

## СПОСОБНОСТЬ РЕГУЛЯТОРНЫХ КОНТУРОВ С ПРЯМОЙ СВЯЗЬЮ К АДАПТАЦИИ: ЗАВИСИМОСТЬ ОТ ПАРАМЕТРОВ МОДЕЛИ И УСЛОВИЯ АБСОЛЮТНОЙ АДАПТАЦИИ

© 2018 г. М.А. Дук, С.А. Руколайне

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

E-mail: duk@mail.ioffe.ru, rukol@ammp.ioffe.ru

Поступила в редакцию 24.09.18 г.

В генных сетях часто встречаются регуляторные контуры с прямой связью, в которых транскрипционный фактор регулирует экспрессию гена-мишени двумя способами: напрямую и за счет воздействия на микроРНК, которая тоже регулирует экспрессию гена-мишени. Если ветви регуляторного контура оказывают на ген-мишень одинаковое воздействие, то контур принято называть когерентным, если противоположное – некогерентным. В настоящей статье изучены способности адаптации к изменению количества транскрипционных факторов двух когерентных и двух некогерентных контуров при использовании двух разных моделей, основанных на разных предположениях о механизме регуляции. Показано, что когерентные контуры не способны к адаптации, в то время как для некогерентных контуров существуют наборы коэффициентов модели, приводящих к абсолютной адаптации, когда экспрессия гена-мишени нечувствительна к изменениям количества транскрипционного фактора. Показано также, что адаптация у некогерентных контуров возможна только при достаточном количестве микроРНК в системе.

*Ключевые слова:* генные сети, регуляторные контуры с прямой связью, микроРНК, адаптация, абсолютная адаптация.

DOI: 10.1134/S0006302918060017

Генные сети, встречающиеся в клетках живых организмов, содержат в себе характерные повторяющиеся структуры, называемые мотивами [1], и исследование этих мотивов с использованием различных моделей, основанных на уравнениях химической кинетики, очень важно для понимания течения процессов в клетке. Одним из часто встречающихся в генных сетях мотивом является контур с прямой связью, в котором транскрипционный фактор (ТФ) регулирует экспрессию гена-мишени напрямую, и воздействуя на микроРНК (или миРНК), которая также регулирует экспрессию гена-мишени. МиРНК – это тип некодирующей РНК длиной порядка 20 нуклеотидов, который встречается в регуляторных контурах генных сетей повсеместно у эукариот, и ее роль активно изучается. Экспрессия более 30% генов в клетках животных регулируется посредством миРНК [2].

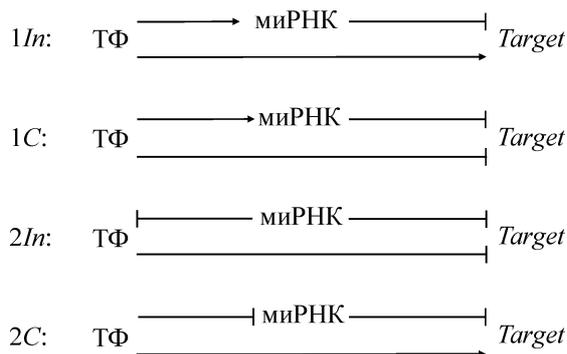
Контуры принято разделять на когерентные и некогерентные по типу воздействия регуляторных ветвей на мишень. У когерентных кон-

туров две ветви регуляции – прямая и опосредованная – оказывают одинаковое влияние на мишень, а в некогерентных – противоположное.

Так как миРНК подавляет выработку мРНК мишени, имеются четыре возможные конфигурации контуров, два когерентных и два некогерентных. Обозначим когерентный контур, в котором обе ветви подавляют экспрессию мишени как 1С, когерентный 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. Схематично контуры изображены на рис. 1. Такие конфигурации контуров часто встречаются в клетке и описаны, например, в работах [3,4].

Существуют различные модели, описывающие контуры с миРНК, основанные на разных предположениях о механизме воздействия миРНК на ген-мишень, о чем мы подробно писали в работе [5]. В данной работе мы будем

Сокращения: ТФ – транскрипционный фактор, миРНК – микроРНК.



**Рис. 1.** Схема рассматриваемых контуров. TF — транскрипционный фактор, регулирует продукцию целевого белка и второго регулятора, в роли которого выступает миРНК. Target — ген-мишень. Стрелки означают активацию, линии с вертикальной черточкой на конце означают репрессию.

использовать две математические модели: модель, в которой миРНК останавливает трансляцию белка с мРНК мишени (*Stop Model*) и модель, в которой миРНК ускоряет распад целевой мРНК, таким способом подавляя мишень (*Target Degradation Model*).

Одним из важнейших свойств живых организмов является их способность адаптироваться к различным условиям внешней среды, в том числе и на клеточном уровне. Для мотивов генных сетей адаптация означает, что при изменении внешних условий стационарное значение целевого белка изменяется незначительно. Абсолютной адаптацией будем называть ситуацию, когда при изменении внешних условий количество молекул целевого белка, тем не менее, после некоторого изменения возвращается в точности на прежний уровень, несмотря на то, что внешние условия изменились.

В работе [6] мы вскользь показали, что способность контура к абсолютной адаптации зависит от соотношения параметров модели и от величины внесенных изменений. В настоящей статье мы исследуем эту тему подробнее и показываем, как будет зависеть разница между новым и старым стационарными значениями от величины внешних изменений и от параметров модели и находим условия существования абсолютной адаптации у контуров.

Способность к адаптации регуляторных контуров различной конфигурации активно исследуется (см., например, работы [7–9]). В случае, когда оба регулятора — транскрипционные факторы, лучшую адаптацию показывает контур, обозначенный у нас как 1In. В настоящей статье мы исследуем другой тип контуров, в которых одним из регуляторов является миРНК, т.е. контуры с регуляцией трансляции.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Уравнения модели, в которой миРНК останавливает трансляцию целевого белка (*Stop Model*), имеют следующий вид [10]:

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

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

где  $w$  — количество молекул мРНК, транскрибируемых с гена транскрипционного фактора (мРНК TF),  $q$  — количество молекул TF,  $s$  — количество молекул миРНК,  $r$  — количество молекул мРНК, транскрибируемых с гена-мишени (мРНК целевого белка),  $p$  — количество молекул целевого белка. Функции продукции миРНК, целевой мРНК и целевого белка имеют следующий вид:  $k_{s,r}(q) = k_{s,r}^{(\max)} q^2 / (H^2 + q^2)$ , если TF активирует продукцию миРНК или целевой мРНК соответственно;  $k_{s,r}(q) = k_{s,r}^{(\max)} H^2 / (H^2 + q^2)$ , если TF подавляет продукцию миРНК или целевой мРНК соответственно;  $k_p(s) = k_p^{(\max)} h^2 / (h^2 + s^2)$ . Здесь  $k_{s,r}^{(\max)}$  и  $k_p^{(\max)}$  — константы.

При использовании модели с ускорением деградации целевой мРНК уравнения для количества молекул мРНК TF ( $w$ ), TF ( $q$ ) и миРНК ( $s$ ) будут иметь такой же вид, как и в модели, описанной выше, а уравнения для количества молекул мРНК целевого белка  $r$  и количества молекул целевого белка  $p$  будут иметь вид

$$\frac{dr}{dt} = k_r(q) - g_r(s)r; \quad \frac{dp}{dt} = k_p^{(\max)} r - g_p p, \quad (2)$$

где функция  $k_r(q)$  такая же, как и в первой модели, а функция деградации целевой мРНК имеет вид  $g_r(s) = g_r + g_{\max} s^2 / (h^2 + s^2)$ , где  $g_r$  — уровень распада целевой мРНК в отсутствие регуляции со стороны миРНК.

Для удобства представим функцию деградации мРНК целевого белка, используемую во второй модели, в виде  $g_r(s) = g_r(h^2 + \alpha s^2) / (h^2 + s^2)$ , где  $\alpha = 1 + g_{\max} / g_r$ . Коэффициент  $\alpha$  показывает, насколько силен распад целевой мРНК, вызванный работой миРНК, по сравнению с уровнем распада целевой мРНК в отсутствие регуляции.

Чтобы оценить способность контуров к адаптации, необходимо сравнить стационарное значение количества целевого белка  $p_{\text{stat}}$  до изменения внешних условий и после. Так как мы будем рассматривать системы только в стационарном режиме, для простоты записи будем

подразумевать под  $q, s, r, p$  стационарные значения соответствующих величин. Допустим, произошло изменение внешних условий, которое мы представим в виде добавления к количеству молекул ТФ  $q$  в стационарном состоянии некоторого количества  $\beta q$ , где коэффициент  $\beta$  мы задаем самостоятельно. Рассматриваемая система реагирует на внесенное изменение, затем приходит в стационарное состояние. Новые стационарные значения величин будут иметь вид:  $s + \delta s, r + \delta r, p + \delta p$  соответственно. Нас интересует величина  $\left| \frac{\delta p}{p} \right|$ , так как она дает информацию о том, насколько велико изменение в количестве целевого белка относительно его стационарного количества.

Коэффициент  $\beta$ , равный  $-1$ , будет означать, что количество ТФ в новой системе после изменений стало равно нулю, таким образом, по смыслу задачи коэффициент  $\beta$  должен быть больше  $-1$ , чтобы количество ТФ в системе было положительным.

Подставляя новые значения количества молекул ТФ, мРНК и мРНК в уравнение для белка, мы можем получить выражение для  $\left| \frac{\delta p}{p} \right|$ , зависящее от десяти переменных: коэффициентов продукции  $k_w, k_q, k_s, k_r$ , коэффициентов деградации  $g_w, g_q, g_s, g_r$  и коэффициентов диссоциации  $H$  и  $h$ . Таким образом, чтобы оценить способность контура к адаптации при каждом наборе коэффициентов, требовалось бы проводить минимизацию функции десяти переменных. Заметим, что  $\delta p/p = p_1/p - 1$ , где  $p = k_p^{(\max)} h^2 / g_p r / (h^2 + s^2)$  – стационарное значение до внесения изменений, а  $p_1 = k_p^{(\max)} h^2 / g_p (r + \delta r) / (h^2 + (s + \delta s)^2)$  – стационарное значение после внесения изменений, таким образом, в выражении для  $\left| \frac{\delta p}{p} \right|$  коэффициенты  $k_p$  и  $g_p$  сокращаются, и величина не зависит от этих величин.

Функцию  $\left| \frac{\delta p}{p} \right|$  для всех четырех контуров и для двух моделей можно свести к выражениям, зависящим только от двух переменных, не зависящих друг от друга, которые мы вводим таким образом:  $Q = q/H = k_q k_w / (g_q g_w H)$  и  $L = s_{\max} / h = k_s^{(\max)} / (g_s h)$ . Здесь под  $s_{\max}$  мы понимаем стационарное значение мРНК вне контура,  $H$  – коэффициент диссоциации в функциях Хилла, описывающих  $k_{s,r}$ , а  $h$  – коэффициент диссоциации в функции Хилла, описывающей  $k_p$ . Вид переменных  $L$  и  $Q$  связан с видом выра-

жений для стационарных значений величин после последовательной подстановки и позволяет упростить вид функций Хилла, зависящих от мРНК  $k_p(s)$  для модели с остановкой трансляции и  $g_r(s)$  для модели с ускорением деградации.

Для функции двух переменных можно построить графики, позволяющие для каждого набора коэффициентов увидеть, насколько хорошо контур адаптируется к изменениям. Стоит отметить, что если переменные  $Q$  или  $L$  будут равны нулю, это будет означать, что одна из ветвей регуляции не включена, и нельзя будет говорить о контурах с двумя ветвями регуляции, таким образом, по смыслу задачи переменные  $Q$  и  $L$  должны быть строго больше нуля.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

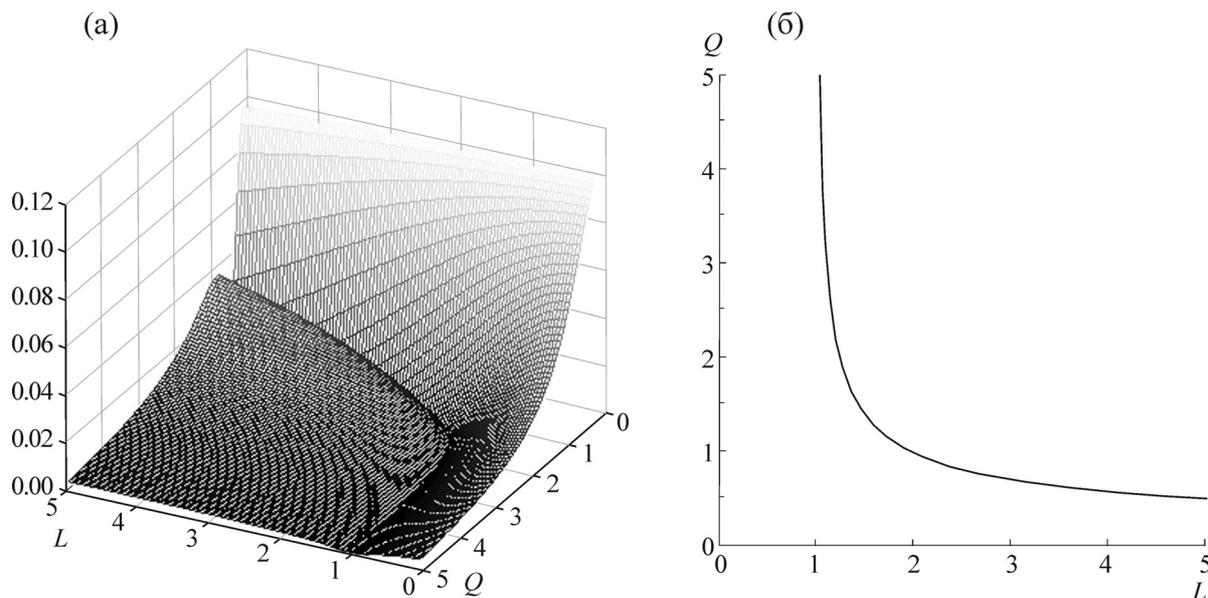
Мы выразили величину  $\left| \frac{\delta p}{p} \right|$  через переменные  $Q$  и  $L$  для всех рассматриваемых контуров. Во всех случаях мы предполагаем, что изменение внешних условий отражается в изменении количества молекул транскрипционного фактора как регулятора первого уровня для контуров с прямой связью. Тут мы не заостряем внимание на самом механизме отклика системы на внешние воздействия: было ли это следствием временного изменения скорости синтеза транскрипционного фактора или его мРНК, или дополнительные молекулы транскрипционного фактора пришли в систему извне.

**Контур 1In (Stop Model).** Для некогерентного контура типа 1In при использовании модели с остановкой трансляции эта величина имеет вид

$$\left| \frac{\delta p}{p} \right| = \left| \frac{(\beta + 1)^2 ((1 + Q^2)^2 + L^2 Q^4) (1 + Q^2 (\beta + 1)^2)}{(1 + Q^2) ((1 + Q^2 (\beta + 1)^2)^2 + L^2 Q^4 (\beta + 1)^4)} - 1 \right|. \quad (3)$$

На рис. 2а показан график этой функции двух переменных, построенный для  $\beta = 0,05$ . Можно видеть, что минимальное значение функции соответствует целому набору значений переменных  $L$  и  $Q$ . Это означает, что не существует одного набора параметров модели, при котором контур был бы способен к абсолютной адаптации, так как каждое значение величин  $L = k_s^{(\max)} / (g_s h)$  и  $Q = k_q k_w / (g_q g_w H)$  соответствует целому набору возможных значений величин  $k_q, k_w, k_s, g_q, g_w, g_s, h, H$ .

Однако используя формулу (3), можно по заданным значениям коэффициентов модели



**Рис. 2.** (а) – Графики функции  $\left| \frac{\delta p}{p} \right|$  переменных  $L$  и  $Q$  для контура  $1In$ , (б) – график функции абсолютной адаптации для контура  $1In$ .

оценить, насколько хорошо будет контур адаптироваться к изменениям в количестве ТФ.

Несложно определить, при каком соотношении коэффициентов будет иметь место абсолютная адаптация, т.е. новое стационарное количество белка в точности будет совпадать со старым ( $\delta p = 0$ ):

$$L^2 = \frac{(1 + Q^2)(1 + Q^2(\beta + 1)^2)}{Q^4(\beta + 1)^2}. \quad (4)$$

На рис. 2б показан график функции (4) при  $\beta = 0,05$ .

Если подставить  $\beta = -1$  в формулу (3) (это будет означать, что количество ТФ стало равно нулю), мы получим  $\left| \frac{\delta p}{p} \right| = 1$ . Это согласуется с тем, что происходит в контуре: когда нет активации со стороны ТФ, целевой белок перестает производиться, т.е. количество целевого белка, производящегося в системе, после внешних изменений будет равняться нулю. Если же коэффициент  $\beta$  очень большой, то формулы (3) и (4) будут стремиться к следующему виду

$$\left| \frac{\delta p}{p} \right| = \left| \frac{1 + Q^2 - Q^2 L^2}{Q^2(1 + Q^2)(1 + L^2)} \right|, \quad L^2 = \frac{1 + Q^2}{Q^2}.$$

Это означает, что существуют такие наборы параметров модели, которые бы обеспечивали

способность контура  $1In$  к адаптации даже к сильным изменениям в количестве молекул ТФ.

При малых значениях  $L$  функция  $\left| \frac{\delta p}{p} \right|$  не показывает локального минимума по  $Q$ , тогда как при больших  $L$  он наблюдается. Если взять производную функции  $\left| \frac{\delta p}{p} \right|$  по  $Q$  при фиксированном  $L$  и искать нули производной, мы получим уравнение вида  $az^4 + bz^3 + cz^2 + dz + e = 0$ , где  $z = Q^2$ ,  $a = 2(\beta + 1)^2(L^2 + 1)(1 - L^2)$ , а коэффициенты  $b$ ,  $c$ ,  $d$  и  $e$  имеют очень громоздкий вид и здесь не приводятся. Решить уравнение довольно сложно, однако можно оценить, что по смыслу задачи необходимо, чтобы уравнение имело положительные корни. Коэффициенты  $b$ ,  $c$ ,  $d$  и  $e$  в полученном уравнении всегда положительны, таким образом, уравнение будет иметь положительные корни только при  $a < 0$ , т.е. при  $L > 1$ .

В работе [6] мы приводили соотношение коэффициентов, необходимое для абсолютной адаптации контура  $1In$  для случая, когда в качестве второго регулятора выступает второй ТФ, а не мРНК, и количество ТФ первого уровня удваивалось, т.е.  $\beta + 1 = 4$ . Это выражение имело вид  $h^2 = 4k_j^2 k_y^2 q^4 / (g_j^2 g_y^2 (H^2 + 4q^2)(H^2 + q^2))$ , где  $k_y$  и  $k_j$  – коэффициенты продукции мРНК второго ТФ ( $y$ ) и второго ТФ ( $j$ ) соответственно, а  $g_y$  и  $g_j$  – соответствующие коэффициенты деградации  $y$  и  $j$ . Если ввести пере-

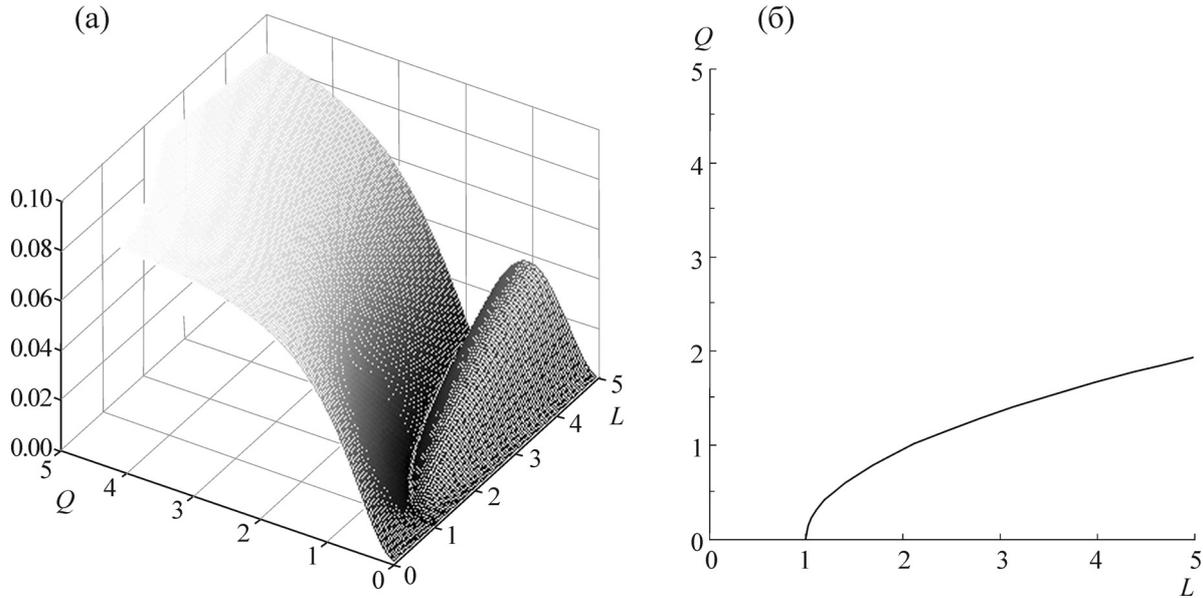


Рис. 3. (а) – Графики функции  $\left| \frac{\delta p}{p} \right|$  переменных  $L$  и  $Q$  для контура  $2In$ , (б) – график функции абсолютной адаптации для контура  $2In$ .

менную  $L = k_j k_y / (g_j g_y h)$ , аналогичную переменной  $L$ , приведенное выше выражение принимает вид, аналогичный выражению (4):

$$L^2 = \frac{(1 + Q^2)(1 + Q^2(\beta + 1)^2)}{Q^4(\beta + 1)^2},$$

т.е. условие абсолютной адаптации имеет такой же вид.

**Контур  $2In$  (Stop Model).** Для некогерентного контура  $2In$  при использовании модели с остановкой трансляции выражение будет иметь следующий вид:

$$\left| \frac{\delta p}{p} \right| = \left| \frac{((1 + Q^2)^2 + L^2)(1 + Q^2(\beta + 1)^2)}{(1 + Q^2)((1 + Q^2(\beta + 1)^2)^2 + L^2)} - 1 \right|. \quad (5)$$

На рис. 3а показан график функции (5) от переменных  $L$  и  $Q$ . При заданных параметрах модели по функции (5) мы можем оценить, насколько сильно изменится стационарное значение у целевого белка при изменении количества ТФ. Условие абсолютной адаптации для контура  $2In$  будет иметь вид

$$L^2 = (1 + Q^2)(1 + Q^2(\beta + 1)^2). \quad (6)$$

На рис. 3б показан график этого выражения. Таким образом, для конечных изменений внешних условий существуют такие наборы параметров, которые обеспечивают контур  $2In$  способностью к абсолютной адаптации к этим изменениям. Однако обратим внимание, что

при  $\beta \rightarrow \infty$  выражение (5) стремится к  $\left| \frac{\delta p}{p} \right| = 1$ , т.е. при сильных изменениях в количестве ТФ контур  $2In$  не будет способен к абсолютной адаптации ни при каких параметрах модели. В случае, когда  $\beta = -1$ , т.е. когда в силу внешних условий ТФ перестал вырабатываться, выражения (5) и (6) принимают следующий вид:

$$\left| \frac{\delta p}{p} \right| = \left| \frac{Q^2(1 + Q^2 - L^2)}{(1 + Q^2)(1 + L^2)} \right|, \quad L^2 = 1 + Q^2,$$

что означает, что существуют такие параметры модели, при которых количество целевого белка в стационарном режиме будет прежним, несмотря на то, что ТФ перестал вырабатываться.

Как и в предыдущем случае при малых  $L$  функция  $\left| \frac{\delta p}{p} \right|$  не показывает минимумов по  $Q$ , а при больших  $L$  минимум наблюдается. Рассматривая производную функцию по  $Q$  при фиксированном  $L$ , мы также приходим к тому, что для существования минимума функции  $\left| \frac{\delta p}{p} \right|$  необходимо выполнение условия  $L > 1$ .

**Контур  $1C$  и  $2C$  (Stop Model).** Формулы, показывающие отношение отклонения нового стационарного значения количества белка к старому для когерентных контуров  $1C$  и  $2C$  имеют соответственно следующий вид:

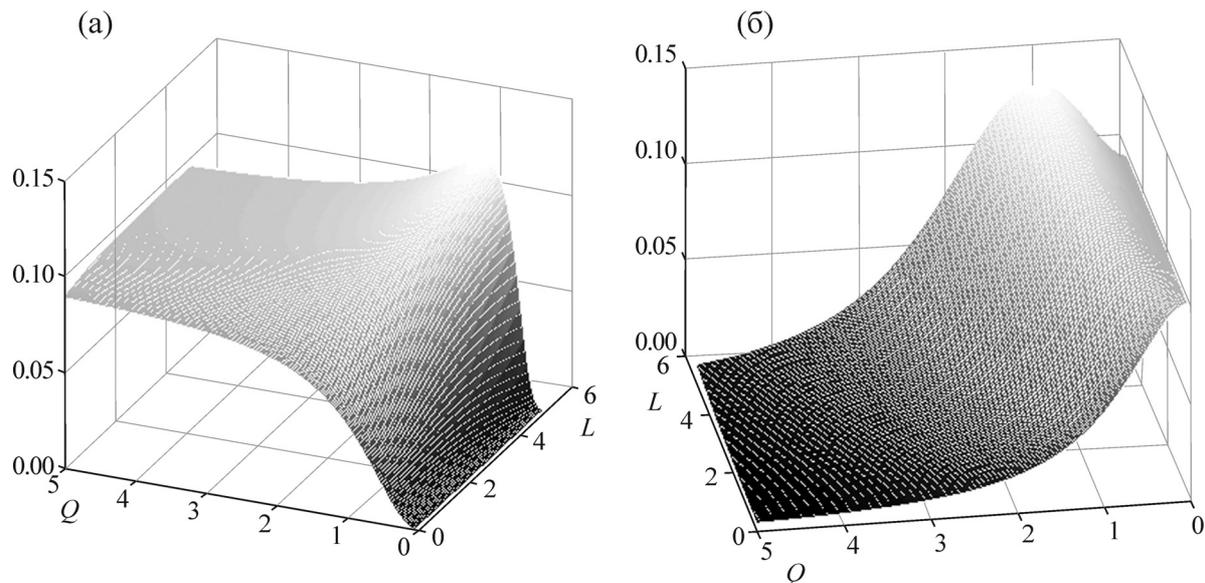


Рис. 4. Графики функции  $\left| \frac{\delta p}{p} \right|$  переменных  $L$  и  $Q$  для контура 1C (а) и для контура 2C (б).

$$\left| \frac{\delta p}{p} \right| = \left| \frac{((1+Q^2)^2 + L^2Q^4)(1 + (\beta+1)^2Q^2)}{(1+Q^2)((1 + (\beta+1)^2Q^2)^2 + (\beta+1)^4L^2Q^4)} - 1 \right|, \quad (7)$$

$$\left| \frac{\delta p}{p} \right| = \left| \frac{(\beta+1)^2((1+Q^2)^2 + L^2)(1 + (\beta+1)^2Q^2)}{(1+Q^2)((1 + (\beta+1)^2Q^2)^2 + L^2)} - 1 \right|. \quad (8)$$

На рис. 4 показаны графики этих функций. Можно видеть, что существуют значения переменных  $L$  и  $Q$ , при которых изменение в количестве целевого белка будет небольшим, однако нулевым это изменение не будет никогда. Это несложно увидеть, если записать условия абсолютной адаптации, которые будут иметь вид

$$L^2 = - \frac{(1+Q^2)(1 + (\beta+1)^2Q^2)}{Q^2(1 + (\beta+1)^2(1+Q^2))},$$

$$L^2 = - \frac{(1+Q^2)(1 + (\beta+1)^2Q^2)}{1+Q^2 + (\beta+1)^2Q^2}$$

для контуров 1C и 2C соответственно.

Поиск корней производной по  $Q$  при фиксированном значении  $L$  функции  $\left| \frac{\delta p}{p} \right|$  для когерентных контуров приведет к решению таких же уравнений, как для некогерентных. Таким образом, для всех четырех контуров локальные экстремумы по  $Q$  возможны только при  $L > 1$ , что соответствует ситуации, когда миРНК вырабатывается с избытком.

**Контур 1In (Degradation Model).** При использовании модели, в которой миРНК усиливает деградацию мРНК целевого белка, в выражениях для отклонения нового стационарного значения от старого появляется коэффициент  $\alpha$ . Так, для контура 1In мы получаем выражение вида:

$$\left| \frac{\delta p}{p} \right| = \left| \frac{(\beta+1)^2(1+Q^2) \left( \frac{(1+Q^2)^2 + \alpha L^2 Q^4}{(1 + (\beta+1)^2 Q^2)^2 + \alpha (\beta+1)^4 L^2 Q^4} \right) - 1}{(1 + (\beta+1)^2 Q^2) \left( \frac{(1+Q^2)^2 + L^2 Q^4}{(1 + (\beta+1)^2 Q^2)^2 + \alpha (\beta+1)^4 L^2 Q^4} \right)} - 1 \right|. \quad (9)$$

Наиболее важное отличие формулы (9) от формулы (3) (контур 1In, Stop Model) состоит в том, что в нее, кроме переменных  $L$ ,  $Q$  и  $\beta$ ,

входит коэффициент  $\alpha$ , показывающий, насколько сильно влияние миРНК на мРНК целевого белка. Таким образом, способность

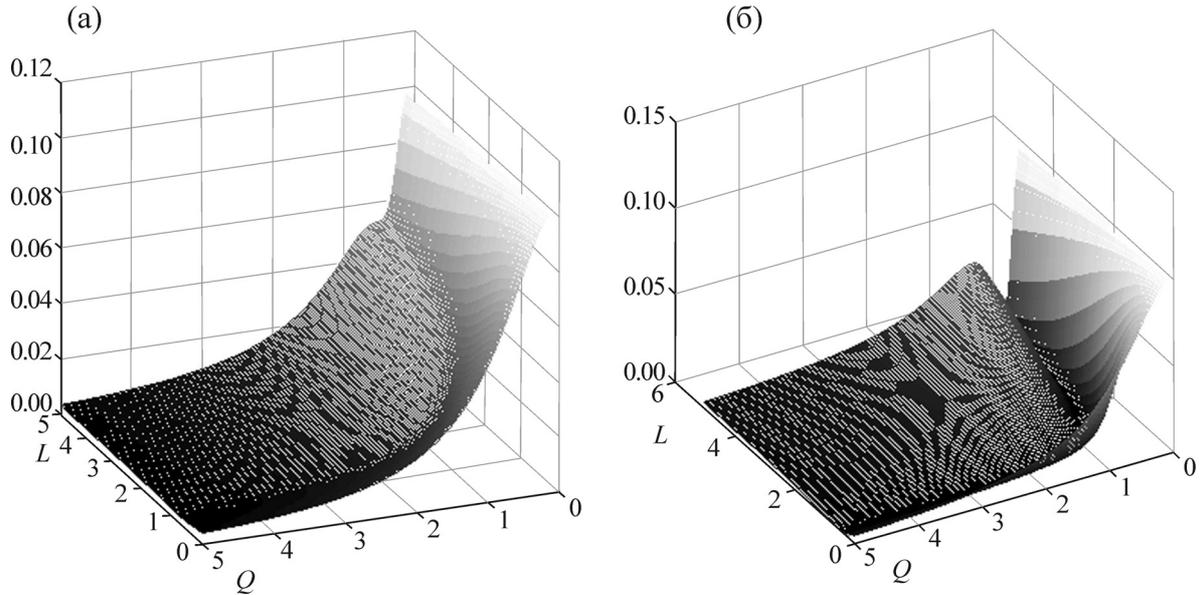


Рис. 5. Графики функции  $\left| \frac{\delta p}{p} \right|$  переменных  $L$  и  $Q$  для контура  $1In$  при  $\alpha = 2$  (а) и  $\alpha = 9$  (б).

адаптации контура к внешним условиям зависит не только от коэффициентов продукции и деградации регуляторов и их мРНК, но и от степени сродства миРНК и целевой мРНК, и это качество уже нельзя считать характеристикой только миРНК. Для наглядности на рис. 5а и 5б показаны графики функции  $\left| \frac{\delta p}{p} \right|$  для  $\alpha = 2$  и  $\alpha = 9$  соответственно. Функция, изображенная на рис. 5а, никогда не принимает нулевых значений, в отличие от функции, изображенной на рис. 5б. Это означает, что в первом случае контур не показывает способности к абсолютной адаптации ни при каких значениях  $L$  и  $Q$ , а во втором случае существует набор коэффициентов модели, соответствующих значениям переменных  $L$  и  $Q$ , приводящим к абсолютной адаптации.

Покажем, почему в рамках этой модели у контура  $1In$  нет способности к абсолютной адаптации при маленьких значениях коэффициента  $\alpha$ . Для того чтобы имела место абсолютная адаптация, необходимо выполнение условия  $\delta p = 0$ . Если приравнять к нулю выражение (9), получим квадратное уравнение вида  $az^2 + bz + c = 0$ , где  $z = L^2Q^4$ , а коэффициенты уравнения не зависят от  $L$ . Необходимым условием существования вещественных корней этого уравнения является неотрицательность его дискриминанта. Найдя корни дискриминанта и учитывая, что по смыслу задачи  $\alpha \geq 1$ , можно переписать условие существования ве-

щественных корней уравнения в виде  $\alpha \geq 2 + C + 2(1 + C)^{1/2}$ , где  $C = 3 + \frac{\beta^2(\beta + 2)^2}{(\beta + 1)^2} \times \frac{1}{(1 + Q^2)(1 + (\beta + 1)^2Q^2)} \geq 3$  для всех значений  $Q$  и  $\beta$ . Таким образом, если для этого контура имеет место абсолютная адаптация, то  $\alpha \geq 9$ . Это необходимое условие. Для нахождения достаточного условия нужно оценить максимальное значение величины  $C$ , которое будет достигаться при  $Q = 0$ . Это значение равно  $C_{\max} = \frac{(\beta^2 + 3\beta + 3)(\beta^2 + \beta + 1)}{\beta^2 + 2\beta + 1} \rightarrow 3$  при  $\beta \rightarrow 0$ .

Мы видим, что при малых изменениях внешних условий достаточно, чтобы выполнялось условие  $\alpha \geq 9$ . Однако нетрудно заметить, что при  $\beta \rightarrow \infty$  или  $\beta \rightarrow -1$  получается  $C_{\max} \rightarrow \infty$ . Таким образом, чтобы контур гарантированно имел способность адаптироваться к значительным изменениям во внешних условиях, нужны все большие значения коэффициента  $\alpha$ .

Нетрудно также видеть, что при  $\beta = -1$  имеем  $\left| \frac{\delta p}{p} \right| = 1$ , как и в случае применения первой модели для этого контура. Это, как уже упоминалось, связано с тем, что при остановке продукции ТФ прекращается продукция целевого белка, и этот результат не зависит от коэффициента  $\alpha$ . При  $\beta \rightarrow \infty$  функция (9) стремится к следующему виду:

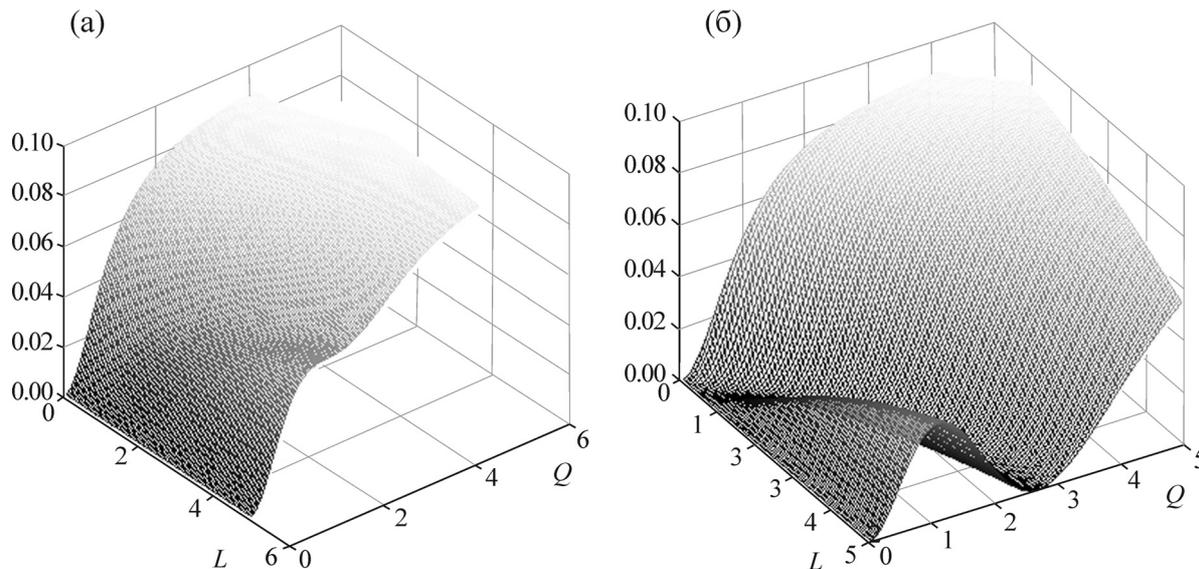


Рис. 6. Графики функции  $\left| \frac{\delta p}{p} \right|$  переменных  $L$  и  $Q$  для контура  $2In$  при  $\alpha = 2$  (а) и  $\alpha = 9$  (б).

$$\left| \frac{\delta p}{p} \right| = \left| \frac{1 + Q^2}{Q^2} \frac{((1 + Q^2)^2 + \alpha L^2 Q^4)(1 + L^2)}{((1 + Q^2)^2 + L^2 Q^4)(1 + \alpha L^2)} - 1 \right|.$$

Это означает, что теоретически можно подобрать такие значения коэффициентов, при которых контур  $1In$  будет адаптироваться к большим изменениям внешних условий, однако при этом должно быть очень большое значение коэффициента  $\alpha$ , как было упомянуто выше.

**Контур  $2In$  (Degradation Model).** При моделировании контура  $2In$  с помощью модели, в которой миРНК ускоряет распад целевой мРНК, функция  $\left| \frac{\delta p}{p} \right|$  имеет следующий вид:

$$\left| \frac{\delta p}{p} \right| = \left| \frac{1 + Q^2}{1 + (\beta + 1)^2 Q^2} \times \frac{((1 + Q^2)^2 + \alpha L^2)((1 + (\beta + 1)^2 Q^2)^2 + L^2)}{((1 + Q^2)^2 + L^2)((1 + (\beta + 1)^2 Q^2)^2 + \alpha L^2)} - 1 \right|. \tag{10}$$

В формулу (10) тоже входит коэффициент  $\alpha$ , таким образом, способность контура к адаптации зависит не только от  $L$  и  $Q$ , но и от силы воздействия миРНК на мРНК целевого белка. На рис. 6а и 6б показаны графики функции  $\left| \frac{\delta p}{p} \right|$  при  $\alpha = 2$  и при  $\alpha = 9$  соответственно.

Как и для контура  $1In$ , функция  $\left| \frac{\delta p}{p} \right|$ , построенная для контура  $2In$ , не обращается в ноль ни для каких  $L$  и  $Q$  при малых значениях коэффициента  $\alpha$ .

Доказательство того, что контур  $2In$  не показывает свойства абсолютной адаптации при малых  $\alpha$  аналогично таковому для контура  $1In$ . Так же, как и для контура  $1In$ , для контура  $2In$  получаем условие существования абсолютной адаптации  $\alpha \geq 9$ .

Для контура типа  $2In$  при применении этой модели, как и при применении модели с остановкой трансляции, функция  $\left| \frac{\delta p}{p} \right| \rightarrow 1$  при  $\beta \rightarrow \infty$ , т.е. контуры такого типа не показывают свойства абсолютной адаптации к большим изменениям во внешних условиях ни при каких характеристиках регуляторов. Однако при  $\beta \rightarrow -1$  функция (10) принимает вид

$$\left| \frac{\delta p}{p} \right| = \left| (1 + Q^2) \frac{((1 + Q^2)^2 + \alpha L^2)(1 + L^2)}{((1 + Q^2)^2 + L^2)(1 + \alpha L^2)} - 1 \right|.$$

Следовательно, можно подобрать такие параметры модели, которые бы приводили контур к абсолютной адаптации. Этот случай соответствует ситуации, в которой в некоторый момент перестает вырабатываться ТФ, а миРНК и целевой белок продолжают вырабатываться.

Стоит также отметить, что, когда мы ставим условие  $\delta p = 0$  для некогерентных контуров и получаем уравнение вида  $az^2 + bz + c = 0$ , где  $z = L^2 Q^4$  для контура типа  $1In$  и  $z = L^2$  для контура типа  $2In$ , оба корня уравнения для обоих контуров получаются положительными (при условии их существования), таким образом, в случае использования этой модели мы

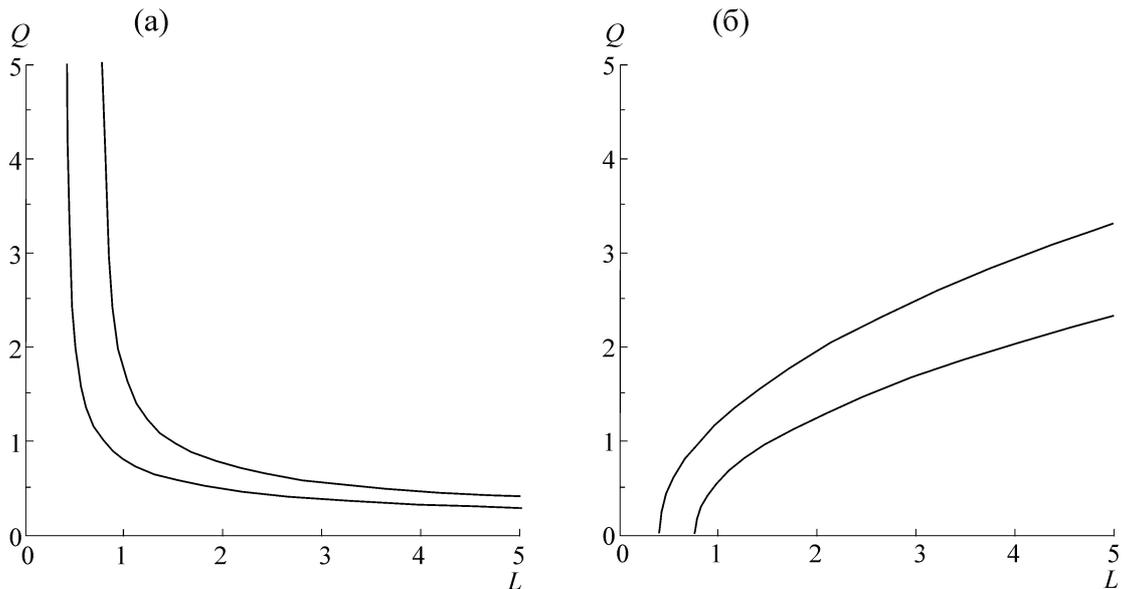


Рис. 7. График функции условия абсолютной адаптации при  $\alpha = 11$  для контура  $1In$  (а) и для контура  $2In$  (б).

имеем два соотношения между  $L$  и  $Q$ , удовлетворяющие условию абсолютной адаптации (исключая тот случай, когда два корня совпадают), что принципиально отличается от того, что мы видели для модели с остановкой трансляции. Формулы соотношений, приводящих к абсолютной адаптации, легко получить, однако они здесь не приведены из-за их громоздкости. На

рис. 7а и 7б показаны графики этих соотношений для контуров  $1In$  и  $2In$  соответственно при  $\alpha = 11$ .

**Контур 1С и 2С (Degradation Model).** Запишем функцию  $\left| \frac{\delta p}{p} \right|$  для когерентных контуров. Для контуров типа 1С она имеет следующий вид:

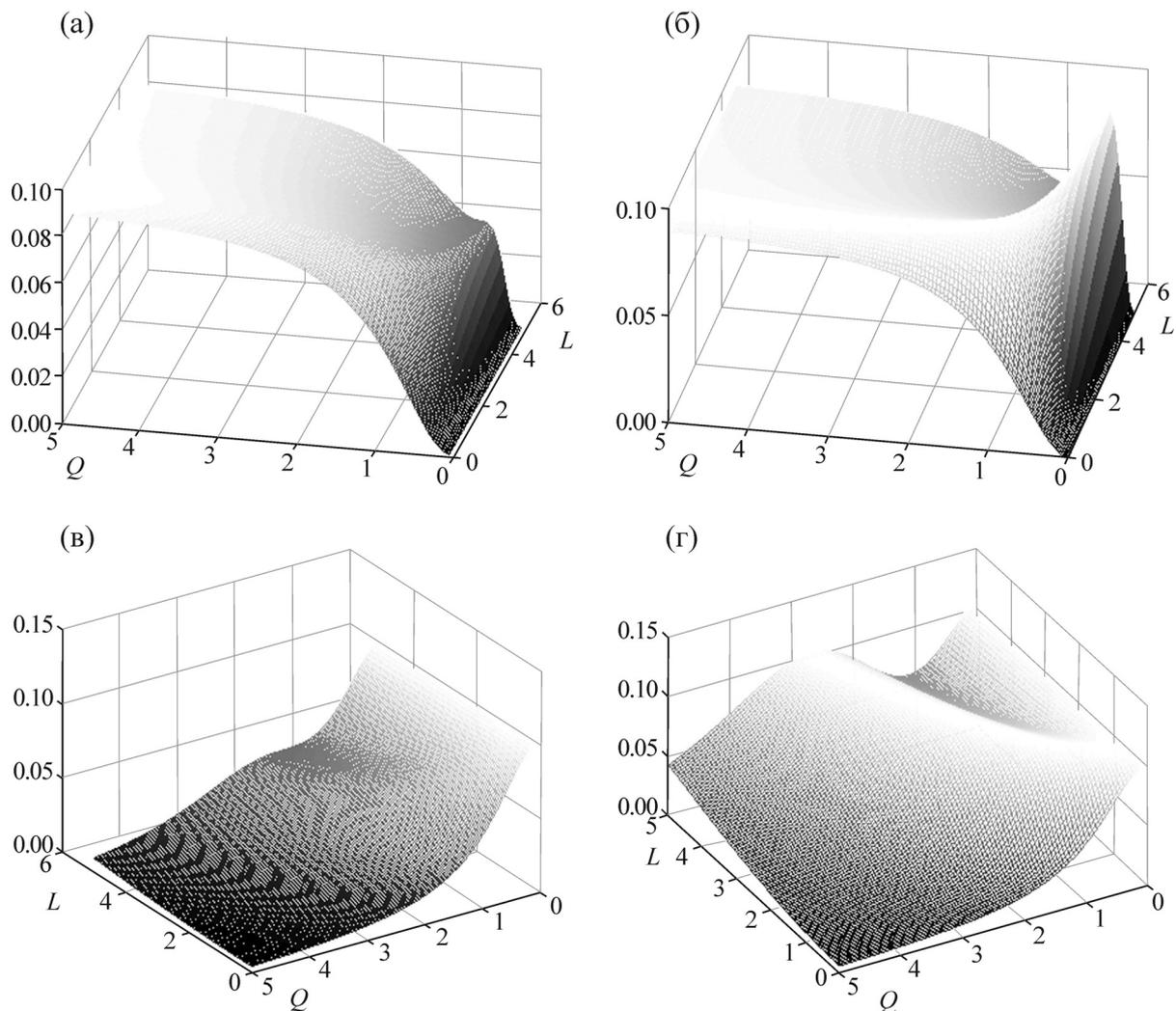
$$\left| \frac{\delta p}{p} \right| = \left| \frac{1 + Q^2}{1 + (\beta + 1)^2 Q^2} \frac{((1 + Q^2)^2 + \alpha L^2 Q^4)((1 + (\beta + 1)^2 Q^2)^2 + (\beta + 1)^4 L^2 Q^4)}{((1 + Q^2)^2 + L^2 Q^4)((1 + (\beta + 1)^2 Q^2)^2 + \alpha(\beta + 1)^4 L^2 Q^4)} - 1 \right|. \quad (11)$$

Контур типа 1С не показывает свойства абсолютной адаптации. Доказательство этого факта практически не отличается от доказательства, приведенного для некогерентных контуров. Если приравнять  $\delta p = 0$ , что и означает абсолютную адаптацию, то получим уравнение вида  $az^2 + bz + c = 0$ , где  $z = L^2 Q^4$ . Корни квадратного уравнения существуют, однако для любых значений  $Q$  и  $\beta$  верны соотношения  $\alpha \leq 0$  и  $c \leq 0$ , т.е. эти корни одного знака, и чтобы они были положительными необходимо, чтобы выполнялось условие  $b \geq 0$ , что приводит к условию  $\alpha < 1$ . Однако по смыслу задачи  $\alpha \geq 1$ , т.е. контур не показывает абсолютной адаптации ни для каких положительных значений параметров модели.

Для контуров типа 2С функция имеет следующий вид:

$$\left| \frac{\delta p}{p} \right| = \left| \frac{(\beta + 1)^2 (1 + Q^2)}{1 + (\beta + 1)^2 Q^2} \times \frac{((1 + Q^2)^2 + \alpha L^2)((1 + (\beta + 1)^2 Q^2)^2 + L^2)}{((1 + Q^2)^2 + L^2)((1 + (\beta + 1)^2 Q^2)^2 + \alpha L^2)} - 1 \right|. \quad (12)$$

Доказательство того, что контур 2С не показывает свойства абсолютной адаптации, аналогично приведенному для контуров типа 1С. Если абсолютная адаптация существует, то  $\delta p = 0$ , что приводит к необходимому условию  $\alpha < 1$ , что невозможно по смыслу задачи. На рис. 8а и 8б показаны графики функции  $\left| \frac{\delta p}{p} \right|$  для контура 1С при значениях коэффициента  $\alpha = 2$  и  $\alpha = 9$  соответственно, на рис. 8в и 8г – графики для контура 2С для этих же значений коэффициента  $\alpha$ .



**Рис. 8.** Графики функции  $\left| \frac{\delta p}{p} \right|$  переменных  $L$  и  $Q$ : для контура 1C при  $\alpha = 2$  (а) и  $\alpha = 9$  (б); для контура 2C при  $\alpha = 2$  (в) и  $\alpha = 9$  (г).

### ОБСУЖДЕНИЕ

При внесении изменений в стационарное количество ТФ, т.е. при изменении внешних условий, зная параметры контура (коэффициенты продукции, деградации, диссоциации) и выбрав модель, можно в точности определить, какое будет отклонение у нового стационарного значения по сравнению с прошлым.

Введены независимые друг от друга переменные  $L = s_{\max}/h$  и  $Q = q_{\max}/H$ , позволяющие представить способность контура к адаптации графически. Здесь  $s_{\max}$  и  $q_{\max}$  – стационарные значения количества соответствующего регулятора (миРНК или ТФ) в свободном состоянии, т.е. при отсутствии регуляции,  $h$  и  $H$  – характерные для конкретного регулятора константы диссоциации.

Формулы, ранее полученные нами в работе [6] для контуров 2ТФ тоже можно переписать через аналогичные переменные, и условия абсолютной адаптации для контура с двумя транскрипционными факторами будут выглядеть так же, если обозначить  $L = \frac{q_{\max}^{(2)}}{H}$ . Это говорит о том, что для адаптации не принципиально, какие регуляторы используются, хотя, как мы писали в предыдущей статье, тип регуляторов влияет на скорость прихода системы в стационарное состояние.

Важен еще тот факт, что на долю отклонения белка  $\left| \frac{\delta p}{p} \right|$  не влияют коэффициенты продукции и деградации самого белка или его мРНК, а влияют только характеристики уча-

ствующих регуляторов и, в случае использования второй модели, степень сродства миРНК с целевой мРНК, характеризующаяся коэффициентом  $\alpha$ . Так как у миРНК в клетке может быть несколько белков-мишеней, можно сделать вывод, что при изменении скорости продукции или деградации миРНК в клетке, все контуры, в которых участвует эта миРНК, могут потерять способность к адаптации.

Из полученных выражений видно, что если контур способен к абсолютной адаптации, то существует множество коэффициентов исходной модели, приводящих к абсолютной адаптации, и они подчиняются приведенным выше выражениям.

Исследование вида функций показало, что локальные экстремумы функции по  $Q$ , т.е. возможность абсолютной адаптации у некогерентных контуров и возможность существования локального максимума отклонения белка у когерентных контуров, возможны только при  $L > 1$ , т.е. важно, чтобы миРНК в системе вырабатывалась с избытком. Это соответствует тем предположениям, которые делались при построении этих двух моделей, а также данным из литературы об избыточности миРНК в системе. Применение моделей возможно только в условиях избыточности миРНК, так как обе модели пренебрегают расходом миРНК на связывание с мРНК.

Показано, что когерентные контуры не обладают свойством абсолютной адаптации ни при каких значениях параметров модели и ни для какой использованной модели. Результаты для некогерентных контуров отличаются для двух рассматриваемых моделей. В рамках первой модели (с остановкой трансляции) всегда существуют такие  $L$  и  $Q$ , т.е. такие характеристики регуляторов, которые приводят контур к абсолютной адаптации, в рамках второй модели появляется значимый коэффициент  $\alpha = 1 + g_{\max}/g_r$ , который характеризует силу влияния миРНК на целевую мРНК, и при малом его значении невозможно найти таких характеристик регуляторов, которые приводили бы некогерентные контуры к абсолютной адаптации. Таким образом, фактически есть неявная зависимость свойства адаптации и от характеристик мРНК белка-мишени, адаптация возможна только при достаточном сродстве целевой мРНК и миРНК.

Еще одно различие в результатах, полученных для разных моделей, состоит в том, что для первой модели мы имеем одно соотношение между  $L$  и  $Q$ , удовлетворяющее условию абсолютной адаптации, а в рамках второй модели

для некогерентных контуров таких соотношений два. Этот факт, а также другие различия в результатах для одних и тех же контуров с использованием разных моделей могут помочь на практике выбрать подходящую для описания конкретного контура модель, а значит, и предположить, какой механизм взаимодействия между миРНК и геном-мишенью имеет место в конкретном контуре. О таком применении результатов исследований для разных моделей мы писали в работе [5], однако там различие наблюдалось в динамике, а значит, чтобы сравнить модели на практике, необходимо было бы получить данные о концентрации белков на малых временах. Результаты же, полученные в этой статье, требуют только наличия данных для стационарного состояния после изменения условий, которые проще получить.

Если сравнить рис. 2а и 5а, можно отметить, что у контура  $1In$  адаптация будет плохой только в случае маленьких значений  $Q$ , тогда как для всех остальных значений адаптация будет лучше, в то время как для контура  $2In$  (рис. 3а и 6а) ситуация обратная. Это подтверждает то, что отмечается в литературе: наиболее вероятно встретить в природе контур типа  $1In$ , способный к адаптации.

Отдельно следует отметить результаты, полученные для когерентных контуров: отсутствие адаптации означает, что даже на малые изменения во внешних условиях эти контуры реагируют сильным изменением в количестве целевого белка. Это говорит о том, что когерентные контуры играют совершенно иную роль, чем некогерентные, и встречаются в системах, где даже маленькие изменения во внешних условиях должны получить сильный отклик со стороны системы. По нашим графикам (рис. 4 и 8) и соответствующим выражениям, полученным выше, можно оценить, насколько хорошо когерентный контур с конкретным набором коэффициентов справляется с этой задачей.

Авторы выражают благодарность А.М. Самсонову, который инициировал это исследование и был его вдохновителем, без него эта работа не состоялась бы. Авторы выражают также благодарность М.Г. Самсоновой за консультации по биологическому содержанию статьи.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант №17-01-00638а).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. H. Heranz and S. Cohen, *Genes & Development* **24**, 1339 (2010).

2. N. Bushati and S. Cohen, *Annu. Rev. Cell Devel. Biol.* **23**, 175 (2007).
3. U. Alon, *Nature Rev. Genetics* **8**, 450 (2007).
4. S. Magnan and U. Alon, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **100** (21), 11980 (2003).
5. M. A. Duk, M. G. Samsonova, and A. M. Samsonov, *BMC Genomics* **15** (Suppl. 12), S9 (2014). DOI: 10.1186/1471-2164-15-S12-S9.
6. M. A. Duk, A. M. Samsonov, and M. G. Samsonova, *Biophysics* **60** (2), 163 (2015).
7. W. Ma, A. Trusina, H. El-Samad, et al., *Cell* **138**, 760 (2009). DOI: 10.1016/j.cell.2009.06.013.
8. L. Goentoro, O. Shoval, M. W. Kirschner, and U. Alon, *Mol. Cell* **36**, 894 (2009).
9. O. Shoval, L. Goentoro, Y. Hart, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **107** (36), 15995 (2010).
10. M. Osella, C. Bosia, D. Corá, and M. Caselle, *PLoS Comput. Biol.* **7** (3), e1001101 (2010).

## **The Ability of Feed-Forward Regulatory Loops to Adapt: Dependence on Model Parameters and Conditions of Absolute Adaptation**

**M.A. Duk and S.A. Rukolaine**

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

Feed-forward regulatory loops, where a transcriptional factor regulates target gene expression in two ways, directly and through a microRNA (miRNA), are widely encountered in gene networks. If regulatory branches of feed-forward regulatory loops have similar effects on target gene, the feed-forward regulatory loop is termed coherent, the other type of feed-forward loops is called incoherent. In this work, we studied whether feed-forward regulatory loops were able to adapt to the change in the number of transcriptional factors. We considered two coherent and two incoherent loops using two different models that had different regulation mechanisms. It has been shown that coherent loops were unable to adapt as compared to incoherent loops that demonstrated perfect adaptation within specific parameter sets, when target gene expression was insensitive to variation in the number of transcriptional factors. Also, it has been found that adaptation of incoherent loops occurs only when a sufficient number of microRNA molecules are available in the system.

*Keywords: gene networks, feed-forward regulatory loops, microRNA, adaptation, absolute adaptation*