

Л. С. КАЗАРЯН, Г. А. ТОНОЯН

ОСНОВЫ ВЫЯВЛЕНИЯ ПАРАМЕТРОВ ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ КЛЕТОК МИКРОБНОЙ ПОПУЛЯЦИИ

В данной работе на примере опыта Г. Ф. Гаузе, проведенного с инфузориями, иллюстрируется возможность определения динамики развития отдельных клеток популяции при известной динамике роста популяции и обсуждается принцип выявления параметров жизнедеятельности клеток микробной популяции в течение их жизненного цикла при помощи предложенного ранее математического аппарата.

В связи с малыми размерами микроорганизмов и незначительным количеством употребляемого или выделяемого ими в процессе жизнедеятельности вещества невозможно экспериментально определить количественные изменения, происходящие в клетке, а анализ параметров микробной популяции существующими математическими моделями из-за большой численности и неоднородности клеточной популяции не дает желаемых результатов.

Для преодоления этих трудностей нами предложен математический аппарат, разработанный на основе новых принципов анализа микробной популяции. В предыдущих работах [1, 2] были предложены основы алгебраизации кривой роста микробной популяции и определения динамики роста отдельных клеток ее при известной динамике роста популяции. Данная работа является продолжением этих исследований: с помощью предложенного нами математического аппарата на опытах Гаузе [5], проведенных в 30-х годах, показана возможность определения динамики роста отдельных клеток популяции.

Опыты Г. Ф. Гаузе проводились на *Paramecium aurelia*—ресничное простейшее, обычно размножающееся делением. На среде Остерхаута, при температуре 26°, Г. Ф. Гаузе заложил опыт в трех повторностях, помещая в 5 см³ раствора по 20 особей. Инфузории кормили патогенными бактериями *Pseudomonas aeruginosa*, которые на среде Остерхаута не размножаются. Они ежедневно отделялись от детрита и переносились на свежую среду.

На рис. 1 приведены графики зависимости логарифма численности популяции от времени для всех трех повторностей (по Гаузе). В предыдущей работе [2] была рассчитана динамика роста популяции при заданной W_1 -вероятности удвоения клетки или единицы исчисления популяции (ЕИП) за Δt промежуток времени $W_1 = \frac{1}{6}, \frac{2}{6}, \frac{3}{6}, \frac{4}{6}, \frac{5}{6}$. W_1 не зависит ни от численности популяции, ни от возраста кле-

ток. Сущность этой модели сводилась к определению динамики роста клеток популяции при совпадении теоретической и экспериментальной траекторий ее. Был приведен принцип определения исходной численности популяции для проведения эксперимента с целью определения W_1 , с определенной вероятностью ошибки q , при $\chi^2 > \chi^2_{\alpha}$; возможные дина-

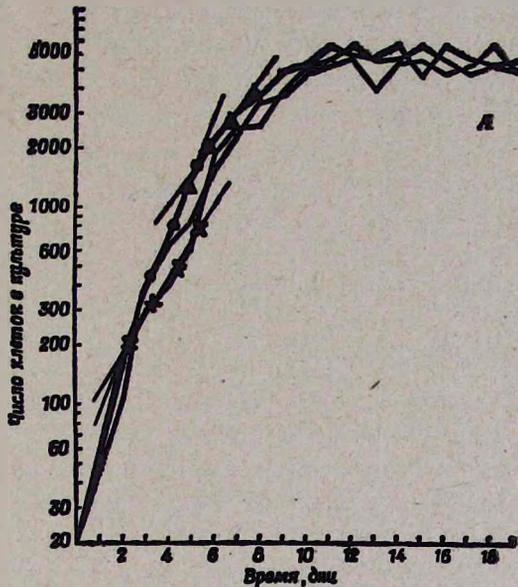


Рис. 1. Эксперименты Гаузе с *Paramecium aurelia* [5]. —*—*—*— отрезок графика зависимости логарифма численности популяции от времени при $W_1=0.6$. —●—●—●— отрезок графика зависимости логарифма численности популяции от времени при $W_1=1$. —▲—▲—▲— отрезок графика зависимости логарифма численности популяции от времени при $W_1=0.4$.

мики роста клеток или ЕИП популяции описывались с помощью структурных рядов S_n . При анализе графиков зависимости логарифма численности популяции от времени (рис. 1) формула минимального интервала времени Δt_1 , через который необходимо измерять численность микробной популяции [1], не применяется, так как в данном случае (в опыте Гаузе) не было необходимости следить за этапами развития клеток популяции и точно измерять численность ее. В связи с этим примем, что $\Delta t_1=1$ дню, и расчеты будем вести с соответствующей точностью.

Примечание: Δt_1 определяется по формуле:

$$\Delta t_1 = \frac{\Delta \tau \cdot z}{N(t_1) \cdot k},$$

где $N(t_1)$ — численность популяции в t_1 момент времени, $\frac{z}{k}$ — погрешность прибора, измеряющего численность популяции, $\Delta \tau$ — минимальный промежуток времени, в

течение которого происходят изменения в клетке, подлежащие фиксации (например, фотографированию).

С целью алгебраизации динамики роста популяции допустим, что для инфузорий $\Delta\tau_{\min}$ — минимальный промежуток времени, к которому клетка может удвоиться после появления в t_0 момент, равен одному дню, т. е. $\tau_{\min} = \Delta t$. Это допущение делается на основании результатов первых 2—3-х дней эксперимента, так как это — этап самого быстрого размножения логфазы (в эти дни численность популяции удваивается). Допускаем, что инфузории в состоянии удваиваться только в $m\Delta t$ моменты времени при $m=1, 2, 3, \dots, i, \dots, p$, хотя удвоение и не обязательно [1].

Примечание: так как Δt_i для данного случая величина постоянная, то Δt_i обозначается через Δt .

Если клетка удваивается в t момент, где $t_i < t < t_i + \frac{\Delta t}{2}$, то считается, что клетка удвоилась в t_i момент; при $t_i + \frac{\Delta t}{2} \leq t \leq t_i + 1$ считается, что клетка удвоилась в t_{i+1} момент. В дальнейшем покажем, что можно придать W_1 значения, необходимые для проведения анализа динамики роста популяции и ее других параметров с заданной точностью.

Выделим на графиках зависимости логарифма численности популяции от времени в эксперименте Гаузе отрезки, соответствующие постоянной скорости размножения: 200 (2,5 дня), 318 (3,5 дня), 500 (4,5 дня), 800 (5,5 дня); 205 (2,5 дня), 410 (3,5 дня), 820 (4,5 дня), 1600 (5,5 дня), 1420 (5 дней), 2000 (6 дней), 2800 (7 дней), 3900 (8 дней). Для указанных отрезков графики отношения изменения численности популяции за один день к исходной численности постоянны $\frac{\Delta N(t_i)}{N(t_i)}$ и, соответственно, равны 0,6, 1, 0,4. Два отрезка из указанных имели $t_0 = 2,5$ д., т. е. отсчет численности популяции смещен на полдня, что не имеет в данном случае принципиального значения. Вероятность удвоения клеток популяции для данных отрезков графиков динамики роста популяции принимаем за 0,6, 1, 0,4, но условие $\frac{\Delta N(t_i)}{N(t_i)} = W_1$ должно

приниматься весьма осторожно, так как не всегда динамика популяции отражает реальную вероятность удвоения клеток, имеется в виду случай недостаточной численности популяции в t_0 момент времени. При недостаточной численности популяции в t_0 момент клетки или ЕИП не охватывают все возможные динамики роста клеток или ЕИП микробной популяции, сосредоточенные в структурных рядах S_n , а это в свою очередь может отразиться и на динамике роста популяции, для которой и будет недействительно условие $\frac{\Delta N(t_i)}{N(t_i)} = W_1$. Зная S_n и W_1 , можно определить число популяции инфузорий, развивающихся согласно каждой из возможных динамик роста, а этого уже достаточно

для определения возрастного состава популяции на всех исследуемых этапах при $W_1 = \text{Const.}$, как это уже делалось [2].

Если выдвинута гипотеза динамики выделения (употребления) определенного вещества одной клеткой или ЕИП, а также известна концентрация этого вещества в процессе роста популяции (рис. 2), то

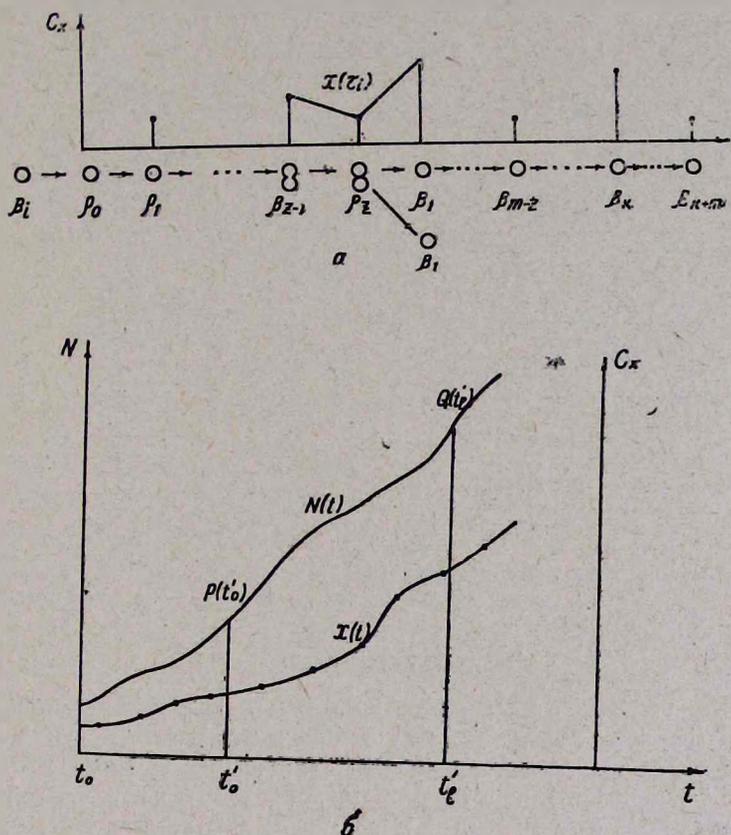


Рис. 2. Пример гипотезы динамики выделения микробной клеткой вещества X, правильность которой требуется проверить на $P(t'_0) \rightarrow Q(t'_1)$ отрезке кривой динамики роста микробной популяции. а) гипотеза динамики выделения вещества X микробной клеткой. β_1 — этап клетки в τ_1 момент после появления в τ_0 ($1 < i < k$). β_k — самая старая клетка $k\Delta$ возраста, которая, возможно, окажется в $P(t'_0)$ популяции. $m\Delta = t'_1 - t'_0$ — промежуток времени роста популяции. $P(t'_0) \rightarrow Q(t'_1)$. $\rho_0 \rightarrow \rho_1^{-kz}$ — последовательность этапов клетки, которые она должна пройти в процессе удвоения независимо от возраста клетки, при котором у нее начался процесс деления. C_x концентрация вещества X, выделяемого клеткой за $\Delta\tau_i$. б) динамика роста микробной популяции $N(t)$ и динамика увеличения концентрации вещества X (t) — ●—●—●— выделенного популяцией за $t_1 - t_0$ промежуток времени.

можно проверить правильность этой гипотезы. По результатам анализа даже одного эксперимента можно судить о приемлемости или не-

приемлемости выдвинутой гипотезы, так как одновременно анализируется широкий спектр клеток популяции в течение нескольких поколений.

Необходимо учесть, что в структурных рядах S_n собраны возможные ордеревья динамики увеличения клеток или ЕИП, но эти ордеревья не отражают полностью возрастного состава (рис. 3).

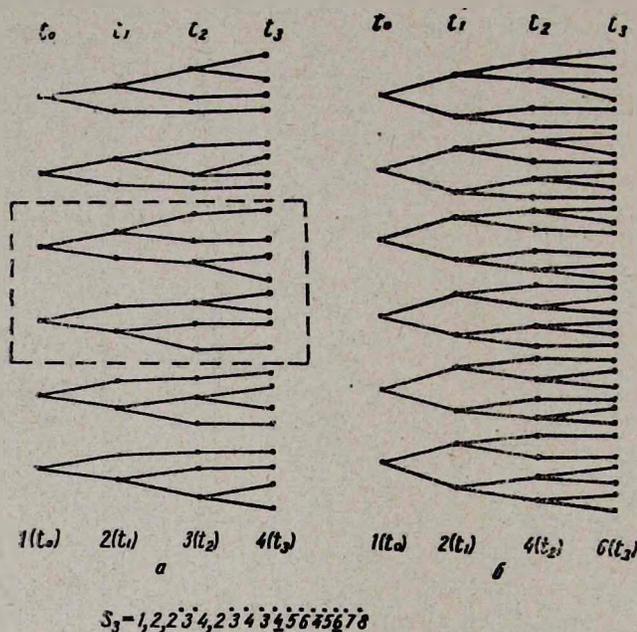


Рис. 3. Возможные варианты ордеревьев динамики увеличения численности популяции структурного ряда S_3 и их возрастного состава. а) варианты ордеревьев динамики увеличения численности популяции I (t_0), 2 (t_1), 3 (t_2), 4 (t_3), из которых два имеют 2 ($2\Delta t$), 2 (Δt) возрастной состав, а остальные—1 ($3\Delta t$), 1 ($2\Delta t$), 2 (Δt) возрастной состав клеток. б) варианты ордеревьев динамики увеличения численности популяции I (t_0), 2 (t_1), 4 (t_2), 6 (t_3), имеющие одинаковый возрастной состав клеток 2 ($2\Delta t$), 4 (Δt).

В предложенный математический аппарат, при необходимости, можно ввести τ_{\min} —минимальный промежуток времени, к которому клетка может удвоиться после появления в t_0 момент, и τ_{\max} —максимальный промежуток времени, после которого клетка уже не в состоянии удваиваться. При надобности можно ввести функцию вероятности удвоения клетки $W_1(\tau_1)$ от возраста клетки (τ_1) (рис. 4). В структурном ряду S_n не учитываются все ВПУЧП, не удовлетворяющие функции $W_1(\tau_1)$, S_n —обозначение структурного ряда, содержащего только ВПУЧП, удовлетворяющие функции $W_1(\tau_1)$. Например, структурный ряд $S_3 = 1, 2, 2 \cdot 3 \cdot 4, 2^3 \cdot 4 \cdot 3 \cdot 4 \cdot 5 \cdot 6 \cdot 4 \cdot 5 \cdot 7 \cdot 8$ содержит 13 ВПУЧП; четыре пути увеличения численности популяции—1 (t_0), 1 (t_1), 1 (t_2), 1 (t_3); 1 (t_0), 1 (t_1), 2 (t_2), 3 (t_3); 1 (t_0), 2 (t_1), 3 (t_2), 3 (t_3); 1 (t_0), 2 (t_1),

4 (t_2), 5 (t_3) — не должны учитываться при расчетах, так как не удовлетворяют функции $W_1(\tau_1)$.

С помощью указанного аппарата можно определять функцию вероятности удвоения клетки от возраста, если о ней ничего не известно, но для этого необходимо построить множество возможных $W_1(\tau_1)$ и уже потом последовательно их проверять в расчетах и сравнивать с:

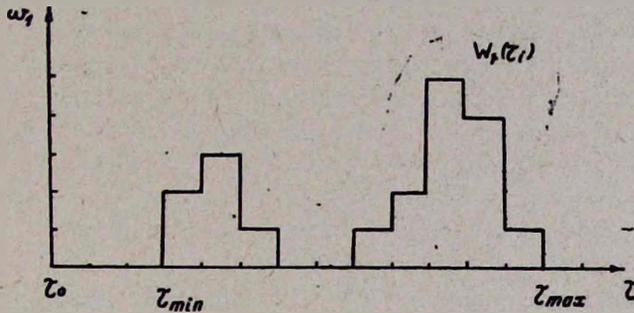


Рис. 4. $W_1(\tau_1)$ — функция вероятности удвоения клетки от возраста τ_1 .

экспериментальными данными. Может оказаться, что одновременно несколько $W_1(\tau_1)$ могут удовлетворять экспериментальным кривым. Дальнейшее уточнение функции $W_1(\tau_1)$ проводится уже при расчетах с учетом динамики выделения (употребления) вещества микробной клеткой в течение жизненного цикла. Если неизвестна динамика выделения (употребления) вещества, то в этом случае необходимо построить множество возможных динамик выделения (употребления) вещества клеткой. Задачи, связанные с построением множества гипотез и отбора из них гипотез, объясняющих результаты экспериментов с необходимой точностью, будут рассмотрены в последующих работах.

В данной работе мы завершаем описание основных принципов предложенного математического аппарата для определения параметров жизненного цикла клетки, которые возможно получить лишь при пересчете данных, снятых с микробной популяции на одну клетку. Для определения параметров жизненного цикла клетки при помощи указанного математического аппарата необходима минимальная информация о популяции — динамика увеличения численности популяции, даже если задана недостаточно достоверно, и концентрации веществ, выделяемых популяцией. Последовательный подбор структурных рядов S_n для описания динамики роста популяции, определение функции вероятности удвоения клетки $W_1(\tau)$ от возраста τ_1 и определение динамики выделения (употребления) веществ клеткой в течение жизненного цикла (рис. 2) — вот круг проблем, которые призван решать предложенный математический аппарат. В данном аппарате не рассматривалась смертность микроорганизмов, в связи с этим он пригоден для лог-фазы и в некоторой степени для стационарной фазы микробной популяции. В предложенном варианте математический аппарат может быть

пригодным для анализа микробной популяции в течение небольшого числа генераций.

Выделим особенности, отличающие разработанный математический аппарат от детерминированных, стохастических и параметрических моделей, описывающих рост микробных популяций.

Для детерминированных моделей необходимо наличие причинно-следственных связей при явлениях роста, в том числе и роста микробных популяций; в стохастических моделях используются вероятностные допущения, что делается, когда имеется небольшое число клеток; к параметрическим моделям прибегают в том случае, когда для описания роста недостаточны ни детерминированные, ни стохастические модели. В этом случае вводятся новые параметры для соответствия с экспериментальными данными, но часто эти параметры являются чисто математическим приемом и лишены биологического смысла [4]. Слабой стороной упомянутых моделей является их неспособность выявлять и изучать внутренние и внешние параметры микробной популяции и их взаимосвязи, если взаимосвязи весьма сложные и экспериментальная информация минимальная. С целью расширения возможностей математического моделирования микробных популяций нами был введен принцип разложения кривой динамики роста микробной популяции на составляющие динамики роста отдельных составных элементов ее (клетки или ЕИП). В отличие от упомянутых трех классов моделей, которые описывают только один специфический случай роста популяции, приведенный математический аппарат в состоянии воспроизвести множество возможных динамик роста популяции и множество моделей с параметрами жизненного цикла клетки, из которых выбирают только те, которые способны описать сложную систему конкретной микробной популяции с достоверностью, удовлетворяющей точности проводимых экспериментов. Так как эти модели дают возможность описать и анализировать сложную структуру микробных популяций, назовем их «структурными моделями».

Математический аппарат структурных моделей будет значительно расширен в последующих наших работах.

Ереванский государственный университет,
кафедра высшей математики

Поступило 31.III 1977 г.

Լ. Ս. ԴԱԶԱՐՅԱՆ, Գ. Ա. ՏՈՆՈՅԱՆ

ՄԱՆՐԷՆԵՐԻ ՊՈՊՈՒԼՅԱՑԻԱՅԻ ԲՋԻՋՆԵՐԻ ՊԱՐԱՄԵՏՐԵՐԻ
ՀԱՅՏՆԱԲԵՐՄԱՆ ՀԻՄՈՒՆՔՆԵՐ

Ա մ փ ո փ ո ս մ

Հոդվածում, Գառաֆեի փորձի օրինակով, որը կատարվել է ինֆուզորիաների վրա, մեկնաբանվում են պոպուլյացիայի առանձին բջիջների զարգացման դինամիկայի որոշման հնարավորությունները՝ պոպուլյացիայի աճի

հայտնի դինամիկայի դեպքում: Քննվում է մանրէների պոպուլյացիայի բջիջների կենսագործունեության պարամետրերի հայտնաբերման սկզբունքը նրանց կյանքի ցիկլի ընթացքում՝ առաջարկված մաթեմատիկական ապարատի օգնությամբ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Казарян Л. С., Тоноян Г. А. Биологический журнал Армении, 30, 4, 1977.
2. Тоноян Г. А., Казарян Л. С. Биологический журнал Армении, 30, 7, 1977.
3. Печуркин Н. С., Терсков И. А. Анализ кинетики роста и эволюции микробных популяций, Новосибирск, 1975.
4. Термодинамика биологических процессов. М., 1976.
5. Уильямсон М. Анализ биологических популяций. М., 1975.