным. Более того, эта граница является немонотонной функцией концентрации *Vcd*. Правильное поведение границы домена *Hb* получается только в вариантах модели, где контроль этой границы со стороны *gt* от-

сутствует. В этом случае граница *Hb* монотонно зависит от концентрации *Vcd*.

Немонотонный характер зависимости границы домена *Hb* от концентрации *Vcd* лежит в основе устойчивости формирования картин экспрессии генов *gar* [20] в модели, описанной в работе [17]. Эта устойчивость заключается в том, что вариабельность позиционирования областей экспрессии генов *gar* значительно меньше естественной вариабельности морфогена *Vcd*, т.е. вариабельности концентрации этого белка в эмбрионах дикого типа [24]. В этом отношении модель, описанная в работе [17], хорошо согласуется с экспериментальными данными. Такое уменьшение вариабельности – важный экспериментальный факт, ставящий под сомнение главный постулат теории позиционной информации, согласно которому концентрации морфогена однозначно определяют положение границ генов-мишеней, т.е. в том числе и генов *gar*. Таким образом, свойство модели, ответственное за робастное поведение решений при относительно небольших вариациях концентраций *Vcd*, является причиной неправильного поведения решения при больших вариациях концентрации *Vcd*. В совокупности с тем фактом, что в варианте модели с правильным поведением границы *Hb* почти отсутствует anteriорный домен *Gt*, это позволяет качественно оценить границы применимости модельного подхода, связанного с уравнением (1).

Эти границы непосредственно связаны с характером регуляторного взаимодействия между *hb* и *Gt*, предсказанного моделью. Фундаментальные свойства модели (1) таковы, что любой транскрипционный фактор влияет на данный ген-мишень одинаково для всех пространственных областей эмбриона и для всех времен – либо активирует, либо репрессирует. Однако экспериментальные данные указывают на то, что в формирование эмбрионального паттерна в головном отделе (где в значительной степени находятся anteriорные области экспрессии *hb* и *gt*) и в туловищном отделе эмбриона (где находятся постериорные области экспрессии этих генов) вовлекаются разные зиготические гены и разные регуляторные взаимодействия [4–6]. Известно также, что зиготическая экспрессия *hb* в anteriорном и постериорном доменах находится под контролем разных энхансеров [11,25]. Таким образом, характер регуляции экспрессии *hb* под действием *Gt* может быть разным в этих доменах. Для проверки этой гипотезы необходима разработка новых подходов к моделированию экспрессии генов *gar*.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант 14-04-01522) и Программы Министерства образования и науки РФ 5-100-2020.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. W. Driever and C. Nusslein-Volhard, *Cell* **54**, 83 (1988).
2. M. Hulskamp, C. Schroder, C. Pfeifle, et al., *Nature* **338**, 629 (1989).
3. D. Weigel, G. Jürgens, M. Klingler, and H. Jäckle, *Science* **248** (4954), 495 (1990).
4. P. W. Ingham, *Nature* **335**, 25 (1988).
5. S. M. Cohen and G. Jurgens, *Nature* **346**, 482 (1990).
6. U. Grossniklaus, K. M. Cadigan, and W. J. Gehring, *Development* **120** (11), 3155 (1994).
7. A. Vincent, J. T. Blankenship, and E. Wieschaus, *Development* **124**, 747 (1997).
8. J. T. Blankenship and E. Wieschaus, *Development* **128**, 5129 (2001).
9. L. Wolpert, *J. Theor. Biol.* **25**, 1 (1969).
10. H. G. Frohnhof, R. Lehmann, and C. Nusslein-Volhard, *J. Embryol. Exp. Morphol.* **97** (Suppl.), 169 (1986).
11. W. Driever and C. Nusslein-Volhard, *Cell* **54**, 95 (1988).
12. B. Houchmandzadeh, E. Wieschaus, and S. Leibler, *Nature* **415**, 798 (2002).
13. S. Bergmann, O. Sandler, H. Sberro, et al., *PLoS Biol.* **5** (2), e46 (2007).
14. F. Liu, A. H. Morrison, and T. Gregor, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **110** (17), 6724 (2013).
15. E. Mjolsness, J. Reinitz, and D. H. Sharp, *J. Theor. Biol.* **152**, 429 (1991).
16. J. Jaeger, et al., *Nature* **430**, 368 (2004).
17. Manu, et al., *PloS Biol.* **7**, e1000049 (2009).
18. K. N. Kozlov, S. Surkova, E. Myasnikova, et al., *PLoS Comput. Biol.* **8**, e1002635 (2012).
19. Manu, et al., *PLoS Comput. Biol.* **5**, e1000303 (2009).
20. V. V. Gursky, et al., *BMC Syst. Biol.* **5**, 118 (2011).
21. C. Nusslein-Volhard, H. G. Frohnhof, and R. Lehmann, *Science* **238**, 1675 (1987).
22. В. В. Гурский, К. Н. Козлов, А. М. Самсонов и Дж. Рейниц, *Биофизика* **53** (2), 235 (2008).
23. J. Jaeger, *Cell. Mol. Life Sci.* **68**, 243 (2011).
24. S. Surkova, D. Kosman, K. N. Kozlov, et al., *Develop. Biol.* **313** (2), 844 (2005).
25. J. S. Margolis, M. L. Borowsky, E. Steingrimsson, et al., *Development* **121**, 3067 (1995).

## Modelling of Drosophila Gap Gene Network under Bcd Morphogen Variation

S.A. Andreev\*, M.G. Samsonova\*, and V.V. Gursky\*\*

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

\*\*Ioffe Physical-Technical Institute, Russian Academy of Sciences, Polytekhnicheskaya ul. 29, St.Petersburg 194021 Russia

Expression patterns of segmentation genes are formed under the influence of maternal transcription factor gradients, which initiate spatially localized expression in the cascade of segmentation genes. Bcd is one of these activators. We have studied one model of regulation in the gap gene network by varying the concentration of this protein. We have shown that the known gap gene network topology is not sufficient to explain experimental data on the shifts exhibited by the *hb* anterior expression domain by change in Bcd concentration in the embryo. As the result of modeling with these experimental data taken into account, a new topology is obtained that determines the correct shifts of the *hb* expression domain. These results suggest that interactions among the three *hb*, *Kr*, and *gt* genes are key regulatory factors for the valid behaviour of the *hb* expression pattern with Bcd concentration changes. This study made it possible to specify the limits of validity for phenomenological models of gene networks.

*Key words: Drosophila, segmentation genes, Bcd, hunchback, gene networks, mathematical modelling*