

А. Г. ДЕГЕРМЕНДЖИ, Н. С. ПЕЧУРКИН,  
член-корреспондент АН СССР И. А. ТЕРСКОВ

### МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ АВТОСЕЛЕКЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ НА ОСНОВЕ Л-СИСТЕМ

Методы непрерывного культивирования микроорганизмов являются удобным средством исследования динамики развития и эволюции микробных популяций и, в частности, изучения автоселекционных процессов (1-3).

Данная работа посвящена теоретическому анализу процессов селекции микроорганизмов на протоке при ингибировании скорости роста продуктом-метаболитом, выделяющимся в среду. В ряде случаев такого рода метаболит может быть целевым продуктом ферментации. Полагаем, что ингибитор увеличивает время генерации клетки (4). Из исходного штамма вероятно возникновение мутантов (спонтанное или индуцированное) с измененной чувствительностью к продукту-ингибитору (5), а также с измененными скоростью образования продукта и временем генерации.

Возникает необходимость рассмотрения следующих случаев: а) автоселекция более продуктивного по метаболиту мутанта и б) сохранение исходного штамма при образовании неактивных по продукту форм.

Математическая модель, отражающая развитие штаммов в случае однократного образования мутантов, строится на основе теории систем с лимитирующими факторами (6). Модель описывает динамику изменения семи компонент  $x_i$  ( $i = 0, 1, \dots, 6$ ), обозначающих соответственно концентрации: исходного штамма, мутантов ( $i = 1, 2$ ), детального класса, источника углерода и энергии, прочих питательных веществ в сумме, ингибитора. Компоненты ценоза зависят только от времени, так как рассматриваем культиватор идеального перемешивания.

Каждому  $i$ -му штамму приписываются интенсивности трех процессов:  $P_{i+8}$  — интенсивность основного обмена;  $P_i$  — интенсивность роста;  $P_{i+5}$  — интенсивность гибели.

Полагаем интенсивности  $P_{i+8}$ ,  $P_i$ ,  $P_{i+5}$  единичными, если в единице объема в единицу времени соответственно обеспечивается основным обменом, синтезируется и гибнет единица биомассы  $i$ -го штамма. Обозначим  $\alpha_{i7}$  и  $\alpha_{i6}$  концентрации  $i$ -го штамма, обеспечивающие соответственно производство и гибель единицы его биомассы, а  $\alpha_{j4}$  и  $\alpha_{j+4}$ ,  $j = 4, 5$ , — концентрации  $j$ -й компоненты, тратящиеся на основной обмен и синтез единицы биомассы  $i$ -го вида.

Тогда величины интенсивностей примут вид

$$P_{i+8} = \min_{j=4,5} (x_i / 1M) / L^3, \quad M_{ij} \alpha_{ij}^{-1}; \quad P_i = \min_{j=4,5} \left( \frac{x_i}{\alpha_{i7}}, \frac{M_{ij} - \alpha_{ij} P_{i+8}}{\alpha_{i+4}} \right);$$
$$P_{i+5} = \frac{x_i - 1M/L^3 P_{i+8}}{\alpha_{i6}}; \quad M_{ij} = h_{j2} h_{j1}^{-1} \mathfrak{Z}^{-1} (a_j + b_j) S_i x_i x_j \equiv c_{ij} x_i x_j,$$

где  $h_{j2}$ ,  $h_{j1}$  — проницаемости клетки для  $j$ -го вещества соответственно извне во внутрь и наоборот;  $a_j$  и  $b_j$  характеризуют соответственно энергетическую и пластическую функцию клетки;  $S_i$  — поверхность единицы биомассы. Выражение  $M_{ij}$  выведено на основе (7).

Дифференциальные уравнения, описывающие динамику изменения компонент, имеют вид

$$\begin{aligned} \dot{x}_i &= f_i P_i - x_i D - P_{i+5}, \\ \dot{x}_3 &= P_5 + P_6 + P_7 - x_3 D, \\ \dot{x}_j &= - \sum_{i=0}^2 f_i (\alpha_{ij+4} P_i + \alpha_{ij} P_{i+3}) + (x_j^0 - x_j) D, \\ \dot{x}_6 &= \sum_{i=0}^2 (b_i f_i P_i + b_{i+3} x_i) + (x_6^0 - x_6) D, \\ j &= 4, 5; \quad i = 0, 1, 2; \quad f_i \equiv b_{ii} (b_{ii} + x_6)^{-1}; \quad b_{ii} \equiv \text{const}, \end{aligned} \quad (1)$$

где скорость протока  $D = (f_0 P_0 + f_1 P_1 + f_2 P_2) c^{-1}$  получена для плотностата из условия  $x_0 + x_1 + x_2 + x_3 = c \equiv \text{const}$  или  $D = \text{const}$  для хемостата;  $b_i$  определяется количеством ингибитора, производимого  $i$ -й единичной интенсивностью роста;  $x_n^0$  — концентрация  $n$ -й компоненты,  $n = 4, 5, 6$  в подаваемой среде.

Система (1) без особого труда может быть расширена на случай образования любого конечного числа мутантных классов.

Проверка работы модели на основании экспериментальных данных по автоселекции быстрорастущего мутанта на протоке <sup>(3)</sup>, кривой роста микроорганизмов в периодическом режиме <sup>(4)</sup> и зависимости удельной скорости роста мутанта *Escherichia coli* от концентрации триптофана <sup>(8)</sup> показала хорошее совпадение с этим материалом. На рис. 1 представлен последний из этих примеров. Здесь  $\mu(x_4) = c_{04} \alpha_{08}^{-1} x_4$  при  $x_4 < \alpha_{08} (c_{04}^{-1} \alpha_{07}^{-1}) = 0,5$  мг/л и  $\mu(x_4) = 0,75$  час<sup>-1</sup> при  $x_4 \geq 0,5$  мг/л. Численные значения постоянных следующие:  $\alpha_{08} = 3$  г/г из <sup>(9)</sup>;  $a_4 \simeq 0,056$ ,  $b_4 \simeq 0,028$  и  $h_{42} = h_{41} = 10^{-4}$  см/сек из <sup>(10)</sup>;  $S_0 = 4,4 \cdot 10^4$  см<sup>2</sup>/г.

Проведем качественный анализ для случая роста двух штаммов, один из которых может быть мутантным, в плотностате в избыточных условиях. Система (1) примет вид

$$\begin{aligned} \dot{x}_i &= [a_{ii} (b_{ii} + x_6)^{-1} - D] x_i, \\ \dot{x}_6 &= a_{60} (b_{00} + x_6)^{-1} x_0 + a_{61} (b_{11} + x_6)^{-1} x_1 + (x_6^0 - x_6) D, \end{aligned} \quad (2)$$

где

$$\begin{aligned} D &= c^{-1} [a_{00} (b_{00} + x_6)^{-1} x_0 + a_{11} (b_{11} + x_6)^{-1} x_1], \\ a_{ii} &= a_{i7}^{-1} b_{ii} \equiv \mu_i b_{ii}, \quad a_{6i} = b_i a_{ii}, \quad b_3 = b_4 = 0, \quad i = 0, 1. \end{aligned}$$

Заметим, что условием сохранения вида системы (2) в стационарной точке является выполнение неравенств, вытекающих из условия избыточности питания

$$\bar{x}_j = x_j^0 - D_{\text{стац}}^{-1} \sum_{i=0,1} \frac{\alpha_{ij+4} \mu_i b_{ii}}{b_{ii} + \bar{x}_6} \bar{x}_i \geq \max_{i=0,1} \left( \frac{\alpha_{ij+4}}{a_{ij}} + \alpha_{ij} \right) c_{ij}^{-1}.$$

Эти равенства всегда можно удовлетворить выбором  $x_j^0$ ,  $j = 4, 5$ .

Для системы (2) получаем три типа стационарных решений:

- I.  $\bar{x}_0 = c$ ,  $\bar{x}_1 = 0$ ,  $\bar{x}_6 = x_6^0 + cb_0$ ;
- II.  $\bar{x}_0 = \frac{\bar{x}_6 - x_6^0 - cb_1}{b_0 - b_1}$ ,  $\bar{x}_1 = \frac{x_6^0 + cb_0 - \bar{x}_6}{b_0 - b_1}$ ,  $\bar{x}_6 = \frac{(\mu_0 - \mu_1) b_{11} b_{00}}{\mu_1 b_{11} - \mu_0 b_{00}}$ ;
- III.  $\bar{x}_0 = 0$ ,  $\bar{x}_1 = c$ ,  $\bar{x}_6 = x_6^0 + cb_1$ .

Для решения типа II легко получить условия его существования.

Используя общую схему, исследуем вопрос об устойчивости стационарных решений по первому приближению методом А. М. Ляпунова <sup>(11)</sup>.

Для решения типа I получаем следующий результат: если  $\mu_1 b_{11} (b_{11} + x_6^0 + cb_0)^{-1} > \mu_0 b_{00} (b_{00} + x_6^0 + cb_0)^{-1}$ , то решение неустойчиво; если имеет место обратное неравенство, то оно асимптотически устой-

чиво. Этот результат может быть усилен, если принять во внимание выражение для вероятности вырождения к моменту времени  $t$  мутантного штамма  $R_0(t)$  (12). Тогда, видоизменив его, будем иметь

$$R_0(\infty) = \begin{cases} 1 & \text{при } k_1 \equiv \mu_1 b_{11} (b_{11} + x_6^0 + cb_0)^{-1} < \mu_0 b_{00} (b_{00} + x_6^0 + cb_0)^{-1} \equiv k_0, \\ \left[ \frac{\mu_0 b_{00} (b_{11} + x_6^0 + cb_0)}{\mu_1 b_{11} (b_{00} + x_6^0 + cb_0)} \right]^r & \text{при } k_1 > k_0, \end{cases}$$

где  $R_0(\infty)$  — вероятность вырождения к сколь угодно большому моменту времени мутантных клеток при их начальном количестве  $r$  и удельной скорости роста  $k_1$ .

По существу этот вывод трактуется так: при возникновении мутантов с удельной скоростью меньшей, чем у исходной культуры (при концентрации ингибитора, равной  $x_6^0 + cb_0$ ), они с вероятностью единица

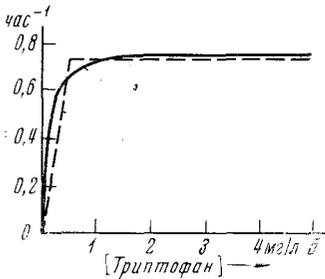


Рис. 1

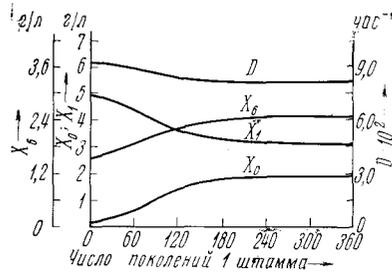


Рис. 2

Рис. 1. Зависимость удельной скорости роста  $\mu$  ауксотрофного мутанта *E. coli* от лимитирующего рост фактора (триптофана)  $x_6$ . Пунктирная кривая — теоретическая, сплошная — экспериментальная.

Рис. 2. Динамика роста двух штаммов в плотностате при ингибировании скорости роста.  $x_1$  — исходный штамм;  $x_0$  — мутант;  $x_6$  — ингибитор;  $D$  — скорость слива.  $\mu_0 = 0,18$ ;  $\mu_1 = 0,12$ ;  $b_{00} = 2$ ;  $b_{11} = 5$ ;  $b_0 = 0,6$ ;  $b_1 = 0,4$ ;  $x_6^0 = 1$ ;  $x_0 + x_1 = 5$

будут вытеснены, в противном же случае с вероятностью  $1 - R_0(\infty)$  будет вытеснен исходный штамм (при условии отсутствия решения типа II).

Опуская выкладки и используя указанный выше результат, получаем для решения типа II: при образовании мутантов, обладающих характеристиками (знаки неравенств берутся соответственно верхние или нижние)  $\mu \geq \mu_0$ ,  $b_1 \geq b_0$ ,  $\mu_1 b_{11} \leq \mu_0 b_{00}$  и  $x_6^0 + cb_0 \leq \bar{x}_6 \leq x_6^0 + cb_1$  ( $\bar{x}_6 = b_{11} b_{00} [\mu_0 - \mu_1] [b_{11} \mu_1 - b_{00} \mu_0]^{-1}$ ), возникает их асимптотически устойчивое сосуществование с исходным штаммом. Этот вывод иллюстрирован счетом на ЭВМ (рис. 2). Заметим, что эти неравенства суть часть условий существования решения типа II.

Для хемостатного режима в системе (2)  $D = \text{const}$ . Стационарные решения в этом случае таковы:

$$I'. \bar{x}_0 = (\bar{x}_6 - x_6^0)/b_0, \bar{x}_1 = 0, \bar{x}_6 = b_{00} (\mu_0 - D)/D;$$

$$II'. \bar{x}_0 = 0, \bar{x}_1 = (\bar{x}_6 - x_6^0)/b_1, \bar{x}_6 = b_{11} (\mu_1 - D)/D.$$

Для решения типа I' получаем неустойчивость, если  $\mu_1 b_{11} (b_{11} + \bar{x}_6)^{-1} > \mu_0 b_{00} (b_{00} + \bar{x}_6)^{-1} = D$  (или, что то же самое,  $\mu_1 > D + \frac{b_{00}}{b_{11}} [\mu_0 - D]$ ); в противном же случае — асимптотическую устойчивость. Этот результат совпадает с таковым для плотностата.

Теперь рассмотрим вопрос о стационарной производительности плотностата по ингибитору (произведение  $D$  на  $\bar{x}_6$ ). Введем обозначения (при  $x_6^0 = 0$ ):  $\Pi_i = \mu_i b_i c b_i (b_{ii} + cb_i)^{-1}$  — производительность  $i$ -го штам-

ма;  $\Pi_2 = (\mu_0 - \mu_1)(b_{00}^{-1} - b_{11}^{-1})$  — производительность смешанной культуры;  $\Pi = \mu_i b_{ii} \bar{x}_6 (b_{ii} + \bar{x}_6)^{-1}$ .

1°. Учитывая монотонность функции  $\Pi$  и возможные стационарные состояния, можно показать, что при увеличении  $\Pi$  имеет место один из двух случаев: 1а)  $b_1 \geq b_0$  (в этом варианте всегда  $\Pi_1 > \Pi_0$ ) или 1б)  $b_1 < b_0$  (в этом случае существуют такие  $\mu_1$  и  $b_{11}$ , что  $\Pi_1 > \Pi_0$ ), и в обоих ситуациях произошло вытеснение исходного штамма; 2)  $b_1 > b_0$ , и существует совместный исходный и мутантный штаммы ( $\Pi_2 > \Pi_0$ ).

2°. Реализация нижеследующих случаев приводит к уменьшению  $\Pi$ : 3)  $b_1 < b_0$ , и произошло вытеснение исходного штамма; 4)  $b_1 < b_0$ , и образовалась устойчивая смешанная культура.

Можно дать способ идентификации каждого из четырех случаев. Пусть, например, автоселекция привела к культуре с такими параметрами:  $\Pi > \Pi_{исх}$ ,  $D < D_{исх}$  и  $\bar{x}_6 > \bar{x}_{6\text{ исх}}$ . Изменим несколько  $x_6^0$  и будем следить за  $D$ . Если  $D$  изменилось, значит, имеет место случай 1а), если нет — то 2). Только для случая 2) возможно еще большее увеличение  $\Pi$  приемами культивирования. Для этого изменением  $x_6^0$  или с нарушением условия сосуществования в пользу более производительного штамма.

Для хемостата  $\Pi_i = D\bar{x}_6 = b_{ii}(\mu_i - D)$ . Из условия вытеснения исходного штамма непосредственно следует, что  $\Pi_1 > \Pi_0$ .

Полученное на модели асимптотически устойчивое сосуществование двух агамных гаплоидных форм микроорганизмов представляет интерес в связи со сходным природным явлением сбалансированного полиморфизма.

Институт физики им. Л. В. Киренского  
Сибирского отделения Академии наук СССР  
Красноярск

Поступило  
28 II 1972

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> З. Фенцл, В сборн. Непрерывное культивирование микроорганизмов, М., 1968.
- <sup>2</sup> И. И. Гиттельзон, Б. Г. Ковров, И. А. Терсков, ДАН, **165**, № 4, 692 (1965).
- <sup>3</sup> Н. С. Печуркин, В сборн. Биология и культивирование микроорганизмов, Красноярск, 1969.
- <sup>4</sup> Н. Д. Иерусалимский, Основы физиологии микробов, М., 1963.
- <sup>5</sup> С. З. Миндлин, В сборн. Экспериментальный мутагенез у микроорганизмов и его практическое использование, М., 1966.
- <sup>6</sup> Ю. И. Гильдерман, К. Н. Кудрина, И. А. Полетаев, В сборн. Исследования по кибернетике, М., 1970.
- <sup>7</sup> В. И. Скобелкин, А. А. Болдин, ДАН, **145**, № 6, 1396 (1962).
- <sup>8</sup> A. Novick, L. Szilard, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., **36**, 708 (1950).
- <sup>9</sup> В. О. Таусон, Основные положения растительной биоэнергетики, М.—Л., 1950.
- <sup>10</sup> В. И. Скобелкин, А. А. Болдин, В сборн. Биофизика клетки, М., 1965.
- <sup>11</sup> Л. Э. Эльсгольц, Математические основы теории управляемых систем, М., 1969.
- <sup>12</sup> И. А. Швытов, Сборн. тр. по агрономической физике, Математические методы в биологии и агрофизике, в. 30, 1971.