

И.С. Захаров

МАТЕМАТИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ ЛОКОМОЦИЙ МИКРООРГАНИЗМОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ДЛЯ СОЗДАНИЯ БИОТЕСТОВОЙ АППАРАТУРЫ

Биотестовая аппаратура, возникшая в результате синтеза современных биотехнологий и приборостроения, предназначена для контроля качества сред с помощью измерения интегральной тест-реакции на их токсичность у чувствительного к вредным факторам организма – тест-объекта. Использование в качестве тест-объекта популяции микроорганизмов уменьшает стоимость проведения тестирования и повышает статистическую достоверность его результатов.

Локомоции – перемещения целостных организмов, отражают нарушения процессов метаболизма и функций сенсорной системы. Создание биотестовой аппаратуры, предназначенной для контроля тест-реакций подвижных организмов, предполагает формализацию локомоций в виде математической модели.

Большинство моделей локомоций основано на описании перемещения организмов броуновским движением, и, соответственно, различными видами марковских процессов, к которым относятся: винеровский процесс, модели Ланжевена, Орнштейна–Уленбека (OU-процессы), Келлера–Сегела (разновидность модели Фоккера–Планка) [1–4]. Движение организмов в них характеризуется коэффициентами диффузии броуновских частиц.

Для биотестирования эти модели оказались малоприменимы ввиду сложности и описания ими, в основном, перемещений и скоростей отдельных частиц, изменения которых при действии вредных факторов трудно трактовать с токсикологической точки зрения.

В данной статье приводятся результаты работ по созданию новых математических моделей локомоций, основанных на их эволютических особенностях для использования в области биотестирования водных сред.

Модель локомоций инфузорий

Среди локомоций перспективными в качестве тест-реакций являются различные виды таксисов – направленных перемещений целой популяции под действием градиента физического или химического фактора. Хемотаксис инфузорий представляет изменение их концентрации в токсичной среде. Поэтому в качестве показателя действия вредного фактора была выбрана не скорость, а концентрация подвижных объектов. Это был хорошо трактуемый с токсикологической точки зрения показатель.

При микроскопных наблюдениях видно, что инфузории движутся не как броуновские частицы после соударений с молекулами воды, а за счет собственной энергии, как автономные осцилляторы, так, что при пересечении границ фотоприемника образуют случайный поток. Можно выделить две основные фазы движения инфузорий: прямолинейный «пробег» ε и смену направлений, обусловленную суммацией информационных потоков. Потоки информации о химическом составе среды инфузории получают с помощью множества ресничек, суммарный поток, определяющий смену направления клетки, согласно предельной теореме, является пуассоновским и может характеризоваться частотой смены направлений ξ , распределенной по закону Пуассона. При действии доз антибиотика стрептомицина происходило заметное визуально под микроскопом уменьшение частоты смены изменений направлений движения инфузорий (*P. Caudatum*) и увеличение длины их пробега. Величина энергии клетки расходуется при этом на суммарный путь. Эта взаимосвязь $\varepsilon\xi = Const$ была постулирована для построения модели в работе [5].

Позже в работе [6] отрицательная корреляция между частотой смены направлений

движения и величиной «пробега» (объясненная авторами, как следствие единых механизмов расходования кальция) была экспериментально подтверждена для локомоций амёб, что доказывает эволюционное сходство механизмов локомоций у простейших. В работе было также выдвинуто положение об организме, как автономном осцилляторе и предложена оригинальная модель локомоций на основе оригинального развития уравнения Ланжевена, описывающая изменение скорости частицы.

Развиваемое автором данной статьи описание локомоций инфузорий пуассоновским процессом имеет фундаментальное и прикладное значение, позволяя регистрировать с помощью фотоприемника с периметром P локомоции инфузорий, как импульсный случайный процесс с интенсивностью Λ . Количество пересечений фотоприемника инфузориями, движущимися из слоя толщиной ε равно

$$m = \Lambda t_M,$$

где t_M — время измерения движения потока частиц,

$$\Lambda = 2C\varepsilon\zeta p b,$$

где C — концентрация частиц, b — толщина слоя, p — вероятность частицы пересечь границу фотоприемника (рассчитывается на основе модели Бюффона).

В результате, учитывая постулируемые положения, запишем

$$m = kC,$$

где k — коэффициент, зависящий от параметров фотоприемника и вида организма.

Фотометрическая аппаратура, разработанная на базе модели, позволила проводить обнаружение концентраций подвижных инфузорий в мутных и окрашенных средах, исследовать статистические, спектральные характеристики случайного процесса, автокорреляционные функции, обусловленные локомоциями инфузорий, выявлять информативные параметры процесса, изменяющиеся при действии вредных факторов [7].

Модель выживаемости инфузорий в малых объемах.

Модель была развита в работе [8] для случая малого числа частиц, что актуально в случае контроля выживаемости инфузорий в малых объемах тестируемых сред (десятки мкл). Было показано, что максимизация интенсивности потока частиц Λ может быть достигнута при просвечивании тонким лучом капилляра с частицами. Тогда интенсивность потока максимальна за счет отражения частиц от стенок капилляра при значениях радиуса фотоприемника $a = \varepsilon$, а внутреннего диаметра капилляра 4ε .

Результаты экспериментальной проверки модели при просвечивании микрообъема с инфузориями лучом лазера и выявленных сложностей ее реализации приведены в работе [9].

Обнаружение полосового хемотаксиса.

Бактериальный полосовой хемотаксис по Бейеринку представляет собой движение вверх плоского слоя, оторвавшегося от бактериальной взвеси, при наложении пробы водной среды на взвесь. Реакция традиционно моделировалась уравнением Келлера–Сегела [3] или его модификациями. Для контроля положения полосы использовался метод нефелометрии.

Проведенные экспериментальные исследования показали, что высота подъема зависит от токсичности водной среды. Необходимо было найти центр бактериальной полосы при условиях статических помех.

На основании экспериментальных исследований была предложена модель бактериальной полосы [7, 10] в виде симметричной структуры слоев с линейно увеличивающимися

от краев полосы концентрациями вплоть до достижения максимальной центральной C_{\max} :

$$C_k = k\alpha C_{\max},$$

где α – константа, k – количество слоев от края полосы.

Каждый слой создает коэффициент пропускания $T_k = \exp(-C_k Sb)$, где S – оптическое сечение частицы, b – толщина слоя частиц. Обозначим

$$q = C_{\max} \alpha Sb.$$

При равномерном движении структуры слоя по массиву фотоприемников величина дисперсии коэффициента пропускания за n измерений равна

$$D(T_n) = \exp(-2kq) \left\{ (1/n) \sum \exp(-2iq) - [(1/n) \sum \exp(-2iq)]^2 \right\}$$

Дисперсия экспоненциально уменьшается от краев полосы к центру. Центр полосы определяется по минимуму дисперсии коэффициента пропускания фотоприемника из массива. Коэффициент токсичности рассчитывается через значения высот подъема полосы в контроле и опыте.

Модель гальванотаксиса инфузорий

Гальванотаксис – направленное движение популяции организмов под действием электрического поля, проявляется только у живых клеток, что обуславливает возможность его применения в качестве тест-реакции [11]. Существующие модели гальванотаксиса основаны на использовании его описания ОУ-процессами, отражающими движение, при котором частицы могут менять свои направления, но в конечном счете их вектор движения флуктуирует все меньше возле направления на электрод (катод или анод) [3].

При этом мало учитывались другие особенности гальванотаксиса, которые были известны микробиологам. Важно, что после сбора инфузорий со всего объема у катода, при одной полярности включения электродов при обратной полярности движется уже сформировавшийся мутный слой.

Экспериментальные телевизионные исследования показали, что инфузории при сборе у катода распределены с трендом, близким по типу к распределению Максвелла–Больцмана, как заряженные частицы в поле внешних сил. Эта аналогия обусловила построение новой модели, в которой первая фаза сбора клеток у катода описывается выражением для максимальной концентрации

$$C_{\max Tox} = (1 - K_{Tox})(C_0 \alpha \Delta \varphi) / (1 - \exp(-\alpha \Delta \varphi)),$$

где K_{Tox} – коэффициент токсичности, C_0 – исходная концентрация инфузорий, $\Delta \varphi$ – разность потенциалов, приложенных к электродам, α – коэффициент, зависящий от конструкции электрохимической ячейки и вида организма.

При прохождении слоя частиц в обратную сторону через фотоприемник возникает асимметричный импульс изменения коэффициента пропускания:

$$T = 1 - (C_{\max Tox} \sigma b / \theta \tau) (1 - \exp(-\theta t)),$$

где b – толщина слоя частиц, σ – оптическое сечение организма, τ – время нарастания импульса, $\theta = \Delta \varphi \alpha / t_M$, где t_M – время стадии гальванотаксиса.

На базе данной модели была разработана и экспериментально проверена биотестовая фотометрическая аппаратура, позволяющая обнаруживать токсичность водных сред за счет реакции гальванотаксиса инфузорий [12].

Вывод: В статье описаны новые модели локомоций, выживания, гальванотаксиса инфузорий, полосового бактериального хемотаксиса. При математическом моделировании более полный учет эволюционных особенностей тест-объекта позволяет упростить обнаружение его реакции и создать основы для разработки новых видов биотестовой аппаратуры.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Левин Б.П. Теоретические основы статистической радиотехники. – М., 1989.
2. Гардинер К.В. Стохастические методы в естественных науках. – М.: Наука, 1985.
3. Ionides E.L., Fang K.S., Isseroff R.R. Stochastic models for cell motion and taxis // *J.Math.Biol.* 48, 23–27 (2004).
4. Selmecci D., Mosler S., Hagedorn P. Cell Motility as Persistent Random Motion: Theories from Experiments // *Biophys. J.*, V89, Aug. 2005, P. 912–931.
5. A computer-assisted biomonitoring test system / I.S. Zakharov, N.I. Paputsкая, A.V. Pozharov and A. Yu. Lepyakhov // *Biomedical engineering*. – Vol 29. – 1995– №1. – P. 35–40.
6. Shenderov A.D., Sheetz M.P. Inversly Correlated Cycles in Speed and Turning in an Amebae: An Oscillatory Model of Cell Locomotion // *Biophys. J.*, V72, May 1997, P. 2382–2389.
7. Экспрессные методы интегральной оценки экологического состояния объектов окружающей среды / Захаров И.С., Пожаров А.В., Сидоренко В.М., Суворова Т.В.: Учеб. пособие. – СПб.: Изд-во СПбГЭТУ, 2007, – С. 24–32.
8. Захаров И.С., Ваганов А.В. Измеритель подвижных частиц в макро- и микрообъемах // *Научное приборостроение*. – 2004. – Т. 14. – № 3. – С. 93–96.
9. Захаров И.С., Пономаренко О.С. Разработка аппаратурного теста для контроля токсичности солоноватых водных сред в микрообъемах // *Известия СПбГЭТУ «ЛЭТИ»*. Сер. «Биотехнические системы в медицине и экологии». – 3. – 2006. – С. 68–73.
10. Захаров И.С., Суворова Т.В. Моделирование полосового хемотаксиса // *Сб. тез. докл. IX Санкт-Петербургской межд. конф. «Региональная информатика-2004»*. – СПб. – 2004. – С. 360–361.
11. Захаров И.С., Ковалевская А.С. Перспективы применения гальванотаксиса в биотестировании и модель гальванотаксической реакции в токсичной среде // *Известия СПбГЭТУ «ЛЭТИ»*. Сер. «Биотехнические системы в медицине и экологии». – 2005. – №2, – С. 96–100.
12. Захаров И.С., Ковалевская А.С., Казанцева А.Г., Голядкин С.В. Аппаратурно регистрируемые характеристики и модель гальванотаксического сигнала // *Известия СПбГЭТУ «ЛЭТИ»*. Сер. «Биотехнические системы в медицине и экологии». – 2006. – №1. – С. 100–105.

УДК 504.7+629.7.017.1

И.С. Захаров, А.В. Завгородний

БИОТЕСТОВЫЕ АППАРАТУРНЫЕ СРЕДСТВА И МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ ЛОКОМОЦИЙ ИНFUЗОРИЙ

Биотестовая аппаратура для контроля локомоций инфузорий (перемещения цельных организмов) решает задачу обнаружения концентрации подвижных биообъектов в пробе водной среды, с целью определения ее токсичности (биологической вредности). Подвижность является фундаментальным свойством живого вещества, поэтому такая реакция экологически значима.

Подсчет движущихся организмов в каплях под микроскопом является трудоемким, и поэтому актуальна проблема разработки аппаратуры для этой цели.