

Лабораторная работа № 11
«ИМИТАЦИОННЫЕ МОДЕЛИ В БИОЛОГИИ.
МОДЕЛИРОВАНИЕ И АНАЛИЗ ВРЕМЕННОГО ХОДА
БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ»

Большинство биологических процессов, как мы видели в предыдущих работах, подчиняется экспоненциальной зависимости, и при этом довольно часто выясняется, что рассматриваемая характеристика, которая описывает изучаемый процесс, изменяется в соответствии с несколькими экспонентами, то есть процесс представляет собой совокупность нескольких таких экспоненциальных компонент, или *временных фаз*. Интересующая исследователя информация состоит в расчете размерности каждой фазы и временного диапазона, которая выражает скорость процесса, представленного каждой экспоненциальной фазой.

В данной работе рассмотрим моделирование временного хода биологического процесса, выявим количество экспоненциальных фаз этого процесса, а также определим параметры их параметры. В качестве примера рассмотрим процесс обмена клетки с внеклеточной средой ионами, которые транспортируются через плазматическую мембрану и тонопласт. Данная система схематически представлена на рисунке 1.

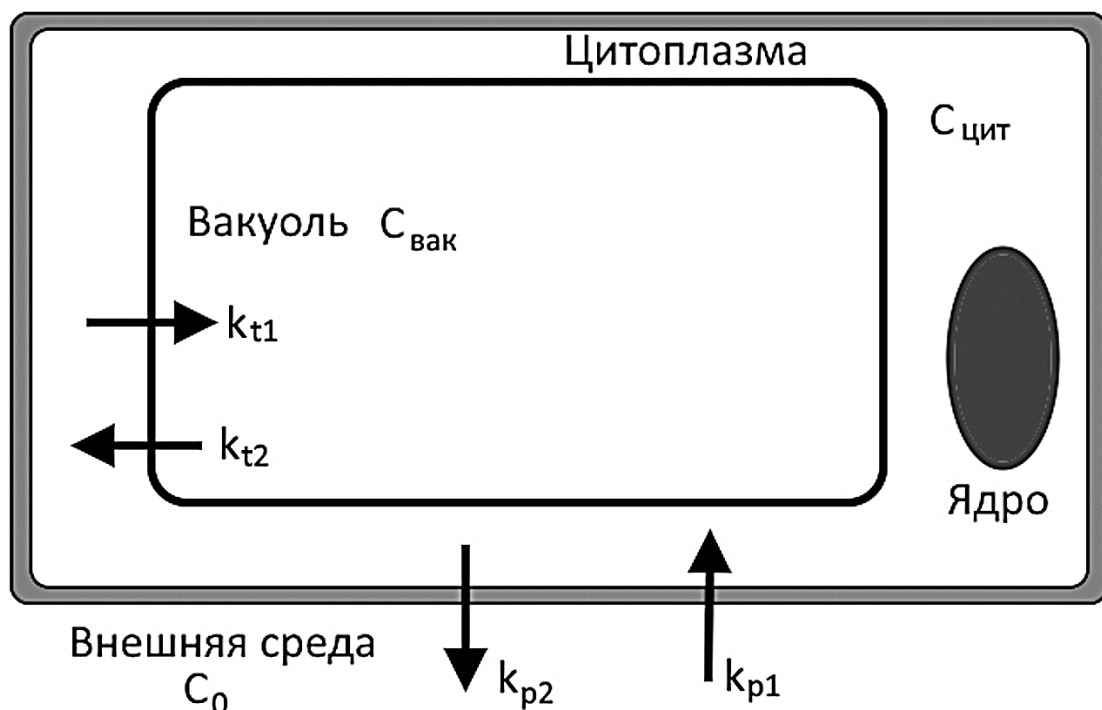


Рисунок 1 – Обмен клетки ионами с внешней средой: C_0 , $C_{\text{цит}}$ и $C_{\text{вак}}$ – концентрация вещества во внешней среде, цитоплазме и вакуоли соответственно; k_{p1} , k_{p2} , k_{t1} , k_{t2} – константы прямого и обратного перехода ионов через плазмалемму (р) и вакуолярную мембрану, или тонопласт (т)

Изменение концентрации вещества в цитоплазме выражается следующим уравнением:

$$\frac{\Delta C_{\text{цит}}}{\Delta t} = C_0 k_{p1} + C_{\text{вак}} k_{t2} - C_{\text{цит}} k_{p2} - C_{\text{цит}} k_{t2}$$

Изменение концентрации вещества в вакуоли:

$$\frac{\Delta C_{\text{вак}}}{\Delta t} = C_{\text{цит}} k_{t1} - C_{\text{вак}} k_{t2}$$

Аналитическое решение этих уравнений имеет следующий вид:

$$C = A_0 + A_1 \exp(-\lambda_1 t) + A_2 \exp(-\lambda_2 t)$$

Здесь A_0 , A_1 и A_2 – коэффициенты, которые определяются граничными условиями эксперимента; λ_1 и λ_2 – корни характеристического уравнения. В начале эксперимента $t=0$ в случае накопления вещества $C_0 = 0$.

Отсюда, основная наша задача состоит в определении параметров A (уровень накопления вещества в цитоплазме или вакуоли) и λ (постоянную времени переноса, которая определяется свойствами соответствующей мембраны).

Эксперименты по анализу скорости транспорта ионов через мембраны и их накопления в отдельных обособленных мембранами участках клетки часто проводятся с применением изотопов радиоактивных элементов путем измерения уровня радиоактивности клетки через определенные промежутки времени после погружения ее в раствор, содержащий радиоактивную метку. При этом скорость накопления радиоактивности в клетке определяется суммарным входящим потоком вещества. В то же время по мере накопления радиоактивных изотопов в клетке будет возрастать и выходящий поток, что существенно усложняет возможный анализ процесса.

Однако проблема упрощается, если оценивать только однонаправленный выходящий поток ионов. Экспериментально это реализуется, когда клетку предварительно загружают радиоактивным изотопом, а затем переносят в чистый раствор и регистрируют снижение ее радиоактивности, которое связано с однонаправленным выходящим потоком.

Снижение радиоактивности клетки с учетом обменной емкости целлюлозной клеточной стенки растений отвечает следующему уравнению:

$$C = A_0 + A_1 \exp(-b_1 t) + A_2 \exp(-b_2 t) + A_3 \exp(-b_3 t)$$

Задание. В лаборатории провели эксперимент по выходу радиоактивных изотопов K^{40} , расчетные данные которого представлены ниже:

t	0	2	4	6	8	10	12	14	16	19	22	27	32	37	43	50	60	80	100	120	140
A	1545	778	477	315	188	135	97	92	85	80	69	55	48	42	31	24	22	19	17	16	15

Примечание: t – время нахождения клетки в чистом растворе, мин; A – уровень радиоактивности клетки

Рассчитайте значения параметров временных фаз выхода радиоактивного изотопа K^{40} из растительной клетки.

Решение

Первоначально создаем в любом из редакторов рабочую таблицу с имеющимися переменными времени нахождения клетки в чистом растворе и уровнем радиоактивности клетки из таблицы к заданию.

Затем добавляем к таблице ещё одну переменную – натуральный логарифм уровня радиоактивности (рисунок 2), а затем необходимо построить точечную диаграмму по двум переменным – первой и третьей (рисунок 3).

	A	B	C
1	Время, мин	Активность, A	ln A
2	0	1545	7,342779189
3	2	778	6,656726524
4	4	477	6,167516491
5	6	315	5,752572639
6	8	188	5,236441963

Рисунок 2 – Фрагмент рабочей таблицы

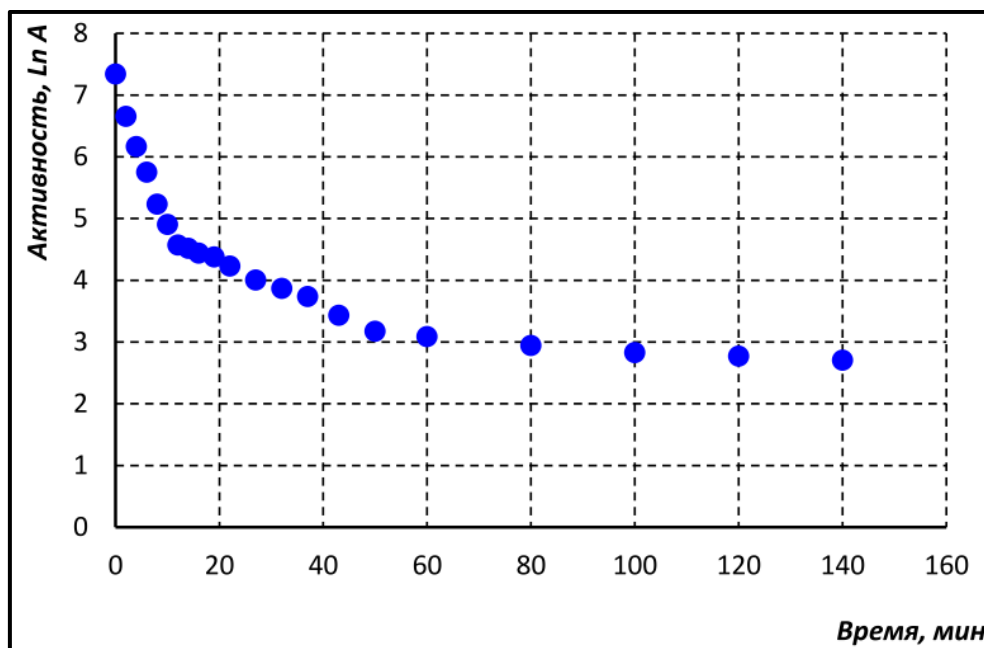


Рисунок 3 – График снижения радиоактивности в клетке

При внимательном рассмотрении графика, полученного на основании экспериментальных данных, то можно заметить, что общий суммарный график состоит из трех линейных частей, которые обуславливают скорость вывода калия из клетки. Так самая быстрая фаза (фаза 1 – Ф1) включает в себя время от 0 до 12 минут (клеточная стенка), средняя фаза (фаза 2 – Ф2) – от 12 до 60 минут (цитоплазма клетки) и самая медленная фаза (фаза 3 – Ф3) – от 60 до 140 минут (вакуоль клетки).

Для каждой из выявленных стадий необходимо построить линии тренда с указанием линейной функции. Самый простой способ – наложить новые графики по отдельным фазам на первоначальный график путем добавления данных. Как это делается для MS Excel 2019 и Libre Office Cal 7.9 показано в лабораторной работе №7. Далее на каждый из новых графиков необходимо добавить линию тренда линейной функции с указанием формулы (рисунок 4).

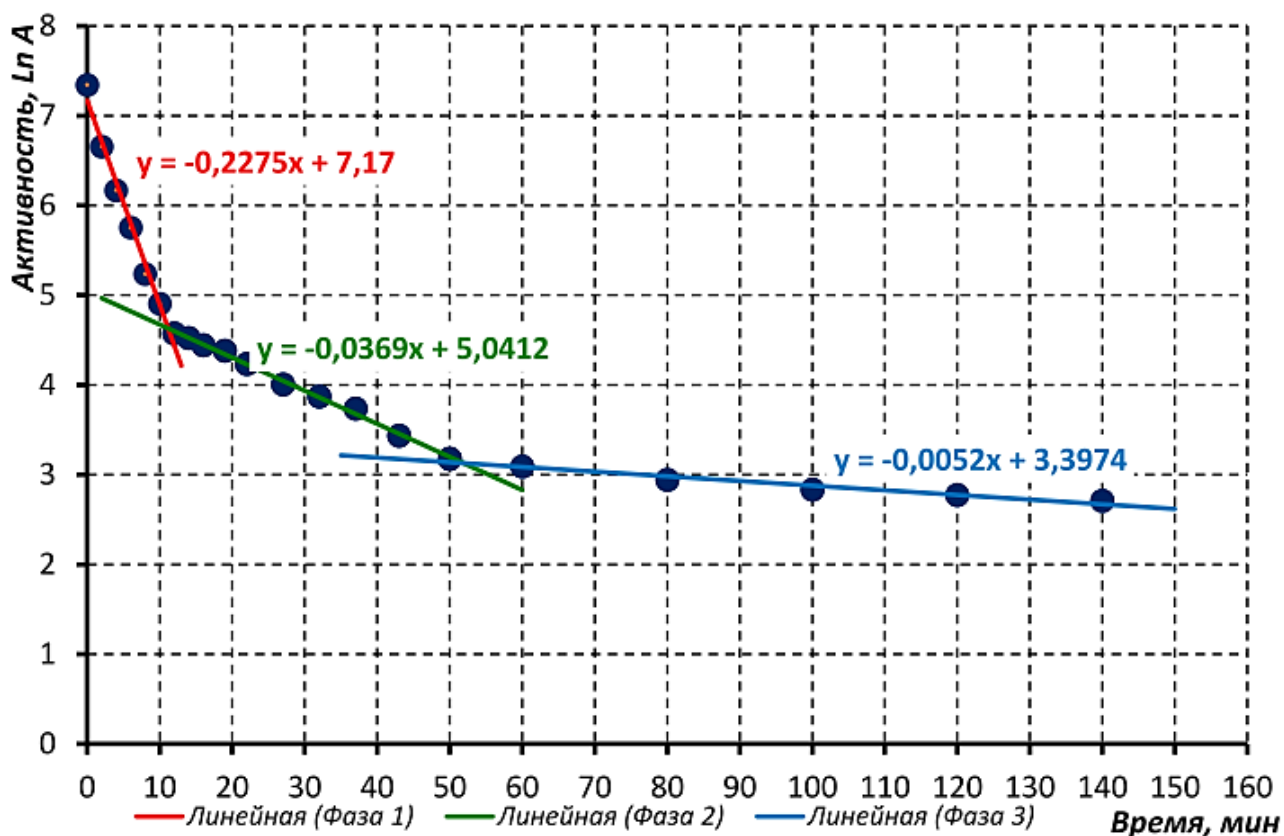


Рисунок 4 – График снижения радиоактивности в клетке, разбитый на фазы

По уравнениям первичных линий тренда можно рассчитать зависимости для каждой из трех фаз от времени и оценить интервалы времени, в которых эти фазы перекрываются.

Для адекватной оценки параметров каждой фазы их необходимо откорректировать путем вычитания значений более медленных фаз из более быстрых.

Используя полученные уравнения необходимо рассчитать значения для всех фаз, а также значения их натуральных логарифмов и значение экспоненты (напоминание – переменная x в уравнении – это время), начиная с самой медленной фазы, т.е. третьей. Для этого необходимо внести в таблицу ряд добавочных промежуточных переменных (таблица 1).

Таблица 1 – Добавочные переменные в рабочей таблице

Ф3	ln Ф3	exp Ф3	Ф2	ln Ф2	exp Ф2	Ф1	ln Ф1	exp Ф1

Далее следует заполнить все колонки таблицы используя формулы линейных моделей для каждой из фаз для всего временного диапазона.

При внимательном рассмотрении результатов уменьшения радиоактивности клетки очевидно, что для расчета параметров третьей фазы нет необходимости учитывать первые две, так как к тому времени, когда начинается третья фаза, значения первой и второй становятся незначительными. Отсюда следует, что для адекватной оценки параметров второй фазы необходимо вычесть из ее значений значения третьей, но и первую также можно не учитывать, так как ее значения быстро убывают и для оценки второй фазы несущественны. Аналогично для расчета значений первой фазы необходимо вычесть из нее сумму значений второй и третьей фаз.

Для рассмотренных расчетов необходимо ввести ряд дополнительных переменных: Ф2корр (разность показателя активности фазы 2 и фазы 3), натуральный логарифм откорректированных значений фазы 2, Ф1корр (разность показателя активности фазы 1 и суммы фаз 2 и 3), натуральный логарифм откорректированных значений фазы 1. После этого необходимо провести расчеты по этим переменным во всем временном диапазоне.

После этого составить новую рабочую таблицу, в которой внести данные после корректировки для каждой фазы (рисунок 5) и на ее основе построить новый точечный график из трех фаз, нанося их последовательно и дополняя линией тренда линейного уравнения с соответствующей формулой (рисунок 6). В итоге составить новую таблицу используя параметры новых уравнений для каждой из фаз.

Время, мин	Активность
0	7.016881233
2	6.479206443
4	5.887532984
6	5.187646413
8	4.201956001
10	4.363873022
12	4.266151096
14	4.166217582
16	4.063800954
19	3.904807087
22	3.738155083

Рисунок 5 – Фрагмент откорректированной рабочей таблицы

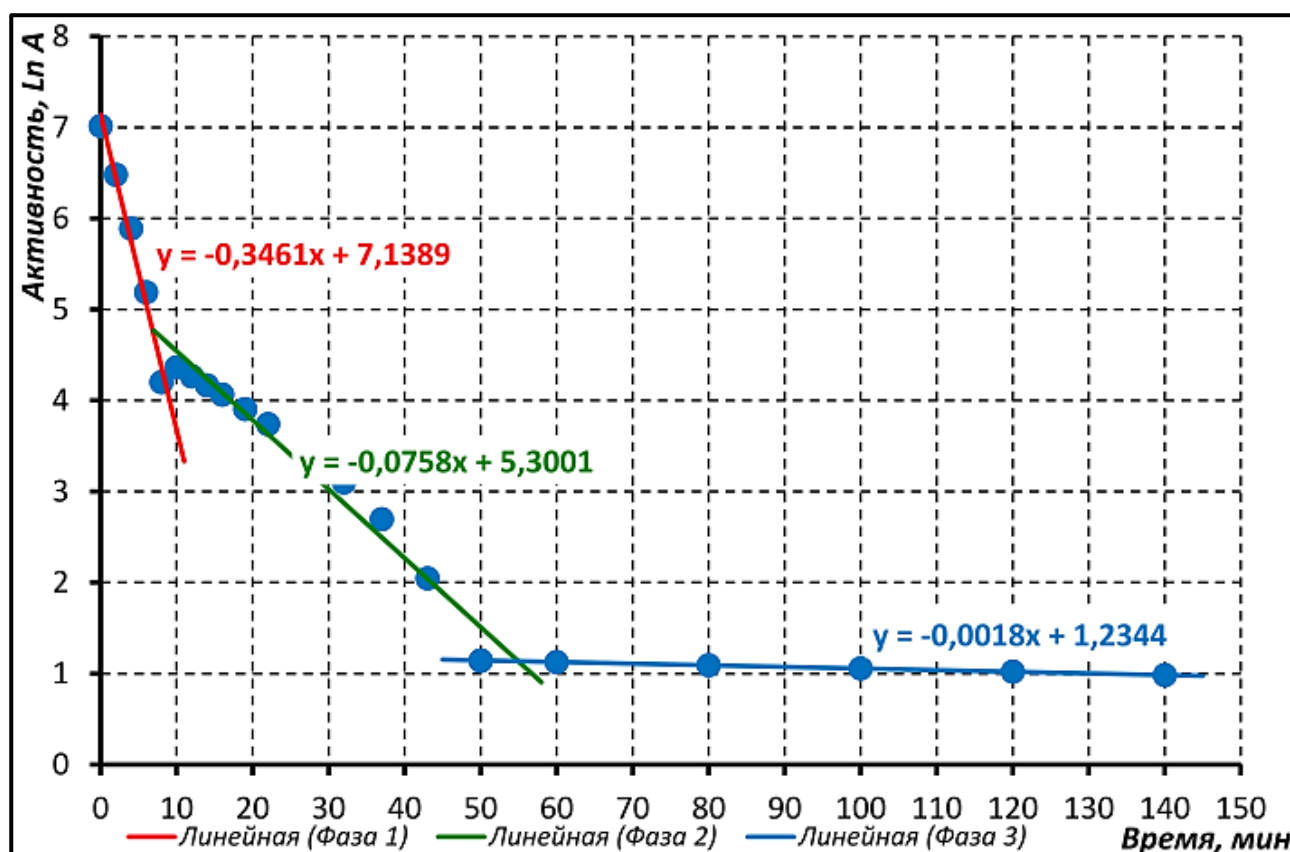


Рисунок 6 – Откорректированный график активности

Задание для самоконтроля

Коров в хозяйстве случайно накормили сеном со стронцием, после чего их перевели на чистое питание. Выход стронция из тканей скелета, мышц и других органов проходит с разной скоростью. Проводили замеры концентрации выхода стронция:

t	0	1	2	3	4	5	6	7	8	10	11	13	16	18	21	25	30	40	50	60	70
A	2317	1167	715	472	282	202	145	138	127	120	103	82	72	63	46	36	33	28	25	24	22

Примечание: t – время нахождения клетки в чистом растворе, час; A – уровень радиоактивности клеток тканей

Определите фазы выхода стронция из тканей коровы, постройте график модели, откорректируйте данные согласно модели.