

## Компьютерная модель начальных стадий агрегации миксамеб *Dictyostellium discoideum*

И. В. Кручинин,\* Л. В. Яковенко†

Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова,  
физический факультет, Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 2

(Поступила в редакцию 12.04.2021; подписана в печать 03.08.2021)

*Dictyostellium discoideum* (*DD*) — вид почвенных амеб (миксамеб), относящийся к подтипу Мусетозоа типа Амобазоа. Жизненный цикл этого организма, обычно называемого слизевиком, состоит из одноклеточной и многоклеточной стадий: при недостатке пищи миксамебы прекращают питаться, сползаются друг к другу, сталкиваются и слипаются образуя промежуточные кластеры, которые затем агрегируют с образованием так называемого слизня, включающего в себя до  $10^5$  клеток. Этот процесс контролируется взаимодействующими друг с другом внутри- и внеклеточными системами сигнализации. В настоящей работе предложена модель начальных стадий агрегации миксамеб, основанная на идеях и подходах, развитых в теориях конечных и клеточных автоматов. Модель включает в себя четыре виртуально связанные одинаковые двумерные решетки, заполнение ячеек которых описывает поведение популяции миксамеб. Одна из них, описывающая движение миксамеб, состоит из четырех параллельных слоев, то есть она фактически трехмерна. На нижнем слое исходно находятся подвижные конечные автоматы. Заполнение ячеек этой решетки происходит по определенным правилам и соответствует начальным стадиям агрегации вплоть до образования трехмерной четырехслойной холмоподобной структуры. Остальные три решетки моделируют выделение и диффузию трех основных сигнальных компонентов, образующих хемотаксическое поле, которое определяет поведение миксамеб. Численные эксперименты показали, что модель описывает динамику распределения миксамеб на поверхности, соответствующую реальному процессу агрегации *DD*. В частности, было показано, что на первых этапах агрегации всегда происходит кластеризация клеток, после чего кластеры, сливаясь, образуют непрерывные клеточные потоки, движущиеся к центру агрегации.

PACS: 87.10.-e

УДК: 577.359 - 536.755

Ключевые слова: миксамебы, самоорганизация, агрегация, хемотаксис, клеточные автоматы

### ВВЕДЕНИЕ

Целью настоящей работы является построение компьютерной модели поведения популяции миксамеб *Dictyostellium discoideum* (*DD*), позволяющей выявить особенности начальной стадии агрегации до формирования слизня.

Эволюция и морфогенез относятся к важнейшим проблемам теоретической биологии и биофизики и на фундаментальном уровне обусловлены процессами самоорганизации в сложных неравновесных системах, сопряженных с возникновением или изменением в них подсистем разных иерархических уровней. Решение частных задач в этих областях науки обычно связано с использованием биологических и математических моделей. При исследовании процессов морфогенеза и возникновения многоклеточности в качестве модели часто используется слизевик *DD* [1, 2].

Важная и до сих пор не решенная проблема в исследовании процессов самоорганизации вообще и морфогенеза в частности состоит в выяснении зависимости общих характеристик системы от распределения свойств составляющих ее элементов.

В настоящей работе мы предлагаем модель самоорганизации в популяции *DD* на начальной стадии жизненного цикла на основе теории подвижных конечных автоматов [3–6]. Состояние популяции миксамеб характеризуется распределением заполненных кубических ячеек, соответствующих отдельным амебам, на двумерной решетке. Изменение заполнения ячеек происходит по определенным правилам, основанным на решениях дифференциальных уравнений. Количество заполненных ячеек не изменяется в ходе моделирования.

В отличие от методов моделирования с помощью дифференциальных уравнений в этом случае не требуется задавать глобальные граничные условия. Метод подвижных конечных автоматов [3] зарекомендовал себя как универсальный подход, при этом на автомат накладываются только локальные условия и системы уравнений решаются локально для каждой клетки. Этот метод подразумевает использование модели стохастической динамики системы клеток [7–9].

### 1. ХИМИКО-КИБЕРНЕТИЧЕСКАЯ СХЕМА ФИЗИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ

*DD* в природных условиях встречается в почве и влажной лесной подстилке, где питается бактериями. Пока клетки *DD* (миксамебы) не испытывают недостат-

\* iv.kruchinin@physics.msu.ru

† leo.yakovenko@mail.ru

ка в пище, они размножаются простым делением. Однако при достижении плотностью популяции некоторого порогового значения система так называемых «кворум сенсоров», которая есть у многих многоклеточных организмов и служит для подсчета клеток в ткани, ограничивает рост популяции и способствует транскрипции генов, необходимых для пост-митотического развития (здесь и далее сведения о биохимических особенностях *DD* взяты из обзора [10]).

Схематически работу этой системы можно представить следующим образом. Миксамебы постоянно секретируют в среду небольшой термостабильный кворум-фактор, концентрация которого примерно пропорциональна плотности клеток. Кворум-фактор активирует фермент N-ацетил-глюкозаминидазу, повышение активности которого служит сигналом, переключающим клетку в режим «голодания». После перехода в этот режим начинается агрегация миксамеб, которая приводит к образованию макроскопического слизня, содержащего  $10^4 - 10^5$  клеток. Слизень способен относительно быстро перемещаться, ориентируясь на свет и тепло.

Еще один кворум-фактор — белок PSF (фактор предголодания) — также постоянно выделяется клетками в окружающую среду и накапливается пропорционально плотности популяции. При истощении источников питания концентрация PSF падает, и начинает накапливаться фактор подготовленности среды SMF, от которого зависит размер будущего агрегата. Он активирует синтез ряда ферментов, в частности протеинкиназы YakA, и выделение во внешнюю среду лектина — дискоидина-I.

Протеинкиназа YakA необходима для синтеза молекул, играющих важную роль в регуляции внутриклеточных сигнальных путей *DD* во время голодания, в том числе связанных с аденилатциклазой AcA. YakA также ингибирует экспрессию белка RpfA, который, в свою очередь, является ингибитором синтеза протеинкиназы PKA, влияющей на синтез хемоаттрактанта — циклического аденозинмонофосфата (сАМР). Этот сигнал ингибируется наличием аминокислот в среде, в то время как сахара, витамины, а также внутренние запасы клетки на ингибирование не влияют (рис. 1).

PKA влияет на большее число процессов, один из которых — ингибирование самоактивации аденилатциклазы AcA, участвующей в образовании сАМР. По мере накопления PKA клетка *DD* начинает реагировать на сигнал сАМР извне и выделять собственный сАМР. Когда концентрация сАМР возвращается к своему первоначальному значению, PKA перестает быть активной.

Помимо PSF в популяции *DD* используются вспомогательные регулирующие факторы, которые уменьшают пороговую концентрацию PSF для перехода в состояние «голодания». Это нужно для того, чтобы клетки, у которых ещё достаточно пищи, принимали участие в агрегации, когда большинство других клеток уже на-

ходятся в состоянии голодания.

При переходе в состояние голодания миксамебы становятся восприимчивыми к внеклеточному хемоаттрактанту сАМР, необходимому для их ориентации друг относительно друга. На этой стадии *DD* использует целый набор химических агентов, создавая так называемое «хемотаксическое поле», которое обеспечивает хемотаксическое ориентирование, агрегацию, ограничение роста агрегата, если это требуется, и межклеточную сигнализацию в целом.

Следующая последовательность описывает наиболее важные стадии внутриклеточной сигнализации, необходимой для создания хемотаксического поля (рис. 1 и 2):

1. Клетка переходит в состояние голодания и синтезирует PKA.
2. PKA фосфорилирует через промежуточные агенты фактор транскрипции GataC, локализованный в ядре.
3. После фосфорилирования GataC переносится в цитоплазму, но перед этим он, предположительно, активирует транскрипцию нескольких генов: RegA, AcA, Erk2, CAR1 и др.
4. Аденилатциклаза AcA начинает синтезировать сАМР из АТФ. На поверхности мембраны появляются рецепторы CAR1, связывающие сАМР снаружи клетки и передающие этот сигнал внутрь клетки. На этапы 1–4 уходит около 2 часов, после чего клетка готова к участию в агрегации.
5. сАМР, который накопился внутри клетки, начинает выделяться во внеклеточную среду. Внутриклеточный сАМР активирует также и PKA. Фермент RegA расщепляет внутриклеточный сАМР, тем самым обеспечивая контроль над его уровнем и выделением.
6. При взаимодействии CAR1 с сАМР увеличивается концентрация внутриклеточного сАМР, активируя PKA, биохимическая цепочка замыкается, и цикл повторяется, начиная со 2-го шага.

Важную роль в сопряжении внеклеточной и внутриклеточной сигнализации в части реагирования на сАМР играет рецептор CAR1 [11–13]. Он может находиться в двух состояниях — дефосфорилированном (R) и фосфорилированном (D) с обратимым переходом между ними. После присоединения сАМР этот рецептор может запускать две альтернативные цепочки реакций:

1. Активируется белок Erk2, который ингибирует RegA, вследствие чего уровень внутриклеточного сАМР растёт (рис. 1).
2. С участием G-белка активируется или деактивируется аденилатциклаза AcA, которая в активном состоянии быстро увеличивает концентрацию внутриклеточного сАМР.

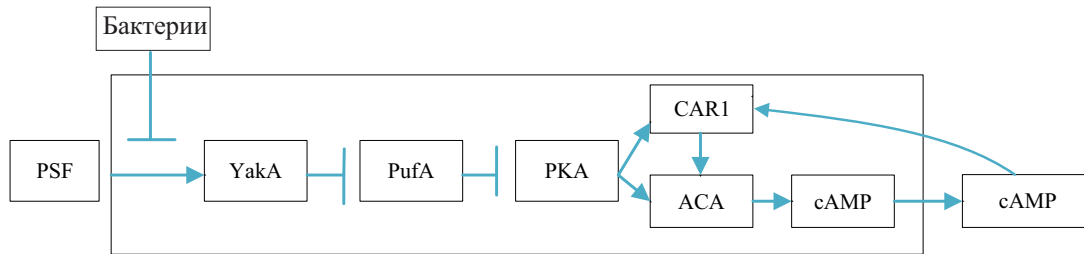


Рис. 1. Схема активации режима «голодания» PSF [10]. PSF постоянно выделяется во внеклеточную среду клетками *DD* и по его общей концентрации определяется примерная плотность популяции. Наличие пищи (бактерий) ингибирует действие PSF. Белок YakA ингибирует экспрессию белка PufA, который ингибирует синтез протеинкиназы PKA. PKA участвует в регуляции синтеза cAMP. Секретируемый во внеклеточную среду cAMP обеспечивает положительную обратную связь

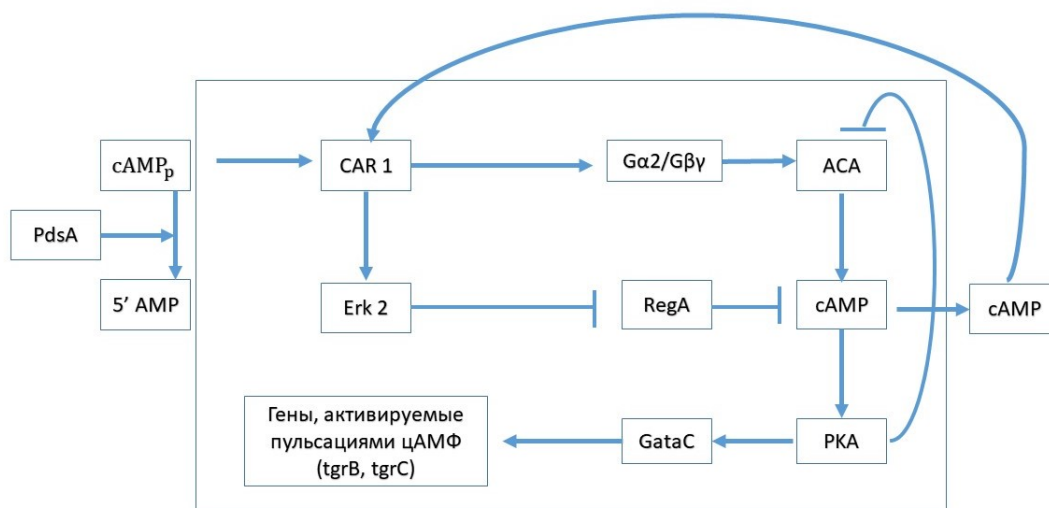


Рис. 2. Внутриклеточная биохимия регуляции уровня cAMP [10]

Кроме того, существует положительная обратная связь: внеклеточный cAMP способствует более быстрому переходу рецептора CAR1 из состояния R в D.

В регуляции внеклеточного cAMP участвует фосфодиэстераза PDE (PdsA на рис. 1) и ингибитор фосфодиэстеразы PDI, но о них самих и о том, как они регулируются, почти ничего не известно. Понятно, что PDE выделяется всегда, но под воздействием cAMP выделение может увеличиваться в 4–5 раз, а PDI выделяется при малых значениях концентрации cAMP. Таким образом формируется регуляторный комплекс, необходимый для успешного хемотаксиса, а часть белков из группы PDE необходима для дифференцировки [14–16].

В настоящее время известно несколько математических моделей агрегации *DD*.

В модели S.Nagano [17] использованы методы молекулярной динамики (непрерывные траектории движения и непрерывная диффузия), однако, несмотря на сложность расчетов, в ней не образуются непрерывные потоки, а возникает несколько агрегатов, которые

затем собираются в один.

Модель H.Levine [18] основана на достаточно простой биохимической схеме, в которой концентрация фосфодиэстеразы (PDE) постоянна, не учитывается межклеточная адгезия, использована гексагональная пространственная решётка (6 направлений), тем не менее она описывает агрегацию *DD* до образования так называемой холмоподобной структуры.

В наших предварительных исследованиях [19] была произведена попытка улучшить модель S.Nagano. В ней также применялась методика непрерывных расчетов диффузии хемоаттрактанта и хемотаксического движения *DD*, но результат получился такой же, как у S.Nagano: клетки собираются в несколько агрегатов, затем сползаются в один.

Модель А.Кузина, по сравнению с предыдущими работами включает в себя более сложную систему биохимических реакций, учитывающую как внутри-, так и внеклеточную сигнализацию, и основана на использовании конечных автоматов. Она позволила уточнить некоторые константы, относящиеся к биохимиче-

ским реакциям, происходящим при формировании хемотаксического поля. Но эта модель описывает только начальную стадию агрегации, в ней не учтена межклеточная адгезия и положительная обратная связь сAMP → рецептор CAR1.

Хемотаксис у DD проявляется как движение миксамеб по направлению к источнику секреции сAMP. Секреция сAMP и скорость передвижения миксамеб изменяются циклично, с определенным периодом.

## 2. ОПИСАНИЕ МОДЕЛИ

Модель агрегации DD, предлагаемая в настоящей работе, представляет собой совокупность четырех решеток, ячейки которых заполняются по определенным правилам. Первая решетка моделирует движение клеток DD. Остальные три решетки моделируют выделение и распространение основных трех компонентов, образующих хемотаксическое поле: сAMP, PDE (фосфодиэстераза) и PDI (ингибитор фосфодиэстеразы), а также внутриклеточную сигнализацию. Все четыре решетки имеют одинаковые размеры и количества кубических ячеек. Решетки связаны между собой виртуально на программном уровне так, что ячейка с заданными координатами одной решетки совпадает с ячейкой с теми же координатами любой другой решетки. Фактически это соответствует тому, что разные модули программного кода создают одинаковые решетки, которые являются по сути одной и той же системой ячеек. Вместе эти четыре решетки описывают биохимическую и двигательную активность клеток DD. Шаг по времени для быстрой внутриклеточной кинетики — 1 сек, для движения клетки — 1 мин. Ребро ячейки 10 мкм, объем ячейки 10<sup>3</sup> мкм<sup>3</sup>. В пределах одного кластера, сформировавшегося в ходе агрегации, только ближайшие соседи (по Муру в двумерном случае их 8, а в трехмерном — 26) могут влиять на центральную клетку.

### 2.1. Внутриклеточная сигнализация

Сигнализация внутри клетки DD представлена следующей системой уравнений:

$$\frac{dP_i}{dt} = P_{i-1} + \frac{k_1 C_{ext}}{k_r} (1 - P_{i-1}) + k_{s1} (1 - P_{i-1}) - k_{-s1} P_{i-1}, \quad (1)$$

$$\frac{dA_i}{dt} = A_{i-1} + k_a (((1 - P_{i-1}) * CAR1) * C_{ext})^2 \times \frac{(1 - A_{i-1})}{k_r^2} - k_d (P_{i-1} * CAR1 * C_{ext})^2 \frac{A_{i-1}}{k_d^2}, \quad (2)$$

$$\frac{dC_i}{dt} = C_{i-1} + (1 + A_{i-1} * 39.35) C_{base} - k_{ie} C_{i-1} - k_i C_{i-1}, \quad (3)$$

$$(k_{ie})_i = k_{ie \min} + (k_{ie \max} - k_{ie \min}) \frac{S_{from \max c}}{X_{lim}^2}, \quad (4)$$

где  $P$  — доля фосфорилированных рецепторов сAMP;  $A$  — доля активированной аденилатциклазы АСА;  $C$  — концентрация внутриклеточного сAMP;  $C_{ext}$  — концентрация внеклеточного сAMP в данной ячейке сетки;  $k_1$  — константа скорости перехода  $R - c \implies D - c$ , где  $R - c$  — дефосфорилированный рецептор, связанный с сAMP;  $D - c$  — фосфорилированный рецептор, связанный с сAMP;  $k_r$  — константа диссоциации  $R - c$ ;  $k_{s1}$  — константа скорости перехода  $R$  в  $D$ ;  $k_{-s1}$  — константа скорости перехода  $D$  в  $R$ ;  $k_a$  — константа скорости активации аденилатциклазы АСА;  $CAR1$  — общая концентрация рецепторов сAMP в одной клетке;  $k_d$  — константа скорости деактивации АСА;  $C_{base}$  — базовая активность аденилатциклазы АСА;  $k_i$  — константа скорости разложения внутриклеточного сAMP внутриклеточной фосфодиэстеразой;  $k_{ie}$  — константа скорости выделения сAMP во внеклеточную среду;  $S_{from \max c}$  — расстояние между данной ячейкой и положением максимума концентрации сAMP;  $X_{lim/2}$  — линейный размер половины поля ячеек по координате  $X$ ; коэффициент 39.35 введен для учета доли активированной аденилатциклазы АСА.

В (3) и (4)  $k_{ie}$  зависит от расстояния между клеткой и положением глобального максимума концентрации сAMP и возрастает с его уменьшением. Благодаря этой зависимости реализуется линейная положительная обратная связь.

Уравнения (1)–(4) можно записать более кратко:

$$\frac{dD}{dt} = k_1 RC + k_{s1} R - k_{-s1} D \quad (5)$$

$$\frac{dAC_a}{dt} = k_a RC^2 AC_d - k_d DC^2 AC_a \quad (6)$$

$$\frac{dC_i}{dt} = k_{c1} AC_a + k_{c2} AC_d - k_{ie} C_i - k_{pd} \quad (7)$$

$$RC = \frac{R * C}{k_r} \quad (8)$$

$$DC = \frac{D * C}{k_d},$$

где  $D$  — концентрация фосфорилированных рецепторов;  $R$  — концентрация дефосфорилированных рецепторов;  $RC$  и  $DC$  — концентрации рецепторов, связанных с сAMP;  $AC_a$  и  $AC_d$  — концентрации активированных и деактивированных аденилатциклаз;  $C$  и  $C_i$  — внеклеточная и внутриклеточная концентрации сAMP;  $k_{c1}$  и  $k_{c2}$  — константы скорости реакции синтеза  $C_i$ ;  $k_{pd}$  — константа скорости расщепления внутриклеточного сAMP внутриклеточной фосфодиэстеразой.

Все остальные обозначения те же, что и в уравнениях (1)–(4).

## 2.2. Выделение хемотаксических агентов во внеклеточную среду

В настоящей модели клетки выделяют хемотаксические агенты во внеклеточную среду независимо от времени, то есть мгновенно. На каждом шаге каждая клетка меняет свое состояние и, по результатам расчетов внутриклеточной динамики, выделяет определенное количество агентов.

Система уравнений, описывающая выделение клеткой основных химических агентов во внеклеточную среду, выглядит следующим образом:

$$P_s = P_{s \min} + (P_{s \max} - P_{s \min}) \frac{C_{ext}^2}{C_{por} P^2}, \quad (9)$$

$$Pde_{i-1} = Pde_{i-1} + P_s, \quad (10)$$

$$I_s = I_{s \max} \left( 1 - \frac{C_{ext}^2}{C_{por} Ing^2} \right), \quad (11)$$

$$Ing_{i-1} = Ing_{i-1} + I_s, \quad (12)$$

$$(C_{ext})_{i-1} = (C_{ext})_{i-1} + k_{ie} C_{i-1} \frac{V_{am}}{V_{cell}}, \quad (13)$$

где  $P_s$  и  $Pde$  — секретируемая и внешняя PDE;  $C_{ext}$  и  $C_{por}P$  — концентрация внеклеточного сАМР и условная концентрация сАМР, при которой концентрация секретируемой PDE равна  $P_{s \max}$ ;  $I_s$  — секретируемый ингибитор фосфодиэстеразы;  $Ing$  — внеклеточный ингибитор фосфодиэстеразы;  $C_{por}Ing$  — пороговая концентрация сАМР, при котором выделение ингибитора PDI прекращается;  $C$  — концентрация внутриклеточного сАМР;  $V_{am}$  и  $V_{cell}$  — объем клетки и объем ячейки сетки, соответственно.

Здесь уравнения (9) – (12) описывают выделение PDE и ингибитора PDE, соответственно, а последнее уравнение (13) — выделение сАМР.

## 2.3. Реакционно-диффузионная модель

Модель реакции–диффузии состоит из трех связанных между собой решеток, в ячейках которых содержатся данные о диффузии сАМР, PDE и ингибитора PDE. Им соответствует следующая система уравнений:

$$\frac{dC}{dt} = C_s + D_c \Delta C - k_p \frac{C^H}{C^H + K_m}, \quad (14)$$

$$\frac{dI}{dt} = I_s + D_i \Delta I - k_i P * I, \quad (15)$$

$$\frac{dP}{dt} = P_s + D_p \Delta P - k_i P * I, \quad (16)$$

где  $D_c$ ,  $D_i$  и  $D_p$  — коэффициенты диффузии сАМР, PDE и PDI, соответственно;  $k_p$ ,  $k_i$  — константы скорости разложения сАМР и ингибирования PDE;  $K_m$  и  $H$  — константы Михаэлиса–Ментен и Хилла [5, 18].

## 2.4. Движение миксамеб

Движение амев в модели может быть либо направленным хемотаксическим, либо случайным блужданием. На первом шаге работы алгоритма случайным образом задается распределение клеток по координатной сетке с заданным числом ячеек. Каждая амеба имеет собственный идентификационный номер и является подсистемой, имеющей 6 основных параметров. Кроме этого, специальный алгоритм, подобный алгоритму распознавания образов, разбивает клетки на группы (кластеры): если у амебы есть ближайшие соседи в прилежащих ячейках, то они при соответствующих условиях могут объединиться в кластер. Кластер не распадается на отдельные клетки из-за межклеточной адгезии. На первом шаге количество и размеры кластеров определяются плотностью популяции. Например, на координатной плоскости размером 1.5 мм<sup>2</sup> в среднем находится 10<sup>4</sup> клеток. За один шаг алгоритма каждая клетка может оставаться в ячейке, либо передвинуться на одну ячейку в любую сторону, в том числе по диагонали, при выполнении условий, определяемых решениями уравнений (1) – (16).

В одной ячейке может находиться не более одной клетки DD. Параметры, от которых зависит решение клетки двигаться в какую-либо соседнюю ячейку, представляют собой концентрации цАМФ, фосфодиэстеразы, ингибитора фосфодиэстеразы в какой-либо из соседних ячеек, и возможность адгезии к другим клеткам или кластерам клеток. Изменение заполнения ячеек решетки происходит в соответствии с блок-схемой, приведенной на рис. 3.

В качестве начального условия принято, что клетка или клеточный кластер, находящийся ближе всех к центру поля, уже выделил минимальное количество сАМР. В реальной клеточной популяции именно с этого начинается процесс агрегации, то есть появляется некий пейсмейкер. Остановка как такового в алгоритме не предусмотрено, просто при запуске задается количество шагов эволюции системы.

Когда какие-либо две или более клетки объединяются в кластер, то их возбудимость, периодичность выделения химических сигналов и движение синхронизируются. Поэтому ритм движения, который у DD мало различается по популяции (2 минуты клетка движется, затем 5–6 минут стоит на месте), внутри каждого кластера отсчитывается по клетке, которая геометрически расположена в центре этого кластера (если кластер состоит из двух клеток, то центральная клетка

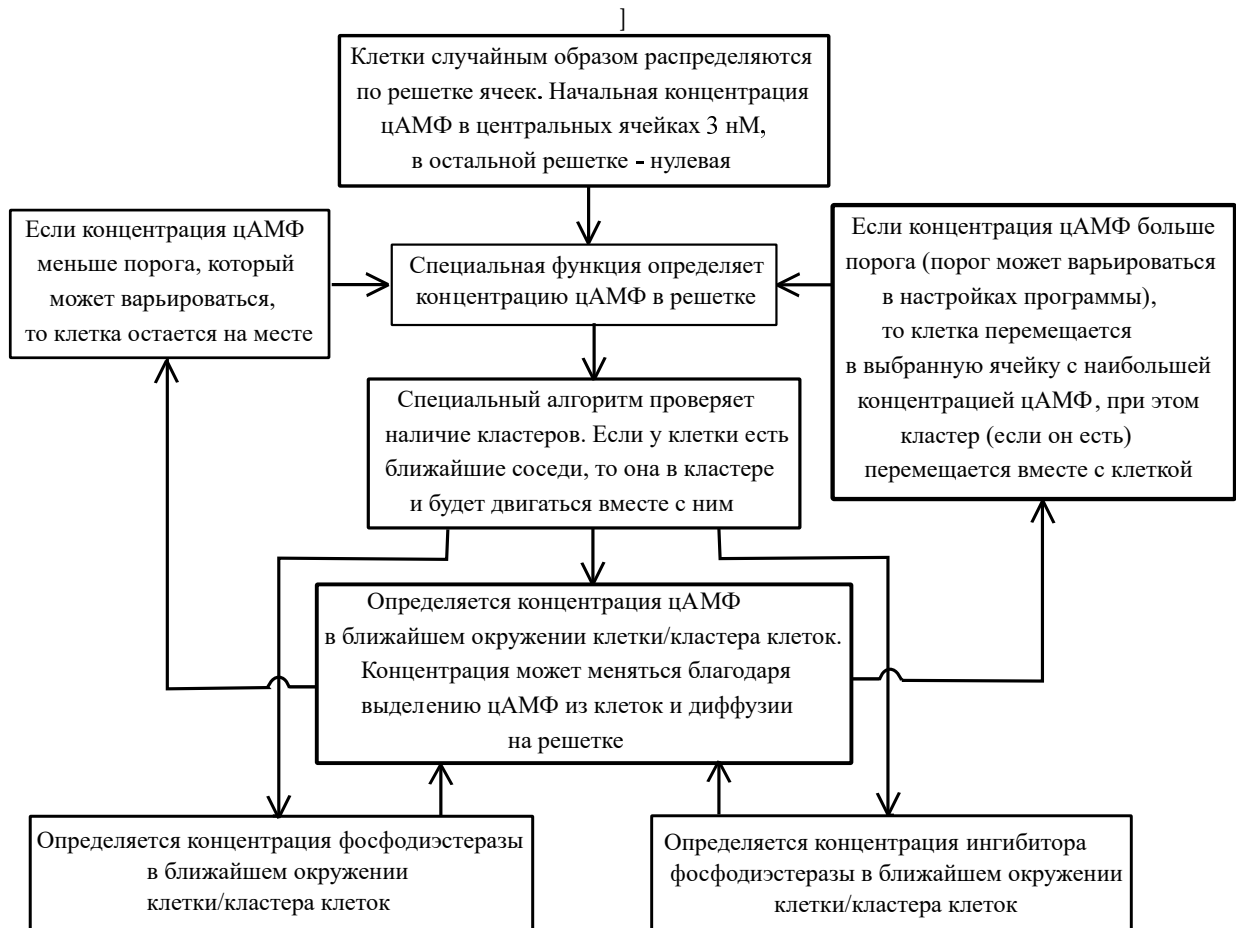


Рис. 3. Блок-схема изменения заполнения ячеек первой решетки

выбирается случайным образом). Кластер далее движется, как одно целое, но, тем не менее, клетки в нем могут изменять взаимное расположение. При столкновении кластеры могут сливаться с образованием нового большого кластера, движущегося к пейсмейкеру.

В целом модель трехмерная, но первая стадия (кластеризация) проходит на нижнем уровне (слое решетки). Как только образуется единый кластер, меняются правила движения. Сила тяжести, силы межклеточной адгезии и тяговые усилия, развиваемые клеткой, имеют приблизительно один и тот же порядок величины (~ 10 пН), поэтому в модели принято, что когда клетка является пейсмейкером и у нее есть ближайшие соседи (хотя бы в 8-ми соседних ячейках) и над ней в вышележащем слое ячейка свободна, то за счет взаимодействий с соседними клетками она получает возможность переместиться на вышележащий слой (в настоящей модели реализуются четыре слоя). Другие клетки этого сделать не могут, так как потоки со всех сторон движутся по направлению к клетке-пейсмейкеру.

Если пейсмейкер переходит на вышележащий слой, то его место тут же заполняют ближайшие клетки, чье место в свою очередь заполняют более далекие и т.д. Если клетка-пейсмейкер не может перейти наверх, то

она остается на своем месте, а ближайшие амёбы заполняют свободные ячейки в областях сетки, прилежащих к пейсмейкеру. Так формируется «холмоподобная» структура.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

В результате моделирования получены структуры, сходные со структурами реальной популяции *DD*, наблюдаемыми при агрегации [20, 21]. Ограничение движений клеток лишь семью направлениями приводит к изрезанности изображений, полученных при визуализации работы модели. Этот недостаток мог бы быть устранен введением непрерывного азимутального распределения направлений движения, но при этом существенно возрастает время счета, поэтому такой подход не был использован в настоящей модели. Начальные значения параметров были взяты из работ предшественников, а затем подобраны для наиболее правдоподобного описания реальной агрегации *DD*. На следующих рисунках приведены примеры влияния параметров модели на результаты расчетов.

В численном эксперименте было зафиксировано фор-

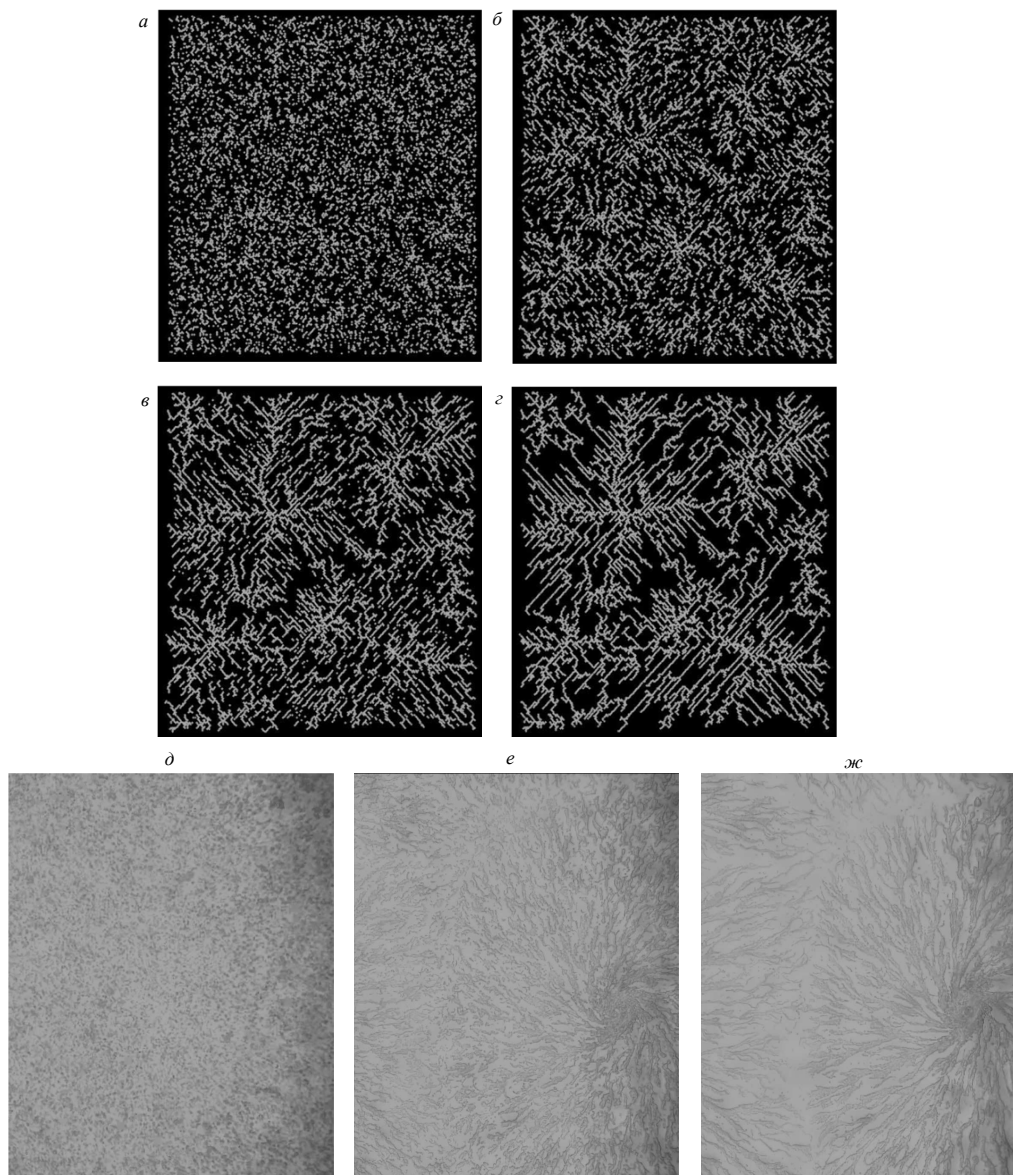


Рис. 4. Кластеризация  $DD$  с несколькими центрами; а) 3 мин, б) 15 мин; в) 30 мин, з) 150 мин; д), е), ж) — кластеризация и образование стримов в живой популяции  $DD$ ; снимки приведены с любезного разрешения Йитки Чейковой (Пражский университет химической технологии) [22, 23]

мирование непрерывных потоков и образование единого кластера клеток. Также было превышено пороговое значение плотности клеток, необходимое для агрегации  $DD$ , которое составляет около  $10^6$  клеток/мл.

На рис. 4, а, б, в, з показан результат расчетов при параметрах:  $N = 10000$ , поле в  $9\text{мм}^2$ ,  $C_{porog} = 8 \cdot 10^{-10} \text{M}$ ,  $P_{smin} = 7.5 \cdot 10^{-9} \text{M/сек}$ ,  $P_{smax} = 12 \cdot 10^{-8} \text{M/сек}$ ,  $I_{smax} = 4 \cdot 10^{-8} \text{M/сек}$ ,  $C_{porP} = 1.5 \cdot 10^{-9} \text{M}$ ,  $C_{porIng} = 3 \cdot 10^{-8} \text{M}$ .

В этом примере миксамебы образовали несколько кластеров с ярко выраженными центрами: 4 крупных кластера и два более мелких. Такое поведение системы объясняется тем, что PDE начала сильно влиять на хе-

мотактическое поле, так как ее максимальная концентрация ( $P_{smax}$ ) увеличена почти в 4 раза по сравнению с предыдущим запуском алгоритма (здесь не показано), пороговое значение сAMP ( $C_{porP}$ ) для прекращения выделения ингибитора PDE уменьшено на 3 порядка, а пороговое значение концентрации ( $C_{porog}$ ) и максимальная скорость выделения сAMP остались прежними.

1. В ходе дальнейшей агрегации начинает образовываться «холмоподобная» структура — трехмерный клеточный агрегат. После завершения кластеризации неразрывные потоки агрегируют к центру, затем клетки переходят на вышележащие слои и формируется трехмер-

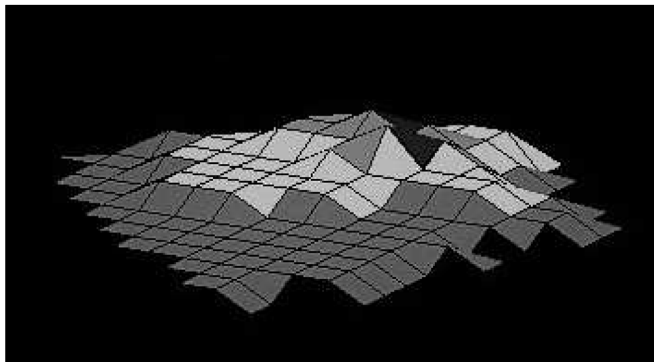


Рис. 5. Формирование трехмерной структуры через 2040 мин после начала агрегации

ный агрегат. Параметры:  $N = 200$ , поле  $0.16 \text{ мм}^2$ ,  $C_{porog} = 8 \cdot 10^{-10} \text{ М}$ ,  $P_{smin} = 7.5 \cdot 10^{-9} \text{ М/сек}$ ,  $P_{smax} = 12 \cdot 10^{-8} \text{ М/сек}$ ,  $I_{smax} = 4 \cdot 10^{-8} \text{ М/сек}$ ,  $C_{porP} = 1.5 \cdot 10^{-9} \text{ М}$ ,  $C_{porIng} = 3 \cdot 10^{-8} \text{ М}$ .

На рис. 5 можно видеть четыре клеточных слоя

в трехмерном агрегате, сформировавшемся к 2040-й минуте агрегации. В экспериментах *in vivo* «холмоподобная» структура возникает в среднем к 700-й минуте после начала агрегации при численности клеток в агрегате от 7000 до 100000 [10].

Численные эксперименты показали, что предложенная модель позволяет описать поведение популяции миксамеб, качественно согласующееся с поведением реальной популяции. В частности, было показано, что в процессе агрегации клеток *DD* на первых этапах происходит кластеризация клеток, по окончании которой непрерывные клеточные потоки движутся к центру агрегации. Модель, конечно, не полна и описывает только некоторые режимы агрегации. Так, например, в естественных условиях потоки миксамеб могут разрываться, что соответствует частичной обратимости объединения миксамеб в кластеры. В настоящей модели формирование кластеров необратимо, поэтому этот режим она не описывает. Усложнение предложенной модели может привести к достаточно полному описанию поведения популяции миксамеб, однако при этом существенно возрастет ее вычислительная сложность.

- [1] Schaap P. // Evolutionary crossroads in developmental biology: Dictyostelium discoideum. Development. 2011. **138**. P. 387.
- [2] Dallon J.C., Othmer H.G. // A discrete cell model with adaptive signalling for aggregation of Dictyostelium discoideum. Phil. Trans. R. Soc. Lond. B. 1997. **352**. P. 391.
- [3] Thompson R.L., Goel N.S. // Movable finite automata (MFA) models for biological systems I: Bacteriophage assembly and operation. J. Theor. Biol. 1988. **131**. P. 351.
- [4] Bastounis E., Meili R., Álvarez-González B., Joshua Francois, Juan C. del Álamo, Richard A. Firtel, Juan C. Lasheras // Both contractile axial and lateral traction force dynamics drive amoeboid cell motility. J Cell Biol. 2014. **204(6)**. P. 1045.
- [5] Weijer C. J., Dictyostelium morphogenesis. Current Opinion in Genetics & Development. 2004. **14**. P. 392.
- [6] Bedau Mark A. // Artificial life: organization, adaptation and complexity from the bottom up. Department of Philosophy, Reed College, 3023 SE Woodstock Blvd., Portland OR 97202, USA.
- [7] Yeh R. P., Chan F. K., Coukell M. B. // Independent Regulation of the Extracellular Cyclic AMP Phosphodiesterase-Inhibitor System and Membrane Differentiation by Exogenous Cyclic AMP in Dictyostelium discoideum. Developmental Biology. 1978. **66**. P. 361.
- [8] Dallon John // Numerical Aspects of Discrete and Continuum Hybrid Models in Cell Biology. Department of Mathematics Heriot-Watt University Edinburgh, EH14 4AS U.K. 2000.
- [9] Dallon J. // Numerical Aspects of Discrete and Continuum Hybrid Models in Cell Biology. Applied Numerical Mathematics. 2000. **32**. P. 137.
- [10] Loomis W. F. // Cell signaling during development of Dictyostelium Developmental Biology. 2014. **391**. P. 1.
- [11] Martiel J.L., Goldbeter A. // A model based on receptor desensitization for cyclic AMP signaling in Dictyostelium cells. Biophys. J. 1987. **52(5)**. P. 807.
- [12] Brzostowski J. A., Sawai S., Rozov O., Xin-Hua Liao, Daisuke Imoto, Carole A Parent, Alan R Kimmel // Phosphorylation of chemoattractant receptors regulates chemotaxis, actin reorganization and signal relay. Journal of Cell Science. 2013. **126**. P. 4614.
- [13] Jin Tian // GPCR-controlled chemotaxis in Dictyostelium discoideum. Chemotaxis Signal Section, Laboratory of Immunogenetics, National Institute of Allergy and Infectious Diseases, NIH, Twinbrook Facility, Rockville, MD, USA. 2011. **3**.
- [14] Franke J., Kessin R. H. // The cyclic nucleotide phosphodiesterases of Dictyostelium discoideum: Molecular genetics and biochemistry. Cellular Signalling. 1992. **4**. P. 478.
- [15] Bader S., Kortholt A., Van Haastert P. J. M. // Seven Dictyostelium discoideum phosphodiesterases degrade three pools of cAMP and cGMP. Biochem. J. 2007. **402**. P. 153.
- [16] William F. Loomis // Genetic control of morphogenesis in Dictyostelium. Cell and Developmental Biology, Division of Biological Sciences, University of California San Diego, La Jolla, CA 92093, United States;
- [17] Nagano S. // Modeling the model organism Dictyostelium Discoideum. Develop. Growth Differ. 2000. **42**. P. 541.
- [18] Levine H., Tsimring L., Kessler D. // Computational modeling of mound development in Dictyostelium. Physica D. 1997. **106**. P. 375.
- [19] Кручинин И.В. // Моделирование самоорганизации в системе миксамеб с помощью подвижных конеч-



- ных автоматов. Материалы Международного молодежного научного форума «ЛОМОНОСОВ-2015» в сборнике Электронный ресурс — М.: МАКС Пресс.
- [20] *Goldbeter A.* // Oscillations and waves of cyclic AMP in Dictyostelium: A prototype for spatio-temporal organization and pulsatile intercellular communication. Society for Mathematical Biology. 2006. **68**. P. 1095.
- [21] *Kessler D., Levine H.* // Pattern formation in Dictyostelium via the dynamics of cooperative biological entities. Physical Review. 1993. **48(6)**. P. 4801.
- [22] *Šečíková Hana, Čejková Jitka, Krausová Lenka* // A new traveling wave phenomenon of Dictyostelium in the presence of cAMP. Physica D. 2010. **239**. P. 879.
- [23] *Čejková, J.* // Slime Mold Dictyostelium discoideum. A Model System Not Only for Biologists. Chemické listy. 2013. **107**. P. 563.

## The computer model of the initial stages of aggregation of mixamoeba *Dictyostelium discoideum*

I.V. Kruchinin<sup>a</sup>, L.V. Yakovenko

Faculty of Physics, Lomonosov Moscow State University, Moscow 119991, Russia

E-mail: <sup>a</sup>iv.kruchinin@physics.msu.ru

*Dictyostelium discoideum* (DD) is a species of soil-dwelling amoeba belonging to the phylum Amoebozoa, infraphylum Mycetozoa. The life cycle of this organism, commonly referred to as a slime mold, consists of unicellular and multicellular stages: when food is scarce, myxamoebae stop feeding, move to each other, collide and stick together, forming intermediate clusters, which then aggregate to form a so-called slug, which includes up to  $10^5$  cells. This process is controlled by interacting intracellular and extracellular signaling systems. In this paper, we propose a model of the initial stages of myxamoeba aggregation based on moving finite automata. The model includes four interconnected grids, one of which, that describes the movement of myxamoebae, consists of movable finite automata and has four layers. The other three grids describe the release and diffusion of three main signal components forming the chemotactic field that determines the behavior of myxamoebae. Numerical experiments have shown that the model describes dynamics of the mixamoeba distribution on the surface corresponding to the real DD aggregation process. In particular, it was shown that at the first stages of aggregation, cell clustering always occurs, after which clusters merge to form continuous cell fluxes moving to the center of aggregation.

PACS: 87.10.-e

*Keywords:* myxamoebae, self-organization, aggregation, chemotaxis, cellular automata.

*Received 12 April 2021.*

### Сведения об авторах

1. Кручинин Игорь Викторович — аспирант; e-mail: iv.kruchinin@physics.msu.ru.
2. Яковенко Леонид Владимирович — доктор физ.-мат. наук, доцент; тел.: (495) 939-30-07, e-mail: leo.yakovenko@mail.ru.