

TEMPORAL
ORGANIZATION
IN CELLS

A Dynamic Theory of Cellular Control Processes

by
B. C. GOODWIN

1963 Academic Press

LONDON AND NEW YORK

Б. Гудвин

ВРЕМЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ КЛЕТКИ

Динамическая теория
внутриклеточных
регуляторных процессов

*ПЕРЕВОД С АНГЛИЙСКОГО А. М. ЖАВОТИНСКОГО
ПОД РЕДАКЦИЕЙ С. Э. ШНОЛЯ*

ИЗДАТЕЛЬСТВО «МИР»
МОСКВА 1966

В монографии излагается созданная автором общая теория биологических систем, характеризующихся сложной упорядоченностью в пространстве и времени. Эта работа до некоторой степени заполняет разрыв, существующий в настоящее время между молекулярной биологией и физиологией клетки.

Предназначена для научных работников — биологов, математиков, физиков, интересующихся общими проблемами биологии.

2—10—2

ПРЕДИСЛОВИЕ К РУССКОМУ ИЗДАНИЮ

Выпуская книгу Б. Гудвина «Временная организация клетки» на русском языке, издательство «Мир» продолжает знакомить наших читателей с развитием относительно нового и очень важного раздела теоретической биологии — изучения периодических процессов в живой природе¹.

Гудвин сделал очень интересный опыт — он взял готовый аппарат статистической механики и «заменял переменные»: вместо «обычных, физических» (температуры, энтропии, энергии и т. п.) автор ввел формально тождественные им, но чисто биологические по смыслу переменные («таландическую» температуру, «таландическую» энергию и т. д.). Книга Гудвина привлекательна как попытка построения достаточно всеобъемлющей теории. Однако автору пришлось использовать единственный разработанный в наше время, но неадекватный аппарат классической статистической механики, и это обстоятельство резко снижает возможность применения созданной им теории для анализа реальных биологических систем.

Еще Э. С. Бауэр [1] отмечал, что для биологических систем не просто характерна неравновесность, они не просто являются открытыми — для них характерно максимальное для данных условий удаление от положения равновесия. Этот сильный постулат не является в настоящее время общепринятым. Однако ясно, что стационарные состояния биологических систем находятся на конечном

¹ Из книг, ранее изданных на русском языке, можно упомянуть книги Э. Бюнинга «Ритмы физиологических процессов» [3] и Э. Стрелера «Время, клетки и старение» [12], труды симпозиума «Биологические часы» [2] и статью Р. Гольдэкра «Регуляция ритма и гомеостазиса в биологии и медицине» [4].

удалении от равновесных. Ввиду этого некорректно применять для общего описания биологических процессов не только термодинамику обратимых процессов, но и современную теорию необратимых процессов, основанную на соотношениях Онзагера. Истинная, совместимая с основными особенностями биологических систем теория, аналогичная термодинамике, еще не создана ¹. И этот пробел, естественно, не заполняется указанием на неприменимость существующих теорий. Поэтому следует приветствовать попытку Б. Гудвина использовать готовый аппарат статистической механики для построения собственно биологической формальной теории ². И в самом деле: «Лучше синица в руках, чем журавль в небе».

Можно было бы отметить ряд слабых мест в теории и в самых принципах подхода автора к биологическим явлениям. Однако большинство упреков Б. Гудвину в излишне сильных упрощениях и неоднозначности принятых допущений сделал сам Б. Гудвин. Иногда даже читателю кажется, что автор мог бы и не подчеркивать вновь и вновь возможную недостаточность своих аргументов. Но одно замечание все же необходимо сделать. Динамической основой статистической теории являются консервативные системы; необходимость построения консервативной модели (например, система уравнений 14) вынудила автора пойти на нарушение принципов химической кинетики. Гудвин использует для построения динамических систем реакции нулевого порядка. Вследствие этого при положительных начальных условиях может оказаться, что концентрации в ходе колебаний становятся отрицательными, что лишено смысла. В связи с этим автор дополняет системы дифференциальных уравнений словесными ограничениями, запрещающими отрицательные концентрации. В действительности этим неявно накладываются ничем не оправданные ограничения на начальные условия. Появления отрицательных концентраций можно было бы

¹ Возможность применения статистической механики к исследованию эволюционирующих (в том числе и биологических) систем критически рассмотрена А. М. Молчановым [48].

² В этом смысле остается непревзойденной попытка создания всеобъемлющей биологической теории, предпринятая Э. С. Бауэром свыше 30 лет назад [1].

легко избежать, воспользовавшись правильным предположением о том, что распад белка и нуклеиновых кислот является реакцией первого порядка. Однако при таком предположении система, как отмечает Гудвин, становится затухающей.

Развиваемая автором теория временной организации клетки основана на предположении о широкой распространенности и принципиальной важности периодических биохимических процессов в клетке. Замечательно, что Б. Гудвин, завершив работу над книгой к августу 1963 г., почти не располагал экспериментальным материалом, подтверждающим верность исходных предпосылок его теории. Автор тщательно собрал все доступные ему факты о периодическом (колебательном) характере биохимических процессов, но данных этих было еще очень мало. Можно сказать, что книга Гудвина иллюстрирует ситуацию, когда теория по существу предшествует эксперименту. За два года, прошедших после опубликования английского издания книги, появилось довольно много работ, подтверждающих правильность убеждения о распространенности и важности периодического хода биохимических процессов. Однако можно смело утверждать, что мы находимся лишь в самом начале развития периодической (колебательной) кинетики в биохимии, причем уже сейчас ясно, что это развитие будет весьма стремительным.

Мы очень часто недооцениваем влияние психологии исследователей на получаемые ими результаты. В самом деле, колебательный характер биохимических процессов в ряде случаев проявляется сначала просто в «разбросе» результатов, в несовпадении «параллельных проб». В то же время многие поколения биохимиков воспитаны на убеждении, что «разброс» результатов измерений свидетельствует только о плохом методе измерений. Вряд ли удастся оценить, сколько периодических явлений в биохимии осталось незамеченными из-за этого убеждения. Однако теперь, когда мы знаем, что биохимические показатели могут колебаться не только «по вине экспериментаторов», можно ожидать быстрого накопления фактов в этой области.

В связи со сказанным мы приводим возможно более полный список работ, посвященных исследованию биохимических процессов.

мических и некоторых физиологических периодических процессов. Эти работы опубликованы после выхода английского оригинала книги Б. Гудвина или остались по каким-то иным причинам неизвестными автору. В этом списке безусловно привлекает внимание «взрывоподобное» появление серии работ по периодическим биохимическим процессам, выполненных в лаборатории Б. Чанса; обращают на себя внимание также работы Хоммса, Бернхардта, Пантена и Хольцера, Сикиты и Слезака. В марте 1966 г. в Пущино-на-Оке состоялся Всесоюзный симпозиум по колебательным процессам в биологических и химических системах. Труды этого симпозиума, содержащие свыше сорока работ с обширной библиографией, будут вскоре опубликованы.

В заключение можно с уверенностью сказать, что книга Б. Гудвина несомненно окажет стимулирующее влияние на развитие теоретических исследований, решающих общепрограммные биологические проблемы методами точных наук.

С. Э. Шноль
А. М. Жаботинский

ЛИТЕРАТУРА

1. Бауэр Э. С., Теоретическая биология, изд-во ИЭМ, М., 1935.
2. Биологические часы, изд-во «Мир», М., 1964.
3. Бюнинг Э., Ритмы физиологических процессов, ИЛ, М., 1961.
4. Гольдэкр Р., Регуляция ритма и гомеостазиса в биологии и медицине в сб. «Кибернетика и живой организм», изд-во «Наукова думка», Киев, 1964.
5. Жаботинский А. М., Периодический ход окисления малоновой кислоты в растворе (исследование кинетики реакции Белоусова), Биофизика, 9, 306 (1964).
6. Жаботинский А. М., Периодические окислительные реакции в жидкой фазе, Докл. АН СССР, 157, 392 (1964).
7. Жаботинский А. М., Исследование автоколебательных химических реакций в гомогенной жидкой среде, Автореферат диссерт., Ин-т биофизики АН СССР (1965).
8. Карманов В. Г., Савин В. Н., Мелешенко С. Н., Лялин О. О., Электрофизиологические параметры растения при автоколебательном режиме водного обмена, Биофизика, 9, 631 (1964).

9. Карманов В. Г., Савин В. Н., Об автоколебательном характере водного обмена растений фасоли, Докл. АН СССР, 154, 970 (1964).
10. Корзухин М. Д., Жаботинский А. М., Математические модели химических и экологических автоколебательных систем, в сб. «Молекулярная биофизика», изд-во «Наука», М., 1965.
11. Моно Ж., Жакоб Ф., Телеономические механизмы в клеточном метаболизме, росте и дифференцировке, Регуляторные механизмы клетки, стр. 477, изд-во «Мир», М., 1964.
12. Стрелер Б., Время, клетки и старение, изд-во «Мир», 1964.
13. Чернавская Н. М., Чернавский Д. С., Периодические явления в фотосинтезе, Усп. физ. наук, 72, 627 (1960).
14. Шноль С. Э., Синхронные конформационные колебания молекул актина, миозина и актомиозина в растворах, в сб. «Молекулярная биофизика», изд-во «Наука», 1965.
15. Alexander E., Periodic nature of spontaneous activity of peripheral nervous system, Nature, 4873, 1169 (1963).
16. Bernhardt W., Panten K., Holzer H., Gedämpftes oscillieren der Synthesegeschwindigkeit von DPN-abhängiger Glutamatdehydrogenase in Hefezellen, Bioch. Bioph. Acta, 99, 531 (1965).
17. Betz A., Chance B., Influence of Inhibitors and Temperature on the oscillation of Reduced Pyridine nucleotides in Yeast cells, Arch. Bioch. Bioph., 109, 579 (1965).
18. Betz A., Chance B., Phase relationship of glycolytic intermediates in yeast cells with oscillatory metabolic control, Arch. Bioch. Bioph., 109, 585 (1965).
19. Chance B., Hess B., Betz A., DPNH oscillations in a cell-free extract of *S. carlsbergensis*, Bioch. Bioph. Res. Comm., 16, 182 (1964).
20. Chance B., Estabrook R., Ghosh A., Damped sinusoidal oscillations of cytoplasmic reduced pyridine nucleotide in Yeast cells, Proc. Nat. Acad. Sci., 51, 1244 (1964).
21. Chance B., Ghosh A., Higgins J., Maitra R., Cyclic and oscillatory responses of metabolic pathways involving chemical feedback and their computer representations, Ann. N. Y. Acad. Sci., 115, 1010 (1964).
22. Chance B., Schoener B., Elsasser S., Control of the waveform of oscillations of the reduced pyridine nucleotide level in a cell-free extract, Proc. Nat. Acad. Sci., 52, 337 (1964).
23. Chance B., Schoener B., Control of oscillations of the DPNH in a cell-free extract of *S. carlsbergensis* by 3'-5'-cyclic AMP, Bioch. Bioph. Res. Commun., 17, 416 (1964).
24. Chance B., Williamson J. R., Jamieson D., Schoener B., Properties and kinetics of reduced pyridine nucleotide fluorescence of the isolated and in vivo rat heart, Bioch. Z., 341, 357 (1965).

25. Christiansen J. A., On oscillating enzymatic reactions and on a possible interpretation of spike-potentials in nerves, *Ztschr. f. Elektrochemie*, **Bd 62**, 225 (1958).
26. Christiansen J. A., Periodic enzyme reaction, *Adv. in Enzymology*, **23**, 83 (1961).
27. Duyssens L., Ames J., Fluorescence spectrophotometry of reduced phosphopyridine nucleotide in intact cells in the near-ultraviolet and visible region, *Bioch. Bioph. Acta*, **24**, 19 (1957).
28. Enright J., The search for rhythmicity in biological time-series, *J. Theoret. Biol.*, **8**, 426 (1965).
29. Ghosh A., Chance B., Oscillations of glycolytic intermediates in yeast cells, *Bioch. Bioph. Res. Commun.*, **16**, 174 (1964).
30. Goodwin B., A statistical mechanics of temporal organization in cells, in *Symposia of the Soc. for Exp. Biol. XVIII*, Cambr. Univ. Press, 1964.
31. Haus E., Periodicity in response and susceptibility to environmental stimuli, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **117** (I), 292 (1964).
32. Hastings J., Bode V., Biochemistry of rhythmic systems, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **98**, 876 (1962).
33. Haugard N., Role of phosphorylase enzymes in cardiac contraction, *Nature*, **4872**, 1072 (1963).
34. Heinets F., Elucidation of induction and repression mechanisms in enzyme synthesis by analysis of model systems with the analog computer, in *Electronic Aspects of Biochemistry* (ed. B. Pullman), Acad. Press, 1964.
35. Higgins J., A chemical mechanism for oscillation of glycolytic intermediates in yeast cells, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **51**, 989 (1964).
36. Hillman H., The phosphate bond as a transducer. Information exchange group No. I, Scientific memo 190 (1965).
37. Hillman H., Do oscillations in biological systems originate in their substrates and nucleotides? Information exchange group No. I, Scientific memo 298 (1965).
38. Hommes F., Oscillatory reductions of pyridine nucleotides during anaerobic glycolysis in brewer's yeast, *Arch. Bioch. Bioph.*, **108**, 36 (1964).
39. Hommes F., Schuurmans Stekhoven F., A periodic changes of reduced NAD during anaerobic glycolysis in Brewer's Yeast, *Bioch. Bioph. Acta*, **86**, 427 (1964).
40. Hommes F., Oscillation times of the oscillatory reduction of pyridine nucleotides during anaerobic glycolysis in Brewer's yeast, *Arch. Bioch. Bioph.*, **108**, 500 (1964).
41. Hommes F., Metabolic control mechanisms in yeast grown at different glucose concentrations, *Arch. Bioch. Bioph.*, **109**, 168 (1965).
42. Hommes F., Oscillatory reductions of pyridine nucleotides during anaerobic glycolysis in Yeast, *Comp. Bioch. Physiol.*, **14**, 231 (1965).
43. Sikyta B., Slesák J., A periodic phenomenon in regulation of pyruvate biosynthesis in *E. coli* B., *Bioch. Bioph. Acta*, **100**, 311 (1965).

44. S c o t t B., Feedback-induced oscillations of five minute period in the electric field of the bean root, Ann. N.Y. Acad. Sci., 98, 890 (1962).
45. S i m o n n e t H., Rhythms and biological cycles in animals, Biol. Med. (Paris), 53, 266 (1964).
46. W a d d i n g t o n C. H., Autogenous cellular periodicities as (a) temporal templates and (b) the basis of «morphogenetic fields», J. Theor. Biol., 8, 367 (1965).
47. W a l t e r C., F r i e d e n E., The prevalence and significance of the product inhibition of enzymes, p. 172, Biological Rhythm., Adv. in Enzymology, 25, 167 (1963).
48. Труды I Всесоюзного симпозиума по колебательным процессам в биологических и химических системах, Пушчино-на-Оке, Март 1966, изд-во «Наука» (в печати).
49. M a s t e r s M., D o n a c h i e W. D., Repression and the control of cyclic enzyme synthesis in *Bacillus subtilis*, Nature, 209, 476 (1966).
50. G o o d w i n B. C., An entrainment model for timed enzyme synthesis in bacteria, Nature, 209, 479 (1966).

ПРЕДИСЛОВИЕ К АНГЛИЙСКОМУ ИЗДАНИЮ

Биология в настоящее время во всех своих областях вступает в период бурного прогресса. Можно сказать, что это ее второе цветение. Первое происходило во времена Дарвина, когда на основе теории эволюции впервые стала возможной единая точка зрения на все многообразие живых организмов. После того как Дарвин сформулировал принцип естественного отбора, начался расцвет филогенетических исследований, которые затем объединились с классической генетикой Менделя. Последняя, без сомнения, была совершенно необходима для завершения грандиозного здания теории Дарвина. Тем временем достигли некоторого прогресса и более «будничные» науки — физиология и биохимия обмена веществ, — важнейшее практическое назначение которых состоит в поисках способов ремонта, настройки и сохранения весьма ненадежных систем нашего тела — систем, которым к тому же свойственно старение. Этот прогресс был замечательным по своему влиянию на продолжительность жизни и здоровье людей, но он остался, осмелюсь сказать, скорее технологическим достижением, нежели вкладом в понимание человеком его места во Вселенной.

В последние несколько лет мы увидели — и, вероятно, будем наблюдать это еще несколько десятилетий — первые признаки действительного слияния величественных биологических теорий, охватывающих с единых позиций

все царство живого, и «метаболической» биологии. Именно последняя имеет возможность ставить вопросы и исследовать причины, и она уже теперь иногда способна объяснить нам то или иное частное биологическое явление. Этот новый этап развития биологии стал возможным прежде всего благодаря изучению жизни в ее наипростейших формах. Генетики исследуют не только мышь и дрозофилу, но также вирусы и бактерии. Биохимики и биофизики пошли дальше изучения таких сравнительно сложных частей организма, как мышца и нерв. Они начали исследование белков и нуклеиновых кислот — веществ, определяющих свойства живых организмов. И наконец, в последние годы мы были свидетелями необычайно бурного развития *биологии элементарных структур* — широко известной ныне под несколько неудачным названием *молекулярной биологии* (ибо какое вещество не состоит из молекул?) — науки, почти конкурирующей с *физикой элементарных частиц* по точности измерений и по глубине проникновения в изучаемые объекты.

Биологи должны помнить, что огромные успехи, достигнутые физикой в результате создания квантовой теории и теории элементарных частиц, не только ввели нас в сокровенный микромир атомных и ядерных процессов. Эти достижения были использованы также для углубления наших знаний о явлениях гораздо большего масштаба в твердом теле и даже о колоссальных по масштабу событиях, с которыми имеют дело астрофизики. Эти достижения были дополнены такими теориями, как термодинамика и общая теория относительности, исследующими сложные объекты как единые сущности без детального учета их микроскопического строения.

Урок для биологии ясен. Мы можем восхищаться теориями, говорящими нам о назначении структуры в простейших живых объектах, таких, как вирусы, которые

почти целиком состоят из нуклеиновокислотного стержня заключенного в белковую оболочку, но мы не можем полностью удовлетвориться ими; нам необходимо развить, исходя из этого, надструктурную теорию, которая позволила бы понять основы организации высших, наиболее сложных форм жизни, с которыми нам так часто приходится встречаться; например, понять основы организации такого животного, как мышь, организм которого состоит из самых разнообразных клеток: мышечных, нервных, клеток почек, печени и многих других органов. Открытие функциональных связей в системе ДНК — РНК — белок может стать такой же основой для биологии, какой для физики оказалось открытие элементарных частиц и квантования. Однако разработка этого базиса, необходимого биологии для того, чтобы проделать путь от вируса до мыши, является, вероятно, еще более грандиозной задачей, чем та, которую решала физика на пути от атомного ядра к молекуле, полупроводнику и звезде.

Д-р Брайан Гудвин является одним из первых исследователей, предпринявших серьезную попытку найти способы создания фундаментальной биологической теории, необходимой нам для того, чтобы разобраться в тех сложнейших явлениях, которые возникли на поздних этапах эволюции. Хотя эта работа вплоть до самого последнего этапа велась в моей лаборатории (она была завершена в Массачусетском технологическом институте), мои скромные познания в математике и физике не позволяют мне быть истинным судьей ее достоинств и недостатков.

Гудвин сочетает в себе — и это является скорее исключением, чем правилом, — способность глубоко проникать в сущность основных биологических процессов со способностью к математической формулировке проблемы. Я думаю, что некоторым из нас придется примириться с тем, что мы не вполне можем следовать за ходом мысли автора.

Разве что работы самого Гудвина и его будущих последователей в области теории временной организации биологических процессов помогут нам преодолеть то неизбежное «устаревание», склонность к которому всегда «встроена» в любой живой организм. Но хотя я и не могу сказать, прав Гудвин или нет в полученных им конкретных результатах, я совершенно уверен, что он пытается найти свою дорогу на пути в Незнученное и Незвестное. И этот путь ведет к такому пониманию биологических явлений, которое — со временем это будет становиться все яснее — совершенно необходимо для создания законченной и всеобъемлющей Теории биологии.

Проф. К. УОДДИНГТОН,

Институт генетики животных,
Эдинбургский университет

ИЗ ПРЕДИСЛОВИЯ АВТОРА

Центральное место в биологической науке занимает концепция организации, хотя само понятие организации и не имеет четкого определения. Организация существует не только в пространстве, где она выражается в морфологии организмов, но и во времени, о чем свидетельствует упорядоченность их поведения. Биологи всегда стремились описать и объяснить эти стороны организации биологических систем с помощью более простых и точно сформулированных понятий.

С недавних пор в биологии клетки приобрело особое значение понятие регуляторной системы. Это произошло благодаря замечательным исследованиям, позволившим проникнуть в сущность механизмов регуляции биохимических процессов в клетке. Появилась возможность объяснить некоторые стороны поведения клетки на основе динамических свойств молекулярных регуляторных систем. В нашей работе мы попытаемся реализовать эту возможность.

Однако нам не удастся добиться сколько-нибудь существенных результатов, если мы ограничимся качественным описанием деятельности клеток с помощью терминологии, заимствованной из теории автоматического регулирования. Необходимо создать количественную теорию организации клетки. Это требует использования математических методов, обычно незнакомых биологу. Последнее, по-видимому, неизбежно, так как трудно ожидать, что биолог будет изучать все разделы математики и физики в надежде, что один из них сможет стать основой для анализа биологических явлений. Однако есть одна область физики, о которой все биологи имеют по крайней мере некоторое представление, — это термодинамика газов. Понятия тем-

пературы, энергии, энтропии, давления, работы и т. д., которые впервые возникли в процессе развития термодинамики и являются краеугольными камнями физики, близки для всех ученых. С этими понятиями связываются интуитивные представления о природе физического мира и о происходящих в нем процессах.

В предлагаемой читателю работе для описания динамики и организации внутриклеточных процессов будут использованы переменные, аналогичные термодинамическим характеристикам. Необходимо сразу же подчеркнуть, что речь идет не о применении классической термодинамики для анализа поведения клетки. Наоборот, мы используем представления о молекулярных механизмах внутриклеточной регуляции для создания новой динамической теории, на основе которой будет построена теория клетки, по форме аналогичная термодинамике. В такое описание клетки не будут явно входить такие величины, как физическая энергия, физическая энтропия и т. д. С нашей точки зрения эти понятия, удобные для анализа физических процессов, почти ничего не дают для понимания биологической организации. Однако формальный математический аппарат статистической физики может быть использован для введения совершенно новых величин, аналогичных термодинамическим характеристикам. Эти величины можно будет непосредственно применять для анализа свойств биологических систем, поскольку основой для их введения является теория внутриклеточных регуляторных систем.

Таким образом, хотя математическая процедура, используемая в этой книге, может показаться слишком громоздкой, на самом деле в ней использованы хорошо известные в физике, точнее в статистической механике, методы, с помощью которых вычисляются такие величины, как температура, энтропия и работа. Нам казалось неразумным включать в эту книгу изложение основ статистической механики, которое можно найти во многих превосходных учебниках. Мы старались по возможности давать словесное описание используемых нами математических приемов и интерпретировать математические результаты с помощью уже устоявшихся понятий биохимии и физиологии. К сожалению, несмотря на это, осталось много страниц математических выкладок, которые мало понятны большинству

биологов. Однако бóльшую часть текста можно прочитать, не обращая внимания на эти страницы. Если подход, развитый в этой книге, в какой-то мере предвосхищает будущее развитие биологии, биологам рано или поздно придется овладеть использованными в ней математическими методами. Если же эта теория окажется несостоятельной, станет ясно, что биолог был совершенно прав, не обращая внимания на математические детали.

Для специалиста-физика чтение этой книги не представит трудностей. Для ее понимания требуется минимальное знание биологии, так как, за исключением некоторых данных из энзимологии и эмбриологии, все необходимые биологические сведения содержатся в ней самой. Возможно, физик обнаружит, что математическая часть книги не обладает той строгостью, к которой он привык. Это объясняется тем, что мы старались сделать книгу доступной как физикам, так и биологам.

*Нет ничего более убедительного,
чем глубокая убежденность.*

Дюма

Введение

Около ста лет назад, после многих веков забвения, молекулярная теория строения вещества была повсюду принята как гипотеза, объясняющая многие свойства физического мира. Благодаря замечательному развитию биологии за последние двадцать лет стало совершенно ясно, что объяснение биологических явлений также следует искать на молекулярном уровне. Об этом свидетельствует появление новой науки, известной под названием молекулярной биологии, занимающей в настоящее время центральное место среди других биологических дисциплин.

Однако положение молекулярной теории в физике и в биологии не совсем одинаково. Например, специалист по молекулярной биологии действительно может показать скептику изображение некоторых изучаемых им молекул — белков и нуклеиновых кислот — в виде электронных микрофотографий. Это позволяет избежать столкновений, подобных тому, которое произошло между знаменитыми физиками Больцманом и Махом, когда последний сказал: «Вы *не знаете*, что молекулы существуют». На это Больцман ответил: «Я *знаю*, что они существуют», но Мах возразил: «Нет, вы *не знаете*». Но исследователь, занимающийся молекулярной биологией, должен быть готов ответить и на более существенный вопрос: «Каково значение ваших молекул?» Конечно, сегодня, отвечая на этот вопрос, он может утверждать, что они несут в себе наследственную информацию, что они служат матрицами для синтеза других макромолекул, что они действуют как катализаторы биохимических реакций и т. д. Все эти ответы свидетельствуют о замечательных успехах молекулярной биологии. Но этого еще недостаточно, так же как и для Больцмана было бы недостаточно просто утверждать,

ссылаясь на броуновское движение, что его молекулы находятся в непрерывном движении и постоянно сталкиваются друг с другом. Больцман должен был показать, что твердо установленные количественные соотношения, описывающие макроскопическое поведение газов, могут быть выведены из свойств молекул. В более общем плане нужно было показать, что из нескольких исходных предпосылок о свойствах молекул можно вывести ту совокупность макроскопических феноменологических законов, которая известна как термодинамика. И по существу Больцман сделал именно это. Исходя из того, что движение молекул подчиняется механике Ньютона, Больцман и другие исследователи создали кинетическую теорию газов. Они показали, как законы, описывающие поведение газа, могут быть выведены из кинетических и вероятностных принципов. Примененные ими методы превратились в руках Уилларда Гиббса в элегантную и мощную теорию — статистическую механику — теорию, основанную на раздельном рассмотрении микроскопических и макроскопических составляющих физических систем. Правда, при этом возникли новые проблемы, которые до сих пор не получили удовлетворительного разрешения.

Исследователь, занимающийся молекулярной биологией, должен сделать нечто аналогичное этому, если он хочет оправдать свою веру в первостепенное значение макромолекул и макромолекулярных агрегатов. Из свойств внутриклеточных «элементарных частиц», таких, как цистрон, репликон и т. д., должны быть выведены свойства, являющиеся признанными атрибутами живой клетки. Но при этом биолог сталкивается с ситуацией, совершенно отличной от той, которая существовала в физике времен Больцмана. С одной стороны, для описания микроскопического «движения» молекулярных и макромолекулярных процессов в клетке не существует ничего аналогичного ньютоновской механике. С другой стороны, отсутствует хорошо сформулированная система взаимоотношений между общими характеристиками клетки, которая могла бы соответствовать феноменологической термодинамике. В биологии мы вынуждены довольствоваться набором понятий (организация, адаптация, регуляция, компетенция, гомеостаз и т. д.), которые должны выдерживать огромный

груз более или менее интуитивных представлений о существенных принципах, лежащих в основе биологической структуры и функции. Хотя некоторые из этих понятий и можно уточнить настолько, чтобы прийти к количественным определениям, до некоторой степени удовлетворяющим интуитивным представлениям, однако между ними нет прямой связи, которая позволила бы превратить их в систему феноменологических законов биологии клетки.

Единственная биологическая наука, в которой действительно имеется общий количественный закон, вытекающий из свойств «элементарных частиц» системы, это популяционная генетика. Р. Фишер [25] выдвинул фундаментальный принцип, согласно которому в основе естественного отбора лежат вариации частот генов в популяции организмов, размножающихся половым путем. Этот принцип занимает такое же центральное место в популяционной генетике, как закон возрастания энтропии в физике. Динамическая основа этого принципа, положение которого в биологии аналогично положению ньютоновской механики в физике, была разработана Кимура [49]. Интересно, что этот принцип естественного отбора, или закон максимального «приспособления», был сформулирован в количественной форме лишь после того, как была разработана математическая теория распределения частот генов в случайно скрещивающейся популяции. Никакого предшественствующего принципу Фишера количественного закона, аналогичного законам термодинамики, не существовало, хотя дарвиновский закон выживания наиболее приспособленных был его очевидным качественным предшественником. Таким образом, здесь мы имеем случай, когда биологический закон был выражен в точной, количественной форме только после открытия «элементарных частиц» наследственности — генов — и последующего создания математической теории движения и взаимодействия этих частиц наследственности, т. е. динамической теории. По сравнению с историческим развитием физики порядок открытий и выводов в популяционной генетике оказался обратным: сначала были установлены свойства микроскопических единиц (по крайней мере те, которые подчиняются законам Менделя), а затем был выведен количественный «макроскопический» закон.

Теперь можно спросить, обязателен ли этот порядок и для биологии клетки. Иными словами, будет ли открытие количественных макроскопических законов функционирования клетки связано с развитием зарождающихся сейчас математических теорий, основанных на наших современных знаниях о молекулярной организации живой клетки? И будут ли эти законы находиться в таком же согласии с нашими теперешними весьма смутными представлениями о природе клеточной структуры и функции, как принцип приспособленности Фишера — с представлениями Дарвина о выживании в естественных популяциях? Или, напротив, будут выведены существенно новые и неожиданные макроскопические принципы, которые наполнятся для нас реальным содержанием лишь после того, как некоторый период наблюдений и экспериментов сделает их привычными и понятными. При таком ходе развития отличие его от пути разработки физических знаний (от макроструктуры к микроструктуре) было бы выражено в еще большей степени, чем в истории создания количественной генетики. В этом случае макроскопические законы до своего открытия на базе общей теории, имеющей молекулярную основу, не были бы предвидимы даже в качественной форме.

Поразительное отсутствие точно сформулированных законов клеточной организации объясняется, по-видимому, отсутствием четких универсальных величин, характеризующих функционирование клетки, которые были бы доступны измерению аналогично теплу, давлению и объему в физике. Поэтому представляется необходимым обнаружение подобных характеристик с помощью теории, основанной на свойствах микроструктуры биологических систем (предполагая заранее, что такой путь развития биологии возможен). В данной книге мы исследуем эту возможность и попытаемся вывести некоторые общие макроскопические, или «термодинамические», функции из определенных динамических характеристик молекулярных регуляторных механизмов живой клетки.

Итак, будет сделана попытка использовать современные знания о молекулярной организации клетки, полученные в результате блестящих достижений молекулярной биоло-

гии, в качестве микроструктуры некоторой статистической теории, на базе которой может быть построена феноменологическая теория, основанная на величинах, формально полностью аналогичных классическим термодинамическим функциям, таким, как температура, свободная энергия, работа и т. д.

Итак, современная ситуация в биологии клетки такова, что отсутствуют как законы движения, описывающие молекулярные и макромолекулярные процессы и аналогичные законам Ньютона для движения молекул, так и феноменологические соотношения, аналогичные законам термодинамики. Поэтому попытка вывести макроскопические законы поведения клетки из микроскопических принципов может показаться весьма сомнительной, тем более что отсутствуют как исходные посылки, так и объекты доказательства. Однако имеются три соображения, показывающих, что ситуация совсем не столь неблагоприятна.

Прежде всего отметим, что к настоящему времени мы детально изучили последовательность элементарных актов, образующую, по-видимому, фундаментальный механизм, управляющий синтезом и активностью макромолекул в клетке. В основе этого механизма лежит принцип отрицательной обратной связи, хорошо знакомый инженерам. Он состоит в том, что различные виды молекул и макромолекул, участвующие в регуляции, образуют саморегулирующийся замкнутый причинный контур. Согласно современной теории, этот замкнутый контур, управляющий генетической деятельностью клетки, состоит из следующих видов молекул: дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), информационной рибонуклеиновой кислоты (*m*-РНК), белка (обычно фермента) и метаболита. Основными звеньями цепи являются синтез *m*-РНК на информационно гомологичной ДНК, синтез гомологичного белка на *m*-РНК, метаболическое превращение, катализируемое соответствующим белком (ферментом), и, наконец, репрессия синтеза *m*-РНК на соответствующем локусе ДНК метаболитом, образующимся в результате каталитического действия фермента. Таков скелет теории, которая будет более полно обсуждаться в гл. 3 и 4. Будут рассмотрены также и другие замкнутые контуры управления, определяющие актив-

ность макромолекул на разных уровнях организации клетки.

Открытие этих молекулярных регуляторных механизмов имеет колоссальное значение для понимания деятельности клетки и должно быть положено в основу любой теории, описывающей ее организацию. Однако чисто качественное описание механизмов, которые на наш взгляд составляют основу регуляторной системы клетки, ничего не дает для понимания динамических свойств системы, т. е. кинетики синтеза макромолекул. Необходимо, таким образом, создать соответствующую динамическую теорию на базе общих принципов биохимической кинетики, а также свойств систем с обратной связью. Такая теория по необходимости будет весьма приближенной, но как раз здесь уместно высказать второе соображение, обнадеживающее исследователя, пытающегося создать хотя бы грубую модель деятельности клетки.

Возможно, что динамические уравнения, описывающие кинетику биохимических управляющих систем в клетке, могут быть использованы как основа для создания статистической механики регуляторных процессов в клетке. В этом случае макроскопические, или «термодинамические», характеристики, которые можно получить на основе этой статистической механики, будут описывать весьма общие свойства поведения клетки. Даже если динамические уравнения являются только грубой аппроксимацией реальной биохимической динамики клетки, они могут тем не менее дать важную информацию о «термодинамических» свойствах этой системы. Последнее вытекает из природы статистической механики, которая элиминирует большинство микроскопических деталей, усредняя их, и сохраняет только основные динамические характеристики. Таким образом, несмотря на неполноту современных знаний о молекулярной организации клетки, мы можем все же получить некоторое представление о макроскопических величинах, которые должны быть включены в общее описание поведения клетки. На этой основе можно предложить соответствующие экспериментальные процедуры для наблюдения за этими макроскопическими величинами и управления ими. Однако очевидно, что между существенными динамическими характеристиками кинетической

модели и реальной системы должно существовать фундаментальное качественное подобие. Только в этом случае из статистической механики и термодинамики могут быть получены осмысленные выводы, полезные для исследования поведения клетки как целого. Тестом для проверки указанного фундаментального подобия смогут служить основанные на такой теории предсказания результатов экспериментов, и анализ расхождений между предсказанием и наблюдением покажет, является ли построенная модель совершенно ошибочной или она по существу правильна, но нуждается в модификации. Обнадеживающее свойство программы, использующей методы статистической механики, состоит в том, что она дает возможность использовать общие характеристики кинетической модели вместо специфических, микроскопических свойств. В гл. 4 мы выведем системы уравнений, описывающие определенный тип динамической регуляторной системы, структура которой согласуется с современными данными о регуляции биохимических процессов, а в гл. 5 построим статистическую механику, базирующуюся на этих уравнениях. Затем будут выведены некоторые «термодинамические» характеристики этой системы, и в гл. 8 будут предложены некоторые эксперименты на реальных клетках, которые можно было бы использовать для проверки теории.

Здесь мы переходим к третьему аспекту современной ситуации в биологии, благоприятствующему попытке создания такой теории поведения клетки, которая бы занимала в биологии положение, подобное положению термодинамики в физике. Недавно возникла новая область биологических исследований, в которой возможны точные наблюдения и измерения реакции целой, живой клетки на различные воздействия. Речь идет об исследовании биологических часов, или, более общо, об исследовании механизмов отсчета времени в биологических системах. Как известно, сложные биохимические процессы, лежащие в основе структуры и функции клетки и организма, происходят не одновременно и их скорости непостоянны. Все эти процессы согласованы между собой во времени таким образом, что возникает некий ритм чередования одного процесса за другим и повышения и понижения интенсивности каждого из них. Наиболее явно в живых системах

проявляется так называемый циркадный ¹ ритм, связанный с суточным периодом обращения нашей планеты. Однако помимо него существует целый спектр ритмических процессов, имеющих различные периоды и образующих в организме сложную, но хорошо организованную временную структуру.

Крупнейшими достижениями в этой области являются обнаружение часового механизма в одиночной клетке и получение данных, свидетельствующих о том, что существование часов, или механизмов отсчета времени, как универсального свойства клеточной организации является весьма вероятным. Таким образом, экспериментальное изучение организации внутриклеточных процессов во времени может служить той базой, которая требуется для проверки любой «термодинамической» теории, построенной на основе определенных динамических характеристик регуляторных механизмов клетки. Подобное исследование включает феноменологические элементы, без которых такая термодинамика потеряла бы всякое значение. Правда, в настоящее время феноменологическая теория временной организации клетки еще ни в коей мере не способна установить количественные соотношения между такими переменными, как, например, период часов, температура и световой режим, или между эмбриональной компетенцией, периодом развития и длительностью периода внешнего температурного цикла. Однако в этой области уже намечается некоторый прогресс, и, пожалуй, нет оснований сомневаться, что когда-нибудь наступит день, когда распыленное богатство экспериментальных данных будет объединено в рамках общей теории организации клеточных процессов во времени.

Не исключена, конечно, возможность, что механизмы отсчета времени являются строго детерминированными системами. В таком случае для описания временной структуры клетки следует применять не обобщенные макроскопические параметры, выражающие статистические свойства системы, построенной из множества отдельных осцилляторов, а параметры, описывающие динамику одиночного

¹ См. книгу «Биологические часы», изд-во «Мир», М., 1964.—
Прим. ред.

детерминированного устройства для отсчета времени. Выбор между этими двумя возможностями является в настоящее время предметом дискуссии. Однако тот все более очевидный факт, что предельно трудно нарушить ход часов, не убив при этом клетку, показывает, что мы имеем здесь дело с общим свойством организации клетки. В этом убеждены Харкер [36], Гастингс [37], Питтендрай [77] и другие известные исследователи в этой области. Это убеждение является исходной предпосылкой и данного исследования.

Гастингс и Суини [38] и Питтендрай [78] разделяют также и другую общую предпосылку, которая лежит в основе излагаемой теории. Она состоит в том, что динамической основой временной структуры клетки являются незатухающие колебания концентраций макромолекул, возникающие вследствие существования отрицательных обратных связей в цепях биохимических превращений. Возникновение колебаний в цепях с отрицательной обратной связью хорошо знакомо инженерам, и это явление почти всегда рассматривается как помеха для эффективного функционирования управляющих систем. Биологи впервые обратили внимание на исключительную роль отрицательной обратной связи в регуляторных системах организма после выхода «Кибернетики» Винера [117]. В этой работе, теперь уже ставшей классической, было показано, что возможность возникновения колебаний вследствие ошибок в цепях отрицательной обратной связи может служить причиной ряда функциональных расстройств. Это предсказание было немедленно подтверждено описанием различных форм атаксии, возникающих в результате подобных ошибок в регуляторных цепях нервной системы. После этого первого впечатляющего успеха отрицательная обратная связь была обнаружена в большинстве биологических систем. Это еще более убедительно показало универсальность и простоту такого регуляторного механизма, который состоит в том, что сам регулируемый процесс создает условия, препятствующие его протеканию. Совсем недавно было установлено, что и на молекулярном уровне внутриклеточной организации управление подчинено кибернетическим принципам, о чем мы уже упоминали выше. Из всего этого никоим образом не следует, что переменные,

образующие цепи управления, обязательно должны колебаться. Все сказанное выше показывает только, что при определенных условиях такие колебания возможны.

Однако мы идем значительно дальше в наших исходных позициях и считаем, что колебания в регуляторных системах клетки должны встречаться весьма часто. В гл. 3 мы изложим наши доводы в пользу этого убеждения, а в гл. 6 представим некоторые экспериментальные данные, которые можно считать его первым прямым подтверждением. В данной работе мы придерживаемся мнения, что существование истинных стационарных состояний для внутриклеточных переменных весьма маловероятно и, напротив, с большой степенью вероятности все или почти все популяции молекул в живой клетке должны испытывать незатухающие колебания того или другого вида. Эта идея опирается также на теоретические исследования динамических свойств обобщенных преобразований на пространствах произвольно большой размерности, в частности на работы Гончарова [29] и Рубина и Ситгривса [88]. Эти работы показали, что с усложнением пространства (в том смысле, что общее число точек становится весьма большим) вероятность для произвольной траектории перейти в циклическую приближается к единице, а вероятность достижения истинной точки «равновесия» становится очень малой. Если рассматривать клетку и все ее переменные как очень сложную динамическую систему, то этот результат означает, что переменные в клетке практически не могут находиться в стационарном состоянии ни при каких условиях — даже когда клетка находится в состоянии покоя, т. е. не растет, не делится и не дифференцируется. Из этого следует не только то, что все виды молекул в клетке находятся в динамическом состоянии, т. е. постоянно распадаются и вновь синтезируются; это означает, что существуют незатухающие колебания концентраций этих молекул. Таким образом, теоретическое исследование, о котором шла речь выше, приводит к интереснейшему выводу, что динамика сложных систем с необходимостью включает колебательное движение. Однако в данной работе мы не будем использовать эти результаты в явном виде. Напротив, мы в основном будем рассматривать, как влияет на общее поведение клетки некоторый частный класс колебаний, а именно

те колебания, которые могут возникать в молекулярных регуляторных цепях живой клетки. Наш подход тем самым будет гораздо специфичнее общих динамических исследований, о которых говорилось выше, и это даст нам возможность сделать весьма конкретные выводы о макроскопических следствиях наших предпосылок.

К сожалению, в данном исследовании мы практически не можем использовать для анализа динамических свойств регуляторных систем клетки методы, применяемые в технике, хотя эту работу и можно было бы рассматривать как развитие одного из аспектов кибернетики. Биолог имеет дело со сложно организованной системой, и его подход должен быть совершенно отличным от подхода инженера. Он не может изолировать часть, содержащую лишь несколько переменных, не нарушив общего поведения всей системы. Он не может произвести линеаризацию, не утратив важнейших динамических свойств системы. И наконец, он не может исследовать проблему регулирования так, как это делает инженер, т. е. пользуясь некоторыми известными критериями, искать сигнал обратной связи, обеспечивающий оптимальное поведение системы. Биолог не всегда может определить, что является критерием оптимального протекания регуляторных или адаптивных процессов в клетке. Он практически не может влиять на сигнал обратной связи, и решение дифференциальных уравнений первого или второго порядка не является его первоочередной задачей. Его задача состоит в том, чтобы наблюдать, описывать и анализировать данную функционирующую систему, а не конструировать систему для выполнения определенной частной программы. Поэтому не удивительно, что биолог вынужден развивать свою собственную теорию и заимствовать то, что можно, у физика, чье отношение к физическому миру более родственно биологу, чем отношению инженера. Наша программа состоит в следующем. Сначала мы выведем законы сохранения, или инварианты, для одного частного класса биохимических регуляторных систем. Затем построим статистическую механику для систем такого рода и исследуем макроскопическое поведение подобной системы, пользуясь переменными состояния, аналогичными физическим переменным — энергии, температуре, энтропии, свободной энергии и т. д.

В итоге будет сформулирована система понятий с чисто биологическим содержанием, никак не связанных с их аналогами в физике в той мере, в какой речь будет идти о конкретном поведении исследуемой системы, хотя формальное математическое сходство и будет сохранено (поскольку наши аналитические приемы идентичны тем, которые использовались в классической физике). Эти макроскопические понятия станут привычными и интуитивно понятными только в том случае, если экспериментальная часть теории сможет развиваться соответствующим образом. Известно, что и физические теоретические понятия — энергия и энтропия — стали ясными и привычными не сразу, а лишь после того, как в течение многих лет мы сталкивались с ними в эксперименте.

В нашей попытке перекинуть мост между молекулярной биологией и физиологией клетки мы будем пользоваться строго классическими методами. Это значит, что будут рассматриваться только системы, описываемые дифференциальными уравнениями, а среди них только те, которые имеют первый интеграл движения и тем самым могут быть использованы для построения статистической механики и термодинамики. Это, конечно, наиболее легкая математическая процедура, но она накладывает жесткие ограничения на класс регуляторных систем, которые могут быть исследованы с ее помощью. Эти ограничения могут оказаться настолько сильными, что в их рамках нельзя будет построить способную к предсказанию количественную теорию функционирования клетки. В этом случае придется расширить класс рассматриваемых регуляторных систем путем ослабления аналитических ограничений. В математических терминах это означает использование функциональных уравнений вместо интегральных и введение инвариантных мер взамен интегральных инвариантов. Однако с математической стороны это весьма трудная задача, поскольку аналитический аппарат для ее решения в настоящее время практически отсутствует. Переход от дифференциальных уравнений и интегральных инвариантов к функциональным уравнениям и инвариантным мерам сделал бы теорию значительно более мощной, позволив рассматривать гетерогенные системы вместо гомогенных, а также системы с запаздыванием и гистерезисны-

ми эффектами. Кроме того, можно было бы произвести квантование «энергетических» состояний. По-видимому, без такого расширения теория не сможет служить основой для предсказаний. Однако нам кажется полезным и необходимым выполнить классическую часть программы, чтобы ближе познакомиться с теми понятиями, которые могут возникнуть при подобном подходе к согласованному функционированию внутриклеточных систем, и с теми явлениями, которые могут быть использованы для проверки теории такого типа. Только таким способом можно будет решить, правилен или неправилен в своей основе подобный подход.

Система и среда

Число переменных в биологических системах очень велико, и соответственно велик диапазон экспериментальных дисциплин, занимающихся их изучением, — от биофизики до эволюционной генетики. Было бы весьма трудно точно определить границу между этими различными областями знания, поскольку все они перекрываются между собой. Кроме того, между биологическими дисциплинами существует неразрывная связь, объединяющая их в одно целое. Однако, приступая к изучению динамических свойств определенного класса биологических явлений, необходимо выделить из очень большого числа переменных, реально существующих в любой биологической системе, некоторое приемлемое их количество. Но возможно ли произвести такое выделение, или упрощение, без разрушения самой основы биологической организации? Совершенно очевидно, что а priori ответить на этот вопрос невозможно. Единственным способом разрешения проблемы в этом случае является прямая проверка. Нужно взять некоторый набор переменных, которые, как нам кажется, образуют замкнутую систему, и посмотреть, можно ли, изучая поведение этой системы, получить разумные и полезные результаты. Для того чтобы сделать это, нужно отделить переменные, которые играют главную роль в исследуемом явлении, от второстепенных. После того как такое разделение сделано, главные переменные становятся величинами, которые определяют исследуемую систему. Второстепенные переменные будут тогда определены как параметры окружающей среды или же их можно рассматривать как шум. В сущности, шум означает наше незнание, но он является весьма полезным аналитическим понятием, и мы будем часто пользоваться им в данной работе.

Критерий, позволяющий отделить систему от среды при исследовании биологических процессов, должен быть, по-видимому, приложен во всей области экспериментальной биологии. Вероятно, наиболее явным критерием, на основе которого можно провести такое разделение, является масштаб времени, которым оперирует данная область биологии, и действительно — биологические дисциплины располагаются на некоторой иерархической лестнице, по существу, именно в соответствии с этим критерием. На нижней ее ступеньке находится биофизика, на верхней — популяционная генетика. Подобное расположение биологических процессов по временной шкале было четко проведено Уоддингтоном [112] в его «Стратегии генов», где он отмечает, что «биологическая картина сложнее физической в основном по способу, каким в нее включается время». Уоддингтон различает три главных уровня распределения активности во времени, которые нужно различать при анализе биологических процессов: биохимический; морфогенетический (или эпигенетический) и эволюционный. Именно это деление будет положено в основу разграничения различных систем и окружающей их среды в нашей работе. Соответственно мы будем рассматривать метаболические, эпигенетические и генетические системы. Поскольку мы в основном интересуемся внутриклеточными процессами, мы будем рассматривать роль этих систем в динамической организации одиночной клетки. В таком случае использование термина «эпигенетический» оказывается весьма нетрадиционным, но мы можем сослаться на такой авторитетный источник, как работа Нэнни [70], в которой рассматриваются эпигенетические системы регуляции в одиночной клетке. Возможность иерархического построения временной организации клетки была четко показана Кэксером [45], который ввел представление об «иерархии катализаторов». Он также рассматривал трехэтажную структуру, обеспечивающую упорядоченность внутриклеточных процессов во времени. При этом Кэксер, в частности, отметил, что, поднимаясь по временной шкале от метаболического уровня к генетическому, мы обнаруживаем все возрастающую стабильность катализаторов, регулирующих процессы в этих системах. Однако качественные рассуждения Кэксера показывают лишь то, что

все системы, на которые логически разделяется клетка, взаимодействуют между собой, образуя единую структуру. Поэтому тут же возникает вопрос, каким образом отличить взаимодействия между системами от взаимодействий внутри систем. Мы попытаемся сейчас формализовать наши представления, введя понятие о времени релаксации, которым будем пользоваться в дальнейшем при анализе динамики внутриклеточных процессов.

Время релаксации — это, грубо говоря, время, необходимое для того, чтобы переменные возвратились к своим стационарным значениям после некоторого «малого» возмущения. Время релаксации не может быть строго определено без полного математического описания изучаемой системы, поскольку пределы, в которых возмущение можно считать «малым», определяются математическим требованием того, чтобы при таком возмущении сохранялась возможность линеаризации системы в окрестности положения равновесия. Это понятие хорошо знакомо специалистам по химической кинетике, поскольку они используют метод возмущений для определения констант скоростей в стационарных реакциях. Этот метод быстро нашел применение и в кинетике ферментативных реакций. Если расширить область применения этого понятия, то оно позволит провести своего рода «спектральный» анализ биологических процессов по их временным характеристикам, образующим, вообще говоря, почти непрерывный ряд. В частности, на его основе можно попытаться ввести формальный признак, позволяющий разделить эпигенетическую и генетическую системы в одиночной клетке.

Значение этого понятия для данной работы становится ясным из следующего существенного факта: если времена релаксации в двух системах различаются очень сильно (например, в 100 раз), то во время изменения переменных «медленной» системы (с большим временем релаксации) «быструю» систему (с малым временем релаксации) можно рассматривать как систему, находящуюся в стационарном состоянии. Тогда, с одной стороны, в динамические уравнения медленной системы войдут лишь стационарные значения переменных быстрой системы и число уравнений резко уменьшится. С другой стороны, переменные «медленной» системы войдут в уравнения «быстрой» системы

как параметры, а не как переменные. Вообще говоря, эти параметры будут медленно изменяться, вызывая медленные изменения быстрой системы во времени; однако при изучении динамики быстрой системы на малых отрезках времени переменные медленной системы можно рассматривать как параметры среды. Таким образом, временной критерий, позволяющий отличить одну систему от другой, будет достаточно строгим только в том случае, если времена релаксации этих двух систем существенно различны.

Теперь следует попытаться хотя бы очень грубо оценить времена релаксации тех систем, которые будут иметь наиболее важное значение для нашего исследования. Здесь мы оценим лишь порядок величин, а детальное рассмотрение времени релаксации эпигенетических переменных, от которого существенно зависит возможность использования статистической теории, развитой в гл. 5, отложим до гл. 6.

МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ СИСТЕМА

В метаболической системе клетки основными процессами, определяющими скорости изменения ее состояния, являются диффузия, взаимодействие и катализируемые ферментами превращения «малых» молекул (не макромолекул). В эту систему входят также процессы взаимодействия между малыми молекулами и макромолекулами, примером которых могут служить процессы активации и ингибирования ферментов. Синтез макромолекул не входит в эту систему, так что считается, что концентрации макромолекул играют для нее роль постоянных или очень медленно меняющихся параметров среды. Такой подход является обычным при кинетических исследованиях открытых метаболических систем, и ниже будет показано, что он вполне разумен и при характеристике процессов по их временам релаксации.

Скорость достижения стационарного состояния в метаболической системе определяется главным образом скоростью превращения молекул субстрата под действием ферментов промежуточного метаболизма. Эта последняя величина составляет примерно $10-10^4$ молекул в 1 сек [20].

Чанс и Гесс [8, 40], проведя детальные исследования влияния различных возмущений на обмен глюкозы в клетках асцитной опухоли, показали, что при больших возмущениях для сильного изменения стационарного состояния метаболизма требуется время порядка 1—2 мин. Например, после прибавления 7,5 ммоль глюкозы содержание глюкозо-6-фосфата в системе увеличивается от очень низкого значения ($\approx 0,05$ ммоль на 1 г клеток) до нового стационарного значения, приблизительно равного 0,8 ммоль на 1 г клеток, примерно за 1 мин. Что касается взаимодействий между малыми молекулами и макромолекулами, то здесь (например, после изменения концентрации ингибитора) новое стационарное состояние достигается за время, измеряемое секундами. Даже если в переходный процесс включается реакция всей клетки на новое окружение, как в случае удаления индуктора из бактериальной культуры, то и тогда новое стационарное состояние достигается менее чем за 15 сек [65] (предполагается, что молекулы репрессора, участвующие в этом процессе, являются макромолекулами). Поскольку данное нами определение времени релаксации предусматривает значительно меньшие возмущения, чем указанные выше, кажется резонным предположить, что время релаксации метаболической системы будет лежать в интервале 10^{-1} — 10^{-2} сек.

Эта оценка опирается на наблюдения, проводившиеся над системами, сама природа которых, по-видимому, такова, что они могут находиться в истинно стационарном состоянии, т. е. достигать определенного состояния и оставаться в этом состоянии, пока не происходит дальнейшего изменения параметров. Однако существует класс динамических процессов, к которым этот метод анализа неприменим; и как раз эти процессы играют центральную роль во всем нашем подходе к динамической организации клетки. Речь идет о возможности колебательного режима деятельности метаболической системы, при котором концентрации некоторых метаболитов подвержены незатухающим периодическим изменениям. Спенглер и Снелл [90], например, показали, что колебания могут возникнуть в системе, в которой два фермента сопряжены взаимным ингибированием по типу обратной связи. Существование мета-

болических осцилляторов усложняет анализ временной организации клетки, так как в этих условиях необходимо учитывать влияние осцилляторов на динамику эпигенетической системы. И в этом случае ситуация зависит от соотношения времен релаксации метаболической и эпигенетической систем. Если, однако, колебания существенно влияют на динамику метаболической системы, наша оценка ее времени релаксации в 10^{-1} — 10^{-2} сек окажется, вероятно, слишком низкой. Этот вывод основан на возможности сложных взаимодействий в системах с нелинейными осцилляторами (а метаболические осцилляторы, конечно, нелинейны), для которых характерны субгармонические явления (см. гл. 7). Таким образом, даже если период метаболического осциллятора равен 1 или 2 мин и, значит, как мы вскоре увидим, находится за пределами динамического диапазона эпигенетической системы, явление деления частоты может дать колебания с любым периодом от 5 до 30 мин и более. Эти верхние значения уже близки к собственным временам эпигенетической системы, и, таким образом, метаболит, участвующий в относительно медленных колебаниях, может стать существенным динамическим элементом эпигенетических процессов.

Описанные наблюдения вынуждают нас всегда учитывать следующее: во-первых, строгое разделение различных систем в клетке невозможно; во-вторых, использование временного критерия для такого разделения предполагает чисто динамический подход к внутриклеточным процессам. Иными словами, «медленные» переменные должны быть включены в динамическую систему, имеющую время релаксации того же порядка, независимо от материальной природы этих переменных. Например, медленные изменения разности между окислительно-восстановительными потенциалами анимального и вегетативного полюсов, наблюдающиеся в оплодотворенном яйце после активации, продолжают несколько часов [5] и должны рассматриваться как эпигенетическое явление. Таким образом, при использовании временного критерия явление может быть отнесено к той или иной системе даже и в тех случаях,

когда детали его молекулярного механизма неизвестны. Однако на самом деле существует естественное разделение собственных времен ферментативных реакций и синтеза макромолекул, которое и составляет основу классификации, на которой базируется данное исследование. При обсуждении клеточных процессов трудно избежать употребления таких чисто таксономических терминов, как «малые молекулы» и «макромолекулы», хотя, строго говоря, времена релаксации связаны только со скоростью перехода между различными состояниями системы и не имеют никакого отношения к физической природе системы и ее компонентов.

Итак, рассматривая колебательные явления в метаболической системе, мы будем считать, что их частоты достаточно велики и что они лежат вне временного диапазона эпигенетической системы. В этом случае можно будет использовать допущение об относительной стационарности метаболической системы. Однако мы должны быть готовы к тому, что такой подход окажется совершенно неадекватным поставленной задаче, т. е. что динамическое разделение метаболической и эпигенетической систем внутри одной клетки не имеет смысла. В таком случае придется использовать значительно более сложные методы.

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКАЯ СИСТЕМА

В эпигенетической системе мы рассматриваем три основных процесса: биосинтез, диффузию и взаимодействие макромолекул. Время, нужное для синтеза одной молекулы белка, у бактерий равно приблизительно 5 сек [63]; у высших организмов оно возрастает до нескольких минут [56]. Согласно грубым оценкам, на синтез одной молекулы РНК требуется около 1 сек у бактерий и, возможно, около 1 мин у высших организмов.

Некоторое представление о времени релаксации эпигенетической системы у бактерий дает тот факт, что в культуре *Escherichia coli* синтез β -галактозидазы начинается через 4 мин после добавления β -галактозы; при индук-

ции других ферментов имеют место запаздывания того же порядка [73]. В клетках высших организмов периоды индукции значительно больше. Так, Фейгельсон и Грингард [23] показали, что в печени крысы синтез триптофанпирролазы начинается лишь через 2 час после внутривенного введения триптофана. Серия исследований, проведенная этими учеными, имеет для нас крайне существенное значение, так как они нашли четкое экспериментальное различие между временными характеристиками реакций двух систем клеток печени — метаболической и эпигенетической, согласно нашей терминологии. Первой реакцией ферментной системы на триптофан является активация апофермента, благодаря чему происходит насыщение апотриптофанпирролазы по отношению к ее железопротопорфириновому кофактору. Это характерная «метаболическая» реакция, не включающая синтеза макромолекул. Посредством введения небольшого количества триптофана можно показать, что время релаксации этого процесса имеет порядок нескольких минут, т. е. соответствует нашей оценке для метаболической системы. «Эпигенетическая» реакция, которую можно наблюдать приблизительно через 2 час после введения субстрата, как четко показали Фейгельсон и Грингард, включает синтез фермента *de novo*. При этом, очевидно, происходит и синтез гомологичной информационной РНК. Эти реакции весьма четко разделены во времени, и эпигенетический ответ можно обнаружить лишь после того, как в метаболической системе установится стационарное состояние [32]. Таким образом, время релаксации эпигенетической системы клеток печени должно составлять примерно 2 час. Итак, мы можем предположить, что время релаксации эпигенетической системы клетки лежит в диапазоне 10^2 — 10^4 сек (т.е. от 1,5 мин до 3 час) и варьирует в зависимости от типа клеток.

Мы уже отмечали, что эпигенетическую систему одиночной клетки можно рассматривать как часть среды, в которой находится ее метаболическая система, при условии, что разница между временами релаксации этих двух систем достаточно велика. Согласно нашим оценкам, обычно это условие выполняется, и, следовательно, концентрации макромолекул можно рассматривать как

постоянные или медленно меняющиеся параметры на отрезке времени, необходимом для метаболической реакции на малые стимулы. Однако если стимулы велики и длительны, то сначала может последовать быстрая реакция метаболической системы, а затем более медленное и, вероятно, более сильное изменение метаболических переменных, вызванное изменением концентраций макромолекул. Во время этой второй фазы реакции «параметры» метаболической системы изменяются, и время наблюдения должно быть увеличено по сравнению с тем, которое необходимо для регистрации первичной, метаболической реакции. Таким образом, в наших терминах этот процесс следует описывать как реакцию эпигенетической системы клетки. Величины, которые можно рассматривать как параметры на отрезках времени, характерных для метаболической системы, в более длительных процессах становятся переменными. В этих условиях «среда» метаболической системы становится частью некоторой более «крупной» системы, внешнее окружение которой в свою очередь составляют те величины, которые можно рассматривать как постоянные на временах, характерных для системы синтеза макромолекул. Кроме того, первоначальная реакция метаболической системы может вызвать (и обычно вызывает) медленное изменение концентраций макромолекул в результате таких процессов, как репрессия и ингибирование конечным продуктом. Сложное приспособление метаболического и макромолекулярного уровня к новым условиям осуществляется путем взаимодействия различных типов молекул. Весь этот процесс в целом можно рассматривать только как реакцию более высокоорганизованной системы, включающей и метаболиты, и макромолекулы, т. е. эпигенетической системы. Эта последняя, таким образом, содержит в себе метаболическую систему.

Если идти дальше, то в одиночной клетке, например в бактериальной клетке или у простейших, с помощью понятия времени релаксации можно выделить и генетическую систему. У многоклеточных организмов генетической системы одиночной клетки не существует. В этом случае генетическая система оперирует только на уровне целого организма; в то же время эпигенетическая си-

стема становится значительно более сложной и включает не только внутриклеточные процессы, о которых мы говорили выше, но и взаимодействие клеток и тканей. В этой книге мы не будем пытаться анализировать такие явления более высокого порядка. Поэтому представляется нецелесообразным пытаться классифицировать явления, которые можно динамически разделить, опираясь на времена релаксации эмбриологических и генетических процессов. Мы рассмотрим лишь некоторые общие свойства систем, определенных иерархически по этому признаку.

СООТНОШЕНИЯ МЕЖДУ СИСТЕМАМИ

Мы уже указывали, что эпигенетическая система содержит в себе метаболическую в том смысле, что все переменные последней системы входят в первую. Если бы нельзя было считать, что метаболическая система находится в стационарном состоянии во время изменения эпигенетических переменных, то эпигенетическая система должна была бы иметь значительно более сложную динамическую организацию, т. е. содержала бы значительно больше переменных и уравнений движения. Однако предположение о стационарности позволяет нам выразить переменные метаболической системы через эпигенетические переменные, поскольку эти последние, являясь существенными параметрами метаболической системы, тем самым определяют ее стационарное состояние. Таким образом, при условии, что стационарное приближение справедливо, можно исключить все метаболические переменные из динамических уравнений эпигенетической системы. Мы произведем такую редукцию в гл. 4, когда этот принцип будет показан более ясно на примере конкретных уравнений. Эта процедура вовсе не нова и используется в кинетике уже много лет. Единственное новое, что мы в нее вносим, это формализация условий, необходимых для справедливости такой редукции, — условий, которые мы определяем через времена релаксации.

Возможность исключения переменных низшего порядка (с более коротким временем релаксации) из уравнений

движения системы высшего порядка означает, что динамическое описание последней не должно быть более сложным, чем описание системы низшего порядка. Таким образом, не существует строгой связи между положением системы на временной шкале и ее сложностью. Так, математическое описание биофизической системы часто оказывается значительно более сложным, чем описание популяции случайно скрещивающихся особей, которую можно рассматривать как развивающийся генофонд. Еще показательнее тот факт, что некоторые эпигенетические процессы, например те, которые приводят к спиральному расположению семян в шишках хвойных, могут быть описаны с помощью малого числа начальных условий и закона роста, выражаемого рядом Фибоначчи [402], тогда как для описания динамики метаболических процессов, происходящих в той же шишке, требуется крайне сложная система уравнений. Аналогично, описать рост кораллового рифа, несомненно, значительно проще, чем описать метаболические, эпигенетические и генетические процессы в полипах, из скелетов которых строится риф. Здесь мы имеем огромную разницу во временах релаксации, так как для того, чтобы риф заметно вырос, нужны многие десятилетия, тогда как длительность жизни одного поколения коралловых полипов составляет несколько месяцев. Таким образом, если мы установим определенную иерархию систем в соответствии с их временами релаксации, то «групповые» свойства систем, включающих системы более низкого порядка, оказываются не более сложными, чем свойства систем-компонентов.

Выражаясь математически, эти системы образуют ряд, связанный соотношениями включения:

$$S_1 \subset S_2 \subset S_3 \subset \dots \subset S_n,$$

где, например, S_1 — метаболическая система, S_2 — эпигенетическая система, S_3 — генетическая система и т. д., вплоть до таких образований высокого порядка, как экологическая система, географическая система и т. д. Существенная разница между нашим определением системы по ее времени релаксации и различными критериями, предложенными Нэнни [70] для идентификации

внутриклеточных систем, заключается как раз в том, что мы исходим из способности системы высшего порядка включать систему низшего порядка, тогда как критерии Нэнни были направлены на то, чтобы произвести исключющее разделение компонент и процессов и получить две независимые системы: генетическую и эпигенетическую. Трудности такого подхода обсуждал Сэнд [89], который считал, что, вероятно, удобнее произвести разделение по процессам, нежели по системам. Критерий времен релаксации определяет систему как раз на основании динамической характеристики процесса и, таким образом, возможно, стоит ближе к удовлетворительной классификации биологических явлений.

Регуляторные системы и ритмические явления в клетке

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ РЕГУЛЯТОРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ

Достигнутые в последнее время успехи в исследовании механизмов функционирования клеточных систем, кодирования и регуляции биохимических процессов, послужившие причиной небывалого подъема биологии, обуславливают возможность создания единой и твердой основы для понимания внутриклеточных процессов. Наиболее важным результатом этих исследований можно считать доказательство того, что высокоспецифические механизмы, регулирующие концентрации и активность макромолекул, действуют по принципу обратной связи. Сигналы обратной связи, управляющие деятельностью макромолекул, передаются обычно с помощью малых, быстро диффундирующих молекул, принадлежащих по нашей терминологии к метаболической системе. После того как было показано, что метаболиты весьма специфически влияют на активность генов, причинная цепь ДНК — РНК — белок — метаболит оказалась замкнутой. Установлено, что эти метаболиты реагируют с высокой степенью специфичности с определенным генетическим локусом. Таким образом, состояние клетки регулируется значительно более точным механизмом, нежели обычная конкуренция, которой ранее приписывали основную роль в регуляции клеточных процессов. По-видимому, существуют петли связи и более короткие, чем от ДНК к метаболиту и назад к ДНК. Ингибирование ферментов продуктами реакции было обнаружено уже достаточно давно; возможно также, что метаболиты могут ингибировать информационную РНК на рибосомах. Новое, однако, состоит в том, что, как оказалось, ингибитор может не иметь никакого стереохимического сходства с нормальным субстратом [27].

Итак, имеется три уровня, на которых метаболиты могут специфически влиять на активность макромолекул: уровень ДНК — действие на синтез ДНК или РНК; уровень *m*-РНК — действие на синтез белка; уровень белка — действие на ферментативную активность или какую-либо другую функцию белка, например сократимость.

В данной книге наше внимание будет в основном обращено на первый уровень управления — регуляцию функции гена. Действие метаболитов на ферменты и другие макромолекулы лежит, собственно говоря, в рамках временного масштаба метаболической системы, как мы показали в предыдущей главе. Однако стационарное состояние метаболической системы определяется взаимодействием метаболитов и макромолекул, которое должно быть учтено при вычислении этого стационарного состояния. Эта проблема будет рассмотрена в следующей главе.

Обнаружение специфических, замкнутых причинных цепей в биохимической организации клетки не только облегчило понимание работы внутриклеточных регулирующих систем, но и обеспечило почву для теоретического анализа. До того как была понята истинная природа этих замкнутых цепей, единственной структурой, на которой могла бы базироваться теория внутриклеточного управления, было слабое, конкурентное взаимодействие биосинтетических процессов. Под слабым взаимодействием понимается конкуренция за субстраты, или предшественники, общие для двух или более биосинтетических, или метаболических, систем. В противоположность этому специфическое влияние малых молекул на каталитическую активность или другие свойства поверхности макромолекул мы будем называть «сильным взаимодействием». Недавно было обнаружено, что именно сильные взаимодействия составляют основу регуляторных процессов в живой клетке. Теории регуляции, формулируемые в терминах слабых взаимодействий, разбиваются на две группы соответственно тому, концентрируют ли они свое внимание на взаимодействиях в метаболической или в эпигенетической системе. Так, в теории, развитой Уоддингтоном [111, 112] и Кэксером [45], основ-

ное значение придается метаболическим взаимодействиям. Эти авторы показали, каким образом, исходя из конкуренции между двумя метаболическими путями за общий предшественник, можно объяснить установление различных стационарных уровней для концентраций двух метаболитов, имевших равные начальные концентрации. В этих работах было установлено, что для объяснения деятельности биологических систем могут быть привлечены и многие другие свойства открытых метаболических систем, скажем «буферная емкость» сложных метаболических систем по отношению к внешним возмущениям [45]. Однако эти свойства не имеют такого прямого отношения к проблеме регуляции биосинтеза, как конкуренция за общий предшественник.

Вопрос о том, как построить метаболический «переключающий» механизм, обеспечивающий сохранение одного из конкурирующих соединений и исчезновение другого или наоборот, всегда занимал важное место в кинетических исследованиях. При этом часто ссылаются на уравнения, полученные Денбигом, Хиксом и Пэйджем [15]. Основной особенностью этих уравнений является присутствие автокаталитических членов (которые могут, например, описывать самоактивацию таких ферментов, как трипсин или пепсин), а также учет «сильного» взаимодействия, или связи, между различными автокаталитическими процессами. Такие системы способны не только переключаться из одного состояния в другое в зависимости от начальных условий, но и совершать незатухающие колебания. Система такого типа, способная совершать колебания,— это система Лотка — Вольтерра. Подобные кинетические схемы, интересные сами по себе, трудно интерпретируются биохимически, поскольку в изученных биохимических системах отсутствуют требуемые типы связей между автокаталитическими реакциями. Однако нужно отметить, что область «сильных» взаимодействий между макромолекулами вообще и ферментами в частности сильно расширилась за последнее время благодаря исследованиям в области активации и ингибирования. В результате открылись колоссальные возможности для изучения различных типов динамики метаболической системы.

Однако в настоящее время кажется очевидным, что при рассмотрении резких переключений из одного состояния в другое, которые имеют место в клетках, нужно пользоваться терминами, описывающими эпигенетические регуляторные системы. Здесь имеются в виду процессы, происходящие в клетках микроорганизмов в ответ на изменение среды (индуцированный синтез ферментов при добавлении субстрата у бактерий, изменение поверхностных антигенов у *Paramecium* в ответ на изменение температуры [3]) или в эмбриональных клетках во время развития. Изучение таких скачков в биологических системах имеет чрезвычайно большое значение, поскольку одним из наиболее очевидных и ярких свойств биологического процесса является образование конечного ряда дискретных «точек органической стабильности» [2], которые образуются в первоначально недифференцированных или малодифференцированных системах. Так, в процессе эмбрионального развития образуются разные клетки и ткани, в процессе обучения у высших организмов — разные типы поведения, в ходе эволюции — разные виды и т. п. В последнее время стало ясно, что во всех этих случаях важное значение имеет какого-то рода конкуренция между компонентами системы. И действительно каждый раз удавалось четко показать, что движущей силой развития служит дарвиновский, или эволюционный, процесс, основанный на конкуренции и отборе. В эмбриологии эта идея, по-видимому, впервые появляется у Вильгельма Ру. Позже она была развита для внутриклеточных процессов Шпигельманом [91], подход которого можно назвать эпигенетическим, так как он сделал упор на регуляцию синтеза ферментов в процессе дифференцировки клеток, а не на регуляцию их активности. Работа Шпигельмана была выполнена до последних открытий в области молекулярных регуляторных систем, поэтому он ограничился рассмотрением «слабых» взаимодействий между процессами синтеза и подчеркивал цитоплазматические, т. е. неядерные, аспекты этих взаимодействий. Так, он исходил из конкуренции за предшественники между структурами, ответственными за биосинтез ферментов, и полагал, что образование той или иной системы ферментов в разви-

вающейся клетке зависит от того, насколько различные структуры, синтезирующие ферменты, способны к «выживанию» в среде с конкуренцией. Однако Уоддингтон [110] уже в то время придавал большее значение роли генов в регуляции эпигенетических процессов. Эта точка зрения более соответствует современным взглядам и является одним из исходных пунктов данного исследования. Но поскольку Уоддингтон пользовался представлением о слабом, конкурентном взаимодействии, ему трудно было создать что-либо большее, чем качественное описание, хотя в его работах внимание было сосредоточено, несомненно, на очень важных свойствах эпигенетических процессов.

СИЛЬНАЯ И СЛАБАЯ СВЯЗЬ

Несмотря на открытие специфических механизмов, управляющих синтезом макромолекул, нельзя, однако, игнорировать тот факт, что все биохимические процессы в клетке так или иначе связаны между собой. Именно эта связь обеспечивает органическое единство живой клетки. Мы попытаемся разделить эти связи на 2 класса. Связи первого типа образуют специфические системы управления, регулирующие состояние эпигенетической системы. Связи второго типа являются неспецифическими в том смысле, что они осуществляются между всеми без исключения биохимическими процессами в клетке. Например, выработка энергии в цикле Кребса и синтез ферментов глутаминсинтетазы и орнитинтранскарбамилазы, несомненно, как-то связаны между собой. Но можно ли сказать, что эта связь специфична, т. е. что существует *индивидуальная* зависимость синтеза каждого из этих ферментов от активности цикла Кребса, которую можно описать с помощью уравнений? Другими словами, можно ли сказать, что эта связь является сильной, т. е. что уровень глутаминсинтетазы специфически зависит от количества АТФ, вырабатываемого в цикле Кребса, и что уровень орнитинтранскарбамилазы также контролируется этой переменной, но как-то иначе, поскольку эти ферментные системы изменяются независимо друг

от друга? Конечно, АТФ может специфически контролировать и действительно контролирует синтез ферментов, участвующих в биосинтезе пуринов [59]. В этом случае АТФ действует в цепи обратной связи в качестве репрессора точно так же, как и другие конечные продукты цепей биосинтеза. Но совершенно очевидно, что действие АТФ как общего энергетического источника клетки неспецифично. Если количество АТФ в клетке ограничено, то это тормозит все синтетические процессы. По-видимому, не все в одинаковой степени, однако и не столь специфически, чтобы обеспечить селективное управление синтезом различных белков. Такой общий метаболит, как АТФ, может быть использован как фактор отбора специфических состояний эпигенетической системы только при наличии в клетке дополнительных, независимых и специфических регуляторных систем. Фликинджер [26] предложил теорию дифференцировки клеток, в которой высокоспецифичным и детерминированным компонентом системы является часовой механизм, управляющий деятельностью генов. Эта теория, предлагающая биохимическую интерпретацию компетенции, будет обсуждаться в гл. 8.

Таким образом, оказывается необходимым выделить два типа взаимодействий между переменными в клетке; мы назовем их сильными (или специфическими) и слабыми (неспецифическими) по аналогии с физической терминологией. Сильные взаимодействия могут быть строго описаны математически и образуют основу полностью детерминированной (не статистической) модели регуляторных систем клетки. Слабые взаимодействия не представлены в уравнениях явно, поскольку они не составляют четко выделенной части системы регуляции. Однако их следует считать существенной частью всей системы, так как в противном случае мы получим не модель целой клетки, а систему уравнений, описывающую динамику части клетки. Существенными эпигенетическими переменными в нашей теории являются *m*-РНК, белок и некоторые метаболиты. Эта система погружена в весьма сложную биохимическую среду, о динамических свойствах которой мы почти ничего не знаем. Однако ее влияние на существенные переменные должно быть каким-то

образом учтено, и поэтому слабые взаимодействия составляют существенную часть статистической механики, которая будет построена в гл. 5. Итак, в нашем подходе клетка делится на детерминированную часть, описываемую уравнениями, содержащими регуляторные переменные, и вероятностную часть — всю остальную клетку, от которой зависит синтез существенных переменных. С точки зрения динамики детерминированной эпигенетической системы регуляции эта «остальная клетка» ведет себя как «шум». Даже детерминированные цепи регуляторных реакций с сильной связью, работающие в метаболической системе, должны действовать как шум на эпигенетические переменные, так как, согласно предпосылкам, принятым в предыдущей главе, скорости метаболических процессов значительно выше, чем эпигенетических. И именно через эту шумовую среду осуществляется слабая связь между регуляторными переменными. Как будет показано в гл. 5, подход с позиций статистической механики точно соответствует подобной ситуации. При этом степень приближения теории к реальной системе зависит от того, насколько правильно выбраны существенные переменные и насколько точно уравнения описывают их динамику. Мы надеемся, что уравнения, выведенные в следующей главе, обеспечивают хотя бы качественное предсказание макроскопического поведения клетки и что их уточнение позволит перейти и к количественным предсказаниям.

КОЛЕБАТЕЛЬНЫЙ РЕЖИМ РАБОТЫ РЕГУЛЯТОРНЫХ СИСТЕМ

Теперь нас будет в основном интересовать возможность существования незатухающих колебаний концентраций веществ, включенных в замкнутые цепи регуляции. Такие колебания очень часто возникают в регуляторных системах с обратной связью. Инженеры называют их паразитными колебаниями, так как на них расходуется много энергии. Их обычно рассматривают как нежелательные и при конструировании следящих систем по возможности устраняют. Однако есть одно весьма замеча-

тельное исключение — самонастраивающиеся устройства, которые осуществляют непрерывный поиск для достижения состояния, оптимального согласно заданному критерию. В этом случае динамические колебания необходимы для эффективной работы устройства, и если они не появляются естественным путем, их нужно вызвать [103]. Эта соблазнительная аналогия все же не имеет столь прямого отношения к деятельности биологических систем, как может показаться с первого взгляда. Основное назначение колебаний в самонастраивающихся системах — это борьба с трением покоя, которое уменьшает чувствительность устройства к изменению внешних параметров. Кроме того, незатухающие колебания около положения равновесия увеличивают скорость отработки контуров, вычисляющих оптимизирующую функцию.

Эти аспекты не имеют прямого отношения к открытым биохимическим системам, которые всегда находятся в движении — даже если в них поддерживается стационарное состояние, оно обеспечивается непрерывным синтезом и распадом отдельных компонентов. Точно так же нет оснований думать, что биохимические «датчики» лучше отвечают на осциллирующий сигнал, чем на постоянный. Однако имеются все основания считать, что в замкнутых цепях с репрессией, включающих ДНК, РНК, белок и метаболиты, могут возникнуть колебания. В такой системе любое изменение (скажем, возрастание) скорости синтеза *m*-РНК в генетическом локусе окажет влияние на состояние метаболической системы с некоторой задержкой во времени. Это вызывается тем, что существует длинная цепь — синтез *m*-РНК, диффузия *m*-РНК к месту синтеза белка, синтез фермента, возможная диффузия фермента к месту метаболической активности и, наконец, ферментативная реакция, — и каждая стадия этой цепи требует некоторого времени. Поэтому повышение концентрации репрессора (или корепрессора), играющего роль обратного сигнала из метаболической системы в генетический локус, будет уменьшать скорость синтеза *m*-РНК с некоторым опозданием. При переходе из одного состояния в другое в такой системе обязательно возникнут колебания. Но эти колебания

будут затухающими, если временная задержка между синтезом *m*-РНК и метаболическим сигналом обратной связи достаточна мала или если в системе имеет место «самодемпфирование» (например, если скорость распада *m*-РНК является функцией ее концентрации). Может оказаться, что такие колебания являются помехой для адаптации и выживания, и тогда они могут быть подавлены теми же способами, какие используют инженеры для борьбы с паразитными колебаниями.

Однако имеются факты, показывающие, что в динамической организации клетки заложена некая фундаментальная периодичность. Эти факты накоплены в результате исследования ритмической деятельности клеток и организмов. В этой чрезвычайно быстро развивающейся в последние годы области были получены очень интересные и имеющие фундаментальное значение данные о природе и повсеместном распространении биологических часов. Наиболее активным сторонником представлений о колебательной природе временной организации биологических систем является Питтендрай [77]. Недавно он высказал предположение [78], что первичные колебания, лежащие в основе этой организации, возникают из-за наличия обратных связей в системах, регулирующих физиологическую активность: «Дарвиновский демон, несомненно, имеет дело со множеством физиологических колебательных процессов, поскольку во всех системах управления — от регулирования ритма сердечных сокращений до синтеза белка — существенным элементом является отрицательная обратная связь. А такие системы обладают врожденной способностью совершать колебания». Еще раньше подобные представления развивались Гастингсом и Суини [38]; А. Львов и М. Львов [58] проанализировали возможность тесной связи между процессами регулирования с обратной связью и ритмическими, или периодическими, явлениями в биологических системах на разных уровнях организации, обратив особое внимание на мышечное сокращение. В этих работах заложены основы будущей теории динамики биологических регуляторных процессов — теории, основные постулаты которой должны быть справедливы в весьма широкой области биологических проблем, от биофизиче-

ских до демографических, и даже в близко примыкающих к биологии областях, например в экономике.

Создание биологической «статистической механики» и «термодинамики» на основе кинетики периодических регуляторных систем было бы большим достижением теоретической и экспериментальной биологии. Исследование динамических систем, основанное на изучении периодических процессов, так же старо, как сама наука. Оно началось с наблюдений циклических движений небесных тел. Естественно, что математика разработала метод, соответствующий требованиям естественных наук, и теперь «гармонический анализ» занимает важнейшее место в высшей математике. Вообще человеческий ум устроен, по-видимому, таким образом, что он стремится представить все процессы в мире циклическими, как это делали создатели первых космогонических систем; другими словами, человек предпочитает описывать явления с помощью циклов.

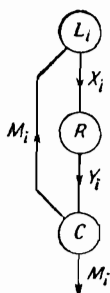
Как бы то ни было, существование периодических явлений в динамике сложных систем имеет огромное значение для изучения этих систем. В частности, это было показано Пуанкаре в его исследованиях по небесной механике: «Эти столь драгоценные периодические решения, так сказать, пробили брешь, позволяющую наконец проникнуть в область, до сих пор считавшуюся недоступной». Периодические решения могут обеспечить доступ и в общую динамику клеточных процессов — область науки, до сих пор также почти неприступную. Интересно отметить, что экологические работы Вольтерра [106] тоже имеют своей основой аналитическое исследование колебательных систем. Эти работы имели своей целью объяснить одно из наиболее ярких свойств экологических систем — колебания численности популяций. Вряд ли найдутся специалисты по экологии, которые станут вслед за Вольтерра приписывать взаимодействиям между хищником и жертвой решающую роль в общей экологической регуляции. В настоящее время гораздо большее значение приписывается наличию доступных источников пищи и физиологической регуляции воспроизведения и миграции. Такой подход гораздо ближе к представлениям о регуляции, основанным на принципе обратной связи.

Тем не менее математическая процедура, используемая в данной работе, многим обязана методологии Вольтерра и Пуанкаре, а также более поздним исследованиям в этой области, в особенности очень интересным работам Кернера [47, 48] по статистической механике систем Вольтерра. Периодические явления очень удобны для экспериментального и теоретического изучения, так как позволяют опираться на классические, хорошо разработанные методы наблюдения и анализа.

Динамика эпигенетической системы

СХЕМЫ ЦЕПЕЙ УПРАВЛЕНИЯ

В этой главе мы выведем дифференциальные уравнения, описывающие динамические свойства определенного класса систем, управляющих синтезом макромолекул в клетке. При этом, несмотря на несовершенство такого



Ф и г. 1.

подхода, мы будем оставаться в строго классических рамках, ограничиваясь анализом дифференциальных уравнений и их интегралов. Сначала нам нужно построить идеализированную модель метаболической регуляторной системы с обратной связью, которая включала бы существенные элементы реальной системы. Схема элементарного блока, который мы будем изучать, показана на фиг. 1. Символ L_i обозначает генетический локус, где происходит синтез m -РНК, количество которой равно X_i . Этот специфический «сигнал» поступает в субклеточную структуру R (рибосому), где происходит синтез специфического белка, количество которого обозначается Y_i . Затем белок поступает в некоторый участок C в клетке, где он регулирует уровень метаболизма, действуя как

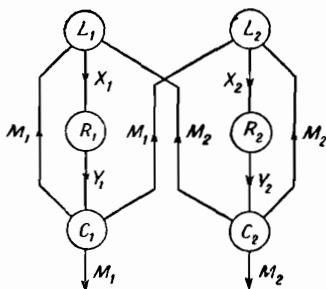
фермент или каким-либо иным способом (обычно мы будем считать, что Y_i — фермент). В результате действия фермента вырабатывается метаболит, количество которого обозначается M_i . Этот метаболит замыкает петлю обратной связи, так как часть его возвращается в генетический локус L_i и действует там как репрессор или как корепрессор. В последнем случае он взаимодействует с еще одной молекулой, которую можно назвать апорепрессором. Если существует отдельный локус-оператор, управляющий деятельностью локуса L_i , мы будем рассматривать его как часть самого локуса L_i .

Таков простейший тип структурной единицы, который мы будем рассматривать. Цепь управления в этом случае выглядит так: X_i управляет скоростью синтеза информационно гомологичного белка, Y_i управляет скоростью выработки i -го метаболита, а M_i управляет скоростью синтеза РНК i -го вида, а также участвует в метаболических реакциях. Эти величины мы считаем, таким образом, существенными переменными, характеризующими соответствующие биохимические реакции. Иными словами, предполагается, что другие факторы, ограничивающие скорость реакций, в частности размер субстратного или энергетического фондов, концентрации апорепрессоров и т. д., можно рассматривать как параметры в уравнениях для X_i , Y_i и M_i . Последнее означает, что эти величины остаются постоянными или изменяются весьма медленно по сравнению с существенными переменными. Ниже будут рассмотрены модификации этой основной схемы, например случай, когда биосинтез нескольких ферментов, образующих биохимическую цепь, регулируется с помощью параллельной репрессии.

Будут рассмотрены также более сложные ситуации, где взаимная репрессия сочетается с репрессией внутри одиночного блока (фиг. 2). Этим способом мы будем моделировать сильное взаимодействие. Здесь метаболит, контролируемый с помощью Y_1 , тормозит работу другого генетического локуса L_2 и обратно. Кроме того, мы коротко рассмотрим и более сложные схемы подобного типа.

Возможно, здесь следовало бы в общем виде рассмотреть вопрос о том, какие единицы должны быть использованы для измерения популяций макромолекул, а именно сле-

дует ли, скажем, считать количество m -РНК определенного вида непрерывно изменяющейся величиной или случайной функцией. Кроме того, следовало бы выяснить возможные функциональные соотношения между скоростями реакций и концентрациями макромолекул. Все эти вопросы играют фундаментальную роль в анализе



Ф и г. 2.

биохимических процессов. Однако на данном этапе мы будем считать все переменные непрерывными и отложим оценку величины переменных X_i и Y_i до гл. 6. Что касается единиц измерения, то ими будет служить в наших расчетах просто число молекул того или иного вида в клетке. Основания для введения столь непривычной единицы концентрации станут очевидны из гл. 6. Наша ближайшая цель — установить крайне приближенные функциональные отношения между переменными X_i , Y_i и M_i , которые описывали бы существенные динамические свойства выбранного нами типа регуляторных систем. После этого мы посмотрим, до какой степени следует «прикрыть наготу» этой модели, чтобы она выглядела биологически благопристойной, и каковы принципиальные ограничения нашего подхода.

УРАВНЕНИЯ РЕГУЛЯЦИИ СИНТЕЗА БЕЛКА

Рассмотрим сначала уравнения, описывающие скорость синтеза i -го белка, для которого регулирующей величиной является концентрация соответствующего вида

m-РНК. Запишем уравнения в виде

$$\frac{dY_i}{dt} = f_i(X_i, Y_i, M_i) - g_i(Y_i, M_i), \quad (1)$$

где $f_i(X_i, Y_i, M_i)$ — функция, описывающая скорость синтеза белка, а $g_i(Y_i, M_i)$ — функция, описывающая его распад. Простейшие возможные функции, удовлетворяющие требованиям нашей модели, имеют вид¹

$$f_i(X_i, Y_i, M_i) = \alpha_i X_i, \quad g_i(Y_i, M_i) = \beta_i.$$

Тогда

$$\frac{dY_i}{dt} = \alpha_i X_i - \beta_i. \quad (2)$$

Здесь $\alpha_i X_i$ представляет скорость синтеза белка, пропорциональную концентрации *m*-РНК. Скорость распада белка — β_i — принимается постоянной. Поскольку синтез белка является практически необратимым процессом, члены, описывающие обратные реакции на матрице, отсутствуют. Здесь можно отметить, что, как подчеркивал Эльзассер [22], способность катализатора регулировать химическую реакцию в существенной степени определяется ее необратимостью. Действительно, при термодинамическом равновесии катализатор не влияет на химическую реакцию и может играть роль «клапана» только в том случае, если процесс необратим. Таким образом, биохимические регуляторные системы могут быть только открытыми.

В уравнении (2) постоянная α_i является сложным параметром, зависящим от константы скорости синтеза *i*-го белка на матрице и концентрации предшественников этого синтеза, т. е. активированных аминокислот. Может показаться, что такое упрощение очень сложных биохимических процессов с самого начала обесценивает наш подход. Единственное свойство реального процесса, которое отражено в уравнении (2), — это зависимость скорости синтеза белка от количества *m*-РНК. Но поскольку мы собираемся исследовать именно эту связь, мы пока не пойдем дальше уравнения (2). Более общая форма уравнения (1) позволит произвести определенные модификации, если окажется, что они являются существенными.

¹ См. предисловие к русскому изданию, стр. 6. — *Прим. ред.*

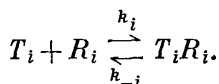
УРАВНЕНИЯ РЕГУЛЯЦИИ СИНТЕЗА m -РНК

Уравнения для m -РНК в общем виде имеют вид:

$$\frac{dX_i}{dt} = \varphi_i(X_i, Y_i, M_i) - \psi_i(X_i, Y_i, M_i), \quad (3)$$

где $\varphi_i(X_i, Y_i, M_i)$ и $\psi_i(X_i, Y_i, M_i)$ — функции, описывающие синтез m -РНК и ее распад соответственно. Примем, что кинетика репрессии синтеза m -РНК метаболитом M_i имеет в основном тот же характер, что и кинетика ингибирования ферментов. Это значит, что молекула репрессора или соответствующий комплекс обратимо связывается с матрицей и тем изменяет ее синтетическую активность. Предшественники m -РНК также обратимо связываются с матрицей. При построении нашей модели мы можем принять, что концентрация предшественника равна взвешенному среднему значению концентраций всех активированных нуклеотидов (обозначим это взвешенное среднее $\bar{A}_i$).

Согласно нашим представлениям, синтез m -РНК может происходить только на матрице, свободной от молекул репрессора. Следует подчеркнуть, что реакции, в которых макромолекулы образуют нековалентные комплексы с другими молекулами, всегда обратимы, даже если чрезвычайно малый размер популяции молекул не позволяет корректно определить константы равновесия для этих реакций. Реакция между матрицей T_i и репрессором R_i обычно записывается в виде



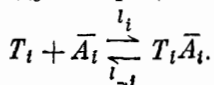
Тогда при равновесии, согласно классической кинетике, получаем

$$\frac{[T_i R_i]}{[T_i][R_i]} = \frac{k_i}{k_{-i}} = K_i, \quad (4)$$

где K_i — константа равновесия, а квадратные скобки означают концентрации. Мы воспользуемся таким подходом, хотя подобные уравнения могут оказаться недостаточно корректными для описания репрессии генетического локуса. Тем не менее почти во всех изученных системах с репрессией по типу обратной связи была обнаружена

непрерывная зависимость уровня фермента от концентрации репрессора (метаболита) в широком диапазоне изменения последней. Так, детальные исследования Горини и Массе [31] по репрессии орнитинтранскарбамилазы аргинином показали непрерывную зависимость интенсивности синтеза фермента от уровня метаболита в клетке. Эти данные свидетельствуют о том, что в системе устанавливается равновесие, описываемое уравнением (4), где эффективная концентрация матрицы обратно пропорциональна концентрации репрессора. Значение K_i может быть больше или меньше, в зависимости от сродства между T_i и R_i , но при этом, согласно выражению (4), в системе всегда имеется некоторое количество свободных матриц. Вероятность того, что матрица будет свободной в течение времени, достаточного для синтеза полной молекулы m -РНК, может быть очень мала. В этом случае данный локус был бы эффективно, т. е. статистически, «выключен»; однако при этом остается возможность «просачивания». Таким образом, очевидно, неправильно рассматривать индукцию и реPRESSION как события типа «да — нет» на молекулярном уровне, хотя это и принято при обсуждении проблем регулирования активности генов. Вероятно, триггерное поведение биохимических регуляторных систем является результатом слабых взаимодействий между большим числом элементарных контуров или (как будет показано ниже) следствием специфических сильных взаимодействий между двумя или более контурами. Однако трудно изобрести такую элементарную механическую реакцию, которая регулировала бы активность гена по типу «да — нет», т. е. была обратимой и вместе с тем допускала только два дискретных состояния — либо «да», либо «нет». Ниже мы покажем, каким образом такое дискретное поведение может быть получено в результате взаимодействий между элементарными биохимическими процессами, которые сами по себе непрерывны.

Реакцию между матрицей T_i и предшественником m -РНК, обозначенным $\bar{A}_i$, можно записать в том же виде, что и реакцию между матрицей и репрессором:



Тогда для равновесия мы снова имеем:

$$\frac{[T_i \bar{A}_i]}{[T_i][\bar{A}_i]} = \frac{l_i}{l-i} = L_i. \quad (5)$$

Если принять, что оператор и участок, кодирующий последовательность нуклеотидов m -РНК, расположены на матрице в одном и том же месте, т. е. что имеет место конкуренция между R_i и $\bar{A}_i$, то можно написать следующее выражение для полной концентрации матрицы:

$$[T_i]_0 = [T_i] + [T_i \bar{A}_i] + [T_i R_i]. \quad (6)$$

Используя уравнения (4—6), получим

$$[T_i]_0 = \frac{[T_i \bar{A}_i]}{L_i [\bar{A}_i]} + [T_i \bar{A}_i] + \frac{K_i [R_i] [T_i \bar{A}_i]}{L_i [\bar{A}_i]}.$$

Решив это уравнение относительно $[T_i \bar{A}_i]$, получим

$$[T_i \bar{A}_i] = \frac{[T_i]_0}{(1/L_i [\bar{A}_i]) + 1 + (K_i [R_i]/L_i [\bar{A}_i])},$$

или

$$[T_i \bar{A}_i] = \frac{L_i [\bar{A}_i] [T_i]_0}{1 + L_i [\bar{A}_i] + K_i [R_i]}. \quad (7)$$

Если мы примем, что R_i соединяется со специфическим участком матрицы T_i независимо от предшественника $\bar{A}_i$, то мы будем иметь неконкурентное ингибирование. Опуская выкладки, напишем окончательный результат для этого случая:

$$[T_i \bar{A}_i] = \frac{L_i [\bar{A}_i] [T_i]_0}{(1 + L_i [\bar{A}_i]) (1 + K_i [R_i])}. \quad (8)$$

Если считать и $[\bar{A}_i]$ и $[R_i]$ переменными, то разница между выражениями (7) и (8) окажется весьма существенной. Но мы будем считать концентрацию активированного предшественника $[\bar{A}_i]$ постоянным параметром системы или по крайней мере случайно меняющейся величиной. Тогда эти два выражения будут эквивалентны относительно $[R_i]$. Поэтому мы будем пользоваться выражением (7), помня, что константы в этом уравнении могут иметь иную

природу, нежели аналогичные константы в уравнениях кинетики ферментов.

Описанные выше методы анализа, основанные на поверхностной адсорбции, являются классическими, и их можно найти в любом курсе энзимологии. Недавно были разработаны новые представления о влиянии, которое могут оказывать на конформацию и активность макромолекул адсорбированные на них малые молекулы. Эти концепции, особенно введенное Моно и Жакобом [67] понятие об аллостерических эффектах в белках, могут привести к построению новой теории регуляции биологической активности макромолекул. Однако мы будем использовать более старые и более простые представления, которые приведут к выводу формул, весьма похожих на выражения, полученные Сцилардом [100] в его интереснейшей работе о внутриклеточной регуляции.

СВОЙСТВА СИГНАЛА ОБРАТНОЙ СВЯЗИ

Теперь мы должны вывести соотношение между концентрацией репрессора $[R_i]$ и концентрацией метаболита $[M_i]$. Здесь возникают два вопроса. Первый касается характеристики метаболического фонда, содержащего M_i . (Мы ограничимся случаем, когда M_i является конечным продуктом определенной цепи реакции, который поступает в некий метаболический фонд, служащий источником для различных реакций в клетке.) Как уже было сказано, только часть всего количества метаболита может играть роль репрессора и замыкать таким образом цепь обратной связи. Остальная часть поступает в метаболический «котел». Если величина $[M_i]$ относительно мала, то очень малое количество метаболита будет «переливаться» через край «котла» и локус L_i будет в сильной степени дерепрессирован. При увеличении же концентрации M_i все большая его часть будет работать как репрессор. Кинетика этого процесса может быть весьма сложной и зависит от свойств метаболического фонда. Ковье и Макклор [10] и совсем недавно Бриттен и Макклор [4] исследовали свойства метаболических фондов у микроорганизмов. Полученные ими результаты показывают, что, по-види-

мому, метаболиты, включенные во «внутренние» метаболические фонды и тесно связанные с биосинтетическими процессами, не находятся в свободном состоянии, а более или менее прочно связаны с белками. Таким образом, здесь мы опять встречаемся с адсорбцией малых молекул на поверхности макромолекул.

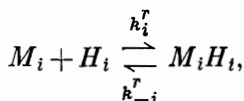
Однако в настоящее время о реальной кинетике поступления метаболитов в эти фонды и выхода их из фондов практически ничего не известно. Поэтому мы примем, что метаболические фонды обладают следующими свойствами. Фонд i -го метаболита имеет определенную емкость, которую мы обозначим S_i . Если полное количество i -го метаболита в клетке меньше емкости фонда, т. е. если $M_i < S_i$, то сигнал обратной связи равен нулю и репрессия отсутствует. Если же $M_i > S_i$, то избыток метаболита будет осуществлять репрессию прямо пропорционально некоторой степени разности ($M_i - S_i$). Таким образом, сигнал обратной связи выражается формулой:

$$\sigma_i [M_i - S_i]^n, \quad (9)$$

где σ_i — постоянная, а n — целое число. Для простоты мы впредь будем считать, что $n = 1$, т. е. что концентрация репрессора является линейной функцией от избытка метаболита (по сравнению с емкостью его фонда). Но, вообще говоря, можно провести исследование для любого целого n . Будем считать, что емкость S_i постоянна относительно времени релаксации эпигенетической системы, хотя ее величина может в некоторой степени меняться в зависимости от состояния клетки. Тогда кинетическая модель клеточных метаболических фондов становится весьма простой. Здесь мы еще раз должны выразить надежду, что наша модель отражает все существенные качественные стороны изучаемого процесса и что в рамках этой модели в случае необходимости может быть произведена дальнейшая детализация.

При обсуждении механизма репрессии мы сталкиваемся еще с одним вопросом: действует ли метаболит на генетический локус прямо или он сначала соединяется с апорепрессором, как это предполагают Парди, Жакоб и Моно [74]? Если апорепрессор отсутствует, то величина R_i в уравнении (7) просто равна $\sigma_i [M_i - S_i]$. Если же мета-

Болит должен образовать комплекс с белком, чтобы дать активный репрессор, то необходимо учитывать реакцию



где H_i — апорепрессор, а комплекс $M_i H_i$ является активным репрессором, R_i . Приняв, что полная концентрация H_i равна $[H_i]_0$, мы с помощью уже знакомой процедуры получим следующее выражение для концентрации активного репрессора:

$$[M_i H_i] = \frac{K_i^r (M_i) [H_i]_0}{1 + K_i^r (M_i)}, \quad \text{где} \quad K_i^r = \frac{k_i^r}{k_{-i}^r}.$$

В этом уравнении (M_i) есть концентрация доступного метаболита, т. е. метаболита, способного вступать в реакцию с апорепрессором H_i . По предположению (M_i) равно $\sigma_i [M_i - S_i]$; тогда

$$[R_i] = [M_i H_i] = \frac{K_i^r \sigma_i [M_i - S_i] [H_i]_0}{1 + K_i^r \sigma_i [M_i - S_i]}. \quad (10)$$

Пусть скорость синтеза m -РНК будет прямо пропорциональна концентрации активированного комплекса предшественника и матрицы, которая определяется уравнением (7). Тогда можно записать

$$\varphi_i(X_i, M_i) = \frac{k_i' L_i [\bar{A}_i] [T_i]_0}{1 + L_i [\bar{A}_i] + K_i [R_i]},$$

где k_i' — либо постоянная, либо функция X_i . В данной главе мы будем считать k_i' постоянной; последнее означает, что m -РНК не влияет на скорость собственного синтеза. Тогда k_i' является константой скорости синтеза m -РНК. В гл. 8 мы будем рассматривать модифицированную систему уравнений, где k_i' будет функцией X_i . Далее мы примем, что $\psi_i(X_i, M_i)$ также является постоянной, которую обозначим b_i . Это значит, что распад m -РНК происходит с постоянной скоростью. Тогда уравнение (3) можно записать в следующем виде:

$$\frac{dX_i}{dt} = \frac{a_i'}{B_i + K_i [R_i]} - b_i. \quad (11)$$

Здесь $a'_i = k'_i L_i [\bar{A}_i] [T_i]_0$ и $B'_i = 1 + L_i [\bar{A}_i]$. Если мы будем считать, что $[R_i]$ выражается формулой (9), то уравнение примет вид

$$\frac{dX_i}{dt} = \frac{a'_i}{B'_i + K_i \sigma_i [M_i - S_i]} - b_i.$$

Если, однако, использовать для $[R_i]$ выражение (10), то (11) принимает вид

$$\begin{aligned} \frac{dX_i}{dt} &= \frac{a'_i (1 + K_i^r \sigma_i [M_i - S_i])}{B_i (1 + K_i^r \sigma_i [M_i - S_i]) + K_i K_i^r \sigma_i [M_i - S_i] [H_i]_0} - b_i = \\ &= \frac{a'_i (1 + K_i^r \sigma_i [M_i - S_i])}{B_i + (B_i K_i^r \sigma_i + K_i K_i^r \sigma_i [H_i]_0) [M_i - S_i]} - b_i. \end{aligned}$$

Произведем следующее преобразование:

$$\begin{aligned} &\frac{a'_i (1 + K_i^r \sigma_i [M_i - S_i])}{B_i + (B_i K_i^r \sigma_i + K_i K_i^r \sigma_i [H_i]_0) [M_i - S_i]} = \\ &= \frac{a'_i}{B_i + K_i [H_i]_0} \left\{ \frac{K_i [H_i]_0}{B_i + (B_i + K_i [H_i]_0) \sigma_i K_i^r [M_i - S_i]} + 1 \right\}. \end{aligned}$$

Тогда дифференциальное уравнение будет иметь тот же вид относительно $[M_i - S_i]$, что и уравнение, полученное в предположении $[R_i] = \sigma_i [M_i - S_i]$, хотя константы в этом уравнении имеют другую природу. Итак, запишем уравнение в виде

$$\frac{dX_i}{dt} = \frac{a_i}{B_i + m_i [M_i - S_i]} - b_i; \quad (12)$$

если в реакции репрессии принимает участие апорепрессор, постоянные a_i , B_i , m_i и b_i могут быть весьма сложными функциями многих элементарных констант.

УРАВНЕНИЯ РЕГУЛЯЦИИ ДЛЯ МЕТАБОЛИТА

Итак, мы предположили, что концентрация метаболита M_i определяется концентрацией белка Y_i . Это значит, что Y_i представляет собой переменную, ограничивающую скорость синтеза M_i . Рассмотрим случай, когда M_i является конечным продуктом реакционной цепи, из которой

он поступает в общий метаболический фонд. Тогда мы получим наипростейшую кинетическую схему, уравнение которой имеет вид (опустим в данном случае квадратные скобки):

$$\frac{dM_i}{dt} = r_i Y_i - s_i M_i,$$

где s_i — константа скорости реакции распада M_i , которая имеет первый порядок, а параметр r_i — сложная константа, зависящая от констант скорости элементарных стадий, концентрации субстрата и константы Михаэлиса для реакции, продуктом которой является M_i .

Теперь мы применим обычный для кинетики прием, используя нашу идею о временах релаксации. Как было указано в гл. 2, переменные Y_i и M_i принадлежат к разным системам: первая — к эпигенетической, вторая — к метаболической. Поэтому различие между скоростями их изменения очень велико. Вследствие этого мы можем считать, что M_i находится в стационарном состоянии во время изменения Y_i , т. е. можно написать

$$\frac{dM_i}{dt} = r_i Y_i - s_i M_i = 0. \quad (13)$$

Благодаря этому M_i можно выразить через Y_i и заменить выражением $r_i Y_i / s_i$ во всех формулах, где оно встречается. Этот прием, позволяющий редуцировать число переменных в системе, используется в кинетике уже много лет под названием метода стационарных концентраций. Уже первоначальное уравнение Михаэлиса — Ментен для кинетики ферментативного катализа было получено с помощью этого метода. Однако в этом, как и в других случаях, законность использования метода стационарных концентраций ставилась под сомнение. Поэтому Бриггс и Холдейн произвели исследование кинетики ферментативного катализа, не используя предположения о стационарности концентраций промежуточных соединений. Обсуждение вопроса о временах релаксации в гл. 2 имело своей целью как раз установление критериев, обеспечивающих корректность применения метода стационарных состояний. Одновременно был сформулирован принцип, позволяющий выделить различные классы динамических систем.

Если мы будем учитывать ингибирование конечным продуктом, т. е. уменьшение активности Y_i под влиянием M_i , то уравнения можно записать в виде

$$\frac{dM_i}{dt} = \frac{r_i Y_i}{C_i + h_i M_i} - s_i M_i.$$

Принимая концентрацию M_i стационарной, получим

$$s_i M_i (C_i + h_i M_i) - r_i Y_i = 0,$$

откуда

$$M_i = \frac{-s_i C_i \pm \{(s_i C_i)^2 + 4s_i h_i r_i Y_i\}^{1/2}}{2s_i h_i}.$$

Здесь только один из корней положителен:

$$\begin{aligned} M_i &= \frac{-s_i C_i}{2s_i h_i} \left[1 - \sqrt{\left(1 + \frac{4h_i r_i Y_i}{s_i C_i^2} \right)} \right] = \\ &= \frac{C_i}{2h_i} \left[\sqrt{\left(1 + \frac{4h_i r_i Y_i}{s_i C_i^2} \right)} - 1 \right]. \end{aligned}$$

Итак, становится ясным, что учет деталей возможных взаимодействий между Y_i и M_i привел бы к весьма сложным соотношениям. Однако и в этом случае мы воспользуемся простейшим возможным соотношением между Y_i и M_i , следующим из уравнения (13).

Возвращаясь к уравнению (12) и заменяя M_i на $r_i Y_i / s_i$, получим

$$\frac{dX_i}{dt} = \frac{a_i}{A_i + k_i Y_i} - b_i,$$

где $k_i = \frac{m_i r_i}{s_i}$ и $A_i = B_i - m_i S_i$.

УРАВНЕНИЯ ДИНАМИКИ ЭЛЕМЕНТАРНОГО БЛОКА УПРАВЛЕНИЯ

Предыдущее уравнение вместе с уравнением (2) образуют систему, описывающую динамическое поведение элементарного блока управления, представленного на фиг. 1. Ниже будет показано, что эта система описывает нелинейный осциллятор без затухания. Все более сложные системы будут построены на основе этой схемы, и их

динамика будет иметь те же основные характеристики, хотя наличие большего числа внутренних связей обеспечит этим системам существенно новые свойства. Теперь мы вкратце рассмотрим динамику переменных X_i и Y_i , определяемых системой уравнений

$$\left. \begin{aligned} \frac{dX_i}{dt} &= \frac{a_i}{A_i + k_i Y_i} - b_i \\ \frac{dY_i}{dt} &= \alpha_i X_i - \beta_i. \end{aligned} \right\} \quad (14)$$

Эти уравнения можно заменить одним:

$$(\alpha_i X_i - \beta_i) \frac{dX_i}{dt} + \left(b_i - \frac{a_i}{A_i + k_i Y_i} \right) \frac{dY_i}{dt} = 0.$$

Проинтегрировав его, получим

$$\begin{aligned} \alpha_i \frac{X_i^2}{2} - \beta_i X_i + b_i Y_i - \frac{a_i}{k_i} \log(A_i + k_i Y_i) &\equiv \\ &\equiv G_i(X_i, Y_i) = \text{const.} \end{aligned} \quad (15)$$

Теперь покажем, что этот интеграл определяет замкнутые траектории в пространстве переменных (X_i, Y_i) , т. е. что мы имеем колебательную систему. Постоянная интегрирования выражается через начальные значения переменных, т. е. через величины $(X_i)_0, (Y_i)_0$, которые должны быть строго положительными. Поскольку эти величины конечны, $G_i(X_i, Y_i)$ также должно быть конечной величиной. Это значит, что обе переменные, X_i и Y_i , ограничены сверху (снизу они ограничены нулем), поскольку интеграл G_i является монотонно возрастающей функцией X_i и Y_i , когда эти величины превосходят свои стационарные значения (т. е. значения, при которых dX_i/dt и dY_i/dt обращаются в нуль). Последнее означает, что $G_i(X_i, Y_i)$ возрастает с увеличением X_i и (или) Y_i , что нетрудно проверить. Отсюда ясно, что X_i и Y_i должны оставаться ограниченными при конечных начальных значениях.

В действительности мы можем пойти дальше и показать, что ни одна из переменных не может всегда сохранять величину, превосходящую ее стационарное значение. Обозначим эти стационарные значения через p_i и q_i , тогда

они будут определяться уравнениями

$$\left. \begin{aligned} \frac{a_i}{A_i + k_i q_i} - b_i &= 0 \\ \alpha_i p_i - \beta_i &= 0 \end{aligned} \right\}, \quad (16)$$

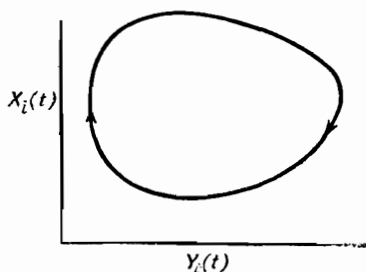
где по определению p_i и $q_i > 0$. Далее нужно принять, что $a_i/A_i > b_i$, поскольку a_i/A_i — скорость синтеза m -РНК в отсутствие репрессии. Эта скорость должна превышать скорость распада m -РНК, так как в противном случае соответствующая m -РНК будет отсутствовать в клетке.

Возвращаясь к системе (14), можно показать, что если $X_i > p_i$, то $dY_i/dt > 0$. Тогда, если X_i будет всегда оставаться больше p_i , то Y_i будет неограниченно возрастать, стремясь к ∞ . Мы уже показали, что это невозможно. Следовательно, X_i не может всегда оставаться больше p_i .

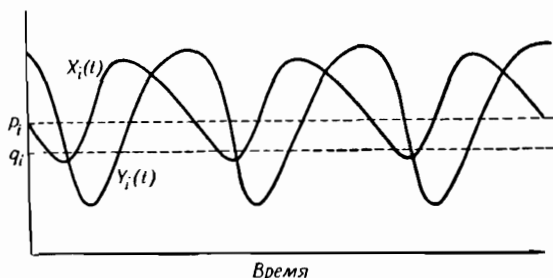
Если, возрастая, Y_i станет больше q_i , то, как легко заметить из уравнений (14) и (17), dX_i/dt станет меньше нуля. Тогда X_i начнет уменьшаться. Теперь нам нужно показать, что X_i не может все время оставаться меньше p_i .

Если $X_i < p_i$, то $dY_i/dt < 0$. Тогда Y_i будет убывать и в некоторый момент мы получим $Y_i < q_i$. Это неравенство будет сохраняться, пока будет выполнено условие $X_i < p_i$, поскольку $dY_i/dt < 0$. Но если $Y_i < q_i$, то $dX_i/dt > 0$, и следовательно, X_i должно возрастать. Тогда мы получаем противоречие: если мы будем поддерживать неравенство $X_i < p_i$ неопределенно долго, то dX_i/dt станет и будет оставаться положительным и, следовательно, X_i будет неограниченно возрастать. Следовательно, X_i не может всегда оставаться меньше p_i . Тем же способом можно рассмотреть Y_i и q_i . Итак, мы приходим к выводу, что переменные должны колебаться около своих стационарных значений p_i и q_i ; при этом они не должны принимать свои стационарные значения одновременно. В последнем случае как dX_i/dt , так и dY_i/dt будут одновременно равны нулю и система будет находиться в стационарном состоянии.

Форма замкнутых фазовых траекторий этой системы была исследована на аналоговой машине и приведена на фиг. 3. Колебательные изменения X_i и Y_i во времени показаны на фиг. 4. Ясно видно, что эти колебания далеки



Ф и г. 3.



Ф и г. 4.

от линейных и, кроме того, непохожи на те нелинейные колебания, которые встречаются в механике. Впрочем, вряд ли следует удивляться тому, что функции, полученные из биологических соображений, отличны от функций, встречающихся в механических системах. Поэтому весьма интересно изучить свойства этих новых осцилляторов. Источником нелинейности в системе (14) является член, описывающий репрессию и стоящий в знаменателе. Этот член получен в предположении, что репрессия является следствием поверхностной адсорбции такого типа, который характерен для функционирования макромолекул.

Пусть индекс i пробегает все значения от 1 до n ; тогда мы получаем систему, состоящую из n пар переменных (всего $2n$ переменных), причем каждая пара переменных описывает замкнутый контур, аналогичный представ-

ленному на фиг. 1. Теперь представим себе, что эти n компонентов слабо связаны между собой благодаря тому, что они погружены в среду, в которой метаболические фонды являются общими для этих компонентов. Это значит, что предшественники m -РНК и белка для каждого компонента поступают из общих метаболических фондов активированных нуклеотидов и аминокислот, а метаболиты M_i в свою очередь поступают в общие метаболические фонды. (Эти метаболические фонды имеют, конечно, биохимическую природу, без какой-либо строгой пространственной локализации в клетке. Они представляют некий тип метаболической «бани», в которую погружены эпигенетические компоненты.)

Таким образом, мы разделили клетку на n систем, каждая из которых сама регулирует стационарный уровень концентраций своих m -РНК, белка и метаболита. При этом они связаны между собой только слабыми взаимодействиями, заключающимися в конкуренции за предшественники из общих метаболических фондов. Такая модель все еще весьма далека от биохимической организации реальной клетки, и с ее помощью вряд ли можно получить какие-либо интересные сведения о макроскопическом поведении клетки. Эта грубая модель, вероятно, даже дальше от реальной системы, чем совокупность твердых шариков от реального газа. Однако некоторые наиболее существенные расхождения между идеализированной моделью, описанной выше, и тем, что мы знаем сегодня о реальной клетке, можно устранить, не затрагивая фундаментальной структуры модели. Для этого систему следует усложнить способом, указанным на фиг. 2, где приведена структура, включающая «сильные» взаимодействия между компонентами. Таким путем может быть получена структура, богатая внутренними связями, и модель приобретает ту сложность, которая так характерна для организации клетки. Более того, будет чрезвычайно интересно изучить следствия возрастающей сложности модели, начиная от простейшего случая, поскольку при этом мы сможем увидеть, как по мере добавления к простейшей, или «идеальной», системе управления новых связей появляется все более цельная и высокоорганизованная временная структура.

АНАЛОГИИ С КЛАССИЧЕСКОЙ МЕХАНИКОЙ

Чтобы закончить анализ этой идеальной системы (идеальной с точки зрения теоретика, но отнюдь не с точки зрения клетки) и получить интеграл в более удобной форме, чем уравнение (15), произведем замену переменных, переносящую стационарную точку в начало координат. Введем

$$Q_i = A_i + k_i q_i.$$

Поскольку $b_i = a_i/Q_i$ и $\beta_i = \alpha_i p_i$ [система (16)], мы можем написать уравнения (14) в виде

$$\begin{aligned}\frac{dX_i}{dt} &= b_i \left(\frac{Q_i}{A_i + k_i Y_i} - 1 \right), \\ \frac{dY_i}{dt} &= \alpha_i (X_i - p_i).\end{aligned}$$

Введем новые переменные:

$$\begin{aligned}x_i &= X_i - p_i, \\ 1 + y_i &= \frac{1}{Q_i} (A_i + k_i Y_i).\end{aligned}$$

Тогда уравнения примут вид

$$\left. \begin{aligned}\frac{dx_i}{dt} &= b_i \left(\frac{1}{1 + y_i} - 1 \right) \\ \frac{dy_i}{dt} &= c_i x_i\end{aligned} \right\}. \quad (17)$$

При этом интеграл системы будет выглядеть следующим образом:

$$G_i(x_i, y_i) = -\frac{c_i x_i^2}{2} + b_i [y_i - \log(1 + y_i)] = \text{const.} \quad (18)$$

Новые переменные могут принимать отрицательные значения, но они ограничены снизу величиной $-p_i$ для x_i и $(A_i/Q_i - 1)$ для y_i . То, что $[(A_i/Q_i) - 1]$ — отрицательная величина, легко проверить, подставив вместо Q_i его явное выражение:

$$\frac{A_i}{A_i + k_i q_i} - 1 = \frac{-k_i q_i}{A_i + k_i q_i}.$$

Новые переменные достигают своих нижних пределов, когда $X_i = 0$, $Y_i = 0$, т. е. при достижении нижних пределов старыми переменными. Верхних же пределов для этих переменных не существует.

В случае системы, состоящей из n пар уравнений типа (14), мы будем иметь для каждой пары интеграл вида (18). Таким образом, если рассматривать все n пар как единую систему, помещенную в метаболическое пространство описанным выше способом, то общий интеграл движения может быть написан в виде

$$G(x_1, x_2, \dots, x_n; y_1, y_2, \dots, y_n) \equiv \sum_{i=1}^n G_i(x_i, y_i) = \text{const}, \quad (19)$$

где $G_i(x_i, y_i)$ есть интеграл вида (18) для i -й пары. Общий интеграл G будет играть в нашем исследовании ту роль, которую интеграл энергии играет в классической механике. В следующих двух главах мы построим статистическую механику. Здесь мы только отметим, что в случае этой простой системы, состоящей из n слабо взаимодействующих компонентов, интеграл G имеет весьма простую форму: он представляет собой сумму n интегралов одного и того же вида. Это аналогично случаю идеального газа, где для каждой из n молекул можно написать интеграл энергии. При включении сильных взаимодействий между компонентами G становится более сложным и уже не допускает разбиения на n независимых функций.

Для того чтобы получить систему (17) из общего интеграла G , мы можем воспользоваться, как легко проверить, следующими уравнениями:

$$\left. \begin{aligned} \frac{dx_i}{dt} &= -\frac{\partial G}{\partial y_i} = b_i \left(\frac{1}{1+y_i} - 1 \right) \\ \frac{dy_i}{dt} &= \frac{\partial G}{\partial x_i} = c_i x_i \end{aligned} \right\}. \quad (20)$$

Эти уравнения формально идентичны уравнениям Гамильтона в динамике, где x_i соответствуют импульсам p_i , а y_i — координатам q_i . Таким образом, наша система из $2n$ уравнений первого порядка уже записана в «гамиль-

тоновой» форме. Поэтому нам не нужно производить никаких преобразований для того, чтобы получить систему канонически сопряженных переменных импульсов и координат. Точно так же можно провести полную аналогию между системой (20) для $i=1, 2, \dots, n$ и ньютоновскими уравнениями движения. Для этого заметим, что

$$\frac{d^2 y_i}{dt^2} = c_i \frac{dx_i}{dt},$$

откуда можно получить

$$\frac{d^2 y}{dt^2} = c_i b_i \left(\frac{1}{1+y_i} - 1 \right).$$

Эти уравнения второго порядка аналогичны ньютоновским уравнениям движения, выражающим зависимость ускорения от приложенной силы. Исходя из этих уравнений, мы можем получить функцию, идентичную G с точностью до коэффициентов, тем же способом, что и Гамильтон. Однако такая процедура будет искусственной и ненужной, поскольку функция Гамильтона G получается непосредственно из уравнений (17), давая нам, таким образом, основу для построения статистической механики.

Однако небезынтересно показать, что уравнения (20) могут быть получены с помощью вариационного принципа, аналогичного принципу Гамильтона в механике. Рассмотрим функцию

$$\Delta = \frac{1}{2} \left[\sum_i x_i \dot{y}_i - \sum_i \dot{x}_i y_i \right] - G(x, y) \\ \left(\dot{x}_i = \frac{dx_i}{dt}, \dot{y}_i = \frac{dy_i}{dt} \right).$$

Приравняем нулю вариацию интеграла от Δ , взятого в постоянных пределах:

$$\delta \int_{t_1}^{t_2} \Delta dt = 0.$$

Это выражение справедливо только в том случае, если

x_i и y_i удовлетворяют уравнениям Эйлера — Лагранжа

$$\frac{d}{dt} \frac{\partial \Delta}{\partial \dot{x}_i} - \frac{\partial \Delta}{\partial x_i} = 0,$$

$$\frac{d}{dt} \frac{\partial \Delta}{\partial \dot{y}_i} - \frac{\partial \Delta}{\partial y_i} = 0.$$

Приравнивая частные дифференциалы нулю по отдельности, получим

$$\frac{1}{2} (-\dot{y}_i - \dot{y}_i) + \frac{\partial G}{\partial x_i} = 0,$$

$$\frac{1}{2} (\dot{x}_i + \dot{x}_i) + \frac{\partial G}{\partial y_i} = 0,$$

или

$$\dot{y}_i = \frac{\partial G}{\partial x_i},$$

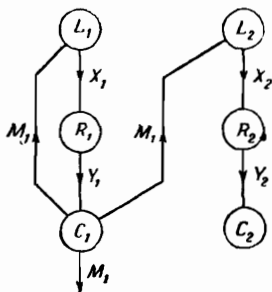
$$\dot{x}_i = -\frac{\partial G}{\partial y_i},$$

т. е. как раз уравнения (20). Таким образом, отправляясь от уравнений динамики для простой эпигенетической системы управления, можно получить вариационный принцип, аналогичный принципу наименьшего действия. Однако в дальнейшем мы не будем его использовать, поскольку при построении статистической механики в следующей главе будет введен значительно более общий принцип.

БОЛЕЕ СЛОЖНЫЕ СТРУКТУРЫ ЦЕПЕЙ УПРАВЛЕНИЯ

Прежде чем выводиться уравнения для цепей управления с сильной связью, мы рассмотрим, каким образом можно видоизменить элементарную схему, чтобы заполнить наиболее очевидные пробелы в нашей теории. Известно, что многие структурные белки, например коллаген, кератин, белок хрусталика и т. д., метаболически инертны или почти инертны. Поэтому в отличие от ферментов они не могут генерировать сигнал обратной связи. Однако возможно, что продукты частичного распада таких метаболически инертных белков могут действовать

в качестве репрессоров. Это предположение подкрепляется данными о регулирующем действии низкомолекулярных полипептидов, из которых наиболее известными являются брадикинин и каллидин (см., например, [21]). Возможность существования управляющих систем такого типа, конечно, не может быть исключена, однако существует другая схема управления, которая более соответ-



Ф и г. 5.

ствует современным представлениям о роли метаболитов во внутриклеточной регуляции. Эта схема показана на фиг. 5. Здесь метаболит M_1 , вырабатываемый ферментом Y_1 , действует как репрессор не только на локус L_1 , но и на локус L_2 , т. е. на структурный ген, регулирующий синтез метаболически неактивного белка Y_2 . Используя ту же процедуру, что и при выводе уравнений (14), получим систему уравнений, описывающую схему на фиг. 5:

$$\left. \begin{aligned} \frac{dX_1}{dt} &= \frac{a_1}{A_1 + k_1 Y_1} - b_1 \\ \frac{dY_1}{dt} &= \alpha_1 X_1 - \beta_1 \\ \frac{dX_2}{dt} &= \frac{a_2}{A_2 + k_2 Y_1} - b_2 \\ \frac{dY_2}{dt} &= \alpha_2 X_2 - \beta_2 \end{aligned} \right\} \quad (21)$$

Здесь Y_1 является единственной переменной в правой части уравнения для dX_2/dt . В то же время пара (X_1, Y_1)

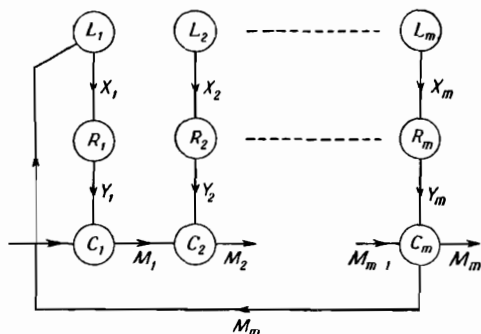
по-прежнему составляет автономную систему, описывающую нелинейный осциллятор. Это значит, что dX_2/dt также является периодической функцией времени с тем же периодом, что и Y_1 . Однако наличие периодических изменений скорости синтеза m -РНК в локусе L_2 не означает, что сами переменные X_2 и Y_2 обязательно должны испытывать колебания около фиксированных средних значений. Эти переменные могут, например, неограниченно возрастать; при этом колебания будут накладываться на монотонно возрастающую кривую. Или, наоборот, величина этих переменных может постепенно уменьшаться до нуля. Конкретное поведение переменных X_2 и Y_2 определяется значениями параметров a_2 , A_2 , k_2 и b_2 . «Ведомый» осциллятор будет стабильным (т. е. значения его переменных будут ограничены сверху и снизу положительными числами) только при условии, что при $Y_1 = q_1$ величина $dX_2/dt = 0$. Но в общем случае уравнения (21) не позволяют определить, будет ли пара (X_2, Y_2) стабильной. Мы можем только сказать, что в поведении неавтономных переменных X_2 и Y_2 будет проявляться периодичность, задаваемая автономным осциллятором, описываемым первой парой уравнений. У нас есть способы несколько изменить уравнения, с тем чтобы обеспечить стабильность неавтономной пары, однако при этом потребуются дополнительные предположения о кинетике синтеза макромолекул.

Вместе с тем можно рассматривать величины X_2 и Y_2 как эпигенетические переменные, которые вовсе не обязательно должны находиться в стационарном состоянии. В зависимости от среднего значения переменной Y_1 переменная X_2 , а следовательно, и Y_2 может или возрастать, или убывать. Тогда можно было бы рассматривать эти величины как компоненты клетки, претерпевающей дифференцировку. Если многие системы клетки будут путем репрессии оказывать влияние на пару (X_2, Y_2) , то стабильность этих компонентов будет зависеть от средних значений многих переменных. Таким образом, станет возможной ситуация, при которой часть переменных находится в стационарном состоянии, а часть необратимо изменяется, возрастая или убывая. Направление этого изменения будет определяться эпигенетиче-

ским состоянием, которое в свою очередь будет зависеть от компонентов, составляющих саморегулирующиеся внутриклеточные системы с замкнутыми петлями обратной связи. Таким способом эпигенетическая система клетки может быть разделена на автономную и неавтономную части, аналогично тому как Вейсс и Каванау [116] разделили клетку на «генеративную массу» (репродуктивную часть) и «дифференцированную массу». Однако нужно подчеркнуть, что при термодинамическом описании эпигенетической системы, которое будет разработано в следующей главе, неавтономные переменные не учитываются. Последнее объясняется отсутствием общего интеграла у системы (21). Здесь мы опять сталкиваемся с ограничениями, присущими классической динамике, которые могут быть преодолены лишь с помощью более общей теории.

Второй недостаток простой системы, состоящей из n независимых структурных единиц, связан с обстоятельством, прямо противоположным тому, которое обсуждалось выше. Речь идет о том, что метаболиты, вырабатываемые некоторыми ферментами, не действуют в качестве сигнала обратной связи, регулирующего синтез m -РНК. Кажется вероятным, что репрессорами могут быть только метаболиты, расположенные в ключевых точках биологических путей. Какие именно точки в сложной сети метаболических путей оказываются ключевыми, это, по-видимому, в такой же мере определяется историей эволюции, как и логикой метаболизма. Часто такими ключевыми соединениями оказываются конечные продукты метаболических цепей [59, 104]. Здесь имеются в виду те конечные продукты, которые имеют относительно долгое время жизни в метаболической системе (долгое по сравнению с нестабильными промежуточными соединениями, часто встречающимися в метаболических цепях). Эти продукты нередко являются точками ветвления метаболических цепей, и выгода от их выбора в качестве регуляторов очевидна. Однако такой ключевой метаболит репрессирует не только генетический локус, ответственный за синтез того последнего фермента в цепи реакций, который и вырабатывает этот продукт. Он регулирует также деятельность ферментов, расположенных в начале цепи. Эту ситуацию можно приблизительно изобразить

схемой, представленной на фиг. 6. Здесь локусы $L_1, L_2, \dots, L_m$ (пока мы предполагаем, что эти локусы не связаны между собой и не могут все управляться одним оператором, например по схеме, предложенной Жакобом и др. [44]) осуществляют синтез ферментов, образующих метаболическую цепь, конечным продуктом которой является M_m . Предположим сначала, что M_m действует только на локус L_1 и что «узким местом» всей



Ф и г. 6.

цепи является выработка первого метаболита M_1 . Это значит, что фактором, определяющим скорость процессов во всей цепи, является концентрация фермента Y_1 . Ясно, что только в этом случае управляющая система будет чувствительна к концентрации M_m и регулировать размер метаболического фонда согласно потребности клетки в этом метаболите. Если бы скорость лимитировалась другим ферментом цепи, скажем Y_i , который нечувствителен к действию M_m , то размер метаболического фонда ограничивал бы именно Y_i и адаптивная обратная связь отсутствовала бы.

Однако в настоящее время представляется вероятным [30, 106], что в действительности конечный продукт M_m может репрессировать несколько локусов или даже все локусы в цепи. Таким образом, лимитировать скорость процесса в цепи и тем самым контролировать уровень метаболита M_m могут в зависимости от условий в клетке различные ферменты. В этих условиях петля

связи может замыкаться по-разному при различных состояниях клетки, но если уровень метаболита M_m должен регулироваться цепью ферментов, производящих этот метаболит, то существенно, чтобы какая-то замкнутая петля всегда сохранялась. В таком случае система принципиально соответствует схеме, изображенной на фиг. 6.

Если использовать простейшие предположения о кинетике процесса, то скорость накопления M_1 будет выражаться уравнением

$$\frac{dM_1}{dt} = c_1 Y_1 - \frac{k_2 Y_2 M_1}{K_2 + M_1}.$$

Здесь $c_1 Y_1$ — скорость синтеза M_1 ферментом, концентрация которого равна Y_1 . Второй член в правой части описывает действие следующего фермента, присутствующего в концентрации Y_2 , причем K_2 — соответствующая константа Михаэлиса, а k_2 — константа скорости. Соответствующее выражение для M_2 имеет вид

$$\frac{dM_2}{dt} = \frac{k_2 Y_2 M_1}{K_2 + M_1} - \frac{k_3 Y_3 M_2}{K_3 + M_2}.$$

Уравнение для третьей и последующих стадий получается соответствующей заменой индексов; выпишем последние две стадии:

$$\begin{aligned} \frac{dM_{m-1}}{dt} &= \frac{k_{m-1} Y_{m-1} M_{m-2}}{K_{m-1} + M_{m-2}} - \frac{k_m Y_m M_{m-1}}{K_m + M_{m-1}}, \\ \frac{dM_m}{dt} &= \frac{k_m Y_m M_{m-1}}{K_m + M_{m-1}} - c_m M_m, \end{aligned}$$

где $c_m M_m$ — скорость удаления M_m из метаболического фонда. Используя метод стационарных концентраций применительно к уравнениям для метаболитов, получим следующие соотношения:

$$\begin{aligned} c_1 Y_1 - \frac{k_2 Y_2 M_1}{K_2 + M_1} &= 0, \\ \frac{k_2 Y_2 M_1}{K_2 + M_1} - \frac{k_3 Y_3 M_2}{K_3 + M_2} &= 0, \\ &\vdots \\ \frac{k_{m-1} Y_{m-1} M_{m-2}}{K_{m-1} + M_{m-2}} - \frac{k_m Y_m M_{m-1}}{K_m + M_{m-1}} &= 0, \\ \frac{k_m Y_m M_{m-1}}{K_m + M_{m-1}} - c_m M_m &= 0. \end{aligned}$$

Суммируя все эти уравнения, мы получим

$$c_1 Y_1 - c_m M_m = 0, \quad \text{или} \quad M_m = \frac{c_1 Y_1}{c_m}.$$

Этот результат показывает, что если Y_1 определяет скорость процесса в цепи, то M_m является линейной функцией Y_1 . Если мы добавим в уравнение члены, отражающие малую утечку метаболитов на отдельных стадиях процесса, и тем приблизим модель к реальности, то выражение для M_m примет вид

$$M_m = \frac{c_1 Y_1 - d}{c_m},$$

где

$$d = \sum_{i=1}^m d_i$$

(d_i — потери на i -й ступени). Очевидно, что $d < c_1 Y_1$, так как в противном случае $M_m = 0$. Другими словами, если утечка промежуточных продуктов превышает их приток, зависящий от Y_1 на первой стадии, то конечный продукт отсутствует.

Таким образом, система уравнений, описывающая динамику пары (X_1, Y_1) , согласно фиг. 6 и нашим первоначальным допущениям, будет иметь вид

$$\begin{aligned} \frac{dX_1}{dt} &= \frac{a_1}{B_1 + m_1 (M_m - S_m)} - b_1, \\ \frac{dY_1}{dt} &= \alpha_1 X_1 - \beta_1. \end{aligned}$$

Первое уравнение приводится к виду

$$\frac{dX_1}{dt} = \frac{a_1}{B_1 + m_1 \left(\frac{c_1 Y_1 - d}{c_m} - S_m \right)} - b_1 = \frac{a_1}{A_1 + k_1 Y_1} - b_1,$$

где

$$\begin{aligned} A_1 &= B_1 - m_1 \left(\frac{d}{c_m} + S_m \right), \\ k_1 &= \frac{m_1 c_1}{c_m}. \end{aligned}$$

Таким образом, эти уравнения имеют ту же форму, что и система (14), и следовательно, динамическое поведение пары (X_1, Y_1) имеет, по существу, тот же характер, что и поведение простейшей системы. Рассмотрим теперь динамику остальных пар (X_i, Y_i) этой цепи. Во-первых, рассмотрим локус, который может отвечать на сигнал обратной связи M_m , но сам не регулирует его величину с помощью фермента, ограничивающего скорость реакции. Этот локус будет вовлекаться в колебания под действием сигнала M_m точно так же, как метаболически инертные компоненты, о которых говорилось выше, под действием соответствующего репрессора. В этом случае также невозможно определить, исходя из общих соображений, будет ли концентрация белка, синтезированного в этом локусе, ограничена сверху или нет, так как уравнения не позволяют установить какой-либо верхний предел для этой величины. Однако в этом случае фермент, чей генетический локус регулируется с помощью репрессии конечным продуктом, никогда не исчезает из системы, т. е. всегда существует нижняя граница для этой переменной. Это вызвано тем, что при уменьшении концентрации любого фермента, например Y_r , он в конце концов начинает определять скорость процесса во всей цепи. Тогда этот фермент начинает играть решающую роль в динамике цепи и пара (X_r, Y_r) начинает колебаться около некоторого стационарного состояния точно так же и по той же причине, что и пара (X_1, Y_1) , колебательное движение которой было исследовано ранее. Однако наши предпосылки недостаточны для того, чтобы разрешить вопрос о стабильности всех компонентов цепи, даже если все локусы регулируются метаболитом M_m . Мы можем сделать только следующие выводы: по крайней мере одна пара переменных из ряда $\{X_i, Y_i; i = 1, \dots, m\}$ будет испытывать стабильные колебания вокруг стационарного состояния; все переменные ограничены снизу строго положительной величиной; изменения всех переменных во времени содержат периодическую составляющую, однако некоторые из переменных могут неограниченно возрастать. (Конечно, в реальных системах переменные всегда ограничены хотя бы просто размерами и ресурсами клетки. Когда мы говорим о неогра-

ниченности или нестабильности какой-либо внутриклеточной переменной, мы подразумеваем поведение, аналогичное поведению таких конститутивных мутантов, у которых нормальный механизм регуляции синтеза какого-либо белка нарушен и этот белок всегда присутствует в максимальной концентрации.) Итак, в случае так называемой параллельной репрессии при сделанных нами допущениях всегда должны возникать колебания концентрации конечного продукта M_m . Однако при различных состояниях клетки полная активность всей цепи будет контролироваться разными компонентами. Это приводит к своеобразному вырождению эпигенетических состояний системы, при котором ее можно описать без особенных математических затруднений.

Если генетические локусы, соответствующие некоторым ферментам в цепи, не подвержены репрессии, то состояние этих локусов просто не зависит от каталитической активности ферментов цепи (поскольку мы предполагаем отсутствие связи между локусами $L_1, L_2, \dots, L_m$). Если в цепи имеются локусы такого типа, то их активность будет зависеть только от концентрации предшественников. Но если такой локус входит в цепь, изображенную на фиг. 6, то количество фермента, им синтезируемого, не должно быть фактором, ограничивающим скорость процесса в цепи. В противном случае цепь не будет управляться сигналом обратной связи. Однако неуправляемый локус может служить ограничителем, определяющим максимальную концентрацию M_m . Это означает, что при полной дерепрессии скорость будет лимитироваться ферментом, синтезируемым «свободным» локусом. Тогда динамика системы становится очень простой: система оказывается в стационарном состоянии, а обратная связь уже не действует. Весьма вероятно, что подобная ситуация осуществляется в клетке при условиях, оптимальных для роста, например в бактериальных клетках в период экспоненциального роста. В этот момент динамика клетки максимально необратима и многие тонкие регуляторные механизмы оказываются выключенными из-за насыщения. Здесь еще раз следует подчеркнуть, что главной целью данной работы является не исследование динамики таких находящихся в «насы-

щении» систем, а изучение динамики внутриклеточных механизмов управления в стационарном состоянии или в период, когда клетка непрерывно и медленно адаптируется к изменяющимся условиям среды.

В случае когда локусы $L_1, L_2, \dots, L_m$ сцеплены в одном участке хромосомы, что, по-видимому, имеет место у сальмонеллы [13], появляется другая возможность. Такая группа сцепленных генов может контролироваться одним оператором, примыкающим к L_1 . Однако в этом случае деятельность локусов не будет управляться индивидуально, и поэтому лимитирующим фактором в цепи может оказаться не концентрация фермента Y_1 , а концентрация какого-либо другого фермента, скажем Y_l , или даже различных ферментов при различных условиях, как уже говорилось при обсуждении множественной репрессии. Однако существование единого оператора для всей цепи позволяет рассматривать всю группу сцепленных генов как одну элементарную единицу. Если фермент Y_l лимитирует выработку M_m , то он тем самым управляет степенью репрессии всей группы и, следовательно, локуса L_l . Таким образом, мы вновь имеем замкнутый контур, динамика которого идентична динамике простейшей схемы, описываемой уравнениями (14).

Хотя выше мы показали, что наша простейшая модель может быть приспособлена ко многим ситуациям в клетке (их число даже больше, чем кажется на первый взгляд), тем не менее она все еще весьма далека от реальной системы. Часть ограничений, связанных с этой моделью, будет устранена при обсуждении систем с сильной связью. Однако есть более существенные расхождения, которые определяются тем, что мы имеем дело с моделью гомогенной, а не гетерогенной системы. Эта проблема будет вкратце обсуждена в конце главы, после того как мы исследуем системы с сильными связями. Однако, как уже отмечалось, для того чтобы разведать пути теоретического и экспериментального подхода к столь сложной проблеме, необходимо применить методы строго классического анализа и только после этого можно перейти к значительно более сложному функциональному анализу, который, скорее всего, и обеспечит успех теории.

СИСТЕМЫ С СИЛЬНОЙ СВЯЗЬЮ

Обращаясь к проблеме сильных связей между автономными компонентами, рассмотрим сначала ситуацию, изображенную на фиг. 2. Здесь метаболит M_1 репрессирует не только локус L_1 , но также и второй локус, L_2 , а метаболит M_2 в свою очередь действует и на L_2 , и на L_1 . Мы снова примем, что репрессия может быть описана выражением, аналогичным изотерме адсорбции. Кроме того, будем считать, что оба метаболита конкурируют за одно и то же место в каждом из локусов. Местом репрессии является «оперон»; существование таких оперонов у *E. coli* было показано генетическими методами в работах Пастеровского института. Мы пошли дальше, предположив, что различные репрессоры конкурируют за один и тот же оператор оперона. Применим процедуру, аналогичную той, которая была использована при выводе выражения (7), но будем учитывать действие второго репрессора R_2 на локус L_1 ; тогда мы получим следующее уравнение для концентрации комплекса матрица — предшественник, осуществляющего синтез m -РНК:

$$[T_1 \bar{A}_1] = \frac{L_1 [\bar{A}_1] [T_1]_0}{1 + L_1 [\bar{A}_1] + K_{11} [R_1] + K_{12} [R_2]}.$$

Здесь константы имеют то же значение, что и в уравнении (7), но вместо K_1 мы пишем K_{11} , а K_{12} есть константа равновесия в реакции между R_2 и T_1 . Выражение для концентрации комплекса матрица — предшественник для синтеза m -РНК второго вида аналогично первому:

$$[T_2 \bar{A}_2] = \frac{L_2 [\bar{A}_2] [T_2]_0}{1 + L_2 [\bar{A}_2] + K_{21} [R_1] + K_{22} [R_2]}.$$

Используя соотношения между R_i и M_i , которые привели к уравнению (12), мы в данном случае получим следующие выражения для скорости синтеза m -РНК:

$$\begin{aligned} \frac{dX_1}{dt} &= \frac{a_1}{B_1 + m_{11} [M_1 - S_1] + m_{12} [M_2 - S_2]} - b_1, \\ \frac{dX_2}{dt} &= \frac{a_2}{B_2 + m_{21} [M_1 - S_1] + m_{22} [M_2 - S_2]} - b_2, \end{aligned}$$

где m_{ij} — параметры, аналогичные m_i в уравнении (12).

Теперь опять используем метод стационарного состояния, чтобы выразить M_1 и M_2 через Y_1 и Y_2 . Будем считать, что между этими величинами имеется линейная зависимость, как и в случае, которому соответствует уравнение (13). Тогда окончательно дифференциальные уравнения для системы, изображенной на фиг. 2, будут иметь вид:

$$\left. \begin{aligned} \frac{dX_1}{dt} &= \frac{a_1}{A_1 + k_{11}Y_1 + k_{12}Y_2} - b_1 \\ \frac{dX_2}{dt} &= \frac{a_2}{A_2 + k_{21}Y_1 + k_{22}Y_2} - b_2 \\ \frac{dY_1}{dt} &= \alpha_1 X_1 - \beta_1 \\ \frac{dY_2}{dt} &= \alpha_2 X_2 - \beta_2 \end{aligned} \right\} \quad (22)$$

Уравнения, описывающие синтез белка, имеют тот же вид, что и для случая невзаимодействующих систем, так как на уровне синтеза белка никаких сильных взаимодействий не предполагалось.

Система (22) описывает одиночную динамическую систему со связями, для которой мы теперь выведем интеграл. Обозначим стационарные значения, как и раньше, (p_1, q_1) и (p_2, q_2) , тогда

$$\frac{a_1}{A_1 + k_{11}q_1 + k_{12}q_2} - b_1 = 0,$$

$$\frac{a_2}{A_2 + k_{21}q_1 + k_{22}q_2} - b_2 = 0,$$

$$\alpha_1 p_1 - \beta_1 = 0,$$

$$\alpha_2 p_2 - \beta_2 = 0.$$

Обозначим

$$Q_1 = A_1 + k_{11}q_1 + k_{12}q_2$$

и

$$Q_2 = A_2 + k_{21}q_1 + k_{22}q_2.$$

Чтобы проинтегрировать эту систему, нужно сначала выполнить следующее линейное преобразование:

$$x_1 = X_1 - p_1,$$

$$x_2 = X_2 - p_2,$$

$$\gamma_1 + y_1 = \frac{\gamma_1}{Q_1} (A_1 + k_{11}Y_1 + k_{12}Y_2),$$

$$\gamma_2 + y_2 = \frac{\gamma_2}{Q_2} (A_2 + k_{21}Y_1 + k_{22}Y_2),$$

где γ_1 и γ_2 — вспомогательные постоянные, которые будут ниже определены через истинные параметры системы. После преобразования система приобретает вид:

$$\frac{dx_1}{dt} = \frac{a_1}{Q_1} \left(\frac{Q_1}{A_1 + k_{11}Y_1 + k_{12}Y_2} - 1 \right) = b_1 \left(\frac{\gamma_1}{\gamma_1 + y_1} - 1 \right),$$

$$\frac{dx_2}{dt} = \frac{a_2}{Q_2} \left(\frac{Q_2}{A_2 + k_{21}Y_1 + k_{22}Y_2} - 1 \right) = b_2 \left(\frac{\gamma_2}{\gamma_2 + y_2} - 1 \right),$$

$$\frac{dy_1}{dt} = \frac{\gamma_1}{Q_1} \left(k_{11} \frac{dY_1}{dt} + k_{12} \frac{dY_2}{dt} \right) = \frac{\gamma_1}{Q_1} (k_{11}a_1x_1 + k_{12}a_2x_2),$$

$$\frac{dy_2}{dt} = \frac{\gamma_2}{Q_2} \left(k_{21} \frac{dY_1}{dt} + k_{22} \frac{dY_2}{dt} \right) = \frac{\gamma_2}{Q_2} (k_{21}a_1x_1 + k_{22}a_2x_2).$$

Эта система интегрируется, если

$$\frac{\gamma_1 k_{12} a_2}{Q_1} = \frac{\gamma_2 k_{21} a_1}{Q_2},$$

т. е. коэффициенты «взаимной связи» должны быть равны. Возьмем

$$\gamma_1 = Q_1 k_{21} a_1 \quad \text{и} \quad \gamma_2 = Q_2 k_{12} a_2.$$

Тогда уравнения примут вид

$$\left. \begin{aligned} \frac{dx_1}{dt} &= b_1 \left(\frac{\gamma_1}{\gamma_1 + y_1} - 1 \right) \\ \frac{dx_2}{dt} &= b_2 \left(\frac{\gamma_2}{\gamma_2 + y_2} - 1 \right) \\ \frac{dy_1}{dt} &= k_{21} a_1 (k_{11} a_1 x_1 + k_{12} a_2 x_2) \\ \frac{dy_2}{dt} &= k_{12} a_2 (k_{21} a_1 x_1 + k_{22} a_2 x_2) \end{aligned} \right\} \quad (23)$$

Интеграл этой системы можно записать в следующей форме:

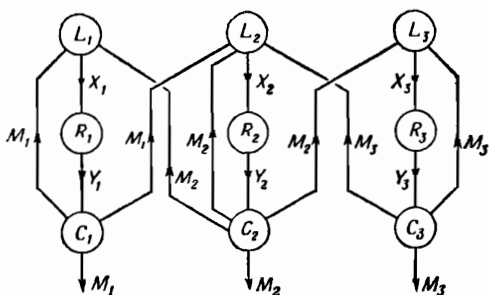
$$G(x_1, x_2, y_1, y_2) \equiv \\ \equiv k_{11}k_{21}\alpha_1^2 \frac{x_1^2}{2} + k_{12}k_{21}\alpha_1\alpha_2 x_1 x_2 + k_{22}k_{12}\alpha_2^2 \frac{x_2^2}{2} + \\ + b_1[y_1 - \gamma_1 \log(1 + y_1/\gamma_1)] + b_2[y_2 - \gamma_2 \log(1 + y_2/\gamma_2)]. \quad (24)$$

Легко проверить, что уравнения (23) получаются из следующих уравнений в частных производных:

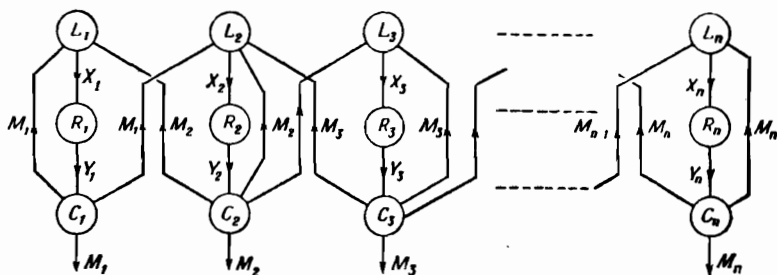
$$\left. \begin{aligned} \dot{x}_1 &= -\frac{\partial G}{\partial y_1} & \dot{y}_1 &= \frac{\partial G}{\partial x_1} \\ \dot{x}_2 &= -\frac{\partial G}{\partial y_2} & \dot{y}_2 &= \frac{\partial G}{\partial x_2} \end{aligned} \right\} \quad (25)$$

Таким образом, введение в модель сильного взаимодействия в виде взаимной репрессии математически выражается появлением в интеграле члена $x_1 x_2$. Как станет ясно из гл. 7, это чрезвычайно существенно для поведения системы. Однако слабость нашей теории состоит в том, что для того, чтобы система с сильными связями имела интеграл, она должна быть симметрична, т. е. не только M_1 должен действовать на L_2 , но и M_2 должен действовать на L_1 . Случай несимметричной связи, которая, по-видимому, часто имеет место в реальных системах, может быть получен в рамках этой теории только асимптотически, для чего один из коэффициентов — k_{12} или k_{21} — следует считать очень малым.

Теперь ясно, каким способом можно строить более сложные сети из элементов, сильное взаимодействие которых обеспечивается взаимной репрессией. Система, представленная на фиг. 7, обладает следующей степенью сложности по сравнению с той, которая была изображена на фиг. 2. Однако на этой схеме можно видеть новое ограничение, вызванное требованием интегрируемости. В то время как L_2 может взаимодействовать как с L_1 , так и с L_3 , эти локусы могут взаимодействовать только с L_2 , но не между собой. Это ограничение вызвано отсутствием симметрии у коэффициентов взаимной связи, т. е. $k_{ij} \neq k_{ji}$ при $i \neq j$. Действительно, нет оснований



Ф и г. 7.



Ф и г. 8.

предполагать, что такая симметрия существует, поскольку сродство разных репрессоров к разным локусам скорее всего совершенно различно. Для того чтобы получить интегрируемую систему, мы должны сделать члены, выражающие взаимную связь, равными, умножая их на соответствующие коэффициенты, подобные γ_1 и γ_2 для предыдущего случая. Последнее возможно лишь для взаимодействия, описываемого схемой на фиг. 7 (см. ниже).

Если мы перейдем к системам произвольного размера с сильным взаимодействием между компонентами, схема примет вид, показанный на фиг. 8. Структура этой схемы опять ограничивается условиями интегрируемости, так что допускаются лишь взаимодействия с соседями. Ясно, что это условие, удобное для математики, является слабым местом нашей теории. Если бы мы допустили суще-

ствование всевозможных взаимодействий между компонентами, не накладывая никаких ограничений на параметры, нам пришлось бы использовать другую аналитическую процедуру, которая не допускает использования интегралов движения и, таким образом, не дает возможности построить статистическую механику. Попытку такого рода сделал Сугита [97], который моделировал биохимические системы в виде структур, аналогичных нейронным сетям Мак-Каллока — Питтса [62], и использовал методы теории автоматов. Методы такого типа приложимы к очень широкому классу сложных систем, «микроскопическая» структура которых точно не определена, и есть все основания считать, что их использование для описания биохимических систем определенного типа приведет к важным результатам. Однако ясно, что, прежде чем теорию автоматов можно будет применить для описания биохимических систем, она должна быть разработана на основе многозначной логики или, еще лучше, на основе исчисления, оперирующего непрерывными, а не дискретными переменными. Последнее определяется тем, что биохимические процессы существенно непрерывны в отличие от нервных импульсов, которые подчиняются закону «все или ничего». По-видимому, теория автоматов будет развита в нужном направлении в ближайшие годы, так как интенсивность исследований в этой области весьма велика. Тогда анализ биохимических процессов, использующий такие понятия, как мажоритарные органы, избыточность и надежность, несомненно, сыграет важную роль в понимании внутриклеточных процессов.

Большое значение для исследования биологических систем имеет появившаяся недавно очень интересная работа Винограда и Коуэна [118], которые произвели анализ работы автоматических вычислительных устройств с позиций теории информации. В нашем случае результаты, полученные этими исследователями, могут быть использованы для изучения изменения и распределения стационарных значений p_i , q_i , существование которых мы просто постулировали. При таком подходе стационарные значения, возможно, следует рассматривать как вероятности использования различных видов m -РНК

и белков для передачи некоторого эпигенетического «сообщения». В этом случае функцией внутриклеточной структуры является декодирование и надежная реализация программы эмбрионального развития, которая частично заключена в системе, а частично вырабатывается в ходе развития. Подобный подход предусматривает такую степень общности, которая отсутствует в нашей работе. Он дает возможность рассматривать системы с любыми видами взаимодействия между компонентами, т. е. учитывать как возбуждение, так и торможение (индукцию и репрессию). Однако расплатой за такую общность является потеря способности предсказывать. Действительно, конкретные результаты, которые могут быть получены на основе современной теории автоматов, весьма ограничены. Кроме того, эти результаты являются алгебраическими, т. е. логическими, и не описывают динамику системы, которой мы прежде всего интересуемся в данной работе. В своем современном состоянии теория автоматов весьма удобна для описания систем со сложной, но недетализированной структурой взаимодействий. Например, теоремы о надежности могут быть использованы в системах с большой избыточностью. Условие высокой избыточности, несомненно, выполняется во многих биологических системах; однако рассматриваемые здесь внутриклеточные биохимические системы управления явно содержат большое количество строго детерминированных компонентов. Поэтому наилучшим образом такая система может быть описана с помощью полностью детерминированной динамики и статистической механики. При необходимости этот метод может быть обобщен путем использования функционального анализа и применения инвариантов более общего вида, чем интегралы движения. Такой подход дает возможность избежать как полной детерминированности молекулярных деталей структуры и функции клетки, с одной стороны, так и полного отсутствия детального микроскопического описания — с другой. Кроме того, и, наверно, это более важно, такой подход позволяет сделать некоторые определенные предсказания, допускающие экспериментальную проверку. А в конечном счете эксперимент является единственным судьей всякой научной теории.

Теперь получим интеграл системы, изображенной на фиг. 7. Используя ту же процедуру, что и при выводе уравнений (22), мы получим для трехкомпонентной структуры следующую систему уравнений:

$$\left. \begin{aligned} \frac{dX_1}{dt} &= \frac{a_1}{A_1 + k_{11}Y_1 + k_{12}Y_2} - b_1 \\ \frac{dX_2}{dt} &= \frac{a_2}{A_2 + k_{21}Y_1 + k_{22}Y_2 + k_{23}Y_3} - b_2 \\ \frac{dX_3}{dt} &= \frac{a_3}{A_3 + k_{32}Y_2 + k_{33}Y_3} - b_3 \\ \frac{dY_1}{dt} &= \alpha_1 X_1 - \beta_1 \\ \frac{dY_2}{dt} &= \alpha_2 X_2 - \beta_2 \\ \frac{dY_3}{dt} &= \alpha_3 X_3 - \beta_3 \end{aligned} \right\} \quad (26)$$

Вводя, как обычно,

$$\begin{aligned} Q_1 &= A_1 + k_{11}q_1 + k_{12}q_2, \\ Q_2 &= A_2 + k_{21}q_1 + k_{22}q_2 + k_{23}q_3, \\ Q_3 &= A_3 + k_{32}q_2 + k_{33}q_3, \end{aligned}$$

где q_i — стационарные значения Y_i , а p_i — стационарные значения X_i , сделаем преобразование:

$$\begin{aligned} y_1 + y_1 &= \frac{\gamma_1}{Q_1} (A_1 + k_{11}Y_1 + k_{12}Y_2), \\ y_2 + y_2 &= \frac{\gamma_2}{Q_2} (A_2 + k_{21}Y_1 + k_{22}Y_2 + k_{23}Y_3), \\ y_3 + y_3 &= \frac{\gamma_3}{Q_3} (A_3 + k_{32}Y_2 + k_{33}Y_3), \\ x_1 &= X_1 - p_1, \quad x_2 = X_2 - p_2, \quad x_3 = X_3 - p_3. \end{aligned}$$

Здесь γ_i — опять-таки вспомогательные величины, которые будут определены ниже. Тогда уравнения принимают

ВИД

$$\left. \begin{aligned} \frac{dx_1}{dt} &= b_1 \left(\frac{\gamma_1}{\gamma_1 + y_1} - 1 \right) \\ \frac{dx_2}{dt} &= b_2 \left(\frac{\gamma_2}{\gamma_2 + y_2} - 1 \right) \\ \frac{dx_3}{dt} &= b_3 \left(\frac{\gamma_3}{\gamma_3 + y_3} - 1 \right) \\ \frac{dy_1}{dt} &= \frac{\gamma_1}{Q_1} (k_{11}a_1x_1 + k_{12}a_2x_2) \\ \frac{dy_2}{dt} &= \frac{\gamma_2}{Q_2} (k_{21}a_1x_1 + k_{22}a_2x_2 + k_{23}a_3x_3) \\ \frac{dy_3}{dt} &= \frac{\gamma_3}{Q_3} (k_{32}a_2x_2 + k_{33}a_3x_3) \end{aligned} \right\} \quad (27)$$

Для того чтобы эта система имела интеграл, нужно, чтобы члены взаимной связи были равны, т. е.

$$\frac{\gamma_1}{Q_1} k_{12}a_2 = \frac{\gamma_2}{Q_2} k_{21}a_1,$$

$$\frac{\gamma_2}{Q_2} k_{23}a_3 = \frac{\gamma_3}{Q_3} k_{32}a_2.$$

Тогда мы получим следующие выражения для γ_i :

$$\gamma_1 = Q_1 k_{21} k_{32} a_1, \quad \gamma_2 = Q_2 k_{32} k_{12} a_2, \quad \gamma_3 = Q_3 k_{23} k_{12} a_3.$$

В этом случае система (27) интегрируется и интеграл имеет следующий вид:

$$\begin{aligned} G(x_1, x_2, x_3; y_1, y_2, y_3) &\equiv \\ &\equiv a_1^2 k_{11} k_{21} k_{32} \frac{x_1^2}{2} + a_1 a_2 k_{12} k_{21} k_{32} x_1 x_2 + \\ &+ a_2^2 k_{22} k_{32} k_{12} \frac{x_2^2}{2} + a_2 a_3 k_{12} k_{23} k_{32} x_2 x_3 + a_3^2 k_{33} k_{23} k_{12} \frac{x_3^2}{2} + \\ &+ b_1 [y_1 - \gamma_1 \log(1 + y_1/\gamma_1)] + b_2 [y_2 - \gamma_2 \log(1 + y_2/\gamma_2)] + \\ &+ b_3 [y_3 - \gamma_3 \log(1 + y_3/\gamma_3)] = \text{const.} \end{aligned}$$

Первоначальные дифференциальные уравнения могут быть получены отсюда с помощью уже знакомых соотношений:

$$\dot{x}_i = -\frac{\partial G}{\partial y_i}, \quad \dot{y}_i = \frac{\partial G}{\partial x_i}, \quad i = 1, 2, 3.$$

Если мы захотим проинтегрировать трехкомпонентную систему, в которой компоненты 1 и 3 будут связаны с помощью взаимной репрессии так же, как и остальные пары, то в уравнениях появятся также коэффициенты k_{13} и k_{31} . Легко показать, что интегрирование может быть проведено при выполнении следующего условия:

$$k_{12}k_{23}k_{31} = k_{21}k_{32}k_{13}.$$

Тогда можно получить совершенно такой же интеграл, как и приведенный выше. Он будет содержать лишь один дополнительный член $\alpha_1\alpha_3k_{13}k_{31}k_{21}x_1x_3$, описывающий вновь введенное взаимодействие. Такой способ усложнения системы нельзя признать удовлетворительным, но он вытекает из самой природы выбранного нами классического подхода. Если мы начнем конструировать системы произвольного размера, но со структурой, представленной на фиг. 8, то соответствующие интегралы будут содержать члены, выражающие связь, т. е. $x_1x_2, x_2x_3, \dots, x_{n-1}x_n$ с коэффициентами, сложность которых будет возрастать с увеличением n . Каждый из этих коэффициентов будет содержать n параметров k_{ij} . И если мы захотим включить в интеграл также члены x_1x_3, x_1x_4, x_2x_4 и т. д., нам придется наложить соответствующие сложные ограничения на параметры k_{ij} .

В данной работе эти ограничения не будут приводить к серьезным трудностям, так как мы не станем детально анализировать системы, состоящие более чем из одной пары сильно связанных компонентов. Изучение наиболее важных свойств систем, вытекающих из наличия одной сильной связи типа репрессии, позволит получить представление о поведении регуляторных систем и с более сложной структурой взаимодействий.

ОГРАНИЧЕННОСТЬ ТЕОРИИ

В заключение произведем более критическую оценку описанной выше модели регуляции. Прежде всего отметим, что мы не использовали всей общности уравнений (1) и (3), первоначально введенных для описания синтеза *m*-РНК и белка. Ничего не было сказано о систе-

мах с самовоспроизведением m -РНК, о возможном влиянии метаболитов на синтез белка в рибосомах или о стабилизирующем действии субстратов на ферменты. Подобные эффекты могут быть описаны с помощью уравнений, и в зависимости от предположений о характере кинетики этих процессов мы можем получить системы с весьма разнообразным поведением. Динамические и статистические эффекты, к которым приводит учет самовоспроизведения m -РНК, могут быть изучены в рамках нашего приближения, и мы рассмотрим их в гл. 8. Если, однако, система содержит члены, описывающие ингибирование синтеза белка, т. е. воздействие метаболитов на синтез белка на рибосомах, то такая система может быть проинтегрирована лишь в исключительных случаях. Обычно же учет подобных взаимодействий вызывает появление затухания в системе. Иными словами, колебания становятся затухающими и интеграл, зависящий от наличия незатухающих колебаний в системе, исчезает.

Здесь мы сталкиваемся лицом к лицу с основной слабостью нашего «классического» подхода. Колебания в динамической системе, описываемой уравнениями (14), существуют лишь при отсутствии членов, определяющих затухание. Системы такого типа называются консервативными и обладают так называемой слабой устойчивостью. Это значит, что после малого возмущения система начинает двигаться по новой траектории и остается на ней; на первоначальную траекторию она не возвращается. Система, обладающая сильной устойчивостью, имеет предельный цикл, т. е. фиксированную траекторию, на которую она всегда возвращается после малых возмущений. Если такая система первоначально находится в стационарном состоянии, то малое возмущение заставляет ее начать двигаться по раскручивающейся спирали до тех пор, пока она не достигнет предельного цикла. Такое поведение неконсервативно. Однако следует ожидать, что системы, в которых колебания возникают из-за наличия запаздывания в отдельных звеньях управляющей цепи, должны вести себя именно таким образом. Такие системы мы рассматривали в гл. 3. Подобные процессы нужно описывать функциональными уравнениями. При таком подходе можно учесть пространственное разделе-

ние биохимических процессов в клетке и тем самым динамические следствия структурной неоднородности. При нашем подходе мы заменяем реальную структуру моделью, которая приближенно описывает ожидаемое нами динамическое поведение компонентов клетки. Наилучшее приближение достигается в том случае, когда траектории расположены в окрестности предельного цикла, существование которого у реальной системы мы предполагаем. Это приближение позволяет нам использовать мощный инструмент статистической механики для изучения макроскопических свойств регуляторных систем, построенных из большого числа связанных нелинейных осцилляторов. Основное внимание в нашей работе будет обращено на анализ порядка следования элементарных событий во времени в подобных системах. В этом направлении мы делаем лишь первые шаги и надеемся, что наша работа, несмотря на все свои ограничения, приведет к созданию новых теоретических и экспериментальных подходов к основным проблемам поведения клетки во времени. Следующим этапом нашего исследования, к которому мы переходим в гл. 5, является построение статистической механики описанных выше регуляторных систем.

Статистическая механика эпигенетической системы

НЕОБХОДИМОСТЬ СТАТИСТИЧЕСКОЙ ТЕОРИИ

Классическая статистическая механика была разработана для описания динамических свойств газов. Огромное число молекул и их микроскопические размеры делают невозможным получение подробной информации о движении индивидуальных молекул, образующих газ. Поэтому необходимо было развить метод, который, принимая в расчет это незнание, полностью использовал бы всю доступную информацию о состоянии газа. Если бы все начальные условия для каждой молекулы в газе были известны, тогда в принципе можно было бы на основе механики Ньютона точно предсказать положение каждой молекулы в любой момент времени. Но поскольку эти микроскопические детали не могут быть известны, был принят постулат о том, что все возможные начальные условия (т. е. микроскопические состояния), совместимые с известным макроскопическим состоянием газа (т. е. его температурой, давлением и т. д.), следует рассматривать как равновероятные, так как их невозможно различить. Принятие этого основного постулата статистической механики делает необходимым введение в теорию вероятностных методов. При отсутствии этого постулата теория была бы полностью детерминистической (не статистической).

Основания для создания статистической теории внутриклеточных регуляторных систем несколько отличаются от тех, которые вызвали появление статистической механики. В эпигенетической системе роль переменных, аналогичных координатам и импульсам газовой динамики, играют концентрации *m*-РНК и белка. Эти величины, которые могут быть наблюдаемы и измерены с помощью современных биохимических методов, в физике рассматривались бы как макроскопические переменные. В нашей

теории эти величины рассматриваются как микроскопические только в том смысле, что они описывают молекулярные компоненты, взаимодействие которых вызывает появление макроскопических, т. е. иерархически более высоко расположенных, свойств клетки. Величины X_i и Y_i , используемые в этой книге, могут быть измерены независимо. Более того, весьма вероятно, что будут найдены методы, которые позволят производить количественные измерения концентраций молекул в одиночной живой клетке. Наиболее удобны для этого оптические методы — микроспектрофотометрия и микрофлуориметрия, которые уже сейчас, кажется, дают возможность производить непрерывное наблюдение за изменениями концентрации одного или нескольких соединений *in vivo*. Тем не менее необходимо преодолеть колоссальные трудности, чтобы получить возможность одновременно измерять концентрации сотен различных соединений в одиночной клетке. Поэтому даже в рамках нашей теории едва ли окажется возможным определить начальные микроскопические условия для эпигенетической системы. Таким образом, в нашем случае ситуация оказывается такой же, как и в газовой динамике, и для анализа поведения клетки мы вынуждены использовать статистический подход. Однако есть более существенная причина для введения в нашу теорию вероятностных методов. Именно здесь развитая нами молекулярная теория организации клетки существенно отличается от молекулярной теории газов.

Биохимические осцилляторы, введенные в предыдущей главе, строго детерминированы. Это значит, что при заданных параметрах и начальных условиях можно точно предсказать поведение любого частного осциллятора и вычислить значения переменных для любого момента времени. Однако биохимическое пространство, в которое погружен этот осциллятор и с которым он слабо взаимодействует, не определено точно в нашей теории. Как уже отмечалось в гл. 3, эта динамически не определенная часть клетки должна действовать на осциллятор как случайный шум, в результате воздействия которого траектории детерминированных осцилляторов перестают быть строго детерминированными. Поэтому при-

ходится говорить только об усредненных траекториях, и все динамические свойства управляющих систем должны описываться с вероятностных позиций. Именно в этом случае и необходимо применение статистической механики.

Следует подчеркнуть, что для адекватного описания феноменологических свойств макроскопической системы вовсе не обязательно использовать микроскопический подход. Так, классическая термодинамика представляет собой совершенно замкнутую теорию, которую можно аксиоматически построить на основе принципов Каратеодори [61]. При этом в теории отсутствуют какие-либо ссылки на микроскопическое описание вещества, использующее понятие молекул. Точно так же нет никакой необходимости учитывать молекулярное строение клетки при феноменологическом описании таких процессов, как деление клетки, дифференцировка или циркадный ритм фотосинтетической активности. Однако в науке имеется весьма сильное стремление к молекулярному описанию явлений, которое в наши дни проявляется в биологии все яснее. Если с таких позиций подходить к описанию внутриклеточной организации, то необходимо попытаться разграничить микроскопические и макроскопические процессы. Для достижения этой цели придется воспользоваться методами статистической механики. Поэтому мы прежде всего рассмотрим условия, которым должна удовлетворять динамическая система, для того чтобы статистический подход был корректным.

Итак, прежде чем строить статистическую механику внутриклеточных систем, покажем, что наши системы уравнений удовлетворяют теореме Лиувилля. Последнее заранее обеспечено тем, что наши уравнения могут быть представлены в гамильтоновой форме, как это видно из уравнений (20) и (23) соответственно для несвязанных и связанных компонентов. Теперь мы дадим вывод этой теоремы и объясним ее значение.

Рассмотрим большое число совершенно одинаковых систем, каждая из которых описывается уравнениями типа (20) или (23); при этом начальные условия для x_i и y_i могут принимать все возможные значения для разных систем. Такая совокупность систем называется ансам-

блем Гиббса. В декартовом пространстве переменных x_i и y_i с размерностью $2n$, которое называется фазовым пространством, каждая система изображается точкой. Таким образом, ансамблю систем соответствует ансамбль точек. Движение этих точек в фазовом пространстве описывается соответствующими дифференциальными уравнениями. Возьмем достаточно большое число этих точек (т. е. достаточно большое число систем, обеспечивающее достаточно большое пространство начальных условий), чтобы их можно было представить как некую жидкость с плотностью $\rho(x_1, \dots, x_n; y_1, \dots, y_n)$ в точке $(x_1, \dots, x_n; y_1, \dots, y_n)$. Скорость течения жидкости в этой точке равна $V = (\dot{x}_1, \dots, \dot{x}_n; \dot{y}_1, \dots, \dot{y}_n)$. Если жидкость нигде не возникает и не уничтожается, то мы можем написать гидродинамическое уравнение непрерывности

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \operatorname{div}(\rho V) = \frac{\partial \rho}{\partial t} + \sum_{i=1}^n \left[\frac{\partial (\rho \dot{x}_i)}{\partial x_i} + \frac{\partial (\rho \dot{y}_i)}{\partial y_i} \right] = 0,$$

или

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \sum_{i=1}^n \left[\dot{x}_i \frac{\partial \rho}{\partial x_i} + \dot{y}_i \frac{\partial \rho}{\partial y_i} \right] + \sum_{i=1}^n \rho \left(\frac{\partial \dot{x}_i}{\partial x_i} + \frac{\partial \dot{y}_i}{\partial y_i} \right) = 0.$$

Вторая сумма в этом выражении равна нулю, так как

$$\frac{\partial \dot{x}_i}{\partial x_i} = -\frac{\partial^2 G}{\partial x_i \partial y_i}, \quad \frac{\partial \dot{y}_i}{\partial y_i} = \frac{\partial^2 G}{\partial y_i \partial x_i}.$$

Тогда мы получаем теорему Лиувилля о сохранении фазовой плотности:

$$\frac{D\rho}{Dt} \equiv \frac{\partial \rho}{\partial t} + \sum_{i=1}^n \left(\dot{x}_i \frac{\partial \rho}{\partial x_i} + \dot{y}_i \frac{\partial \rho}{\partial y_i} \right) = 0. \quad (28)$$

Это выражение означает, что при движении элементарного объема фазовая плотность остается постоянной. Таким образом, если теорема Лиувилля выполняется, то в системе не происходит увеличения плотности в какой-либо одной части пространства, т. е. во всем пространстве распределение точек постоянно. Это также означает,

что элементарный объем фазового пространства может изменять свою форму, но при этом его размер остается постоянным; т. е. при всех изменениях он содержит одно и то же число точек.

Значение этой теоремы состоит в том, что она позволяет определить в фазовом пространстве стационарную во времени плотность вероятности. Таким образом, мы можем использовать вероятностную процедуру, которая позволит вычислить средние, или ожидаемые, значения величин, описывающих движение системы, вместо их точных значений. Мы вынуждены использовать вероятностную, или статистическую, процедуру, поскольку нам неизвестны начальные условия, а также динамика биохимической среды, в которой работают компоненты регуляторных систем. Плотности вероятности, с которыми чаще всего имеют дело в статистической механике, зависят только от G , т. е. $\rho = \rho(G)$. Они стационарны и удовлетворяют теореме Лиувилля (28). Тогда среднее значение любой функции от координат фазового пространства, т. е. $f(x_1, \dots, x_n; y_1, \dots, y_n)$, равно

$$\bar{f} = \frac{\int f \rho \, dx \, dy}{\int \rho \, dx \, dy},$$

где $dx = dx_1 dx_2 \dots dx_n$, $dy = dy_1 dy_2 \dots dy_n$ и интегрирование производится по всем возможным значениям переменных x_i, y_i ($i = 1, \dots, n$).

Среднее значение, определяемое этим выражением, является средним по фазовому пространству, а не по времени. Здесь мы введем фундаментальную для статистической физики гипотезу: для того чтобы определить ожидаемые значения интересующих нас переменных системы, о которой мы имеем лишь ограниченные сведения, можно заменить средние по фазовому пространству средними по времени. Это означает, что при статистическом подходе мы рассматриваем все возможные состояния системы, совместимые с нашими данными; а наше незнание выражается в том, что мы рассматриваем все эти состояния как равновероятные. Таким образом, фазовое пространство оказывается просто математическим инструментом, используемым в статистической теории.

КАНОНИЧЕСКИЙ АНСАМБЛЬ

Для вычисления ожидаемых значений функций от фазовых переменных мы будем использовать понятие канонического ансамбля. Выделим в полной системе, содержащей n компонентов, часть, содержащую ν компонентов ($\nu < n$), и рассмотрим ее поведение. Функция G для этой подсистемы уже не будет постоянной, поскольку происходит обмен с остальной частью системы. Сохраняться будет лишь G полной системы. Имеется два способа, с помощью которых может происходить такой обмен «колебательной энергией» в эпигенетической системе. Первый — это слабое взаимодействие. Оно аналогично слабым взаимодействиям, которые имеют место в газе благодаря столкновениям между молекулами. Конечно, во внутриклеточных регуляторных системах столкновений между компонентами не происходит (хотя столкновения между молекулами имеют место), и слабое взаимодействие осуществляется путем конкуренции между компонентами за предшественники, требуемые для синтеза макромолекул (гл. 4). Компонент или группа компонентов с большой амплитудой колебаний могут заметно истощать метаболический фонд за время фазы синтеза; во время фазы распада метаболический фонд будет до некоторой степени восполняться. Таким образом, размер фондов не будет постоянным, и движение больших осцилляторов (т. е. осцилляторов, имеющих большую амплитуду) будет, хотя и слабо, передаваться «малым» осцилляторам через эти фонды. Грубо говоря, можно ожидать, что в период относительного истощения метаболических фондов синтез будет в некоторой степени подавляться у тех компонентов, у которых возрастающая фаза колебания начинается после начала синтеза у группы больших осцилляторов. Наоборот, после фазы распада у больших осцилляторов, когда фонды полны, синтез ускорится. Большой размер метаболических фондов увеличивает амплитуду колебаний малых осцилляторов, и этим путем «колебательная энергия» больших осцилляторов может перекачиваться в малые. В то же время общие фонды оказывают демпфирующее действие на большие осцилляторы, поскольку в период истощения

метаболических фондов их собственный синтез тормозится, а во время изобилия он ускоряется. Таким образом, общим результатом такого рода слабых взаимодействий через общие метаболические фонды является уравнивание амплитуды колебаний: компоненты, у которых амплитуда колебаний много выше средней, имеют тенденцию к затуханию, а компоненты с малой амплитудой — к раскачке. Кроме того, происходят изменения фаз колебаний; общей тенденцией является стремление малых осцилляторов оказаться в противофазе с большими, так как благодаря большему размеру метаболических фондов синтез в первых ускоряется во время фазы распада у вторых и наоборот.

Ясно, что понятие слабого взаимодействия здесь вводится для того, чтобы компенсировать наше незнание микроскопических деталей сложных взаимодействий, происходящих между множеством лабильных биохимических процессов, протекающих в живой клетке. Этот вопрос обсуждался в гл. 3. Однако можно видеть, что при нашем подходе это незнание может получить точную оценку с помощью введения вероятности. Мы не знаем всех деталей биохимических взаимодействий; если бы мы их знали, мы получили бы точно описанную машину. Однако мы предположили, что благодаря современным знаниям о молекулярных механизмах регуляции мы располагаем достаточным количеством микроскопических деталей, чтобы, хотя и весьма приближенно, составить уравнения, описывающие динамическую часть клетки. Эта детерминированная часть погружена в «шумящую» биохимическую среду и поэтому испытывает случайные возмущения. Следовательно, в данном случае применение статистических методов имеет существенное значение. Мы сталкиваемся здесь с двумя областями незнания: с незнанием начальных значений существенных переменных и с незнанием динамических деталей среды, в которой работает регуляторная система и которая обеспечивает существование последней. При такой ситуации мы вынуждены использовать вероятностный подход к динамике, т. е. статистическую механику.

Динамическое поведение метаболических фондов в клетке, где работают колебательные регуляторные

механизмы, осложняется тем, что размеры этих фондов, состоящих из метаболитов и репрессоров, сами колеблются. Это немедленно следует из уравнения (13), которое показывает, что при рассмотрении отрезков времени, характерных для эпигенетической системы, M_i ведет себя по существу так же, как и Y_i . На более коротких отрезках времени поведение M_i будет определяться также взаимодействиями внутри метаболической системы, как показано в гл. 2; но эти последние могут рассматриваться как «шум» по отношению к эпигенетическим процессам, если принять наши предположения о величинах времен релаксации в этих двух системах. Таким образом, из приведенных выше соображений следует, что размеры фондов клеточных метаболитов, действующих как специфические репрессоры синтеза, должны испытывать колебания, обладающие довольно четкой периодичностью. Как будет показано в гл. 6, это, по-видимому, действительно имеет место.

Сказанное выше о четкой периодичности относится главным образом к общим фондам низкомолекулярных метаболитов-репрессоров. Кинетика общих фондов непосредственных предшественников нуклеиновых кислот и белков — активированных нуклеотидов и активированных аминокислот — значительно сложнее. Входы фондов активированных молекул, вообще говоря, колеблются, поскольку они связаны с осциллирующими метаболическими фондами. Однако на их выходах должна наблюдаться весьма нерегулярная динамическая картина, так как выход этих общих фондов зависит от включения соответствующих активированных соединений в нуклеиновые кислоты и белки. Рассмотрим частный пример: процесс выработки активированного треонина, катализируемый ферментами, носит циклический характер, отражая колебания величины метаболического фонда треонина. Далее активированные молекулы треонина включаются в самые разнообразные виды белка, динамика синтеза которых может быть совершенно различной. У одних белков скорость синтеза может колебаться, причем фазы этих колебаний, вообще говоря, произвольны, у других скорость синтеза может быть стационарной. Поэтому можно ожидать, что динамическая характеристика фонда

активированного треонина будет весьма сложной. Такое сложное поведение мы и подразумеваем, говоря о «шуме», генерируемом общим метаболическим фондом.

Таким образом, в системе, состоящей из большого числа биохимических осцилляторов, слабо взаимодействующих между собой, основной тенденцией является уравнивание амплитуды колебаний; осциллятор с большой амплитудой демпфируется, осциллятор с малой амплитудой получает дополнительное возбуждение. Сфази́рованные осцилляторы стремятся разойтись по фазе (за исключением случая захватывания частоты, когда между осцилляторами есть сильная связь; см. гл. 7). Слабая связь ведет таким образом к более или менее равномерному распределению колебательного движения между всеми осцилляторами и расстраивает их фазовые отношения.

Второй, более очевидный способ, которым колебательное движение может передаваться от одного компонента к другому, — это сильная связь. В этом случае взаимодействие осуществляется прямо через репрессоры, и движение таких осцилляторов можно грубо рассматривать как сумму движений индивидуальных осцилляторов. В случае нелинейных колебаний, однако, некорректно говорить о сложении колебаний, поскольку взаимодействие осцилляторов приводит к весьма сложным движениям. Природа этих взаимодействий и явления, которые могут происходить в таких связанных системах, например захватывание частоты и субгармонический резонанс (деление частоты), весьма важны для понимания временной организации клетки и будут рассмотрены в гл. 7. Здесь же достаточно отметить, что поведение сильно связанной пары осцилляторов зависит от характеристик каждого осциллятора. Последнее хорошо видно и из математического описания сильно связанных осцилляторов, поскольку инвариантная величина G для этих осцилляторов [уравнение (24)] является функцией переменных обоих компонентов. Однако терминологически мы можем описывать прямое репрессивное взаимодействие как сильный G -обмен, а описанную выше связь через общие метаболические фонды — как слабый G -обмен в системе.

Теперь вернемся к рассмотрению части эпигенетической системы, содержащей ν компонентов. Эта подсистема не обязана двигаться по поверхности $G_\nu = \text{const}$, но может свободно перемещаться в фазовом пространстве, изменяя G путем обмена с остальной частью системы. Можно спросить, каким образом точки, представляющие эту подсистему, будут распределены в фазовом пространстве. Согласно основной предпосылке статистической механики, закон распределения имеет вид

$$\rho_\nu = e^{(\psi_\nu - G_\nu)/\theta}, \quad (29)$$

где $G_\nu = G(x_1, x_2, \dots, x_\nu; y_1, y_2, \dots, y_\nu)$. Этим распределением описывается канонический ансамбль Гиббса. Поскольку распределение должно быть нормировано, мы запишем

$$\int \rho_\nu dv = 1,$$

где $dv = dx_1 \dots dx_\nu dy_1 \dots dy_\nu$, и интеграл берется по всему пространству 2ν измерений. Величина $\rho_\nu(x_1, \dots, x_\nu; y_1, \dots, y_\nu)$ равна вероятности, с которой случайно выбранный член ансамбля (находящегося в равновесии) окажется в элементе объема dv в окрестности $(x_1, \dots, x_\nu; y_1, \dots, y_\nu)$.

Поскольку ψ_ν не зависит от переменных $x_1, \dots, x_\nu, y_1, \dots, y_\nu$, то из условий нормировки получим

$$e^{-\psi_\nu/\theta} \equiv Z_\nu = \int e^{-G_\nu/\theta} dv.$$

Величина Z_ν называется интегралом состояний Гиббса и широко используется в статистической механике. Для переменных x_i интегрирование производится в пределах от $-p_i$ до ∞ , а для y_i — от $-\tau_i$ до ∞ . Выбор бесконечности в качестве верхнего предела может показаться неожиданным, поскольку нашими переменными являются размеры популяций различных видов макромолекул в клетке, которые явно не могут быть неограниченными. Однако мы не можем установить верхний предел для этих переменных, поскольку мы не знаем их граничных

размеров (нижний предел устанавливается на основании того, что первоначальные переменные X_i и Y_i имеют минимальное значение, равное нулю, а отрицательные значения концентраций не имеют смысла). Поэтому мы используем обычный в статистической механике прием, а именно полагаем очень большие величины популяций весьма маловероятными, хотя возможность их существования и не исключается совсем. Тогда интеграл состояний, записанный подробно для v компонентов, будет иметь вид

$$\int_{-p_1}^{\infty} \int_{-p_2}^{\infty} \dots \int_{-p_v}^{\infty} \int_{-\tau_1}^{\infty} \dots \int_{-\tau_v}^{\infty} \exp \left\langle -\frac{1}{\theta} \left\{ \sum_{i=1}^v \frac{c_i x_i^2}{2} + \right. \right. \\ \left. \left. + \sum_{i=1}^v b_i [y_i - \log(1 + y_i)] \right\} \right\rangle dx_1 \dots dx_v dy_1 \dots dy_v.$$

Поскольку в простом случае без сильной связи переменные могут быть разделены, интегралы можно вычислить независимо, и это выражение сводится к произведению, которое можно записать в виде

$$Z_v = \prod_{i=1}^v Z_{p_i} Z_{q_i},$$

где

$$Z_{p_i} = \int_{-p_i}^{\infty} e^{-(1/\theta)(c_i x_i^2/2)} dx_i, \\ Z_{q_i} = \int_{-\tau_i}^{\infty} e^{-(1/\theta)b_i[y_i - \log(1+y_i)]} dy_i.$$

В качестве нижних пределов в этих интегралах написаны стационарные значения, чтобы подчеркнуть, что интегралы являются функциями не переменных системы, по которым производится интегрирование, а параметров, определяющих стационарное состояние. Эти интегралы являются также функциями θ .

Значение канонического ансамбля в физике заключается в том, что он позволяет рассматривать системы, не изолированные от среды, а находящиеся в тепловом равновесии со средой. Множество «копий» рассматриваемой системы, которые ее окружают и с которыми она обменивается энергией, можно рассматривать как «термостат», в который погружена эта система. Для физических систем θ является термодинамической температурой ансамбля, а ψ — свободной энергией системы, находящейся в термодинамическом равновесии. Для биохимических регуляторных систем, рассматриваемых в нашей работе, θ также является своего рода «температурой», а ψ играет роль свободной энергии. Но нам еще предстоит выяснить смысл этих величин и способы их измерения. Поскольку между привычными физическими величинами и этими новыми «эпигенетическими» величинами имеется формальное сходство, мы сохраним названия «температура» и «свободная энергия», для того чтобы опираться на привычное для нас содержание этих понятий. Однако мы будем употреблять эти термины вместе с прилагательным «таландическая». Этот неологизм мы вводим здесь с некоторой неуверенностью, поскольку, возможно, уже существует в обращении понятие, которое было бы ничуть не хуже для наших целей. Это слово происходит от греческого слова *ταλαντωσις*, означающего колебание, и употребляется нами, чтобы подчеркнуть то обстоятельство, что все величины, используемые в этой работе как инструмент для исследования эпигенетических феноменов, являются характеристиками колебательных систем. Возможно, более удачным был бы термин, показывающий, что колебания возникают из-за наличия обратной связи в системе. Тогда, если бы было обнаружено, что колебания описанного выше типа являются универсальной характеристикой биологических регуляторных систем с обратной связью, следовало бы употреблять названия «кибернетическая температура», «кибернетическая энтропия» и т. д. Но это не очевидно, и, по-видимому, колебания могут возникать в биологических системах независимо от наличия обратной связи (примером могут служить системы Вольтерра); поэтому нам кажется более удачным описательный термин «таландический».

Канонический ансамбль является удобным инструментом для исследования таландических, или колебательных, свойств клетки. Следует ожидать, что с развитием экспериментальной техники мы сможем непрерывно следить за тем, как изменяется во времени концентрация одного или даже нескольких соединений в одиночной клетке. Эти соединения, число которых равно, скажем, ν , не будут изолированы от остальной клетки, но будут обмениваться таландической энергией G с остальными ($n - \nu$) компонентами. Тогда, если n очень велико, то для подавляющего большинства компонентов канонического ансамбля G_i [уравнение (18)] будут весьма близки к $\bar{G}_i$ (каноническому среднему от G_i). Правда, число степеней свободы эпигенетической системы одиночной клетки ($2n$) редко достигает столь больших значений, как в физике. Однако обычно порядок этого числа равен сотням, как мы покажем в следующей главе, что уже достаточно много для применения статистических методов; при этом только следует иметь в виду, что в биологических системах флуктуации будут играть существенную роль. Итак, используя изменения концентраций в одиночной живой клетке, можно получить набор макроскопических переменных и исследовать их с помощью канонического ансамбля. Теория показывает, что если число рассматриваемых компонентов ν велико, то флуктуации этих величин около их среднего значения G будут малы; если же ν мало, то флуктуации становятся весьма существенными.

Теперь, используя канонический ансамбль, мы получим некоторые результаты, показывающие, каким способом статистическая теория может дать нам сведения об общем поведении динамической системы. Например, можно узнать, какова вероятность того, что переменная x_i будет иметь величину, лежащую в интервале $(x_i, x_i + dx_i)$. Мы можем вычислить эту вероятность, интегрируя по всем координатам, кроме x_i :

$$P_{x_i} dx_i = \int' \rho dv' / \int \rho dv,$$

где штрих означает отсутствие интегрирования по x_i .

Тогда мы получим следующий результат:

$$P_{x_i} dx_i = \frac{e^{-c_i x_i^2 / 2\theta}}{Z_{p_i}} dx_i,$$

откуда следует, что переменная x_i имеет нормальное, или гауссово, распределение вероятностей. Наиболее вероятное значение x_i (обозначим его $[x_i]$) можно получить, вычислив максимальное значение этой величины. Оказывается, что P_{x_i} максимально при $[x_i] = 0$, т. е. наиболее вероятным значением X_i является его стационарное значение p_i . Для переменной y_i можно получить аналогичное выражение:

$$P_{y_i} dy_i = \frac{e^{-(b_i/\theta) [y_i - \log(1+y_i)]}}{Z_{q_i}} dy_i = \frac{e^{-b_i y_i / \theta} (1+y_i)^{b_i/\theta}}{Z_{q_i}} dy_i.$$

Наиболее вероятным значением является также $[y_i] = 0$, т. е. наиболее вероятным значением Y_i опять оказывается его стационарное значение q_i . Однако этот результат не всегда является обязательным. В гл. 7 мы покажем, что при наличии сильного взаимодействия между компонентами наиболее вероятное значение X_i всегда больше p_i . А если предположить, что синтез *m*-РНК происходит автокаталитически, то, как будет показано в гл. 8, можно получить интересный результат, свидетельствующий о дискретности наиболее вероятных значений X_i . Однако в случае простой системы, которую мы сейчас изучаем, распределение вероятностей для переменных имеет весьма правильный характер и наиболее вероятные значения совпадают со стационарными.

Рассмотрим теперь фазовые средние от следующих функций:

$$\left. \begin{aligned} T_{x_i} &\equiv (x_i + p_i) \frac{\partial G}{\partial x_i} \\ T_{y_i} &\equiv (y_i + \tau_i) \frac{\partial G}{\partial y_i} \end{aligned} \right\} \quad (30)$$

Эти выражения внешне аналогичны кинетической энергии механических систем, и можно ожидать, что их средние

значения определяют параметр θ — таландическую температуру.

$$\begin{aligned} \overline{T_{x_i}} &\equiv \overline{(x_i + p_i) \frac{\partial G}{\partial x_i}} = \int (x_i + p_i) \frac{\partial G}{\partial x_i} e^{-G/\theta} dv / \int e^{-G/\theta} dv = \\ &= \int_{-p_i}^{\infty} (x_i + p_i) \frac{\partial G}{\partial x_i} e^{-G_{x_i}/\theta} dx_i / \int_{-p_i}^{\infty} e^{-G_{x_i}/\theta} dx_i = \\ &= -\theta \int_{-p_i}^{\infty} (x_i + p_i) \frac{\partial}{\partial x_i} (e^{-G_{x_i}/\theta}) dx_i / \int_{-p_i}^{\infty} e^{-G_{x_i}/\theta} dx_i = \\ &= \{-\theta [(x_i + p_i) e^{-G_{x_i}/\theta}]_{-p_i}^{\infty} + \theta \int_{-p_i}^{\infty} e^{-G_{x_i}/\theta} dx_i\} / \int_{-p_i}^{\infty} e^{-G_{x_i}/\theta} dx_i = \\ &= \theta. \end{aligned}$$

Далее мы имеем

$$(x_i + p_i) \frac{\partial G}{\partial x_i} = c_i (x_i + p_i) x_i = c_i (x_i^2 + p_i x_i),$$

что в первоначальных переменных равно

$$c_i [(X_i - p_i)^2 + p_i (X_i - p_i)].$$

Результат, следовательно, можно записать в виде

$$c_i (\overline{X_i - p_i})^2 + p_i c_i (\overline{X_i - p_i}) = \theta. \quad (31)$$

Для T_{y_i} имеем аналогично

$$\begin{aligned} \overline{T_{y_i}} &\equiv \overline{(y_i + \tau_i) \frac{\partial G}{\partial y_i}} = \int (y_i + \tau_i) \frac{\partial G}{\partial y_i} e^{-G/\theta} dv / \int e^{-G/\theta} dv = \\ &= -\theta \int_{-\tau_i}^{\infty} (y_i + \tau_i) \frac{\partial}{\partial y_i} (e^{-G_{y_i}/\theta}) dy_i / \int_{-\tau_i}^{\infty} e^{-G_{y_i}/\theta} dy_i = \\ &= \{-\theta [(y_i + \tau_i) e^{-G_{y_i}/\theta}]_{-\tau_i}^{\infty} + \theta \int_{-\tau_i}^{\infty} e^{-G_{y_i}/\theta} dy_i\} / \int_{-\tau_i}^{\infty} e^{-G_{y_i}/\theta} dy_i = \\ &= \theta. \end{aligned}$$

Поскольку

$$\frac{\partial G}{\partial y_i} = b_i \left(1 - \frac{1}{1 + y_i} \right),$$

мы можем написать

$$\begin{aligned} (y_i + \tau_i) \frac{\partial G}{\partial y_i} &= (y_i + 1) \frac{\partial G}{\partial y_i} + (\tau_i - 1) \frac{\partial G}{\partial y_i} = \\ &= b_i y_i - \frac{A_i}{Q_i} b_i \left(\frac{y_i}{1 + y_i} \right) \quad \left(\tau_i = 1 - \frac{A_i}{Q_i} \right), \end{aligned}$$

или, в первоначальных переменных,

$$\frac{b_i k_i}{Q_i} (Y_i - q_i) - \frac{b_i k_i A_i}{Q_i} \frac{(Y_i - q_i)}{A_i + k_i Y_i}.$$

Следовательно, в результате мы имеем

$$\frac{b_i k_i}{Q_i} \left[(\overline{Y_i - q_i}) - A_i \left(\frac{\overline{Y_i - q_i}}{A_i + k_i \overline{Y_i}} \right) \right] = \theta. \quad (32)$$

Таким образом, мы получили теоремы равномерного распределения, аналогичные закону равномерного распределения кинетической энергии по степеням свободы в физических системах. Эти теоремы гласят, что средние значения T для всех переменных эпигенетической системы равны между собой. Иначе говоря, общая температура системы в среднем равномерно распределена по всем переменным. Такова математическая формулировка обсуждавшегося в начале главы утверждения, состоящего в том, что *величина G , таландическая энергия, распределяется по всей системе благодаря взаимодействию эпигенетических компонентов через общие метаболические фонды.*

Из выражений (31) и (32) можно видеть, что таландическая температура равна нулю ($\theta = 0$), когда все переменные X_i , Y_i имеют стационарные значения и колебания отсутствуют. (Кроме того, $\theta = 0$ при $X_i = 0$, $Y_i = 0$, т. е. в тривиальном случае, когда все концентрации равны нулю и системы вообще нет.) При возрастании θ амплитуда колебаний увеличивается, так что *таландическая температура служит мерой возбуждения системы относительно устойчивого уровня (стационарного состояния), где система находится в полном покое.* В случае

переменных X_i в выражение для θ входит как средний квадрат отклонения от стационарного значения, $\overline{(X_i - p_i)^2}$, так и среднее отклонение, $\overline{(X_i - p_i)}$. Для переменных Y_i выражение для θ сложнее, однако одним из членов этого выражения также является среднее отклонение от стационарного значения. Поведение переменных Y_i весьма необычно, как мы покажем в дальнейшем, и это вызвано тем, что с ними связаны основные нелинейности системы. Мы покажем, что θ является очень важным параметром, определяющим взаимодействия и стабильность временной организации эпигенетической системы, и что эта величина по праву занимает в нашей теории такое же центральное место, как температура в физике.

Пользуясь тем, что

$$(x_i + p_i) \frac{\partial G}{\partial x_i} = c_i (x_i + p_i) x_i = c_i X_i (X_i - p_i)$$

и

$$\begin{aligned} (y_i + \tau_i) \frac{\partial G}{\partial y_i} &= b_i (y_i + \tau_i) \left(1 - \frac{1}{1 + y_i} \right) = \\ &= \frac{b_i (y_i + \tau_i) y_i}{1 + y_i} = \frac{b_i k_i^2 Y_i (Y_i - q_i)}{Q_i A_i + k_i Y_i}, \end{aligned}$$

можно написать уравнения (31) и (32) в несколько ином виде, получив следующее выражение, справедливое для всех i :

$$\overline{c_i X_i (X_i - p_i)} = \theta = \frac{\overline{b_i k_i^2 Y_i (Y_i - q_i)}}{Q_i A_i + k_i Y_i}. \quad (33)$$

Отсюда видно, что если θ отлично от нуля (а в этом случае оно положительно), то величины $(X_i - p_i)$ и $(Y_i - q_i)$ в среднем более положительны, чем отрицательны. Это значит, что X_i и Y_i имеют *большие отклонения вверх от стационарных значений, чем вниз*. При возрастании θ эта асимметрия еще более возрастает, т. е. *положительные отклонения еще более превышают отрицательные*. При этом для Y_i асимметрия больше, чем для X_i . Последнее сразу вытекает из (33); это выражение показывает, что $(Y_i - q_i)$ должно быть больше, чем $(X_i - p_i)$, чтобы уравновесить влияние члена $(A_i + k_i Y_i)$, стоящего в знаменателе и возрастающего

с ростом Y_i . Отсюда видно, что поведение Y_i более сложно, чем поведение X_i , хотя в обоих случаях проявляется существенная нелинейность системы. Асимметрия колебаний относительно стационарных значений показана на фиг. 4, из которого видно, что отклонение $Y_i(t)$ вниз от линии $Y_i = q_i$ значительно меньше, чем отклонение вверх. Когда $Y_i < q_i$, величина X_i быстро возрастает, а затем при $Y_i > q_i$ спадает, но уже медленнее. Для Y_i положение обратное: когда $X_i < p_i$, величина Y_i падает, а когда $X_i > p_i$ — возрастает. При этом нисходящая часть кривой Y_i значительно круче, чем восходящая часть, поскольку отклонение X_i вверх от p_i также превышает отклонение вниз от p_i , хотя в этом случае асимметрия меньше, чем для Y_i . (Кривые на фиг. 4 изображены в произвольном масштабе и характеризуют свойства системы только качественно.)

Мы можем определить единицу измерения θ из выражения (33). Параметр k_i , будучи константой равновесия, имеет размерность, обратную концентрации, т. е., если пользоваться нашими необычными единицами, единицей измерения будет $1/(\text{число молекул на клетку})$. Запишем это в виде $1/C$. Величина A_i — безразмерная, поскольку она равна $1 + L_i [\bar{A}_i]$, как это следует из уравнения (7) в гл. 4. Аналогично $Q_i = A_i + k_i q_i$ также безразмерная величина. Тогда

$$c_i = \frac{\alpha_i k_i}{Q_i},$$

и α_i имеет размерность константы скорости

$$\frac{1}{\text{Время}} = \frac{1}{T}.$$

Тогда

$$c_i X_i (X_i - p_i) = \frac{\alpha_i k_i}{Q_i} X_i (X_i - p_i) = \frac{C^2}{CT} = \frac{C}{T}.$$

Поскольку b_i имеет размерность $\frac{C}{T}$, такой же результат может быть получен и для Y_i :

$$\frac{b_i k_i^2}{Q_i} \frac{Y_i (Y_i - q_i)}{A_i + k_i Y_i} = \frac{C}{T} \cdot \frac{1}{C^2} \cdot C^2 = \frac{C}{T}.$$

Таким образом, мы получили абсолютную шкалу талан-дической температуры.

В статистической механике параметр θ определяет предпочтительное направление, по которому происходит перетекание G от одного компонента или системы компонентов к другой системе компонентов, слабо связанной с первой. Компонент с более высоким θ теряет G , а компонент с более низким θ — приобретает. Система оказывается в равновесии, когда все части приобретают одинаковое θ . Таким образом, при равновесии мы будем иметь следующие равенства, справедливые для всех i, j :

$$\begin{aligned} c_i \overline{X_i (X_i - p_i)} &= \frac{b_i k_i^2}{Q_i} \frac{\overline{Y_i (Y_i - q_i)}}{A_i + k_i Y_i} = \overline{c_j X_j (X_j - p_j)} = \\ &= \frac{b_j k_j^2}{Q_j} \frac{\overline{Y_j (Y_j - q_j)}}{A_j + k_j Y_j} . \end{aligned}$$

Итак, в нашей теории слабые взаимодействия между отдельными компонентами внутри клетки, осуществляемые через общие метаболические фонды, приводят к весьма важным последствиям. Но эти слабые, хотя и весьма существенные взаимодействия недостаточно специфичны, чтобы их можно было учесть в динамических уравнениях. Поэтому они учитываются с помощью статистической процедуры. Статистический метод позволил получить приведенный выше результат, показывающий, что под влиянием слабых взаимодействий в системе по прошествии определенного времени устанавливается равновесие, которое выражается в равномерном распределении таландической энергии. Это равновесие, конечно, не является термодинамическим, поскольку вследствие постоянного синтеза и распада молекул существует постоянный поток вещества и физической энергии через систему. Даже при $\theta = 0$ система находится в стационарном состоянии, далеком от термодинамического равновесия. В следующей главе мы рассмотрим соотношения между этими двумя типами равновесия более детально. Мы попытаемся также оценить время, необходимое для возвращения эпигенетической системы в положение равновесия после возмущения, т. е. попытаемся оценить время релаксации эпигенетической системы, исходя из ее дина-

мических свойств. Последнее чрезвычайно существенно для установления границ применимости данной теории и особенно для выяснения того, насколько эта теория может быть полезна при анализе процессов эмбрионального развития.

Нужно отметить, что с этой точки зрения общие свойства изучаемых нами колебательных систем биохимической регуляции и обобщенных систем Вольтерра очень похожи, хотя микроскопическая структура этих систем весьма различна и определяется совершенно разными механизмами. Система Вольтерра описывает взаимодействие двух видов, один из которых питается другим (система хищник — жертва). В этом случае стабильность колебаний обеспечивается благодаря ограниченному истреблению размножающейся популяции жертвы зависящим от нее хищником. В такой системе отрицательная обратная связь отсутствует. Кроме того, взаимоотношения переменных в этой системе не характеризуются той комплементарностью, которая существует между белком и *m*-РНК, и поэтому все переменные ведут себя примерно одинаково. Поведение «демографических» осцилляторов детально изучал Кернер [47, 48], применивший к исследованию систем Вольтерра аналитический аппарат статистической механики. Наше исследование весьма многим обязано работам Кернера. Он показал, что в системах Вольтерра параметр θ служит мерой среднеквадратичных отклонений численности популяции от стационарного значения как для жертвы, так и для хищника. Условие $\theta = 0$ также соответствует полному равновесию в системе, когда все переменные принимают стационарные значения. Однако форма колебаний в этом случае отлична от формы колебаний в биохимических регулярных системах, которые мы изучаем. Кернер показал, что в ходе колебаний численность популяции большую часть времени имеет значения ниже стационарного, а участки кривой, находящиеся выше него, представляют собой относительно острые пики. Такое поведение в точности противоположно поведению рассматриваемых нами переменных Y_i . Указанная разница в поведении существенна при попытке предсказать, каким образом эти две системы будут отвечать на определенные воздействия среды.

Этот вопрос мы обсудим в гл. 8. Тем не менее демографическая и эпигенетическая системы по своему общему макроскопическому поведению во многом сходны. Это вряд ли должно вызывать удивление, поскольку основной динамической характеристикой обеих систем является наличие незатухающих колебаний. Поэтому мы считаем, что для изучения общего, «термодинамического» поведения сложных колебательных систем есть смысл ввести ряд макроскопических параметров, описывающих свойства системы, мало зависящие от ее специфической микроструктуры.

В гл. 1 мы упоминали о теореме, согласно которой для произвольного класса сложных динамических систем вероятность того, что система из любого состояния перейдет в режим незатухающих колебаний, приближается к единице с ростом сложности системы. Отсюда следует, что такой параметр, как θ , должен играть фундаментальную роль в «термодинамическом» описании обобщенных динамических систем. Однако на одном параметре нельзя еще строить термодинамику. Необходимо прежде всего найти макроскопические параметры, аналогичные давлению, объему, энтропии, удельной теплоте и т. д., а затем вывести соотношения, аналогичные газовым законам и теоремам классической термодинамики. Это, так сказать, программа-максимум, и в настоящей работе мы лишь намечаем направление, в котором могла бы развиваться подобная теория в частном случае внутриклеточных регуляторных систем. В качестве первого шага введем соответствующие термодинамические функции, зависящие от величины таландической энергии G .

«ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИЕ» ФУНКЦИИ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ

Для вывода термодинамических функций мы будем использовать интеграл состояний Гиббса, определяемый следующими выражениями:

$$Z \equiv e^{-\Psi/\theta} = \int e^{-G/\theta} dv = \prod_{i=1}^n Z_{p_i} Z_{q_i},$$

где

$$Z_{p_i} = \int_{-p_i}^{\infty} e^{-c_i x_i^2 / 2\theta} dx_i,$$

$$Z_{q_i} = \int_{-\tau_i}^{\infty} e^{-(b_i/\theta) [y_i - \log(1+y_i)]} dy_i \quad \left(\begin{array}{l} \tau_i = 1 - \frac{A_i}{Q_i} \\ Q_i = A_i + k_i q_i \end{array} \right)$$

В дальнейшем для удобства записи мы введем $\beta = \frac{1}{\theta}$.

Интегралы состояний могут быть выражены через исходные функции следующим образом. Запишем

$$\xi = \left(\frac{\beta c_i}{2} \right)^{1/2} x_i.$$

Тогда первый интеграл можно записать в виде

$$\begin{aligned} Z_{p_i} &= \left(\frac{2}{\beta c_i} \right)^{1/2} \int_{-p_i \sqrt{\beta c_i / 2}}^{\infty} e^{-\xi^2} d\xi = \\ &= \left(\frac{2}{\beta c_i} \right)^{1/2} \operatorname{Erfc} \left[-p_i \sqrt{\left(\frac{\beta c_i}{2} \right)} \right], \end{aligned} \quad (34)$$

где $\operatorname{Erfc}(z)$ — интеграл вероятности, имеющий вид

$$\operatorname{Erfc}(z) = \int_z^{\infty} e^{-\xi^2} d\xi.$$

Другой интеграл имеет вид

$$Z_{q_i} = \int_{-\tau_i}^{\infty} e^{-\beta b_i [y_i - \log(1+y_i)]} dy_i = \int_{-\tau_i}^{\infty} e^{-\beta b_i y_i} (1+y_i)^{\beta b_i} dy_i.$$

Введем $\eta = \beta b_i (1+y_i)$. При $y_i = -\tau_i = \frac{A_i}{Q_i} - 1$

$$\eta = \beta b_i \left(1 + \frac{A_i}{Q_i} - 1 \right) = \frac{\beta b_i A_i}{Q_i}.$$

Тогда интеграл принимает вид

$$\begin{aligned}
 Z_{q_i} &= e^{\beta b_i} (\beta b_i)^{-(\beta b_i+1)} \int_{A_i \beta b_i / Q_i}^{\infty} e^{-\eta \eta^{\beta b_i}} d\eta = \\
 &= e^{\beta b_i} (\beta b_i)^{-(\beta b_i+1)} \Gamma\left(\beta b_i + 1, \frac{\beta b_i A_i}{Q_i}\right), \quad (35)
 \end{aligned}$$

где

$$\Gamma(v, z) = \int_z^{\infty} e^{-\eta} \eta^{v-1} d\eta$$

— неполная гамма-функция.

В дальнейшем нам понадобятся предельные выражения этих интегралов при $\beta \rightarrow \infty$ или $\beta \rightarrow 0$. В случае Z_{p_i} мы используем следующий результат:

$$\begin{aligned}
 \operatorname{Erfc}\left[-p_i \sqrt{\frac{\beta c_i}{2}}\right] &\rightarrow \frac{\sqrt{\pi}}{2} \quad \text{при } \beta \rightarrow 0, \\
 &\rightarrow \sqrt{\pi} \quad \text{при } \beta \rightarrow \infty.
 \end{aligned}$$

Тогда из выражения (34) сразу получается

$$\left. \begin{aligned}
 Z_{p_i} &\rightarrow \frac{1}{2} \sqrt{\frac{2\pi}{\beta c_i}}, \quad \beta \rightarrow 0 \\
 Z_{p_i} &\rightarrow \sqrt{\frac{2\pi}{\beta c_i}}, \quad \beta \rightarrow \infty
 \end{aligned} \right\} \quad (36)$$

Поскольку $\Gamma(1, 0) = 1$, для Z_{q_i} получается следующее предельное выражение:

$$\begin{aligned}
 Z_{q_i} &= e^{\beta b_i} (\beta b_i)^{-(\beta b_i+1)} \Gamma\left(\beta b_i + 1, \frac{\beta b_i A_i}{Q_i}\right) \approx \\
 &\approx (1 + \beta b_i) \left(\frac{1}{\beta b_i}\right)^{\beta b_i+1} (1 + \beta).
 \end{aligned}$$

Следовательно,

$$Z_{q_i} \rightarrow \frac{1}{\beta b_i}, \quad \beta \rightarrow 0. \quad (37)$$

Теперь получим выражение для «таландической свободной энергии» ψ , которая определяется равенством

$$-\beta\psi = \log Z = \quad (38)$$

$$\begin{aligned} &= \sum_{i=1}^n (\log Z_{p_i} + \log Z_{q_i}) = \\ &= \sum_{i=1}^n \left\langle \left\{ -\frac{1}{2} \log \frac{\beta c_i}{2} + \log \operatorname{Erfc} \left[-p_i \sqrt{\frac{\beta c_i}{2}} \right] \right\} + \right. \\ &\quad \left. + \left[\beta b_i - (\beta b_i + 1) \log \beta b_i + \log \Gamma \left(\beta b_i + 1, \frac{\beta b_i A_i}{Q_i} \right) \right] \right\rangle. \end{aligned}$$

Следовательно,

$$\begin{aligned} \psi &= \sum_{i=1}^n \left\langle -\frac{1}{\beta} \left\{ \frac{1}{2} \log \frac{2}{\beta c_i} + \log \operatorname{Erfc} \left[-p_i \sqrt{\frac{\beta c_i}{2}} \right] \right\} + \right. \\ &\quad \left. + \left[\frac{\beta b_i + 1}{\beta} \log \beta b_i - b_i - \frac{1}{\beta} \log \Gamma \left(\beta b_i + 1, \frac{\beta b_i A_i}{Q_i} \right) \right] \right\rangle \equiv \\ &\equiv \sum_{i=1}^n \{ \psi_{p_i} + \psi_{q_i} \}. \quad (39) \end{aligned}$$

«Внутренняя энергия» определяется как среднее значение G , следовательно,

$$\begin{aligned} \overline{G} &= \frac{\partial \log Z}{\partial \beta} = \\ &= - \sum_{i=1}^n \left(\left\{ -\frac{1}{2\beta} - \frac{\frac{1}{2} \left(\frac{c_i}{2\beta} \right)^{1/2} e^{-\beta c_i p_i^2 / 2}}{\operatorname{Erfc} \left[-p_i \sqrt{\frac{\beta c_i}{2}} \right]} \right\} + \right. \\ &\quad \left. + \left[-\frac{1}{\beta} - b_i \log \beta b_i + \frac{\partial}{\partial \beta} \log \Gamma \left(\beta b_i + 1, \frac{\beta b_i A_i}{Q_i} \right) \right] \right) = \\ &= \sum_{i=1}^n \left(\frac{1}{2} \left\{ \frac{1}{\beta} + \frac{\left(\frac{c_i}{2\beta} \right)^{1/2} e^{-(\beta c_i p_i^2 / 2)}}{\operatorname{Erfc} \left[-p_i \sqrt{\frac{\beta c_i}{2}} \right]} \right\} + \right. \end{aligned}$$

$$+ \left[\frac{1}{\beta} + b_i \log \beta b_i - \frac{\partial}{\partial \beta} \log \Gamma \left(\beta b_i + 1, \frac{\beta b_i A_i}{Q_i} \right) \right] \Bigg) \equiv$$

$$\equiv \sum_{i=1}^n \{ \bar{G}_{x_i} + \bar{G}_{y_i} \}. \quad (40)$$

«Таландическая энтропия» имеет вид

$$\bar{S} \equiv \frac{\bar{G} - \psi}{\theta} = \log Z - \beta \frac{\partial}{\partial \beta} \log Z \equiv \sum_{i=1}^n \{ \bar{S}_{x_i} + \bar{S}_{y_i} \}.$$

Следовательно,

$$\begin{aligned} \bar{S}_{x_i} &= \log Z_{p_i} - \beta \frac{\partial}{\partial \beta} \log Z_{p_i} = \\ &= -\frac{1}{2} \log \frac{\beta c_i}{2} + \log \operatorname{Erfc} \left[-p_i \sqrt{\frac{\beta c_i}{2}} \right] + \\ &+ \frac{1}{2} \left\{ 1 + \frac{\left(\frac{\beta c_i}{2} \right)^{1/2} p_i e^{-\beta c_i p_i^2 / 2}}{\operatorname{Erfc} \left[-p_i \sqrt{\frac{\beta c_i}{2}} \right]} \right\} = \\ &= \frac{1}{2} \left(1 - \log \frac{\beta c_i}{2} \right) + \log \operatorname{Erfc} \left[-p_i \sqrt{\frac{\beta c_i}{2}} \right] + \\ &+ \frac{\frac{1}{2} \left(\frac{\beta c_i}{2} \right)^{1/2} p_i e^{-\beta c_i p_i^2 / 2}}{\operatorname{Erfc} \left[-p_i \sqrt{\frac{\beta c_i}{2}} \right]}. \end{aligned} \quad (41)$$

$$\begin{aligned} \bar{S}_{y_i} &= \log Z_{q_i} - \beta \frac{\partial}{\partial \beta} \log Z_{q_i} = \\ &= \beta b_i - (\beta b_i + 1) \log \beta b_i + \log \Gamma \left(\beta b_i + 1, \frac{\beta b_i A_i}{Q_i} \right) + \\ &+ \left[1 + \beta b_i \log \beta b_i - \beta \frac{\partial}{\partial \beta} \log \Gamma \left(\beta b_i + 1, \frac{\beta b_i A_i}{Q_i} \right) \right] = \\ &= (\beta b_i + 1) - \log \beta b_i + \log \Gamma \left(\beta b_i + 1, \frac{\beta b_i A_i}{Q_i} \right) - \\ &- \beta \frac{\partial}{\partial \beta} \log \Gamma \left(\beta b_i + 1, \frac{\beta b_i A_i}{Q_i} \right). \end{aligned} \quad (42)$$

Важнейшее свойство энтропии состоит в том, что она оказывается максимальной, когда система, описываемая каноническим ансамблем, находится в положении равновесия. При других состояниях этой системы соответствующая величина ($-\log \rho$) меньше. Это интерпретируется как стремление системы перейти из неравновесного состояния в равновесное с максимальной энтропией. В эпигенетической системе фиксированное значение $\bar{G}$, грубо говоря, означает, что система обладает определенным количеством колебательной энергии, которое остается постоянным. Согласно закону возрастания энтропии, между различными частями системы будет происходить обмен энергией до тех пор, пока $\bar{S}$ не станет максимальной; тогда система достигнет равновесия и обмен прекратится. При этом в отдельных частях системы сохранятся флуктуации G , и здесь мы опять должны подчеркнуть, что в биологических системах рассматриваемого вида, где число степеней свободы в лучшем случае порядка сотен, но, конечно, не миллионов, флуктуации могут быть весьма существенными. Кроме того, может оказаться (и это более серьезно), что гетерогенность внутриклеточной структуры препятствует обмену колебательной энергией между различными частями клетки. В этом случае бессмысленно вводить параметры, характеризующие состояние клетки в целом.

Однако нужно помнить, что в клетке есть каналы связи, которые ведут от хромосом к клеточным органеллам и обратно. Иначе говоря, в клетке имеется двустороннее движение сигналов, существенное для ее функционирования. Исследование динамики этих каналов связи и является предметом нашей работы. Холинэстераза (сосредоточенная в ядре и микросомах клеток животных) может быть совершенно строго физически изолирована от дезоксирибонуклеазы (находящейся в митохондриях и лизосомах; см., например, [17]). Однако согласно современным данным, обоим этим ферментам должны соответствовать специфические m -РНК, синтезирующиеся на ядерных ДНК-матрицах из активированных нуклеотидов, образующих общий метаболический фонд. Кроме того, оба эти фермента являются белками, синтез которых также осуществляется с помощью общего

фонда активированных аминокислот. Точная природа сигналов обратной связи, которые доставляют в генетический локус информацию о влиянии этих ферментов на метаболизм, остается неизвестной. Но, по-видимому, можно с достаточной уверенностью сказать, что эта цепь управления каким-то образом замыкается. Основные биохимические процессы образуют общее биохимическое «пространство», внутри которого имеют место взаимодействия между компонентами, т. е. слабая связь охватывает всю клетку. Можно считать, что все это дает нам достаточные основания для введения обобщенных параметров и функций для всей клетки. Значительно труднее было бы оправдать попытку ввести общие параметры на основе классической термодинамики, использующей в качестве фундаментального инварианта физическую энергию; это объясняется наличием пространственного разделения внутри клетки, которое не позволяет рассматривать энергетическое распределение для всей клетки и поэтому делает невозможным использование обычных термодинамических параметров состояния для описания клетки в целом. В этом случае, по-видимому, следовало бы применять термодинамику необратимых процессов. Однако пока еще у нас нет четких и надежных макроскопических принципов, способных описывать поведение системы вдали от термодинамического равновесия. Правда, Пригожин [83] получил важный результат, показывающий, что в стационарном состоянии скорость возрастания энтропии минимальна. Однако в результате работ многих авторов (например, Денбига [14]) было строго показано, что этот принцип выполняется лишь в малой окрестности состояния термодинамического равновесия, где справедливы соотношения Онзагера. По-видимому, будет весьма трудно распространить эту теорию на такие практически необратимые процессы, как синтез макромолекул в клетке, хотя Пригожин и Балеску [84, 85] получили один весьма интересный результат, который мы обсудим в следующей главе.

Очевидно, что можно сразу продвинуться вперед, приняв с самого начала, что изучаемая система практически необратима, и строя на этой основе новую термо-

динамику. Тогда возможно вывести макроскопические законы, аналогичные классическим, например принцип максимальной энтропии. Однако предположение о стационарности системы неизбежно накладывает определенные ограничения, подобные тем, которые лежат в основе классической, т. е. не учитывающей время, термодинамики. В нашем конкретном случае эти ограничения состоят в том, что все компоненты должны обладать строго определенными стационарными состояниями и что вся система не должна обмениваться таландической энергией G со своим окружением, исключая случай обратимого обмена. Только при выполнении этих условий мы можем использовать «термодинамическую» теорию для описания нашей системы. Выполнение этих ограничений означает, что клетка не растет и не дифференцируется, а просто поддерживает свое первоначальное состояние. При этом любые изменения θ , вызываемые взаимодействием клетки и среды, должны происходить очень медленно, чтобы изменение таландического состояния клетки было обратимым в термодинамическом смысле. Если эти условия удовлетворяются, то мы можем использовать аппарат нашей теории для вычисления, например, изменений таландической свободной энергии в эпигенетической системе.

В гл. 8 мы опишем экспериментальную процедуру, с помощью которой можно было бы медленно изменять величину θ в клетке, не меняя микроскопического состояния системы (т. е. величин стационарных значений), и предложим способ наблюдения за этими макроскопическими изменениями, не повреждающий клетку. Здесь нужно заметить, что мы не накладываем никаких ограничений на частоты эпигенетических осцилляторов или на изменения соотношений частот различных компонентов, что дает большую свободу при изучении временной организации системы. А в данном исследовании нас как раз и интересует временная организация, причем именно та, которая в эпигенетической системе определяется средними значениями концентраций макромолекул.

Необходимость рассматривать клетку в состоянии покоя (без роста и дифференцировки) представляет собой весьма сильное ограничение, которое делает практически

невозможным приложение этой теории к эмбриологии. Самое большее, что мы можем сделать, это предложить скорее качественное, чем количественное объяснение некоторых морфогенетических явлений, которые, возможно, тесно связаны с колебательной природой рассматриваемых нами замкнутых регуляторных систем, и высказать некоторые предположения об основе временной организации в клетках эмбриона. Вероятно, более правильным подходом к проблеме была бы попытка такого аналитического расширения теории, которое учитывает и необратимые процессы (для этого можно было бы использовать процедуру, аналогичную методам Онзагера, Пригожина, Де Гроота и других исследователей термодинамики необратимых процессов). Другой возможной альтернативой является переопределение системы посредством введения новых переменных, при которых положения равновесия определялись бы уже не постоянными концентрациями макромолекул в клетке, а их относительными концентрациями (например, отношением концентрации m -РНК данного вида к полной концентрации m -РНК в клетке и аналогичными величинами для белков). Тогда систему можно было бы рассматривать как равновесную все время, пока она находится в стационарном состоянии — как в покое, так и при наличии роста; правда, дифференцировка и в этом случае будет описываться как необратимый процесс. Такой подход был бы, несомненно, полезным обобщением нашей теории, и мы сейчас изучаем его возможности. Однако при этом возникает много трудностей, способы разрешения которых еще не ясны. И может оказаться, что наиболее удовлетворительным способом разрешения все чаще возникающей в инвариантных теориях проблемы необратимости является создание всеобъемлющей термодинамики, явно включающей время. В последнем случае потребуются глубокая реорганизация и реконструкция физической теории, и не исключено, что адекватное описание биологических процессов станет возможным только после создания мощной феноменологической теории такого типа. Однако нам кажется, что в биологии есть некоторые проблемы, к анализу которых можно приступить, располагая более специализированной и менее всеобъемлющей теорией, которая тем не менее позволит

кое-что узнать о силах, обеспечивающих организацию и единство в биологических системах. А это и является в конечном счете целью настоящей работы.

Чтобы получить полный набор «термодинамических» функций, введем еще понятие работы в наш эпигенетический контекст. В статистической механике это понятие связано с величинами, которые называются внешними параметрами. Они характеризуют внешнюю среду системы, и их изменения вынуждают систему изменять свое «термодинамическое» состояние. В гл. 2 мы остановили наше внимание на понятиях системы и среды, поскольку они являются фундаментальными и лежат в основе экспериментальной науки. По словам Шредингера, ученый всегда должен иметь некоторый набор ключей и рычагов, чтобы по-всякому «поворачивать» избранную им систему и таким образом изучать ее поведение. В биологии клетки этими «инструментами» служат такие факторы, как, скажем, электрический ток, концентрации химических соединений, дозы ультрафиолетового облучения, температура и т. п. В эмбриологии экспериментатор не имеет возможности непосредственно регулировать большую часть стимулов. Однако метод трансплантаций позволяет поместить «систему», например кусочек эктодермы бластулы, в такую среду, которая обеспечивает нужные воздействия, скажем, в область губы бластопора, где, как известно, происходит первичная индукция. Задача ученого состоит в том, чтобы обнаружить такие связи между внешними воздействиями и реакцией системы, которые позволили бы при определенном наборе условий всегда получать один и тот же результат. Идя дальше, мы обычно стремимся установить количественные соотношения между величиной стимула и силой реакции. Число переменных, требуемое для описания этих соотношений, конечно, в большой степени зависит от типа изучаемой системы и от целей, которые ставит перед собой экспериментатор. Изучая реакции клеток на стимулы, экспериментатор обычно выбирает какой-либо четкий признак для измерения этих реакций, например мембранный потенциал, активность фермента или тип клона. Он может увеличить как число параметров среды, так и число переменных в системе. При этом число переменных, которое экспериментатор может изучать

при исследовании реакций на разные стимулы, ограничено только средствами того учреждения, которое покупает ему оборудование и оплачивает технический персонал.

Однако цель термодинамики и состоит как раз в том, чтобы попытаться обеспечить некоторую экономию при описании экспериментальной ситуации. В термодинамике рассматриваются соотношения между теми величинами, которые описывают не микроскопические, а общие, или макроскопические, свойства системы. Например, исходя из «макроскопического» факта, что константа скорости ферментативной реакции увеличивается с ростом температуры, можно было бы попытаться вывести общие соотношения между физической температурой и размером клетки, поскольку известно, что размер клетки, вообще говоря, уменьшается с ростом температуры, по крайней мере в определенном интервале температур [69]. При таком подходе физическую температуру следовало бы рассматривать как внешний параметр. Хотя этот случай не так уж важен и мало проясняет биологические проблемы, он иллюстрирует тип закономерностей, отыскание которых составляет цель термодинамического подхода. Конечно, более полезным было бы выяснить соотношения, скажем, между таландической температурой клетки θ и способностью клетки отвечать на определенный стимул или между величиной θ и способностью клетки к адаптации. Для описания таких соотношений нужно ввести понятие «термодинамической силы». Так, например, в эмбриологии компетентная клетка обладает определенным потенциалом ответа на различные стимулы. Изменение какого-либо параметра среды будет вызывать изменение компетентной системы, зависящее от величины и направления «термодинамической силы», связанной с этим параметром. В результате такого превращения будет произведена некоторая «работа». Как мы сейчас покажем, эти изменения в состоянии эпигенетической системы тесно связаны с изменениями ее свободной энергии.

Обобщенная сила, связанная с внешним параметром s_r , определяется следующим выражением:

$$F_r = -\frac{\partial G}{\partial s_r} = -\sum_{i=1}^n \left\{ \frac{\partial c_i}{\partial s_r} \frac{x_i^2}{2} + \frac{\partial b_i}{\partial s_r} [y_i - \log(1 + y_i)] \right\}.$$

Это выражение справедливо для системы без сильной связи между компонентами. Таким образом, можно видеть, что в настоящей теории силы выражаются через величины c_i и b_i , которые считаются функциями внешних параметров. Каноническое среднее от силы, связанной с s_r , выражается следующим образом:

$$\begin{aligned}
 \bar{F}_r &\equiv - \int \frac{\partial G}{\partial s_r} e^{-\beta G} dv / \int e^{-\beta G} dv = \\
 &= - \sum_{i=1}^n \left\{ \frac{\int_{-p_i}^{\infty} \frac{\partial c_i}{\partial s_r} \frac{x_i^2}{2} e^{-\beta G_{x_i}} dx_i}{Z_{p_i}} + \right. \\
 &\quad \left. + \frac{\int_{-\tau_i}^{\infty} \frac{\partial b_i}{\partial s_r} [y_i - \log(1 + y_i)] e^{-\beta G_{y_i}} dy_i}{Z_{q_i}} \right\} = \\
 &= \frac{1}{\beta} \sum_{i=1}^n \left\{ \frac{\partial c_i}{\partial s_r} \frac{1}{Z_{p_i}} \frac{\partial Z_{p_i}}{\partial c_i} + \frac{\partial b_i}{\partial s_r} \frac{1}{Z_{q_i}} \frac{\partial Z_{q_i}}{\partial b_i} \right\} = \\
 &= \frac{1}{\beta} \sum_{i=1}^n \left\{ \frac{\partial c_i}{\partial s_r} \frac{\partial \log Z_{p_i}}{\partial c_i} + \frac{\partial b_i}{\partial s_r} \frac{\partial \log Z_{q_i}}{\partial b_i} \right\} = \\
 &= - \sum_{i=1}^n \left\{ \frac{\partial c_i}{\partial s_r} \frac{\partial \psi_{p_i}}{\partial c_i} + \frac{\partial b_i}{\partial s_r} \frac{\partial \psi_{q_i}}{\partial b_i} \right\}. \quad (43)
 \end{aligned}$$

Таким образом,

$$\bar{F}_r \equiv \sum \{ \bar{F}_{p_i r} + \bar{F}_{q_i r} \},$$

где

$$\bar{F}_{p_i r} = - \frac{\partial c_i}{\partial s_r} \frac{\partial \psi_{p_i}}{\partial c_i}, \quad \bar{F}_{q_i r} = - \frac{\partial b_i}{\partial s_r} \frac{\partial \psi_{q_i}}{\partial b_i}.$$

Теперь, используя тождество

$$\bar{G}_{x_i} \equiv - \frac{\partial \log Z_{p_i}}{\partial \beta}$$

и тот факт, что c_i всегда входит в выражение для Z_{p_i} в виде βc_i , легко показать, что

$$\frac{\partial \psi_{p_i}}{\partial c_i} \equiv \frac{1}{\beta} \frac{\partial \log Z_{p_i}}{\partial c_i} = \frac{1}{c_i} \bar{G}_{x_i}.$$

Аналогично,

$$\frac{\partial \psi_{q_i}}{\partial b_i} \equiv \frac{1}{\beta} \frac{\partial \log Z_{q_i}}{\partial b_i} = \frac{1}{b_i} \bar{G}_{y_i}.$$

Тогда

$$\bar{F}_{p_i r} = -\bar{G}_{x_i} \frac{1}{c_i} \frac{\partial c_i}{\partial s_r} = -\bar{G}_{x_i} \frac{\partial \log c_i}{\partial s_r}$$

и

$$\bar{F}_{q_i r} = -\bar{G}_{y_i} \frac{1}{b_i} \frac{\partial b_i}{\partial s_r} = -\bar{G}_{y_i} \frac{\partial \log b_i}{\partial s_r}.$$

Отсюда наконец

$$\bar{F}_r = - \sum_{i=1}^n \left\{ \bar{G}_{x_i} \frac{\partial \log c_i}{\partial s_r} + \bar{G}_{y_i} \frac{\partial \log b_i}{\partial s_r} \right\}. \quad (44)$$

Мы видим, что внешние параметры влияют на систему через величины c_i и b_i , изменяя стационарные значения переменных и тем самым значения таландических функций θ , $\bar{G}$, $\bar{S}$ и ψ . Таландическая работа, произведенная при изменении внешнего параметра s_r на величину δs_r , равна

$$\delta W \equiv \bar{F}_r \delta s_r = \sum_{i=1}^n \left\{ \frac{\partial \psi_{p_i}}{\partial c_i} \frac{\partial c_i}{\partial s_r} + \frac{\partial \psi_{q_i}}{\partial b_i} \frac{\partial b_i}{\partial s_r} \right\} \delta s_r.$$

Если s_r — это стимул, который действует в течение промежутка времени от t_0 до t_1 , тогда величина произведенной работы будет равна

$$\begin{aligned} W &= \int_{t_0}^{t_1} F_r \frac{ds_r}{dt} dt = \\ &= - \sum_{i=1}^n \int_{t_0}^{t_1} \left\{ \frac{\partial \psi_{p_i}}{\partial c_i} \frac{\partial c_i}{\partial s_r} + \frac{\partial \psi_{q_i}}{\partial b_i} \frac{\partial b_i}{\partial s_r} \right\} \frac{ds_r}{dt} dt. \end{aligned}$$

Если θ поддерживается на постоянном уровне и процесс обратимый, то можно написать

$$\begin{aligned} W &= - \sum_{i=1}^n \left\{ \int_{c_i(t_0)}^{c_i(t_1)} \frac{\partial \psi_{p_i}}{\partial c_i} dc_i + \int_{b_i(t_0)}^{b_i(t_1)} \frac{\partial \psi_{q_i}}{\partial b_i} db_i \right\} = \\ &= - \left\{ \sum_{i=1}^n [\psi_{p_i}(c_i(t_1)) + \psi_{q_i}(b_i(t_1))] - \right. \\ &\quad \left. - \sum_{i=1}^n [\psi_{p_i}(c_i(t_0)) + \psi_{q_i}(b_i(t_0))] \right\} = \psi_0 - \psi_1. \end{aligned}$$

Эта величина может быть как положительной, так и отрицательной. Мы условимся считать, что если величина $\psi_0 - \psi_1$ положительна, то эпигенетическая система *сама* совершает работу, поскольку ее конечная свободная энергия ψ_1 меньше исходной ψ_0 . Но если величина $\psi_0 - \psi_1$ отрицательна, то мы будем говорить, что таландическая работа совершается *над* системой. Например, если рассматривать s_r как индуктор, то $\psi_0 - \psi_1$ — это таландическая работа, производимая этим индуктором, при условии, что он действует очень медленно (обратно) и θ поддерживается постоянным. Однако в ходе реальных индуктивных процессов, которые необратимы и происходят при изменяющемся θ , величина таландической работы, необходимой для соответствующего изменения состояния эпигенетической системы, должна быть больше.

Итак, мы располагаем теперь полным набором функций для исследования «термодинамических» свойств колебательных регуляторных систем нашего типа. Было бы преждевременно производить дальнейший математический анализ свойств этих функций, не показав экспериментально их полезность для изучения жизнедеятельности клетки. Прежде всего необходимо установить наличие параметра θ у покоящейся клетки и показать, что могут существовать различные G -состояния, аналогичные энергетическим состояниям физической системы. В гл. 8 мы обсудим возможный экспериментальный подход к этой проблеме. Только после проведения подобных экспериментов будет иметь

смысл дальнейший анализ наших термодинамических функций.

При сравнении нашей теории с классической термодинамикой бросается в глаза отсутствие одной важной величины. Речь идет о потенциальной энергии. В классической теории энергию физической системы можно разделить на две части: кинетическую и потенциальную. В случае простой консервативной системы переменные, входящие в выражение полной энергии, т. е. в гамильтониан, также разделяются на импульсы, дающие кинетическую энергию, и координаты, определяющие потенциальную энергию системы. Хотя в нашей теории имеется система канонических переменных, аналогичных координатам и импульсам физической системы, однако эта аналогия не распространяется на существование двух различных типов гамильтоновой энергии G — «кинетической» и «потенциальной». В физике импульс p_i может быть постоянным без того, чтобы и координата c_i была постоянной. В эпигенетической системе, если $x_i = \text{const}$, то оно с необходимостью равно нулю (т. е. $X_i = p_i$ — стационарное значение) и тем самым автоматически $y_i = 0$ (т. е. $Y_i = q_i$). Отсюда $\theta = 0$ и система находится в основном состоянии. Таким образом, обе эпигенетические переменные аналогичны импульсу и вся «энергия» системы является «кинетической».

Возможно, однако, что для системы связанных нелинейных осцилляторов все же может быть найдена потенциальная функция, но она будет описывать распределение частот осцилляторов друг относительно друга. Фундаментальное отличие линейных осцилляторов от нелинейных заключается в том, что первые не взаимодействуют между собой и их свойства аддитивны, тогда как между вторыми осуществляются взаимодействия того или иного вида. Минорский [64] писал: «Возможно, что вся теория нелинейных колебаний может быть построена на основе взаимодействий». В нашем случае можно предполагать, что в результате взаимодействия между биохимическими осцилляторами образуется некоторая система упорядоченных соотношений между частотами отдельных осцилляторов, подчиняющаяся некоему принципу минимума потенциальной энергии. Отличительная черта такого

принципа состоит в том, что он должен описывать временные, а не пространственные взаимодействия. В физике принцип минимума потенциальной энергии является существенно пространственным, тогда как в системе биохимических осцилляторов, о которой мы говорим, упорядоченность имеет место во времени. Таким образом, мы прямо подходим к анализу временной организации клетки. В гл. 7 мы покажем, как с помощью статистической механики можно получить информацию об этой стороне организации эпигенетической системы. Однако сначала необходимо весьма критически исследовать корректность наших исходных дифференциальных уравнений, описывающих динамику системы, и для этого оценить размеры популяций макромолекул и скорости реакций, лежащих в основе этой динамики. Только таким способом мы можем обеспечить количественную основу для нашей теории.

Время релаксации

эпигенетических систем

РАЗМЕРЫ ПОПУЛЯЦИЙ МАКРОМОЛЕКУЛ В КЛЕТКАХ

Содержание этой главы имеет решающее значение для настоящего исследования, посвященного динамике клеточных регуляторных механизмов. Мы произведем количественные оценки, которые покажут нам, действительно ли возможно упорядоченное динамическое поведение различных видов *m*-РНК и белка, как мы до сих пор считали. Может оказаться, что размеры популяций молекул (в особенности *m*-РНК) столь малы, что предположение о непрерывности становится несправедливым и имеет смысл лишь вероятностное описание. Введение стохастических (т. е. случайных) переменных в нашу теорию отнюдь не изменяет основных динамических характеристик тех регуляторных систем с обратной связью, колебательное поведение которых мы изучаем. Такое вероятностное рассмотрение было проведено Феллером [24] относительно систем Вольтерра. Феллер нашел, что после усреднения случайных отклонений в стохастической системе хищник — жертва можно обнаружить явные колебания численности популяции. Необходимо будет, однако, более подробно рассмотреть, при каком уровне шума биохимические регуляторные системы сохраняют способность к периодическому, или ритмическому, поведению. Другими словами, основной вопрос состоит в следующем: насколько сильным должен быть колебательный сигнал при наличии данного уровня шума самих биосинтетических процессов (но не биохимического окружения, в которых эти процессы происходят), чтобы его можно было зарегистрировать как периодическое изменение? Это, конечно, важный вопрос. Но он требует рассмотрения многочисленных аспектов процессов фильтрации, исправления ошибок и проблемы надежности в применении к процессам регуляции матричного синтеза, что находится за пределами

нашего исследования; к тому же у нас слишком мало надежных фактов. Наш подход состоит в том, что мы принимаем существование регулярных колебаний в системе и вводим шум как особенность той биохимической среды («бани»), в которую погружены компоненты колебательной системы. Такая ситуация полностью удовлетворяет требованиям статистической механики, которую можно использовать для определения величины тех нерегулярностей, или флуктуаций, переменных системы, источником которых служит шум среды. Ясно, что подобная процедура является аппроксимацией, которая справедлива только при наличии непрерывных переменных, т. е. когда размеры макромолекулярной популяции достаточно велики. Посмотрим, так ли это.

Единственные надежные оценки размеров популяций макромолекул в клетках, которые в настоящее время имеются в нашем распоряжении, получены для бактерий, главным образом на *Escherichia coli*. Однако на основе этих оценок можно сделать некоторые разумные предположения относительно размеров популяций у простейших и высших организмов. Недавнее исследование Бирна [7] показывает, что в бактериальной клетке, находящейся в стадии логарифмического роста (в этот период деления происходят приблизительно каждый час), имеется примерно $1,6 \cdot 10^4$ рибосом. Около 13,7% этих рибосом активны, так что имеется около $2 \cdot 10^3$ рибосом, осуществляющих синтез белка. Это совсем не значит, что в клетке в каждый данный момент присутствуют 2000 молекул *m*-РНК, поскольку исследования Уорнера, Рича и Холла [114] показали, что одна молекула *m*-РНК высокого молекулярного веса ($\sim 10^6$) может «считываться» несколькими рибосомами одновременно. Эти наблюдения были сделаны на материале, полученном из ретикулоцитов кролика, и до сих пор не известно, имеет ли место это явление у бактерий. Примем, однако, что в каждый данный момент в бактериальной клетке имеется примерно $2 \cdot 10^3$ молекул информационной РНК. Согласно оценке Дэвиса [12], в клетке, экспоненциально растущей в богатой среде (так что ей не надо синтезировать аминокислоты или нуклеотиды), присутствуют 400—500 различных видов белка.

Примем, что для одного вида белка нужно в среднем 4—5 молекул *m*-РНК. Это удивительно маленькое число. Однако синтез молекулы белка в бактериальной клетке, по расчетам Бирна, занимает около 4 сек (другие авторы [63] оценивают это время в 5 сек). Следовательно, одна молекула *m*-РНК может произвести в 1 мин 15 молекул белка, и эти белки очень стабильны для экспоненциально растущих клеток [60]. При такой скорости синтеза $2 \cdot 10^3$ молекул информационной РНК могут синтезировать за час $2 \cdot 10^3 \cdot 15 \cdot 60 = 1,8 \cdot 10^6$ молекул белка, что близко к числу молекул белка, нужных для построения новой бактериальной клетки [34].

Эти вычисления, конечно, весьма приблизительны, и достоверным можно считать лишь порядок величины полученных оценок. Наиболее слабым их пунктом является то, что средний размер популяции молекул информационной РНК в бактериальной клетке, на котором они базируются, очень мал. При некоторых условиях этот размер может сильно меняться. Так, например, согласно оценке Бирна [7], в тех случаях, когда локус щелочной фосфатазы у *E. coli* полностью индуцирован, синтезом этого фермента заняты около 840 активных рибосом, и доля его в общем количестве синтезируемого белка клетки достигает около 20%. В этом полностью индуцированном состоянии локус щелочной фосфатазы должен производить примерно 1—2 молекулы *m*-РНК в секунду, так как время жизни этих молекул составляет всего около 2 мин [54]. Таким образом, один индуцированный локус может поддерживать численность популяции молекул *m*-РНК на уровне 120—240 молекул; в одной же бактериальной клетке обычно имеется 2—3 таких локуса. Следовательно, при полной индукции популяция молекул информационной РНК, ответственных за синтез данного индуцируемого фермента, может насчитывать сотни молекул.

Условием индукции щелочной фосфатазы у *E. coli* является недостаток фосфата; при наличии фосфата скорость синтеза уменьшается примерно до одной молекулы в 60 сек, что в 15 раз меньше скорости синтеза, наблюдаемой при экспоненциальном росте (время генерации 1 час), когда 1 молекула синтезируется за 4 сек [7].

Таким образом, ясно, что эпигенетическое состояние бактериальной клетки и, следовательно, размеры популяций различных видов *m*-РНК и белков очень сильно меняются в зависимости от условий среды. Имеют ли все локусы бактериальной клетки столь большие возможности для синтеза *m*-РНК, как и индуцируемые локусы, неизвестно; это кажется маловероятным. Однако вполне возможно, что в принципе все локусы могут быть индуцированы, но механизмы их регуляции гораздо сложнее, чем у локусов, регулирующих синтез гидролитических ферментов типа щелочной фосфатазы или β -галактозидазы.

На основании этих оценок очевидно, что число молекул многих видов информационной РНК в бактериальной клетке в среднем меньше 10. Конечно, эти величины слишком малы, чтобы кинетику этого вида молекул можно было описать с помощью непрерывных переменных. Поведение такой популяции во времени должно быть крайне нерегулярным. Число молекул *m*-РНК будет случайно меняться в пределах примерно от 5 до 15, вызывая соответствующие изменения в размерах популяций гомологических видов белков; правда, «шум», производимый в популяции белков, будет несколько меньше, чем в популяции *m*-РНК. Так, если за 10 мин число молекул информационной РНК изменится, скажем, от 10 до 20 молекул и затем обратно до 10, то эти «лишние» информационные молекулы произведут за это время примерно 1200 «лишних» молекул белка. При средней величине белковой популяции около $4 \cdot 10^3$ ($1,8 \cdot 10^6$ белковых молекул 500 различных видов) изменение популяции в процентах составит $\frac{120}{4} = 30\%$, тогда как изменение популяции молекул *m*-РНК составляло 50%.

Из этого краткого рассмотрения бактериальных систем можно сделать следующий вывод. Любые непрерывные колебания, которые могли бы иметь место в бактериальной клетке в результате действия отрицательной обратной связи в системах биохимической регуляции, будут из-за их малых размеров почти целиком подавляться шумом, существующим в популяциях *m*-РНК. Совершенно неразумно использовать дифференциальные уравнения и непрерывные переменные для описания кинетики тех видов

молекул, общее число которых в клетке меньше 10. Поэтому при изучении временной организации бактерий такой подход не может быть использован. Существует, однако, одно довольно утешительное обстоятельство: до сих пор у бактерий не было обнаружено никаких ритмических или циклических явлений, аналогичных суточным, лунным, приливно-отливным и другим ритмам, столь часто наблюдаемым у высших организмов, начиная от простейших и выше. Эре и Барлоу [19] высказали предположение, что причина этого заключается в отсутствии у бактерий четко отграниченного ядра. По мнению этих авторов, двухоболочечная структура ¹⁾, которой обладают все более высоко организованные клетки, является необходимым условием возникновения колебаний в цепях регуляции с обратной связью. Как показывают приведенные выше соображения, другая и, возможно, более важная причина отсутствия суточных и иных ритмов у бактерий состоит, вероятно, в том, что создание и использование периодического сигнала в этих клетках крайне затруднены из-за очень высокого уровня шума в очень малой популяции молекул бактериальной *m*-РНК.

Существует, однако, ситуация, при которой, согласно нашим исходным положениям, в бактериальной клетке могут происходить правильные колебания; это будет в том случае, когда локус активирован настолько, чтобы среднее число молекул *m*-РНК, соответствующих синтезируемым видам белка, поддерживалось на уровне 100—200. Так, в уже рассмотренном выше случае щелочной фосфатазы, в котором синтез *m*-РНК регулируется концентрацией неорганического фосфата в клетке, в последней существует замкнутая цепь обратной связи типа указанной на фиг. 1. После того как произошла индукция фермента и размер популяции *m*-РНК достиг порядка нескольких сотен молекул, относительный уровень шума должен, вероятно, оказаться достаточно низким, чтобы существование незатухающих колебаний стало существенной динамической особенностью системы регуляции (если, конечно, постоянные времени системы допускают коле-

¹⁾ То есть наличие оболочки ядра наряду с оболочкой клетки.—
Прим. ред.

бания). При реализации всех синтетических возможностей бактериальной клетки эти колебания могут иметь период порядка нескольких минут или, возможно, 20—30 мин, что соответствует частоте 2—3 цикла в 1 час. Если в клетке будут сравнительно велики размеры популяций для нескольких компонентов, то в этих условиях она могла бы иметь несколько стабильных осцилляторов. Этого может оказаться достаточным для того, чтобы клетка приобрела некоторую временную структуру, хотя вопрос о природе и функции этой структуры пока совершенно не ясен¹⁾.

Прежде чем перейти от бактериальных клеток к клеткам других типов, следует упомянуть об одном свойственном бактериям процессе, который в некотором смысле все же является циклическим, а именно о делении клеток. Как известно, существует ряд способов, посредством которых популяции бактерий можно синхронизировать за время, соответствующее некоторому ограниченному числу клеточных делений [53], в результате чего примерно 90% клеток начинают делиться одновременно. Ясно, что регуляция метаболизма клетки каким-то образом организована во времени. Проведенные нами грубые оценки показывают, что основу такой динамической организации вряд ли следует искать в динамике эпигенетических явлений на основе колебательного характера биохимических процессов какого-либо типа. Это явно не необходимое допущение; в основе регулярности и повторяемости явлений, наблюдаемых во время деления бактерий, может лежать механизм, совершенно отличный от биохимических часов, которые считаются ответственными за ритмические процессы в более высоко организованных клетках.

Может оказаться, однако, что временная организация цикла деления в бактериальной клетке базируется на колебаниях в *метаболической системе*, возникающих под влиянием торможения по принципу обратной связи. Популяции белков и метаболитов в бактериальной клетке явно достаточно велики, чтобы могли иметь место регулярные колебания этих переменных. Остается, правда, проблема необратимого характера деления клетки (необратимого относительно стационарных состояний, которые

1) См. приведенные на стр. 11 работы [49, 50].— *Прим. ред.*

в настоящей теории служат состояниями равновесия). Действительно, по отношению к концентрациям белков и метаболитов деление клетки не является циклическим процессом, так как их количества удваиваются с каждым делением. Но пользуясь специальными переменными при анализе динамики деления клетки, можно показать (см. гл. 5), что этот процесс является все же периодическим. Правда, пока еще не ясно, можно ли таким образом подходить к этой проблеме. До тех пор пока наша теория не будет расширена настолько, чтобы описывать динамику быстро делящихся клеток, нам придется исключить бактерии из дальнейшего обсуждения и сконцентрировать наше внимание на тех клетках или клеточных системах, деятельность которых является циклической в состоянии покоя или вблизи него.

Обратимся теперь к простейшим, которым свойственны совершенно определенные периодические явления. При сравнении их с бактериями мы видим резкое увеличение размеров клеток. *Paramecium*, например, имеет примерно 150 мк в длину и 50 мк в ширину. В сравнении с обычной бактериальной клеткой, диаметр которой равен примерно 1 мк, объем *Paramecium* в 10^5 раз больше. Утверждать, что размер всех популяций макромолекул будет во столько же раз больше, конечно, нельзя, но предположение о том, что популяции *m*-РНК должны быть увеличены по крайней мере в 100, а возможно, и в 1000 раз, кажется вполне разумным. Но когда популяции *m*-РНК насчитывают 100—1000 молекул, можно уже использовать непрерывные переменные, ибо флуктуации становятся относительно малыми по сравнению со средними значениями. Если стабильность популяций *m*-РНК у простейших выше, чем у бактерий, и синтез белков и *m*-РНК происходит медленнее, переход к непрерывным переменным становится еще более оправданным. Оба эти фактора имеют тенденцию сглаживать резкие изменения в системе. Более того, мы увидим, что если простейшее обладает циркадной периодичностью, то скорость синтеза макромолекул в этом организме должна быть меньше, чем у бактерии. Согласно тому, что известно сейчас о свойствах нелинейных осцилляторов, это объясняется тем, что трудно получить сильные устойчивые колебания с периодом 24 час из колебаний

с периодом $1/2 - 1/3$ час [51], если только клетка не имеет какого-нибудь необычного «каскадного» механизма для преобразования быстрых колебаний в медленные с частотой в 50—75 раз меньше. Мы детально рассмотрим этот вопрос в гл. 7.

Для клеток высших организмов характерно большое разнообразие размеров, но очень немногие из них имеют менее 10 мк в диаметре. Это означает, что объемы этих клеток по крайней мере в 100, а обычно в 1000 раз и больше превосходят объем бактерий. Кроме того, у многоклеточных по причине клеточной специализации и дифференцировки общее число различных белков в клетках одного определенного типа обычно значительно меньше, чем у бактерий. Средний коэффициент обновления белков в таких клетках составляет около 1% в час [60]. Это должно быть связано с более высоким средним уровнем популяций *m*-РНК в клетках высших организмов по сравнению с бактериями, поскольку чем выше коэффициент обновления какого-либо белка, тем большая популяция *m*-РНК нужна для поддержания популяции этого белка на нужном уровне. Скорость обновления, равная 1% в час, значительно больше скорости обновления белков в экспоненциально растущих популяциях бактерий, где белки очень стабильны. Так как многие виды структурных белков в клетке имеют коэффициент обновления значительно меньше 1% в час, можно ожидать, что метаболически активные белки, например ферменты, участвующие в замкнутых регуляторных цепях, могут обновляться на 5—10% в час (и даже больше для таких ферментов, как оксидаза аскорбиновой кислоты, которая инактивируется в процессе катализа)¹⁾.

По наблюдениям Лофтфилда и Эйгнера [56] время синтеза ферритина в печени крысы составляет 5 мин. Мы примем эту величину за среднее время синтеза молекулы белка в высших организмах. Динцис [16], изучая биосинтез полипептидных цепей гемоглобина в ретикулоцитах кролика, нашел, что для синтеза полипептидной единицы

¹⁾ Проблемы интенсивности обновления внутриклеточных белков рассмотрены в книге С. З. Рогинского и С. Э. Шполя «Изотопы в биохимии», Изд. АН СССР, М., 1963.— *Прим. ред.*

требуется меньшее время — примерно 1,5 мин. Но мы примем все же время биосинтеза макромолекулы белка равным 5 мин, поскольку для наших целей необходимо учесть время, требуемое не только для соединения аминокислот в полипептидную цепь, но и для образования вторичной и третичной структур белка и агрегации субъединиц в функционально полноценную макромолекулу. Хотя время, необходимое для синтеза молекулы *m*-РНК, не известно, его нижнюю границу можно оценить в 1 мин, если считать, что у высших организмов, так же как и в бактериальных клетках, синтез *m*-РНК протекает в 4—10 раз быстрее, чем синтез белка. Время жизни *m*-РНК в высших организмах для тех ее видов, которые осуществляют синтез ферментов, совершенно не известно. Однако в эритроцитах, синтезирующих главным образом гемоглобин, молекула *m*-РНК, по-видимому, весьма стабильна (ее время жизни — несколько часов), ибо в отсутствие синтеза *m*-РНК синтез белка в этих клетках протекает еще много часов. В клетках HeLa полупериод жизни молекулы *m*-РНК составляет примерно 3 час [75], что значительно превосходит полупериод жизни этого вида молекул в бактериальных клетках. Мы примем, что средняя продолжительность жизни молекулы *m*-РНК, участвующей в синтезе фермента, включенного в цепь обратной связи, равна 4 час. Тогда одна молекула *m*-РНК будет использоваться в синтезе белка примерно 48 раз. Это не более чем разумное предположение, но на современном уровне наших знаний о молекулярных процессах в клетке ничего более определенного сказать нельзя. При таких предположениях одна матрица ДНК может поддерживать существование популяции *m*-РНК, состоящей примерно из 240 молекул, если, как мы приняли выше, она может синтезировать максимум одну молекулу *m*-РНК в минуту.

ОЦЕНКА ПЕРИОДОВ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ КОЛЕБАНИЙ

Предположим, что мы имеем среднюю популяцию в 100 молекул *m*-РНК какого-либо вида, численность которой поддерживается на этом уровне двумя ДНК-матрицами, работающими не на полную мощность. Если,

далее, коэффициент обновления гомологичного белка равен 5% в час, то его среднее время жизни равно примерно 20 час. Популяция из 100 молекул *m*-РНК может поддерживать численность популяций белка из 24 000 молекул при условии, что одна молекула *m*-РНК синтезирует за 5 мин одну молекулу белка (12 молекул в час). Допустим теперь, что эти популяции образуют описываемую уравнениями (14) замкнутую регуляторную цепь с обратной связью типа представленной на фиг. 1 и что белок является ферментом. Допустим также, в популяции *m*-РНК происходят колебания со средней амплитудой в 50 молекул, так что численность популяции меняется, скажем, между 80 и 130 молекулами (т. е. колебания асимметричны). Полагая среднее время жизни молекулы *m*-РНК равным 4 час, оценим период и амплитуду соответствующих колебаний в популяции белка, а также время, в течение которого будут продолжаться эти колебания. Две ДНК-матрицы могут произвести максимум 120 молекул *m*-РНК в час, и при этом они должны непрерывно восполнять распадающиеся молекулы *m*-РНК. Следовательно, когда популяция *m*-РНК находится на своем нижнем уровне в 80 молекул, двум ДНК-матрицам требуется около 1 час, чтобы, работая в половину мощности, довести уровень популяции *m*-РНК до 130 молекул; заметим, что мы приходим к этому результату, учитывая не только непрерывную убыль *m*-РНК, но и тот факт, что по мере увеличения концентрации *m*-РНК (и следовательно, концентрации белка) скорость синтеза *m*-РНК уменьшается под влиянием сигнала обратной связи. Итак, по грубой оценке, длительность переднего фронта импульса при увеличении популяции равна 1 час. Нелинейность колебаний такова, что для случая значительной амплитуды, подобно рассмотренному нами (см. фиг. 4), задний фронт импульса примерно в три раза более растянут, чем передний, так что весь период должен занять около 4 час. В условиях более сильной репрессии, которые, по-видимому, обычно имеют место, производительность ДНК-матриц не достигает даже половины максимальной, и им требуется больше времени для синтеза 50 «лишних» молекул *m*-РНК. В результате передний фронт может занять 1,5—2 час, и весь период будет тогда равен 6—8 час.

Вместе с тем, если в синтезе *m*-РНК принимают участие более двух ДНК-матриц, а также если амплитуда колебаний популяции *m*-РНК меньше принятой нами, период может составлять меньше 4 час.

Рассмотрим теперь колебания, возникающие в популяции молекул белка, когда численность популяции *m*-РНК колеблется с периодом 4 час и с амплитудой 50 молекул. В очень грубом приближении можно сказать, что из-за асимметрии колебаний численность популяции *m*-РНК будет превосходить свое наименьшее значение, равное 80, в среднем на 40 молекул в течение первых 2 час цикла. За эти 2 час 40 дополнительных молекул *m*-РНК могут синтезировать примерно 960 белковых молекул; приняв это число в качестве грубой оценки для амплитуды колебаний в популяции белка, мы получим, что при средней величине популяции 24 000 это дает колебания в 4%. Если взять больший период колебаний, то амплитуда колебаний белка увеличится и станет равной, скажем, 6—8% от среднего значения для популяции. Если, наконец, рассмотреть белок со средним временем жизни 10 час вместо 20, то популяция молекул этого белка будет вдвое меньше и амплитуда может достигнуть 15% от среднего значения.

Хотя сделанные оценки крайне грубы, они дают нам некоторое представление о величинах амплитуд и периодов, которые могли бы иметь место в клетках высших организмов, если популяции макромолекул действительно колеблются так, как мы это предполагали. Частоты таких колебаний будут очень малы, однако они, по-видимому, все еще будут находиться в пределах 2—10 колебаний в сутки. Такая частота позволяет сопоставить им приливо-отливный ритм (4 колебания в день), но для возникновения циркадного ритма (период примерно 24 час) надо, чтобы имел место субгармонический резонанс порядка $1/2$ — $1/12$. Явление субгармонического резонанса, или деления частоты, представляет собой очень интересное свойство нелинейных осцилляторов и наблюдается в тех случаях, когда два или более таких осцилляторов каким-либо образом взаимодействуют. Этот вопрос будет подробнее обсуждаться в следующей главе, но сейчас следует отметить, что посредством деления частоты можно полу-

чить очень надежные часы, периодичность которых будет более правильной, чем у основного осциллятора. Другая существенная особенность субгармонического резонанса заключается в том, что субгармонические колебания всегда имеют значительно бóльшую амплитуду, чем колебания основного осциллятора, так что может иметь место вполне заметное усиление. Это замечание очень важно ввиду того, что для популяций белка мы получили относительно малые амплитуды колебаний.

Имеются серьезные основания считать, что механизмы циркадных часов у многих видов организмов «смонтированы» из осцилляторов, период которых значительно меньше 24 час (см., например, [79]). Об этом свидетельствуют опыты, в которых циркадные системы помещают в условия искусственного режима свет — темнота с периодом, равным некоторой доле от 24 час, например 12, 6 или 4 час. Оказывается, что после того как искусственный режим прекращается и организм помещают в стационарные условия, он продолжает генерировать эндогенный ритм, период которого равен периоду этого светового режима. Это указывает на существование внутренних колебаний с периодом короче, чем 24 час. Однако, как правило, эти более короткие «искусственные» ритмы нестабильны и после нескольких периодов, сумма которых составляет 24 час, система возвращается к циркадному ритму. Интересное исключение было обнаружено у водоросли *Hydrodictyon*, для которой период ритма роста и фотосинтеза можно сделать равным 17,5 час [76]. Если период основных колебаний равен 3,5 час, то порядок субгармоники, нужной для создания периода 17,5 час, равен $1/5$, однако совсем не ясно, так ли это на самом деле. В гл. 7 мы более детально обсудим свойства двух взаимодействующих нелинейных осцилляторов и увидим, как с помощью статистической механики можно провести теоретический анализ их поведения.

Основываясь на сделанных допущениях и проведенных оценках, выпишем теперь дифференциальные уравнения для колебаний в рассматриваемой нами цепи обратной связи (см. фиг. 1) и введем численные значения параметров. При этом мы вынуждены будем использовать значительное число весьма грубых оценок. Рассмотрим сначала

уравнение

$$\frac{dY_i}{dt} = \alpha_i X_i - \beta_i.$$

В белковой популяции, имеющей среднюю величину в 24 000 молекул и среднее время жизни 20 час, в течение каждого часа будет распадаться около 1200 молекул, так что

$$\beta_i = \frac{1200}{60} = 20 \text{ молекул в } 1 \text{ мин.}$$

Время синтеза белка, равное 5 мин, дает $\alpha_i = 1/5$. Стационарное значение популяции m -РНК равно тогда $p_i = 100$ молекул. Аналогичные расчеты для уравнения, описывающего синтез m -РНК, не столь просты, и для оценки параметров мы должны будем сделать некоторые предположения относительно размеров фондов метаболитов и популяций репрессоров. Полное выражение для dX_i/dt , как видно из уравнения (11), дается уравнением

$$\frac{dX_i}{dt} = \frac{k'_i [T_i]_0 L_i [\bar{A}_i]}{1 + L_i [\bar{A}_i] + K_i [R_i]} - b_i.$$

Здесь k'_i есть константа скорости синтеза m -РНК, которую мы выбрали равной одной молекуле в минуту, так что $k'_i = 1$. Действительная размерность k'_i есть 1/время. Допустим, что в синтезе m -РНК i -го типа участвуют только две ДНК-матрицы, и поэтому возьмем $[T_i]_0 = 2$. Далее, $[\bar{A}_i]$ есть величина метаболического фонда активированных нуклеотидов, и мы возьмем ее равной 100 «эквивалентам» m -РНК, что даст около 30 000 активированных нуклеотидов (если считать, что одна молекула m -РНК молекулярного веса около 10^5 состоит из 300 нуклеотидов и что она кодирует полипептидную единицу, состоящую из 100 аминокислот, т. е. что кодовое отношение равно 3 : 1). Если в клетке имеется около 200 активных локусов, каждый из которых синтезирует в среднем 1 молекулу m -РНК в минуту, то этот нуклеотидный метаболический фонд должен обновляться каждые 30 сек, так что каждую секунду должна синтезироваться 1000 активированных нуклеотидов. Это вполне

согласуется с возможностями нуклеотидактивирующих ферментов.

L_i представляет собой константу равновесия реакции между активированными нуклеотидами и ДНК-матрицами. Из уравнения (5) мы имеем

$$L_i [\bar{A}_i] = \frac{[T_i \bar{A}_i]}{[T_i]}.$$

В правой части этого равенства стоит отношение числа матриц, занятых синтезом m -РНК, к числу матриц, свободных от активированных нуклеотидов. Мы примем, что равновесие сильно сдвинуто в сторону синтеза и что это отношение равно 100. Таким образом, $L_i [\bar{A}_i] = 100$ и $L_i = 1$ (в единицах $\frac{1}{\text{Число молекул на клетку}}$).

Считая объем клетки равным 10^3 мк^3 (средняя цифра для клеток высших организмов), получим, что приведенное выше значение для L_i соответствует константе диссоциации около $1,7 \cdot 10^{-12} \text{ моль/л}$ в стандартных единицах. Свободная энергия взаимодействия между активированными нуклеотидами и ДНК-матрицей равна, таким образом, примерно $16\,000 \text{ кал/моль}$. Это разумная величина, но, вообще говоря, сомнительно, чтобы эти вычисления имели очень существенное значение. Едва ли молекулы и макромолекулы в клетке находятся в водном растворе, и эффективный объем раствора клетки не равен ее полному объему. Исходя из этих соображений, для нашей цели лучше всего выразить концентрации в произвольных единицах — в числе молекул на клетку, не пытаясь сводить их к молям на литр.

При среднем времени жизни m -РНК, равном 4 час, и стационарном значении, равном 100 молекулам, каждый час должны выходить из строя 25 молекул. Таким образом, $b_i = 25/60 = 5/12$, т. е. в 1 мин распадается $5/12$ молекулы m -РНК. Следовательно,

$$\frac{dX_i}{dt} = \frac{2 \cdot 100}{1 + 100 + K_i [R_i]} - \frac{5}{12}.$$

В стационарном состоянии

$$\frac{200}{101 + K_i [R_i]} - \frac{5}{12} = 0,$$

так, что

$$K_i [R_i] = 379,$$

где $[R_i]$ — размер популяции свободных молекул репрессора, когда система находится в стационарном состоянии. Любые оценки этой величины будут совершенно произвольны. Возьмем ее равной 100, что дает $K_i = 3,79$; это означает, что сродство репрессора к ДНК-матрице больше сродства активированных нуклеотидов к той же матрице (определяемого L_i), что представляется вполне разумным.

Теперь можно оценить величину Q_i . Мы имеем

$$Q_i = A_i + k_i q_i = 1 + L_i [\bar{A}_i] + K_i [R_i] = 480.$$

Нужно, однако, получить еще оценку также и для k_i . Единственный способ, каким это можно сделать, состоит в том, чтобы приписать числовые значения многим параметрам, определяющим взаимодействия между популяциями молекул белка, метаболитов цепи отрицательной обратной связи и репрессора. Обозначим через S_i важный параметр, определяющий емкость фонда метаболита M_i . Когда этот параметр велик, репрессия через обратную связь большую часть времени отсутствует и i -й локус ДНК производит m -РНК с максимальной скоростью. В этом случае k_i мало. Если, однако, S_i мало, то при данном среднем уровне фермента Y_i подавление синтеза m -РНК происходит при меньших концентрациях метаболита; в этом случае k_i велико. Не входя в бесплодные рассуждения относительно величин различных микроскопических параметров, учитываемых при детальном вычислении k_i , мы получим некоторый средний уровень репрессии, если выберем k_i равным примерно 24.

Последний параметр, который понадобится нам позднее, это c_i , определяемый из уравнения (17):

$$c_i = \frac{\alpha_i k_i}{Q_i} = \frac{1}{5} \cdot \frac{24}{480} = 10^{-2}.$$

Все приведенные выше численные значения являются чрезвычайно приближенными, и их следует рассматривать лишь как иллюстрацию роли различных параметров в наших дифференциальных уравнениях. В нашем распоряжении нет никакой информации относительно числа

апорепрессоров, обслуживающих данный генетический локус. Мы можем сказать только, что их достаточно, чтобы управляемый метаболитом M_i механизм репрессии, работающий по принципу обратной связи, мог осуществлять непрерывную регуляцию в значительном интервале концентраций. Это подтверждается, например, поведением системы орнитинтранскарбамилазы при воздействии аргинина [31]. Сказанное означает, что эффективная концентрация репрессора может непрерывно меняться в этих пределах и при этом популяция апорепрессора достаточно велика, чтобы не быть насыщенной молекулами, осуществляющими обратную связь, вплоть до весьма высокого уровня метаболита в клетке. Однако взятое нами число 100, конечно, весьма произвольно.

Используем теперь наши предположения о возможном динамическом поведении исследуемых нами биохимических цепей регуляции для рассмотрения вопроса о времени релаксации эпигенетической системы. Для этого рассмотрим скорость изменения функции распределения ρ после малого возмущения системы. Таким возмущением может служить, например, малое изменение в снабжении клетки или культуры клеток аминокислотами, за которым следует восстановление первоначального состояния. Допустим, что сразу после того как возмущение снято, функция распределения меняется на величину $\Delta\rho$ относительно исходной равновесной функции ρ_0 , т. е.

$$\rho = \rho_0 + \Delta\rho.$$

Нас интересует величина $-d\Delta\rho/dt$, т. е. скорость, с которой исчезает эффект возмущения. Для достаточно малых возмущений скорость приближения к равновесию пропорциональна величине отклонения от него, и можно написать $-\frac{d\Delta\rho}{dt} = k\Delta\rho$, где k — константа. Это дает $\Delta\rho = (\Delta\rho)_0 e^{-kt}$.

Время релаксации определяется как время, за которое первоначальное возмущение уменьшается в e раз. Другими словами, по истечении этого промежутка времени, равного $t = 1/k$, величина $\Delta\rho = (\Delta\rho)_0/e$. Мы пришли, таким образом, к необходимости исследовать природу константы скорости k и тех факторов, которые определяют ее величину.

Силы, заставляющие ρ возвращаться из любого неравновесного значения к равновесному, это как раз те силы, которые приводят к равномерному распределению энергии G во всех частях эпигенетической системы, т. е. к равновесным соотношениям

$$\overline{c_i X_i (X_i - p_i)} = \theta = \frac{b_i k_i^2}{Q_i} \frac{Y_i (Y_i - q_i)}{A_i + k_i Y_i}.$$

Как было показано в предыдущей главе, это равномерное распределение таландической энергии по всей системе является результатом взаимодействия, возникающего между всеми компонентами благодаря существованию общего метаболического фонда для макромолекулярного синтеза. Поэтому скорость переноса G с одного компонента (или группы компонентов) на другой будет зависеть от таких факторов, как величина этих фондов и интенсивность метаболического обмена между фондами метаболитов и макромолекулами, т. е. от скорости обновления белков и нуклеиновых кислот. Много интересных сведений по данному вопросу содержат исследования Коха [50], который анализировал равновесные системы рассматриваемого нами типа и вопросы взаимодействия между различными видами макромолекул, связанных общими метаболическими фондами. Коха интересовали в основном истинные скорости обновления состава макромолекул, и, применяя метод меченых атомов, он обнаружил некоторые интересные для обсуждаемой проблемы свойства биосинтетических систем, взаимодействующих через метаболические фонды. Так, например, он показал, что при малом и быстро обновляющемся метаболическом фонде взаимодействие между компонентами гораздо сильнее, чем когда фонд велик. Это вполне согласуется с тем, что можно ожидать. Второй полученный Кохом результат состоит в том, что взаимодействие между компонентами через метаболический фонд обычно довольно значительно, если нет каких-либо особых соотношений между скоростями различных реакций, приводящих к поступлению метаболитов в метаболический фонд, и скоростями синтеза и распада различных видов макромолекул. В частности, взаимодействие мало, если скорости синтеза макромолекул много меньше, чем скорости их распада и поступ-

ления метаболитов, так что соответствующее отношение в уравнениях Коха мало по сравнению с единицей. Третий вывод из исследований Коха заключается в том, что надо с осторожностью интерпретировать данные по исследованию кинетики с помощью меченых атомов. Весьма реальная проблема, встречающаяся при установлении «истинных» скоростей обновления, состоит в возможности повторного включения молекул метаболитов в макромолекулы, из которых они образовались при распаде; если при обработке данных не применять специальных методов, указанных Кохом, то результаты экспериментов с мечеными атомами могут дать много меньшие скорости обновления, чем те, которые в действительности имеют место в клетке. Таким образом, вполне возможно, что полученные к настоящему времени средние величины скорости обновления макромолекул являются заниженными. Однако из исследований, в которых удалось избежать обычных трудностей [99], следует, что повторное включение молекул, по крайней мере в случае аргинина в белках печени, не приводит к значительной ошибке.

В более общем плане исследования, основанные на методе меченых атомов, свидетельствуют о том, что благодаря общим метаболическим фондам внутриклеточная динамика характеризуется взаимодействием разных макромолекул, приводящим к сильному перемешиванию аминокислот и нуклеотидов между различными видами макромолекул в клетке. Однако у нас нет никаких количественных данных об этих взаимодействиях, а без этого невозможно оценить величину k . При отсутствии численных значений для этого параметра лучшее, что мы можем сделать, это высказать более или менее обоснованное предположение. Рассмотрим один специфический тип «малого» возмущения, который можно использовать для исследования времен релаксации эпигенетических систем в клетках высших организмов. Предположим, что культура клеток поддерживается в стационарном состоянии (без роста) посредством ограниченного снабжения ее нужными аминокислотами. Создадим теперь малое отклонение в количестве лимитирующих аминокислот, достаточное для того, чтобы в течение 20—30 мин происходил усиленный синтез белков. Количество синтезируемых

белков различных видов изменится под влиянием этого импульса по-разному, в зависимости от того, какое количество лимитирующих аминокислот в них содержится. Импульс вызовет также возмущение колебательных траекторий разных видов белков, причем у тех видов, которые находятся в данный момент над положением равновесия, отклонение будет направлено в сторону от равновесия, а те виды, которые находятся ниже положения равновесия, будут приближаться к нему. Синтез *m*-РНК также может при этом измениться, если верно предположение Стента и Бреннера [94] о том, что аминокислоты служат индукторами в синтезе *m*-РНК. Импульсное изменение в снабжении системы аминокислотами вызовет, следовательно, временное изменение состояния эпигенетической системы, по после того как эта малая добавка израсходуется, система возвратится в свое первоначальное стационарное состояние, являющееся в нашей теории положением равновесия. Сколько времени потребуется системе после использования добавленных аминокислот для того, чтобы возмущение уменьшилось вдвое (точнее, в *e* раз)? Мы полагаем, что это время по порядку величины близко к среднему периоду колебаний в системе, который мы приняли равным 4 час. Так как за 4 час в клетке высшего организма обновляется около 4% «среднего» белка, а для активного фермента эта величина может быть и много больше, ясно, что за это время эффект малого временного возмущения действительно существенно уменьшится и система вернется в невозмущенное состояние.

Итак, по нашей оценке время релаксации эпигенетических систем в клетках высших организмов составляет 4 час, т. е. несколько больше верхнего предела для времени релаксации, полученного нами в гл. 2 на основе результатов Фейгельсона и Грингард [23]. Но эти результаты относятся к скорости изменения состояния некоторых видов молекул в клетке, т. е. фактически к изменениям ее микроскопического состояния, и ничего не говорят нам о том, как быстро происходит изменение макроскопического состояния всей эпигенетической системы, определяемого в настоящем исследовании такими величинами, как θ , $\bar{G}$ и $\bar{S}$. Конечно, скорости изменения этих микроскопических и макроскопических переменных тесно

связаны. Тем не менее вполне возможна ситуация, когда даже после достижения одним из компонентов эпигенетической системы своего среднего значения вся система еще не достигнет равновесия, определяемого соотношениями (33). Это равновесие достигается только в результате взаимодействия всех компонентов и является, таким образом, условием, характеризующим систему в целом, а не любую из ее частей. Поэтому мы будем исходить из того, что время релаксации эпигенетической системы больше времени, требуемого для того, чтобы произошли малые изменения размеров популяций макромолекул в клетках высших организмов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ДАННЫЕ

Рассмотрим теперь вкратце две группы экспериментов, которые могут в какой-то степени подтвердить основные положения настоящего исследования и те приближенные оценки, которые привели нас к заключению, что периоды колебаний в эпигенетической системе должны быть порядка 2—8 час или около того. Стерн [95], изучавший процесс развития пыльников лилии, обнаружил совершенно явные периодические вариации в активности фермента дезоксирибонуклеазы (ДНК-азы). Измеряя активность фермента при различной длине бутона, он нашел, что фермент появляется импульсами продолжительностью от 4 до 6 час. Это время очень мало по сравнению с 25 сутками, требуемыми для перехода микроспор от стадии тетрады к стадии, когда в пыльниках начинается постмитотический синтез ДНК, так что эта периодичность не может быть связана с митотической и мейотической активностью. Более того, создается впечатление, что изменения в активности фермента вызывают синтез нового фермента, поэтому простой механизм активации исключается. Обнаружение четко выраженных ритмических изменений активности индивидуального фермента в дифференцирующихся клетках высших растений было совершенно неожиданным, и единственное объяснение, которое мог найти этому явлению Стерн, состояло в том, что оно отражает определенный механизм морфогенетического развития. С точки

зрения настоящего исследования эти результаты, однако, можно рассматривать как первое подтверждение наших предположений относительно основ динамического поведения регуляторных механизмов клетки. Очень интересная особенность этих ритмов активности ДНК-азы состоит в том, что колебания активности не носят непрерывного характера, как, например, колебания, изображенные на фиг. 4. Напротив, они носят разрывный характер в том смысле, что активность ДНК-азы совершенно исчезает в некоторых участках цикла. Колебания, которые мы рассматривали до сих пор, такой особенностью не обладают. Однако в гл. 8 мы увидим, что в слабо взаимодействующих системах особого типа может возникать подобного рода «статистическая» разрывность колебаний. По-видимому, в исследованиях Стерна впервые удалось получить данные, имеющие непосредственное отношение к вопросу о том, составляют ли колебания существенную часть динамической организации клеток.

Другой очень интересный аспект этих исследований состоит в том, что периодические изменения активности ДНК-азы наблюдались не на одной клетке, но на популяции клеток из развивающейся ткани (пыльников лилии). Следовательно, динамическое поведение этих клеток должно быть очень строго синхронизировано. Это значит, что временная структура развивающихся организмов, возможно, создается на уровне, более высоком, чем уровень одной клетки, как и следовало ожидать, исходя из эмбриологических явлений компетенции и индивидуализации в тканях. Необходимо, вероятно, распространить развитые в настоящем исследовании идеи о взаимодействии внутри клеток на взаимодействия между клетками, используя понятие большого канонического ансамбля. Возможность распространения временной структуры описанного типа за пределы одной клетки и приложения ее к эмбриологическим системам чрезвычайно важна не только теоретически, но и экспериментально, так как позволяет изучать динамику развития не одной клетки, а клеточных популяций.

Помимо ДНК-азы Хотта и Стерн [43] исследовали также динамику поведения других ферментов, связанных с метаболизмом нуклеотидов. Вообще говоря, они не уви-

дели такой же периодичности, как в случае ДНК-азы; у этих ферментов периодичность больше была связана с митотическим циклом. Например, активность тимидинкиназы в микроспорах лилии очень сильно увеличивалась как раз перед началом синтеза ДНК. Однако было показано, что активность этого фермента в дифференцирующихся микроспорах изменяется во времени не гладко; основному пику активности предшествует некоторое количество меньших пиков. Таким образом, даже здесь как будто можно найти указание на колебательный регуляторный механизм, лежащий в основе временной структуры митотического цикла.

Ко второй серии экспериментов, которую следует рассмотреть, относятся недавние работы Танцера и Гросса [101] и Джексона (личное сообщение) по динамике метаболического фона пролина в эмбриональных клетках цыпленка и в коже молодой морской свинки. Эти исследователи неожиданно для себя обнаружили, что после введения подопытным животным меченого пролина наблюдаются совершенно отчетливые колебания удельной активности радиоактивного пролина в свободном состоянии и в коллагене с периодом от 1 до 4 час. Необходимо, конечно, провести дополнительные тщательные исследования, прежде чем можно будет твердо сказать, что эти авторы наблюдали действительно эндогенный метаболический ритм с периодом от 1 до 4 час. Однако вариации имели совершенно определенную периодичность, слишком явную для того, чтобы приписать ее случайным ошибкам эксперимента. Это подтверждается еще и тем, что вариации можно устранить, снабжая эмбрион в изобилии намеченным пролином после того, как он содержался в среде с меченой аминокислотой, или вводя одновременно с меченой аминокислотой кортизон.

Первое из этих наблюдений крайне интересно для настоящей теории, и мы можем предложить его интерпретацию. Как указывалось в предыдущей главе, одно из прямых следствий наших предположений относительно динамического поведения клеточных регуляторных цепей состоит в следующем. Во всех случаях, когда клетка производит метаболит эндогенно, посредством биосинтетических реакций, регулируемых с помощью отрицательной

обратной связи, размер метаболического фонда должен периодически меняться. Если мы предположим, что клетка цыпленка синтезирует заменимую аминокислоту пролин из орнитина или из глутаминовой кислоты через полуальдегид глутаминовой кислоты, то будет осуществляться такая цепь отрицательной обратной связи и можно ожидать, что метаболический фонд пролина будет осциллировать. При введении небольшого количества меченого пролина в такой осциллирующий фонд обнаруживаются циклические изменения удельной активности метаболического фонда, поскольку меченый пролин будет периодически разбавляться пролином, синтезируемым эндогенно. Если клетка снабжается немеченым пролином, то цепь регуляции будет «разорвана» и система перестанет колебаться. Таким путем, вероятно, можно подавить колебания в любой цепи эпигенетической регуляции, если только клетка настолько проницаема для метаболита, осуществляющего обратную связь, что он может насытить регуляторную цепь. Правильна ли эта интерпретация наблюдений Танцера и Гросса, еще не ясно. Кроме того, остается необъясненным наблюдавшееся ими затухание под влиянием кортизона. Однако, по-видимому, наиболее важная сторона этих результатов состоит в том, что они ясно показывают возможность устранения периодических колебаний метаболического фонда пролина путем подбора определенных условий эксперимента, из чего следует, что мы действительно имеем дело с колебаниями внутриклеточных переменных.

Заслуживает внимания другая особенность экспериментов Танцера, Гросса и Джексона: как и в работе Стерна, они были выполнены не на одной клетке, а на группе клеток или даже на целом эмбрионе. Таким образом, если эти эксперименты действительно выявили колебания, характерные для внутриклеточных фондов пролина, то можно сделать вывод, что большие популяции клеток синхронизованы между собой в отношении динамики их метаболических фондов; более того, и это самое замечательное, синхронизованы целые группы эмбрионов, так как в случае исследований на цыпленке каждая экспериментальная точка на кривой колебаний представляет один эмбрион. Если это заключение правильно, то оно

имеет огромное значение для будущей экспериментальной работы, ибо создается возможность прямого наблюдения внутриклеточной динамики без обращения к методам исследования одной клетки. Как бы то ни было, исследования Стерна, Гросса, Джексона и Танцера, несомненно, создали новое экспериментальное направление, которое обещает дать весьма много для понимания временной организации развивающегося эмбриона. Полученные к настоящему времени результаты свидетельствуют в пользу развиваемой нами теории.

ВРЕМЯ РЕЛАКСАЦИИ И НЕОБРАТИМЫЕ ПРОЦЕССЫ

Вернемся к рассмотрению времени релаксации эпигенетической системы и поясним, почему при построении статистической механики столь важно представлять себе порядок этой величины. Макроскопические переменные, такие, как θ , $\bar{G}$, $\bar{S}$, и т. д., используемые для описания «термодинамического» состояния, существуют только для равновесных состояний системы. В нашей теории эти состояния равновесия являются стационарными состояниями и определяются конкретными значениями величин p_i и q_i . О таландической температуре эпигенетической системы имеет смысл говорить, например, только в том случае, если система находилась в стационарном состоянии достаточно долго, для того чтобы распределение величины G стало одинаковым во всех частях системы, т. е. чтобы θ тоже стало повсюду одинаковой. Если некоторые микроскопические параметры, например b_i или k_i , изменились, то тем самым определяется новое стационарное состояние. После этого должно пройти некоторое время, прежде чем статистические переменные системы достигнут новых равновесных значений и тем определяют новые значения макроскопических переменных. Время релаксации дает нам возможность оценить, как долго будет происходить этот процесс. Обычно принимают, что для перехода системы в новое равновесное состояние после изменения ее параметров нужно время, по крайней мере в 10 раз большее, чем ее время релаксации. Тогда, согласно нашим оценкам, для перехода эпигенетической

системы клеток высших организмов в состояние равновесия требуется около 40 час. Далее, может оказаться, что микроскопические параметры эпигенетической системы, например α_i , k_i , b_i , могут изменяться как непрерывно, так и дискретно. Именно это последнее происходит с клеткой при адаптации или дифференцировке. Если изменения микроскопических параметров достаточно медленны, то можно считать, что эпигенетическая система всегда очень близка к равновесию и ее состояние можно описывать с помощью макроскопических переменных θ , $\bar{G}$, и др. При этих условиях мы можем рассматривать весь процесс изменения эпигенетической системы как медленное движение через последовательность квазиравновесных состояний, происходящее под влиянием изменения параметров, которые сами зависят от внешних условий.

Необходимо подчеркнуть, однако, что такой подход применим лишь при очень малой скорости изменения параметров. В случае клеток высших организмов скольконибудь значительные изменения должны требовать не менее 2—3 суток. В том временном интервале, в котором применима эта процедура, лежат, по-видимому, некоторые процессы типа регенерации и заживления ран, длящиеся обычно несколько дней или недель [71]. Ее можно применить также и к некоторым вопросам эмбрионального развития. При обычном описании процессов развития крайне сложная структура событий представляется в виде последовательности явлений индукции и ответов на нее. Геометрической моделью этой аналитической процедуры может служить последовательность конусов Нидхэма [72], построенная в предположении, что развитие можно представить в виде последовательности равновесных состояний, перемежающихся с неравновесными, возникающими под действием индуктора. Если такой подход к процессам развития правомерен, то к ним можно было бы также применить и настоящую теорию при условии, что в развивающейся клетке существуют определенные временные соотношения между скоростью изменения параметров и временем релаксации.

Сейчас следует с большой осторожностью относиться к приложениям развиваемой нами «стационарной» теории

к нестационарным процессам, хотя они и образуют очень важный, если не главенствующий класс биологических процессов. В тех случаях, когда применить данную теорию к эпигенетическим явлениям в клетке невозможно, необходимо использовать другую теорию, специально созданную для описания того класса необратимых процессов, который требуется рассмотреть. Так, для изучения многих эмбриологических процессов, а также процессов, протекающих в других быстро растущих клетках и тканях, по-видимому, придется создать теорию, которая будет явным образом отражать в своей структуре особенности, связанные с необратимой природой этих процессов. Это можно сделать тем же способом, как и в настоящей теории внутриклеточных регуляторных механизмов, в которой термодинамическая необратимость используется специфически, поскольку предполагается, что определенный тип стационарного состояния системы является ее положением «равновесия». Ясно, что существуют другие типы стационарных состояний, которые можно использовать для определения условий равновесия клеточных систем или систем более высокого порядка. Это дает возможность построить иерархию инвариантных теорий для описания биологических процессов на разных уровнях организации. Такие теории должны быть взаимно согласованы, но каждый уровень поведения вполне может иметь свои собственные определенные макроскопические законы и динамические характеристики. Здесь будет интересно рассмотреть, каким образом можно установить такое соответствие между нашей статистической механикой клеточных регуляторных механизмов и термодинамикой необратимых процессов, развитой бельгийской школой.

Динамической основой нашего исследования являются процессы биосинтеза макромолекул в клетках. Это практически необратимая реакция, но нет никаких оснований считать, что она не подчиняется законам термодинамики. Просто она сопровождается выделением свободной энергии и суммарным возрастанием энтропии. Наличие незатухающих колебаний в биохимической системе, однако, не согласуется столь очевидно с законами, управляющими химическими процессами. Действительно, часто говорят, что в химических системах не может быть

периодических явлений, ибо у химических реакций нет инерции. Но этот аргумент подразумевает аналогию с механическими системами, в которых инерция нужна для совершения периодических движений вокруг положения равновесия. Если механическая система находится далеко от равновесия, для существования динамической периодичности инерции не требуется. Пригожин и Балеску [84] показали, что в окрестности положения равновесия, где справедливы соотношения Онзагера, химические реакции действительно не могут давать колебаний около положения равновесия. При таком типе движения будут нарушаться термодинамические законы. Однако эти авторы показали также, что химическая система вполне может бесконечно долго колебаться вокруг стационарного состояния *при одном лишь условии, что стационарное состояние находится достаточно далеко от равновесия, т. е. что химические реакции в достаточной степени необратимы*. В этом случае колебания системы сопровождаются непрерывным увеличением энтропии и согласуются с законами термодинамики.

Вторую свою работу Пригожин и Балеску [85] посвятили дальнейшему исследованию периодических химических реакций; они показали, что для случая двух взаимодействующих колеблющихся переменных теоремы термодинамики необратимых процессов требуют, чтобы колебания этих двух переменных согласовывались во времени совершенно определенным образом (см. ниже). Независимо от начальных условий характер такого согласования колебаний определяется фундаментальным неравенством, справедливым для необратимых процессов [28]. Более того, стационарное состояние этой системы неустойчиво в том смысле, что в результате любых флуктуаций система начнет колебаться и не вернется в стационарное состояние. Эти выводы непосредственно применимы к рассматриваемым в настоящем исследовании биохимическим осцилляторам. В нашем случае мы имеем две переменные, которые, взаимодействуя определенным образом, дают незатухающие колебания (за исключением случая, когда обе переменные находятся в стационарном состоянии, неустойчивом как раз в указанном выше смысле). Эти колебания могут сочетаться лишь одним определенным

образом, т. е. взаимодействия имеют такой характер, что только одна из двух переменных может опережать по фазе другую, так как для того, чтобы в системе мог синтезироваться белок, в ней должна присутствовать *m*-РНК. Таким образом, термодинамика необратимых процессов накладывает на взаимодействие биохимических регуляторных систем такие ограничения, которые допускают немедленную и очевидную биологическую интерпретацию на примере необходимых соотношений между *m*-РНК и белком. Другое ограничение, накладываемое термодинамикой, требует, чтобы система, которая должна колебаться, находилась далеко от равновесного состояния (в обычном химическом смысле этого слова). В нашей системе это условие явно удовлетворяется благодаря почти полной необратимости макромолекулярного синтеза.

Таким образом, можно продемонстрировать совместность термодинамических законов с основными динамическими процессами, которые лежат в основе статистической механики, развитой для описания биохимических регуляторных механизмов. Следовательно, согласование теорий, развитых на основе физических процессов, с одной стороны, и на основе биологических процессов — с другой, не представляет никаких действительных трудностей и противоречий. Здесь мы просто имеем дело с разными классами явлений. Поэтому как логически, так и практически проще создавать биологическую теорию на основе процессов, характеризующих ту биологическую систему, с которой мы имеем дело, чем на основе физических или химических теорий, приспособленных к совершенно другим ситуациям. На наш взгляд нет никаких оснований к тому, чтобы биолог отказывался от построения моделей на уровне, удобном для описания биологических систем, и всегда исходил только из физических или химических принципов. Конечно, при таком подходе необходимо тщательно следить, чтобы не возникла какая-нибудь несовместность с основными принципами. Тем не менее этот путь анализа биологических систем кажется более разумным, чем крайне трудная и часто математически невыполнимая задача построения биологической теории непосредственно на основе более «низкого» аналитического уровня, а именно уровня химии или физики.

Статистические свойства эпигенетической системы

Получив представление о масштабах времени, характерных для динамики эпигенетических явлений, мы можем теперь использовать аппарат, введенный в гл. 5, для некоторых расчетов, связанных с проблемой временной организации эпигенетической системы в отдельной клетке. Начнем с рассмотрения системы уравнений (18), т. е. лишь слабых взаимодействий, а затем посмотрим, что нового вносит наличие сильного репрессивного взаимодействия между компонентами, описываемого уравнениями (23).

Сначала введем несколько новых функций, следуя общим методам, использованным Кернером [48] при исследовании системы Вольтерра. В гл. 5 было показано, что колебания нашей системы асимметричны, а именно что переменные отклоняются от положения равновесия больше вверх, чем вниз, и эта асимметрия становится тем больше, чем больше таландическая температура θ . Введем величину T_+/T , представляющую собой ту часть периода T , в течение которого переменная, скажем x_i , принимает значения, превосходящие ее стационарное значение (которое равно 0). Величина среднего по времени значения T_+/T равна среднему по времени функции

$$\begin{aligned} h(x_i) &= 1, & x_i > 0, \\ h(x_i) &= 0, & x_i < 0. \end{aligned}$$

Пользуясь каноническим ансамблем для определения среднего, получаем

$$\begin{aligned} \frac{T_+}{T} &= \int h(x_i) e^{-\beta G} dv \Big/ \int e^{-\beta G} dv = \\ &= \int_{-p_i}^{\infty} h(x_i) e^{-\beta c_i(x_i^2/2)} dx_i \Big/ \int_{-p_i}^{\infty} e^{-\beta c_i(x_i^2/2)} dx_i = \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
&= \int_0^{\infty} e^{-\beta c_i (x_i^2/2)} dx_i \Big/ \int_{-p_i}^{\infty} e^{-\beta c_i (x_i^2/2)} dx_i = \\
&= \sqrt{\frac{\pi}{2\beta c_i}} \Big/ Z_{p_i} = \sqrt{\frac{\pi\theta}{2c_i}} \Big/ Z_{p_i}.
\end{aligned} \tag{45}$$

Усредненное значение времени, в течение которого эта переменная принимает значения, меньшие, чем ее стационарное значение, является дополнением к T_+/T и имеет вид

$$\frac{T_-}{T} = 1 - \frac{T_+}{T} = 1 - \frac{1}{Z_{p_i}} \sqrt{\frac{\pi\theta}{2c_i}}.$$

Далее, из уравнения (36) для очень малых θ (т. е. $\beta \rightarrow \infty$) следует

$$Z_{p_i} \approx \sqrt{\frac{2\pi\theta}{c_i}}.$$

Следовательно, мы получаем

$$\frac{T_+}{T} \approx \sqrt{\frac{c_i}{2\pi\theta}} \cdot \sqrt{\frac{\pi\theta}{2c_i}} = \frac{1}{2}, \tag{46}$$

и аналогично

$$\frac{T_-}{T} \approx \frac{1}{2}.$$

Это говорит о том, что при очень низкой таландической температуре системы колебания близки к симметричным (как мы увидим далее, они в действительности близки к синусоидальным) и переменные примерно одинаковое время проводят выше и ниже своих стационарных значений. Однако, когда θ велико,

$$Z_{p_i} \approx \sqrt{\frac{\pi\theta}{2c_i}},$$

так что

$$\frac{T_+}{T} \approx 1, \quad \frac{T_-}{T} \approx 0. \tag{47}$$

Таким образом, когда система очень возбуждена (большое θ), переменные большую часть времени проводят при

значениях, больших, чем равновесные, как мы уже видели при анализе уравнений (33).

Найдем величину отклонений от стационарных значений вверх и вниз, для чего рассмотрим функцию

$$A_+ = \frac{1}{(T_+/T)} \int h(x_i) x_i e^{-\beta G} dv / \int e^{-\beta G} dv.$$

Это среднее значение амплитуды переменной x_i , усредненное только по положительным ее значениям. Оно сводится к следующему выражению:

$$\begin{aligned} A_+ &= \frac{1}{(T_+/T)} \frac{1}{Z_{p_i}} \int_0^\infty x_i e^{-\beta c_i (x_i^2/2)} dx_i = \\ &= \frac{1}{(T_+/T)} \frac{1}{\beta c_i Z_{p_i}} \int_0^\infty e^{-t} dt = \frac{1}{(T_+/T)} \frac{\theta}{c_i Z_{p_i}}. \end{aligned}$$

Поскольку

$$\frac{T_+}{T} = \sqrt{\frac{\pi\theta}{2c_i}} / Z_{p_i},$$

мы получаем

$$A_+ = \frac{\theta}{c_i} \sqrt{\frac{2c_i}{\pi\theta}} = \sqrt{\frac{2\theta}{\pi c_i}}. \quad (48)$$

Итак, мы видим, что если $\theta \rightarrow 0$, то $A_+ \rightarrow 0$; по мере роста θ растет и средняя величина положительной амплитуды, неограниченно увеличиваясь с неограниченным ростом θ . Функция, дополнительная к A_+ , дает среднюю амплитуду для отрицательных значений переменной:

$$\begin{aligned} A_- &= \frac{1}{(T_-/T)} \int [1 - h(x_i)] x_i e^{-\beta G} dv / \int e^{-\beta G} dv = \\ &= \int_{-p_i}^0 x_i e^{-\beta c_i x_i^2/2} dx_i / \int_{-p_i}^0 e^{-\beta c_i x_i^2/2} dx_i = \\ &= - \int_0^{p_i} x_i e^{-\beta c_i x_i^2/2} dx_i / \int_0^{p_i} e^{-\beta c_i x_i^2/2} dx_i = \\ &= - \frac{1}{\beta c_i} \int_0^{\beta c_i p_i^2/2} e^{-t} dt / \left(\frac{2}{\beta c_i} \right)^{1/2} \int_0^{(\beta c_i/2)^{1/2} p_i} e^{-t^2} dt = \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
&= \frac{-\left(\frac{2}{\beta c_i}\right)^{1/2} (1 - e^{-\beta c_i p_i^2/2})}{\frac{\sqrt{\pi}}{2} - \operatorname{Erfc} \left[\left(\frac{\beta c_i}{2}\right)^{1/2} p_i \right]} = \\
&= \frac{-\left(\frac{2\theta}{c_i}\right)^{1/2} (1 - e^{-c_i p_i^2/2})}{\frac{\sqrt{\pi}}{2} - \operatorname{Erfc} \left[\left(\frac{c_i}{2\theta}\right)^{1/2} p_i \right]}. \quad (49)
\end{aligned}$$

Сразу видно, что если $\theta \rightarrow 0$, то $A_- \rightarrow 0$, как мы и ожидали, так как колебания при $\theta \rightarrow 0$ становятся все меньше и меньше. При увеличении θ до очень больших величин характер изменения A_- , однако, не столь очевиден. Первый сомножитель в числителе при $\theta \rightarrow \infty$ неограниченно растет, второй стремится к нулю, и знаменатель также стремится к нулю. Написав снова $\beta = 1/\theta$, найдем предел

$$\lim_{\beta \rightarrow 0} \left\{ \frac{1 - e^{-c_i p_i^2 \beta/2}}{\left(\frac{\beta c_i}{2}\right)^{1/2} \int_0^{\sqrt{\beta c_i/2} p_i} e^{-t^2} dt} \right\}.$$

Поскольку имеется неопределенность вида $0/0$, дифференцируем числитель и знаменатель и в результате получаем

$$\begin{aligned}
&\lim_{\beta \rightarrow 0} \left\{ \frac{c_i p_i^2 e^{-\beta c_i p_i^2/2}}{\left(\frac{\beta c_i}{2}\right)^{1/2} \left(\frac{c_i}{2\beta}\right)^{1/2} p_i e^{-\beta c_i p_i^2/2} + \left(\frac{c_i}{2\beta}\right)^{1/2} \int_0^{\sqrt{\beta c_i/2} p_i} e^{-t^2} dt} \right\} = \\
&= \lim_{\beta \rightarrow 0} \left\{ \frac{c_i p_i^2 e^{-\beta c_i p_i^2/2}}{\frac{c_i p_i}{2} e^{-\beta c_i p_i^2/2} + \left(\frac{c_i}{2\beta}\right)^{1/2} \int_0^{\sqrt{\beta c_i/2} p_i} e^{-t^2} dt} \right\}.
\end{aligned}$$

Взяв приближенное выражение для второго члена в зна-

менателе, мы найдем, что выражение равно

$$\lim_{\beta \rightarrow 0} \left\{ \frac{c_i p_i^2 e^{-\beta c_i p_i^2 / 2}}{\frac{c_i p_i}{2} e^{-\beta c_i p_i^2 / 2} + \frac{c_i p_i}{2} e^{-\beta c_i p_i^2 / 2}} \right\} = p_i.$$

Следовательно, в пределе (при $\theta \rightarrow \infty$) $A_- \rightarrow p_i$; именно этого мы и ожидали, поскольку p_i есть нижняя граница переменной x_i .

Для переменных y_i можно определить аналогичные выражения, но исследование полученных таким образом величин значительно усложняется из-за свойств и асимптотического поведения функции $\Gamma(v, z)$, которая появляется в процессе определения y_i . При дальнейшем рассмотрении мы будем изучать иногда поведение x_i , а иногда поведение y_i ; в конечном счете мы стремимся получить такую информацию о поведении теоретической модели, которая позволяла бы наметить соответствующие эксперименты для ее проверки и определить направление дальнейших исследований.

СРЕДНЯЯ ЧАСТОТА

Введем теперь функцию, имеющую важнейшее значение при исследовании поведения эпигенетической системы во времени и при анализе влияния сильного взаимодействия на это поведение. Здесь опять станет очевидной огромная выгода использования статистической механики для вычисления средних значений различных величин в сложных системах. Без использования этого математического аппарата было бы крайне трудно прийти к полученным здесь результатам. Если бы мы взяли отдельную изолированную петлю регуляции с обратной связью, состоящую лишь из одного вида *m*-РНК и гомологичного белка, взаимодействие которых описывается уравнением (18), и попытались строго проанализировать колебательное поведение этих двух переменных, то уже в этом простейшем случае встретились бы с определенными математическими трудностями. Однако при переходе к очень сложным взаимодействующим многокомпонентным системам, которые поддаются статистическим методам исследования, вычисления сильно упрощаются.

Рассмотрим некоторую периодическую функцию $F(t)$. Средняя частота нулевых значений $F(t)$, обозначаемая $\omega(F(t))$, определяется выражением [48]

$$\omega(F(t)) = \frac{1}{T} \int_0^T |F'(t)| \delta(F(t)) dt,$$

где δ обозначает дельта-функцию, а $F'(t)$ есть первая производная от $F(t)$. Этот результат следует из того, что интеграл

$$\int_0^T \delta(F(t)) dt$$

принимает значение

$$\int_0^T \delta(F'(t_0)(t-t_0)) dt = \frac{1}{|F'(t_0)|}$$

около нуля функции F при $t=t_0$ и равен нулю при всех других значениях t . Используем теперь канонический ансамбль для получения фазовых средних вместо средних по времени; средняя частота нулевых значений некоторой переменной, скажем y_i , относительно ее стационарного состояния (т. е. средняя частота, с которой y_i принимает свое равновесное значение, равное нулю) равна

$$\omega(y_i) = \int |\dot{y}_i| \delta(y_i) e^{-\beta G} dv / \int e^{-\beta G} dv.$$

Поскольку $\dot{y}_i$ зависит только от x_i , этот интеграл сводится к виду

$$\begin{aligned} \omega(y_i) &= \frac{1}{Z_{p_i} Z_{q_i}} \int_{-\infty}^{\infty} \delta(y_i) e^{-\beta G_{y_i}} dy_i \int_{-p_i}^{\infty} |\dot{y}_i| e^{-\beta G_{x_i}} dx_i = \\ &= \frac{e^{-\beta G_{y_i}(0)}}{Z_{p_i} Z_{q_i}} \int_{-p_i}^{\infty} |\dot{y}_i| e^{-\beta G_{x_i}} dx_i = \\ &= \frac{1}{Z_{p_i} Z_{q_i}} \int_{-p_i}^{\infty} |\dot{y}_i| e^{-\beta G_{x_i}} dx_i. \end{aligned} \quad (50)$$

Аналогично для переменной x_i мы имеем

$$\begin{aligned}\omega(x_i) &= \int |\dot{x}_i| \delta(x_i) e^{-\beta G} dv / \int e^{-\beta G} dv = \\ &= \frac{1}{Z_{p_i} Z_{q_i}} \int_{-\tau_i}^{\infty} |\dot{x}_i| e^{-\beta G_{y_i}} dy_i,\end{aligned}\quad (51)$$

так как x_i зависит только от y_i .

Эту формулу можно обобщить на случай средней частоты нулевых значений какой-либо переменной относительно некоторой оси, отличной от ее стационарного состояния, например относительно $x_i = v$, где v — положительное или отрицательное число. Тогда формула принимает вид

$$\begin{aligned}\omega(x_i - v) &= \int |\dot{x}_i| \delta(x_i - v) e^{-\beta G} dv / \int e^{-\beta G} dv = \\ &= \frac{e^{-\beta G_{x_i}(v)}}{Z_{p_i} Z_{q_i}} \int_{-\tau_i}^{\infty} |\dot{x}_i| e^{-\beta G_{y_i}} dy_i = \\ &= \frac{e^{-\beta(c_i^2 v/2)}}{Z_{p_i} Z_{q_i}} \int_{-\tau_i}^{\infty} |\dot{x}_i| e^{-\beta G_{y_i}} dy_i.\end{aligned}\quad (52)$$

Аналогично для y_i получаем

$$\begin{aligned}\omega(y_i - v) &= \int |\dot{y}_i| \delta(y_i - v) e^{-\beta G} dv / \int e^{-\beta G} dv = \\ &= \frac{e^{-\beta G_{y_i}(v)}}{Z_{p_i} Z_{q_i}} \int_{-p_i}^{\infty} |\dot{y}_i| e^{-\beta G_{x_i}} dx_i = \\ &= \frac{e^{-\beta b_i[v - \log(1+v)]}}{Z_{p_i} Z_{q_i}} \int_{-p_i}^{\infty} |\dot{y}_i| e^{-\beta G_{x_i}} dx_i.\end{aligned}\quad (53)$$

Если мы теперь возьмем отношение средней частоты нулевых значений относительно $x_i = v$ к средней частоте относительно $x_i = 0$, то получим

$$\omega_{\text{отн}}(x_i) = e^{-\beta c_i v^2/2}$$

и аналогично

$$\omega_{\text{отн}}(y_i) = e^{-\beta b_i[v - \log(1+v)]} = (1+v)^{\beta b_i} e^{-\beta b_i v}.$$

Для $v \neq 0$ эти отношения всегда меньше 1; это говорит о том, что переменные x_i и y_i пересекают оси $x_i = 0$, $y_i = 0$ чаще, чем любые другие оси $x_i = v$, $y_i = v$. Более того, если β очень велико, то эти отношения крайне быстро уменьшаются при удалении v от нуля как в положительном, так и в отрицательном направлении. Другими словами, когда θ очень мало и колебания малы, траектория пересекает линии, удаленные от положения равновесия, гораздо реже, чем оси стационарного состояния. Когда же β очень мало (θ велико), средняя частота нулевых значений при удалении от стационарного состояния падает гораздо медленнее, поскольку амплитуды колебаний при больших θ велики.

Получим теперь выражение для средней частоты в явном виде. Ограничимся переменной y_i . Вычисления сводятся к нахождению интеграла

$$\int_{-p_i}^{\infty} |\dot{y}_i| e^{-\beta G_{x_i}} dx_i.$$

Нам придется удовлетвориться нахождением этой величины в пределе (при больших и при малых β), так как получение точного выражения, справедливого для всех β , упирается в необходимость делать частное, или неполное, преобразование Фурье, причем не известно, можно ли его произвести. Однако нас вполне удовлетворяют предельные случаи. Мы интересуемся главным образом зависимостью средней частоты от таландической температуры, поскольку она дает нам возможность понять, каким образом изменения θ сказываются на временных эффектах.

Если бы у нас была возможность в какой-то степени влиять на таландическую температуру клетки, изменяя условия эксперимента, то мы приобрели бы способ управления временной организацией клетки. В следующей главе мы покажем, как можно было бы в эксперименте изменять величину θ , а полученные нами результаты дадут возможность предсказать влияние такого воздействия на временную организацию клетки.

Начнем с того, что модуль всякой величины z можно записать в виде

$$|z| = \frac{1}{\pi} \int_{-\infty}^{\infty} \frac{1 - \cos zs}{s^2} ds.$$

Следовательно,

$$\int_{-p_i}^{\infty} |\dot{y}_i| e^{-\beta G_{x_i}} dx_i = \frac{1}{\pi} \int_{-p_i}^{\infty} e^{-\beta c_i x_i^2/2} dx_i \int_{-\infty}^{\infty} \frac{1 - \cos \dot{y}_i s}{s^2} ds.$$

Производная $\dot{y}_i = c_i x_i$, и $\cos \dot{y}_i s$ удобно заменить на $e^{i \dot{y}_i s}$, так что в дальнейшем надо будет брать действительную часть интеграла. Поскольку интегралы равномерно сходятся, порядок интегрирования можно изменить. Запишем поэтому это выражение в виде

$$\begin{aligned} \frac{1}{\pi} \int_{-\infty}^{\infty} \frac{ds}{s^2} \int_{-p_i}^{\infty} (1 - e^{i s c_i x_i}) e^{-\beta c_i x_i^2/2} dx_i = \\ = \frac{1}{\pi} \int_{-\infty}^{\infty} \frac{ds}{s^2} \left\{ Z_{p_i} - \int_{-p_i}^{\infty} e^{i s c_i x_i} e^{-\beta c_i x_i^2/2} dx_i \right\}. \end{aligned}$$

Остановимся сначала на внутреннем интеграле и сделаем замену $t = (\beta c_i/2)^{1/2} x_i$, так что интеграл принимает вид

$$\begin{aligned} \left(\frac{2}{\beta c_i} \right)^{1/2} \int_{-(\beta c_i/2)^{1/2} p_i}^{\infty} e^{(2/\beta c_i)^{1/2} i s c_i t} e^{-t^2} dt = \\ = \left(\frac{2}{\beta c_i} \right)^{1/2} \int_{-(\beta c_i/2)^{1/2} p_i}^{\infty} e^{(2 c_i/\beta)^{1/2} i s t} e^{-t^2} dt. \quad (54) \end{aligned}$$

Для очень больших β интеграл стремится к функции, полученной из e^{-t^2} преобразованием Фурье, и мы можем воспользоваться формулой

$$\int_{-\infty}^{\infty} e^{i t u} e^{-t^2} dt = \sqrt{\pi} e^{-u^2/4}.$$

Взяв

$$u = \left(\frac{2c_i}{\beta} \right)^{1/2} s,$$

приближенно получим

$$\left(\frac{2}{\beta c_i} \right)^{1/2} \int_{-(\beta c_i/2)^{1/2} p_i}^{\infty} e^{(2c_i/\beta)^{1/2} i s t} e^{-t^2} dt^2 \approx \left(\frac{2\pi}{\beta c_i} \right)^{1/2} \cdot e^{-c_i s^2/2\beta}.$$

Возвращаясь к двойному интегралу, имеем для больших β

$$\int_{-p_i}^{\infty} |\dot{y}_i| e^{-\beta G_{x_i}} dx_i \approx \operatorname{Re} \left\{ \frac{1}{\pi} \int_{-\infty}^{\infty} \frac{ds}{s^2} \left[Z_{p_i} - \sqrt{\frac{2\pi}{\beta c_i}} e^{-c_i s^2/2\beta} \right] \right\},$$

где Re означает действительную часть интеграла.

Мы знаем далее, что при больших β

$$Z_{p_i} \approx \sqrt{\frac{2\pi}{\beta c_i}},$$

и поэтому получаем

$$\int_{-p_i}^{\infty} |\dot{y}_i| e^{-\beta G_{x_i}} dx_i \approx \operatorname{Re} \left\{ \left(\frac{2}{\pi \beta c_i} \right)^{1/2} \int_{-\infty}^{\infty} \frac{1 - e^{-c_i s^2/2\beta}}{s^2} ds \right\}.$$

Используя уже известный результат

$$\int_{-\infty}^{\infty} \frac{1 - e^{-ax^2}}{x^2} dx = \frac{\sqrt{\pi a}}{2},$$

при $a = c_i/2\beta$ получим

$$\begin{aligned} \int_{-p_i}^{\infty} |\dot{y}_i| e^{-\beta G_{x_i}} dx_i &\approx \frac{1}{2} \sqrt{\frac{2}{\pi \beta c_i}} \sqrt{\frac{\pi c_i}{2\beta}} = \\ &= \frac{1}{2\beta} \quad (\beta \text{ очень велико}). \end{aligned}$$

Из уравнения (53) мы имеем выражение

$$\omega(y_i - v) \approx \frac{e^{-\beta b_i[v - \log(1+v)]}}{2\beta Z_{p_i} Z_{q_i}}.$$

Заменив для очень больших β значения Z_{p_i} и Z_{q_i} их приближениями, мы имеем

$$\omega(y_i - v) \approx \frac{e^{-\beta b_i [v - \log(1+v)]}}{\beta \sqrt{\frac{2\pi}{\beta b_i}} \cdot \sqrt{\frac{2\pi}{\beta c_i}}} = \frac{\sqrt{b_i c_i}}{2\pi} e^{-\beta b_i [v - \log(1+v)]}. \quad (55)$$

Положив $v=0$, получим в результате, что при очень больших β средняя частота нулевых значений y_i относительно стационарного состояния равна

$$\omega(y_i) \approx \frac{\sqrt{b_i c_i}}{2\pi}. \quad (56)$$

Результат должен иметь размерность $1/T$. Проверим, так ли это.

$$c_i = \alpha_i k_i / Q_i,$$

следовательно, c_i имеет размерность $(1/T)$ ($1/C$); размерность b_i есть C/T . Следовательно, $b_i c_i$ имеет размерность $1/T^2$ и размерность $\omega(y_i)$ правильная.

Этот результат можно, впрочем, получить и другим путем. Большие величины β соответствуют очень малым θ , а это, как мы знаем, означает, что амплитуда колебаний очень мала. Следовательно, в пределе можно линеаризовать дифференциальные уравнения

$$\begin{aligned} \dot{x}_i &= b_i \left[\frac{1}{1+y_i} - 1 \right], \\ \dot{y}_i &= c_i x_i, \end{aligned}$$

поскольку переменные x_i и y_i очень малы. Тогда уравнения принимают вид

$$\begin{aligned} \dot{x}_i &= -b_i y_i, \\ \dot{y}_i &= c_i x_i. \end{aligned}$$

Это линейный осциллятор вида

$$\begin{aligned} \ddot{x} + b_i c_i x_i &= 0, \\ \ddot{y} + b_i c_i y_i &= 0. \end{aligned}$$

Период этой системы равен $2\pi/\sqrt{b_i c_i}$, а частота — $\sqrt{b_i c_i}/2\pi$, что совпадает с уравнением (56).

Из уравнения (55) можно узнать, как быстро падает средняя частота пересечений траектории с осями, смещенными по отношению к осям стационарного состояния $v=0$ для очень малых θ . Если взять $\beta = n/b_i$, где n — большое целое число, то выражение (55) переходит в следующее:

$$\omega(y_i - v) \approx \frac{\sqrt{b_i c_i}}{2\pi} e^{-n[v - \log(1+v)]} = \frac{\sqrt{b_i c_i}}{2\pi} (1+v)^n e^{-nv}.$$

Возьмем $n = 100$ и $b_i = 5/12$, согласно численному примеру из предыдущей главы; тогда $\theta = b_i/100 = 1/240$. Поставим теперь вопрос, как далеко от оси $v = 0$ расположена ось, относительно которой средняя частота нулевых значений уменьшается в e раз. Другими словами, мы хотим найти значение v , удовлетворяющее уравнению

$$\frac{1}{e} = (1+v)^{100} e^{-100v};$$

прологарифмировав, получим

$$-1 = -100v + 100 \log(1+v),$$

или

$$100v - 1 = 100 \log(1+v).$$

Искомое значение v равно примерно 0,15:

$$14 \approx 100 \log 1,15 = 13,98.$$

Итак, если $\theta = 1/240$, то y_i будет пересекать линию, смещенную на $3/20$ вверх от оси стационарного состояния, примерно лишь вдвое реже, чем линию $y_i = 0$. Это говорит о том, что для малых θ огибающая колебательных траекторий очень близка к оси стационарного состояния. При $v = \frac{1}{2}$ частота пересечения этой линии переменной y_i уже меньше, чем 10^{-3} от величины, соответствующей оси стационарного состояния.

Возвращаясь к уравнению (54), рассмотрим приближение при β , стремящемся к нулю. В этом случае воспользуемся формулой

$$\int_0^{\infty} e^{itu} e^{-t^2} dt = \frac{\sqrt{\pi}}{2} e^{-u^2/4}.$$

Для интеграла (54) это дает выражение

$$\left(\frac{\pi}{2\beta c_i}\right)^{1/2} e^{-c_i s^2/2\beta},$$

откуда

$$\int_{-p_i}^{\infty} |\dot{y}_i| e^{-\beta G_{x_i}} dx_i \approx \operatorname{Re} \left\{ \frac{1}{\pi} \int_{-\infty}^{\infty} \frac{ds}{s^2} \left[Z_{p_i} - \sqrt{\frac{\pi}{2\beta c_i}} e^{-c_i s^2/2\beta} \right] \right\}.$$

В пределе при малых β

$$Z_{p_i} = \sqrt{\frac{\pi}{2\beta c_i}},$$

что дает

$$\int_{-p_i}^{\infty} |\dot{y}_i| e^{-\beta G_{x_i}} dx_i \approx \operatorname{Re} \left\{ \frac{1}{\sqrt{2\pi\beta c_i}} \int_{-\infty}^{\infty} \frac{1 - e^{-c_i s^2/2\beta}}{s^2} ds \right\}.$$

Так как интеграл в правой части равен

$$\frac{1}{2} \sqrt{\frac{\pi c_i}{2\beta}},$$

мы получаем

$$\int_{-p_i}^{\infty} |\dot{y}_i| e^{-\beta G_{x_i}} dx_i \approx \frac{1}{4\beta} \quad (\beta \text{ очень мало}).$$

Уравнение (53) дает в пределе

$$\omega(y_i - v) \approx \frac{e^{-\beta b_i [v - \log(1+v)]}}{4\beta Z_{p_i} Z_{q_i}}.$$

Заменяя Z_{p_i} и Z_{q_i} их асимптотическими значениями, получим

$$\omega(y_i - v) \approx \frac{e^{-\beta b_i [v - \log(1+v)]}}{2\beta \cdot \frac{1}{4} \left(\frac{2\pi}{\beta c_i}\right)^{1/2} \cdot \frac{1}{\beta b}} = \frac{b_i}{2} \left(\frac{\beta c_i}{2\pi}\right)^{1/2} e^{-\beta b_i [v - \log(1+v)]}.$$

При $v=0$ для больших θ имеем соотношение

$$\omega(y_i) \approx \frac{b_i}{2} \sqrt{\frac{c_i}{2\pi\theta}}. \quad (57)$$

Итак, средняя частота нулевых значений y_i относительно оси стационарного состояния при больших θ меняется обратно пропорционально корню квадратному из таландической температуры. С другой стороны, когда θ очень мало, из уравнения (56) видно, что средняя частота нулевых значений не зависит от таландической температуры. Для промежуточных значений θ трудно получить явную функциональную зависимость $\omega(y_i)$ от θ , но можно показать, что $d\omega/d\beta > 0$ и, следовательно, $d\omega/d\theta < 0$. Этот результат является общим для нелинейных колебаний: при условии, что все «микроскопические» параметры не меняются, при увеличении амплитуды частота падает, тогда как для линейных колебаний период не зависит от амплитуды. Мы будем иметь случай использовать этот результат в следующей главе.

Проверим размерность уравнения (57):

$$b_i = \frac{C}{T}, \quad c_i = \frac{1}{TC}, \quad \theta = \frac{C}{T},$$

следовательно,

$$\omega(y_i) = \frac{C}{T} \sqrt{\frac{1}{TC} \cdot \frac{T}{C}} = \frac{1}{T}, \quad (58)$$

т. е. все правильно. Интересно также найти величины частот $\omega(y_i)$ из уравнений (56) и (57), взяв численные значения параметров, введенные в предыдущей главе. Мы имеем $b_i = 5/12$ и $c_i = 10^{-2}$. В пределе при очень малых θ эти значения дают

$$\omega(y_i) \approx \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{5}{12} \cdot 10^{-2}} = \frac{1}{20\pi} \sqrt{\frac{5}{12}}.$$

Размерность этой величины равна мин^{-1} , следовательно, период колебаний равен $[20\pi \sqrt{12/5}] \text{ мин}$, что составляет около $1 \frac{2}{3}$ час. Итак, эта величина представляет собой нижний предел периода для осциллятора, определяемого уравнением (18) с выбранными выше значениями параметров. При очень малых θ из-за наличия некоторого уровня шума в системе колебания не будут строго определенными, и можно ожидать значительной иррегулярности в траекториях.

В другом предельном случае, когда θ велико, для оценки $\omega(y_i)$ мы используем уравнение (57), взяв, скажем, $\theta = 100$. Тогда получим

$$\begin{aligned}\omega(y_i) &\approx \frac{5}{24} \sqrt{\frac{10^{-2}}{2\pi 10^2}} = \left(\frac{5}{2400 \sqrt{2\pi}} \right) \text{ колебаний в минуту} = \\ &= \left(\frac{5}{40 \sqrt{2\pi}} \right) \text{ колебаний в час.}\end{aligned}$$

Период колебаний равен, следовательно, $8 \sqrt{2\pi}$, или примерно 20 час. Если увеличить θ до 144, то средний период колебаний возрастет примерно до 24 час. Столь большие значения θ являются, вероятно, верхним пределом для рассматриваемых нами систем; амплитуда колебаний при 24-часовом периоде будет очень велика.

ДИНАМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СИСТЕМЫ ПРИ НАЛИЧИИ СИЛЬНОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ

Рассмотрим динамические свойства компонентов, между которыми имеется сильное репрессивное взаимодействие, описываемое уравнениями типа (23). По-видимому, здесь мы должны встретиться с более сложным типом поведения, качественно отличающимся от случая слабо взаимодействующих компонентов. К сожалению, полное исследование сильного взаимодействия придется отложить до того времени, когда будут разработаны соответствующие математические методы и достигнут более высокий уровень вычислительной техники. Однако стоит бросить хотя бы беглый взгляд на то богатство структур поведения, которое возникает при введении в систему сильного взаимодействия, пользуясь пока теми возможностями, которые имеются в нашем распоряжении.

Дифференциальные уравнения, описывающие поведение эпигенетической системы с попарным взаимодействием компонентов (обозначим их индексами 1 и 2), имеют вид

$$\begin{aligned}\dot{x}_1 &= b_1 \left(\frac{1}{1 + y_1/\gamma_1} - 1 \right), & \dot{y}_1 &= \alpha_1 k_{21} (k_{11} \alpha_1 x_1 + k_{12} \alpha_2 x_2), \\ \dot{x}_2 &= b_2 \left(\frac{1}{1 + y_2/\gamma_2} - 1 \right), & \dot{y}_2 &= \alpha_2 k_{12} (k_{21} \alpha_1 x_1 + k_{22} \alpha_2 x_2),\end{aligned}$$

где

$$\begin{aligned}\gamma_1 &= Q_1 k_{21} \alpha_1, & \gamma_2 &= Q_2 k_{12} \alpha_2, \\ Q_1 &= A_1 + k_{11} q_1 + k_{12} q_2, & Q_2 &= A_2 + k_{21} q_1 + k_{22} q_2.\end{aligned}$$

Преобразованные переменные x_i , y_i связаны с первоначальными переменными X_i , Y_i следующими соотношениями:

$$\begin{aligned}x_1 &= X_1 - p_1, & y_1 &= \alpha_1 k_{21} [k_{11} (Y_1 - q_1) + k_{12} (Y_2 - q_2)], \\ x_2 &= X_2 - p_2, & y_2 &= \alpha_2 k_{12} [k_{21} (Y_1 - q_1) + k_{22} (Y_2 - q_2)].\end{aligned}$$

Можно видеть, что переменные X_i дают нам прямую информацию о поведении популяций m -РНК, тогда как переменные Y_i являются линейными комбинациями переменных y_i , соответствующих популяциям белка. Поэтому нам будет удобнее исследовать поведение переменных X_i , тем более что это позволит сразу дать биологическую интерпретацию полученных результатов.

Интеграл написанных выше уравнений есть

$$\begin{aligned}G(x_1, x_2, y_1, y_2) &= k_{11} k_{21} \alpha_1^2 \frac{x_1^2}{2} + k_{12} k_{21} \alpha_1 \alpha_2 x_1 x_2 + \\ &+ k_{22} k_{12} \alpha_2^2 \frac{x_2^2}{2} + b_1 [y_1 - \gamma_1 \log(1 + y_1/\gamma_1)] + \\ &+ b_2 [y_2 - \gamma_2 \log(1 + y_2/\gamma_2)] = \text{const.}\end{aligned}\quad (24)$$

Для упрощения записей введем следующие обозначения:

$$\begin{aligned}h_{11} &= \frac{k_{11} k_{21} \alpha_1^2}{2}, \\ 2h_{12} &= k_{12} k_{21} \alpha_1 \alpha_2, \\ h_{22} &= \frac{k_{22} k_{12} \alpha_2^2}{2}.\end{aligned}$$

Выпишем фазовые интегралы

$$\begin{aligned}Z_{p_1 p_2} &= \int_{-p_1}^{\infty} \int_{-p_2}^{\infty} e^{-\beta (h_{11} x_1^2 + 2h_{12} x_1 x_2 + h_{22} x_2^2)} dx_1 dx_2, \\ Z_{q_1}^c &= \int_{-\sigma_1}^{\infty} e^{-\beta b_1 [y_1 - \gamma_1 \log(1 + y_1/\gamma_1)]} dy_1,\end{aligned}$$

$$Z_{q_2}^c = \int_{-\sigma_2}^{\infty} e^{-\beta b_2 [y_2 - \gamma_2 \log (1 + y_2 / \gamma_2)]} dy_2,$$

где

$$\sigma_1 = k_{21} \alpha_1 (k_{11} q_1 + k_{12} q_2)$$

и

$$\sigma_2 = k_{12} \alpha_2 (k_{21} q_2 + k_{22} q_2).$$

Интересно оценить эти величины в пределе при больших и при малых β . Чтобы сделать это для $Z_{p_1 p_2}$, надо преобразовать квадратичную форму следующим образом:

$$\begin{aligned} h_{11} x_1^2 + 2h_{12} x_1 x_2 + h_{22} x_2^2 &= h_{11} \left(x_1 + \frac{h_{12}}{h_{11}} x_2 \right)^2 + \\ &+ h_{22} x_2^2 - \frac{h_{12}^2}{h_{11}} x_2^2 = h_{11} \left(x_1 + \frac{h_{12}}{h_{11}} x_2 \right)^2 + \frac{(h_{11} h_{22} - h_{12}^2)}{h_{11}} x_2^2. \end{aligned}$$

Теперь напомним

$$\xi_1 = (h_{11} \beta)^{1/2} \left(x_1 + \frac{h_{12}}{h_{11}} x_2 \right), \quad \xi_2 = \left[\frac{(h_{11} h_{22} - h_{12}^2) \beta}{h_{11}} \right]^{1/2} x_2. \quad (59)$$

Якобиан этого преобразования имеет вид

$$\frac{\partial (\xi_1, \xi_2)}{\partial (x_1, x_2)} = \beta \sqrt{h_{11} h_{22} - h_{12}^2} = \beta |H|^{1/2},$$

где $|H|$ — детерминант квадратичной формы. Поскольку

$$\xi_1 = (h_{11} \beta)^{1/2} x_1 + \frac{h_{12}}{|H|^{1/2}} \xi_2$$

и

$$\xi_2 = |H|^{1/2} \left(\frac{\beta}{h_{11}} \right)^{1/2} x_2,$$

то ξ_2 изменяется от

$$- |H|^{1/2} \left(\frac{\beta}{h_{11}} \right)^{1/2} p_2$$

до бесконечности, а ξ_1 — от

$$- (h_{11} \beta)^{1/2} p_1 + \frac{h_{12}}{|H|^{1/2}} \xi_2$$

до бесконечности. Когда ξ_2 принимает свое наименьшее значение,

$$\begin{aligned}\xi_1 &= -(h_{11}\beta)^{1/2} p_1 - \frac{h_{12}}{|H|^{1/2}} |H|^{1/2} \left(\frac{\beta}{h_{11}}\right)^{1/2} p_2 = \\ &= -\left(\frac{\beta}{h_{11}}\right)^{1/2} (h_{11}p_1 + h_{12}p_2)\end{aligned}$$

(обозначим это последнее выражение, скажем, $-\rho_1$).

На плоскости (ξ_1, ξ_2) фазовый интеграл берется между прямыми

$$\xi_2 = -|H|^{1/2} \left(\frac{\beta}{h_{11}}\right)^{1/2} p_2 \quad (\text{обозначим это выражение } -\rho_2)$$

и

$$\xi_1 - \frac{h_{12}}{|H|^{1/2}} \xi_2 = -(h_{11}\beta)^{1/2} p_1$$

по части плоскости, простирающейся до бесконечности в положительном направлении оси. Это преобразование приводит интеграл к виду

$$\begin{aligned}Z_{p_1 p_2} &= \frac{1}{\beta |H|^{1/2}} \times \\ &\times \int_{[-(\beta/h_{11})^{1/2} |H|^{1/2} p_2]}^{\infty} d\xi_2 \int_{[-(h_{11}\beta)^{1/2} p_1 + (h_{12}/|H|^{1/2}) \xi_2]}^{\infty} e^{-(\xi_1^2 + \xi_2^2)} d\xi_1.\end{aligned}$$

Когда β велико, двойной интеграл хорошо аппроксимируется выражением

$$\int_{-\infty}^{\infty} d\xi_2 \int_{-\infty}^{\infty} e^{-(\xi_1^2 + \xi_2^2)} d\xi_1.$$

В этом случае мы имеем просто произведение двух интегралов, каждый из которых равен $\sqrt{\pi}$, так что в результате для очень больших β

$$Z_{p_1 p_2} \approx \pi / (\beta |H|^{1/2}). \quad (60)$$

Это является пределом при $\theta \rightarrow 0$, и интересно отметить, что разложение двойного интеграла на два обычных

отражает отсутствие взаимодействия компонентов при очень малой таландической температуре. Это означает, что при малом θ связь между сильно взаимодействующими компонентами очень мала и движение в системе практически линейно.

В другом предельном случае для очень малых β (θ очень велико) фазовый интеграл становится приблизительно равным

$$Z_{p_1 p_2} \approx \frac{1}{\beta |H|^{1/2}} \int_0^\infty d\xi_2 \int_{(h_{12} |H|^{1/2}) \xi_2}^\infty e^{-(\xi_1^2 + \xi_2^2)} d\xi_1.$$

Чтобы его вычислить, введем полярные координаты

$$\xi_1 = r \cos \theta, \quad \xi_2 = r \sin \theta.$$

Угол между прямыми

$$\xi_2 = -\rho_2 \text{ и } \xi_1 - \frac{h_{12}}{|H|^{1/2}} \xi_2 = -(h_{11}\beta)^{1/2} p_1$$

равен

$$\varphi = \arctg \frac{|H|^{1/2}}{h_{12}},$$

так что интеграл теперь становится равным

$$Z_{p_1 p_2} \approx \frac{1}{\beta |H|^{1/2}} \int_0^\varphi d\theta \int_0^\infty r e^{-r^2} dr = \frac{\arctg(|H|^{1/2}/h_{12})}{2\beta |H|^{1/2}}. \quad (61)$$

Когда колебания осциллятора, образованного сильно взаимодействующими компонентами, устойчивы, арктангенс находится между 0 и $\pi/2$. Чтобы это показать, вернемся к интегралу

$$G(x_1, x_2, y_1, y_2),$$

определяемому уравнением (24). Та часть интеграла, которая отражает сильное взаимодействие, квадратична по x_1, x_2 . При постоянных y_1 и y_2 проекция поверхности (24) на плоскость (x_1, x_2) представляет собой коническое сечение, определяемое уравнением

$$h_{11}x_1^2 + 2h_{12}x_1x_2 + h_{22}x_2^2 = \text{const},$$

Это коническое сечение является эллипсом тогда и только тогда, когда $(h_{11}h_{22} - h_{12}^2) = |H| > 0$. При $|H| = 0$ получается парабола, при $|H| < 0$ — пара гипербол. Две последние возможности соответствуют неустойчивому движению в системе регуляции с сильным взаимодействием. Это значит, что та или другая пара (X_1, Y_1) или (X_2, Y_2) выпадает из системы и в результате остается единственный осциллятор того же типа, что и описываемый простой системой, дающей интеграл вида (18). Какая из двух пар в системе «не выживет», зависит как от начальных условий, так и от величин параметров. Таким образом, можно сказать, что осциллятор, образованный парой сильно взаимодействующих компонентов [система (23)], может сосуществовать только в том случае, если параметры системы удовлетворяют неравенству

$$(h_{11}h_{22} - h_{12}^2) > 0.$$

Подставляя вместо h_{ij} первоначальные значения параметров, найдем, что это неравенство переходит в следующее:

$$\left(\frac{\alpha_1^2 \alpha_2^2 k_{21} k_{12} k_{11} k_{22}}{4} - \frac{\alpha_1^2 \alpha_2^2 k_{12}^2 k_{21}^2}{4} \right) > 0,$$

или, так как все параметры положительны,

$$(k_{11}k_{22} - k_{12}k_{21}) > 0. \quad (62)$$

Это неравенство показывает, что при наличии сильного взаимодействия устойчивость осцилляторов повышается при росте произведения членов, описывающих действие каждого компонента самого на себя (k_{11} и k_{22}), и уменьшается при росте произведения членов, соответствующих взаимодействию компонентов. Изменяя относительные величины этих параметров и временные уровни переменных (т. е. задавая соответствующие «начальные» условия), мы можем заставить систему «перескочить» из одного состояния в другое. При этом могут существовать либо только один из компонентов (X_1, Y_1) или (X_2, Y_2) , либо оба одновременно. Когда неравенство (62) меняет знак, происходит разрыв топологической непрерывности, поскольку траектории фазового пространства связанной системы (23) качественно меняются от эллиптического

типа к гиперболическому. Поверхность $k_{11}k_{22} - k_{12}k_{21} = 0$ в пространстве параметров (также являющаяся конической) определяет «бифуркационные значения» параметров (Пуанкаре [80]). Такую топологическую разрывность, зависящую от значений микроскопических параметров, следует отличать от статистической разрывности, определяемой макроскопическими параметрами. В гл. 8 мы рассмотрим возможное значение топологической разрывности в явлениях индукции и пороговых эффектах в клетках, а также приведем пример статистической разрывности.

Далее мы будем считать, что $|H| > 0$, т. е. что арктангенс в уравнении (64) принимает какое-то значение между 0 и $\pi/2$. Граничные значения соответствуют $|H| = 0$ и $|H|^{1/2}/h_{12} \rightarrow \infty$. Как мы видели, случай $|H| = 0$ дает разрывность движения сильно взаимодействующих осцилляторов. Во втором случае $h_{12} = 0$. Следовательно, $\alpha_1\alpha_2k_{12}k_{21} = 0$. Если k_{12} или k_{21} равно нулю, то компоненты перестают взаимодействовать и уравнения (23) не интегрируются. Если α_1 или α_2 равно нулю, то один из компонентов отсутствует и система сводится к одному осциллятору. Итак, далее мы будем предполагать также, что $h_{12} > 0$.

Два других фазовых интеграла являются по существу такими же, как и соответствующие интегралы для системы без сильного взаимодействия. Введя $\eta_1 = 1 + y_1/\gamma_1$, получим

$$\begin{aligned}
 Z_{q_1}^c &= \int_{A_1/Q_1}^{\infty} e^{-\beta b_1 \gamma_1 (\eta_1 - 1)} \eta_1^{\beta b_1 \gamma_1} d\eta_1 = \\
 &= \gamma_1 e^{\beta b_1 \gamma_1} \int_{A_1/Q_1}^{\infty} e^{-\beta b_1 \gamma_1 \eta_1} \eta_1^{\beta b_1 \gamma_1} d\eta_1.
 \end{aligned}$$

Положив затем $t = \beta b_1 \gamma_1 \eta_1$, получаем

$$\begin{aligned}
 Z_{q_1}^c &= \gamma_1 e^{\beta b_1 \gamma_1} (\beta b_1 \gamma_1)^{-(\beta b_1 \gamma_1 + 1)} \int_{\beta b_1 \gamma_1 A_1/Q_1}^{\infty} e^{-t} t^{\beta b_1 \gamma_1} dt = \\
 &= \gamma_1 e^{\beta b_1 \gamma_1} (\beta b_1 \gamma_1)^{-(\beta b_1 \gamma_1 + 1)} \Gamma \left(\beta b_1 \gamma_1 + 1, \frac{\beta b_1 A_1 \gamma_1}{Q_1} \right).
 \end{aligned}$$

Это почти то же самое, что выражение для Z_{q_i} , даваемое уравнением (35). Единственное отличие заключается в том, что вместо βb_i здесь стоит $\beta b_1 \gamma_1$, а также есть множитель γ_1 перед интегралом. Следовательно, для получения приближенного значения Z_{q_i} в пределе при малых β мы можем использовать асимптотическую формулу для $Z_{q_i}^c$ (уравнение 37). Для $\beta \rightarrow 0$ мы имеем

$$\text{и} \quad \left. \begin{aligned} Z_{q_1}^c &\approx \gamma_1 \frac{1}{\beta b_1 \gamma_1} = \frac{1}{\beta b_1} \\ Z_{q_2}^c &\approx \gamma_2 \frac{1}{\beta b_2 \gamma_2} = \frac{1}{\beta b_2} \end{aligned} \right\} \quad (63)$$

СТАТИСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СИЛЬНО ВЗАИМОДЕЙСТВУЮЩИХ ОСЦИЛЛЯТОРОВ И СУБГАРМОНИЧЕСКИЙ РЕЗОНАНС

Первое отличие, которое обнаруживается между системами с сильным взаимодействием и системами без него, заключается в величине наиболее вероятных значений переменных x_1 и x_2 . Мы имеем по определению

$$P_{x_1} dx_1 = \frac{1}{Z} \int' e^{-\beta G} dv,$$

где штрих означает, что интегрирование выполняется по всем переменным, кроме x_1 . Это выражение можно преобразовать следующим образом:

$$\begin{aligned} P_{x_1} dx_1 &= \frac{dx_1}{Z_{p_2}} \int_{-\tau_2}^{\infty} e^{-\beta G_{x_1 x_2}} dx_2 = \\ &= \frac{e^{-\beta h_{11} x_1^2} dx_1}{Z_{p_2}} \int_{-\tau_2}^{\infty} e^{-\beta [2h_{12} x_1 x_2 + h_{22} x_2^2]} dx_2. \end{aligned}$$

Введя

$$l = \beta^{1/2} \left(x_2 + \frac{h_{12}}{h_{22}} x_1 \right),$$

получим

$$\frac{e^{-\beta(|H|/h_{22})x_1^2} dx_1}{\beta^{1/2} Z_{p_2}} \int_{\beta^{1/2}[-\tau_2 + (h_{12}/h_{22})x_1]}^{\infty} e^{-t^2} dt.$$

Максимум этого выражения достигается, когда x_1 удовлетворяет уравнению

$$e^{-\beta[-\tau_2 + (h_{12}/h_{22})x_1]^2 \beta^{1/2} \frac{h_{12}}{h_{22}}} - \frac{2\beta |H| x_1}{h_{22}} \int_{\beta^{1/2}[-\tau_2 + (h_{12}/h_{22})x_1]}^{\infty} e^{-t^2} dt = 0,$$

т. е.

$$\theta^{1/2} e^{-\beta[-\tau_2 - (h_{12}/h_{22})]x_1^2} h_{12} - 2|H|x_1 \int_{\beta^{1/2}[-\tau_2 + (h_{12}/h_{22})x_1]}^{\infty} e^{-t^2} dt = 0.$$

Ясно, что $x_1 = 0$ является корнем только при $\theta = 0$ и что уравнение удовлетворяется для некоторого значения x_1 , растущего с увеличением θ . Следовательно, наиболее вероятное значение X_1 превышает p_1 и возрастает с ростом θ .

С другой стороны, наиболее вероятное значение y_1 определяется из максимума выражения

$$P_{y_i} dy_i = \frac{dy_i}{Z_{q_1}^c} e^{-\beta b_1 [y_1 - \tau_1 (1 + y_1/\tau_1)]},$$

и сразу видно, что оно равно нулю. Аналогично, наиболее вероятное значение y_2 также равно 0, так что

$$[Y_1] = q_1, \quad [Y_2] = q_2.$$

Для случая систем с сильным взаимодействием теорема о равномерном распределении таландической энергии по всем степеням свободы устанавливается очень легко. В этом случае мы имеем

$$\begin{aligned}
\overline{(x_1 + p_1) \frac{\partial G}{\partial x_1}} &= \int (x_1 + p_1) \frac{\partial G}{\partial x_1} e^{-\beta G} dv \bigg/ \int e^{-\beta G} dv = \\
&= -\frac{1}{\beta} \int_{-p_1}^{\infty} \int_{-p_2}^{\infty} (x_1 + p_1) \frac{\partial}{\partial x_1} (e^{-\beta G_{x_1 x_2}}) \times \\
&\times dx_1 dx_2 \bigg/ \int_{-p_1}^{\infty} \int_{-p_2}^{\infty} e^{-\beta G_{x_1 x_2}} dx_1 dx_2 = \\
&= -\frac{1}{\beta} \int_{-p_2}^{\infty} dx_2 \left\{ [(x_1 + p_1) e^{-\beta G_{x_1 x_2}}]_{-p_1}^{\infty} - \right. \\
&- \left. \int_{-p_1}^{\infty} e^{-\beta G_{x_1 x_2}} dx_1 \right\} \bigg/ \int_{-p_1}^{\infty} \int_{-p_2}^{\infty} e^{-\beta G_{x_1 x_2}} dx_1 dx_2 = \\
&= \frac{\theta \int_{-p_1}^{\infty} \int_{-p_2}^{\infty} e^{-\beta G_{x_1 x_2}} dx_1 dx_2}{\int_{-p_1}^{\infty} \int_{-p_2}^{\infty} e^{-\beta G_{x_1 x_2}} dx_1 dx_2} = 0.
\end{aligned}$$

Аналогично получается

$$\overline{(x_2 + p_2) \frac{\partial G}{\partial x_2}} = 0 = \overline{(y_1 + \sigma_1) \frac{\partial G}{\partial y_1}} = \overline{(y_2 + \sigma_2) \frac{\partial G}{\partial y_2}}.$$

Эти соотношения выполняются при равновесии эпигенетических систем, когда колебательное движение (а точнее — таландическая энергия) одинаково распределено между всеми компонентами. Перейдя к первоначальным переменным, получаем следующие равенства:

$$\begin{aligned}
\theta &= \overline{X_1 [h_{11}(X_1 - p_1) + h_{12}(X_2 - p_2)]} = \\
&= \overline{X_2 [h_{12}(X_1 - p_1) + h_{22}(X_2 - p_2)]} = \\
&= \frac{\alpha_1 k_{21} b_1 (k_{11} Y_1 + k_{12} Y_2)}{A_1 + k_{11} Y_1 + k_{12} Y_2} [k_{11}(Y_1 - q_1) + k_{12}(Y_2 - q_2)] = \\
&= \frac{\alpha_2 k_{12} b_2 (k_{21} Y_1 + k_{22} Y_2)}{A_2 + k_{21} Y_1 + k_{22} Y_2} [k_{21}(Y_1 - q_1) + k_{22}(Y_2 - q_2)]. \quad (64)
\end{aligned}$$

Отсюда трудно сделать какие-либо определенные выводы. Ясно только, что условия равновесия совместны с самыми разнообразными колебательными режимами переменных, образующих сильно связанные колебательные системы.

Интересно исследовать функции T_+/T и A_+ для случая сильно взаимодействующих осцилляторов и сравнить результаты с уравнениями (45) и (48) для системы без взаимодействия. Обозначая верхним индексом взаимодействие, а нижним — рассматриваемую переменную, будем иметь

$$\left(\frac{T_+}{T}\right)_{x_1}^c = \int_0^\infty \int_{-p_2}^\infty e^{-\beta G_{x_1 x_2}} dx_1 dx_2 / Z_{p_1 p_2}.$$

Используя преобразование, сделанное при вычислении фазового интеграла (59), легко проверить, что если воспользоваться уравнением (61), то числитель этого выражения (для очень малых β) приводится к виду

$$\frac{1}{\beta |H|^{1/2}} \int_0^\infty d\xi_2 \int_{(h_{12}/|H|^{1/2})\xi_2}^\infty e^{(-\xi_1^2 + \xi_2^2)} d\xi_1 = \frac{\arctg \frac{|H|^{1/2}}{h_{12}}}{2\beta |H|^{1/2}}. \quad (65)$$

Поскольку это выражение в пределе при малых β (больших θ) совпадает с $Z_{p_1 p_2}$, сразу получаем

$$\left(\frac{T_+}{T}\right)_{x_1}^c \rightarrow 1 \quad \text{при} \quad \theta \rightarrow \infty. \quad (66)$$

Это совпадает с результатом (47), полученным выше; следовательно, можно видеть, что колебания для переменных x проявляют сильную асимметрию, растущую с ростом θ ; переменные x все больше и больше времени являются положительными, так что переменные X в среднем больше своих равновесных значений. При очень больших β (θ мало) мы получим, используя уравнение (60):

$$\left(\frac{T_+}{T}\right)_{x_1}^c \approx \frac{\arctg \frac{|H|^{1/2}}{h_{12}}}{2\beta |H|^{1/2}} \frac{\beta |H|^{1/2}}{\pi} = \frac{1}{2\pi} \arctg \frac{|H|^{1/2}}{h_{12}}. \quad (67)$$

При изменении параметров h_{ij} эта величина принимает значения от 0 до $1/4$, так что для очень малых θ , как и в случае отдельных осцилляторов, колебания системы при наличии сильного взаимодействия не симметричны относительно оси стационарного состояния. Теперь превалируют отрицательные значения x_1 , и в зависимости от значений параметров h_{ij} величина $(T_-/T)_{x_1}^c$ меняется между $3/4$ и 1.

Функция $(A_+)_{x_1}^c$, определяющая среднюю величину положительной амплитуды переменной x_1 в системе с взаимодействием, равна

$$(A_+)_{x_1}^c = \frac{1}{(T_+/T)} \frac{1}{Z_{p_1 p_2}} \int_0^\infty \int_{-p_2}^\infty x_1 e^{-\beta G_{x_1 x_2}} dx_1 dx_2.$$

В предельном случае малых β надо оценить интеграл

$$\int_0^\infty \int_0^\infty x_1 e^{-\beta(h_{11}x_1^2 + 2h_{12}x_1x_2 + h_{22}x_2^2)} dx_1 dx_2.$$

Теперь используем результат Райса [87], а именно

$$\int_0^\infty dx \int_0^\infty x e^{-(x^2 + 2axy + y^2)} dy = \frac{\sqrt{\pi}}{4} \frac{1}{1+a}.$$

При введении

$$x = (\beta h_{11})^{1/2} x_1, \quad y = (\beta h_{22})^{1/2} x_2$$

интеграл принимает вид

$$\frac{1}{\beta h_{11} \sqrt{\beta h_{22}}} \int_0^\infty dx \int_0^\infty x e^{-(x^2 + 2axy + y^2)} dy = \frac{\sqrt{\pi}}{4\beta h_{11} \sqrt{\beta h_{22}}} \frac{1}{1+a}.$$

Здесь

$$a = \frac{h_{12}}{\sqrt{h_{11}h_{22}}},$$

так что

$$\frac{1}{1+a} = \frac{\sqrt{h_{11}h_{22}}}{\sqrt{h_{11}h_{22}} + h_{12}}.$$

Поскольку

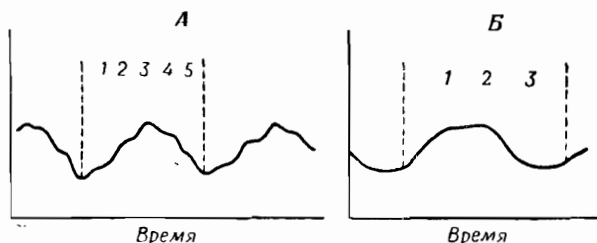
$$\left(\frac{T_+}{T}\right)_{x_1}^c \approx \frac{\operatorname{arctg} \frac{|H|^{1/2}}{h_{12}}}{2\beta |H|^{1/2}} \bigg/ Z_{p_1 p_2},$$

получаем в результате, что при малых β

$$\begin{aligned} (A_+)_{x_1}^c &\approx \frac{\sqrt{\pi}}{4\beta^{3/2} \sqrt{h_{11}} [\sqrt{h_{11}h_{22}} + h_{12}]} \cdot \frac{2\beta |H|^{1/2}}{\operatorname{arctg} \frac{|H|^{1/2}}{h_{12}}} = \\ &= \frac{\sqrt{\pi\theta} |H|^{1/2}}{2 \sqrt{h_{11}} [\sqrt{h_{11}h_{22}} + h_{12}] \operatorname{arctg} \frac{|H|^{1/2}}{h_{12}}} = \\ &= \frac{1}{\alpha_1} \sqrt{\frac{\pi\theta}{2k_{21}k_{11}}} \frac{(k_{11}k_{22} - k_{12}k_{21})^{1/2}}{[\sqrt{k_{11}k_{22}} + \sqrt{k_{12}k_{21}}]} \times \\ &\times \frac{1}{\operatorname{arctg} \left(\frac{k_{11}k_{22}}{k_{12}k_{21}} - 1 \right)^{1/2}}. \end{aligned}$$

Отсюда видно, что средняя положительная амплитуда x_1 в связанном осцилляторе так же зависит от таландической температуры, как A_+ в случае одного осциллятора, меняясь как корень квадратный из θ . Функциональная зависимость $(A_+)_{x_1}^c$ от параметров взаимодействия, как это ясно видно, очень сложна. Однако существенно, что когда θ велико и k_{21} очень мало, $(A_+)_{x_1}^c$ становится большим. Очень малая величина k_{21} означает, что пара переменных (X_1, Y_1) , которую мы обозначим O_1 , как если бы она являлась независимым осциллятором, очень мало влияет на осциллятор O_2 [состоящий из пары (X_2, Y_2) , если на нее тоже смотреть как на независимый осциллятор]. Если мы допустим далее, что k_{12} велико (но при условии, что сохраняется неравенство $k_{11}k_{22} - k_{12}k_{21} > 0$), то осциллятор O_1 будет асимметрично взаимодействовать с осциллятором O_2 таким образом, что O_2 будет «захватывать» O_1 . В этом случае создаются условия, благоприятствующие возникновению в системе явления субгармонического резонанса, или деления частоты.

Экспериментальные исследования субгармонического резонанса в электрических и механических системах обычно проводились при условиях, когда под влиянием первого компонента — осциллятора — возникают колебания второго компонента системы, который сам по себе вовсе не является автоколебательным; иными словами, только один из взаимодействующих компонентов является



Ф и г. 9.

автономным осциллятором, тогда как другой обладает лишь нелинейной восстанавливающей силой, которая заставляет его возвращаться в положение равновесия после возмущения. На фиг. 9 представлены кривые, описывающие вынужденные колебания «ведомого» компонента такой механической системы [57].

На фиг. 9, А показан субгармонический резонанс порядка $1/5$, а на фиг. 9, Б — порядка $1/3$. Характерная особенность этого явления состоит в том, что колебания, возникающие в «ведомом» компоненте, имеют значительно большую амплитуду и меньшую частоту, чем у основного автономного осциллятора. В случае субгармонического резонанса порядка $1/5$ на фоне полной волны можно увидеть основные колебания, в то время как в другом случае колебательные движения полностью сливаются.

Этот тип взаимодействия не может быть изучен аналитически посредством статистической механики, развиваемой в нашей теории, так как уравнение пары взаимодействующих осцилляторов с полностью асимметричной связью (например, с $k_{21} = 0$) не интегрируются. Однако можно добиться интегрируемости, если в этой

связанной системе выбрать k_{21} очень малым, а k_{12} очень большим. Тогда собственные колебания будут наблюдаться и у осциллятора O_1 , так что субгармонический резонанс для X_1 может иметь более сложную форму волны, чем это показано на фиг. 9. Более того, при рассматриваемом типе взаимного влияния субгармоники могут появляться в обоих осцилляторах, причем число циклов, совершаемых каждым из них в данном временном интервале, будет различным. Это может происходить при соответствующих значениях как параметров k_{11} , k_{22} , σ_1 , σ_2 , так и параметров взаимодействия. Сейчас мы, однако, рассмотрим случай сильной асимметрии, когда один из осцилляторов захватывает другой, сам не испытывая значительного обратного влияния. Мы создаем такие условия, выбрав большое θ , большое k_{12} и малое k_{21} . Как мы уже видели, при этих условиях величина $(A_+)_{x_1}^c$ становится большой, так что амплитуда положительных колебаний переменной x_1 велика (мы можем ограничиться положительными значениями переменных, поскольку при больших θ асимметрия колебаний относительно стационарного состояния такова, что поведение осцилляторов можно исследовать над осью стационарного состояния). Но, поскольку при малом k_{21} влияние O_1 на x_2 слабо, не следует думать, что переменная x_2 ведет себя так же, как при субгармоническом резонансе. Выражение для средней положительной амплитуды x_2 имеет вид (для больших θ)

$$\begin{aligned}
 (A_+)_{x_2}^c &\approx \\
 &\approx \frac{1}{\alpha_2} \sqrt{\frac{\pi\theta}{2k_{12}k_{22}}} \frac{(k_{11}k_{22} - k_{12}k_{21})^{1/2}}{\sqrt{k_{11}k_{22}} + \sqrt{k_{12}k_{21}}} \cdot \frac{1}{\operatorname{arctg} \left(\frac{k_{11}k_{22}}{k_{12}k_{21}} - 1 \right)^{1/2}},
 \end{aligned} \tag{68}$$

и она растет с увеличением k_{12} . Следовательно, x_1 имеет большую среднюю положительную амплитуду не из-за передачи больших колебаний от «ведущего» осциллятора O_2 к «ведомому» осциллятору O_1 при условиях, дающих асимметричную связь, но из-за более сложного взаимодействия.

Отношение этих двух величин равно

$$\frac{(A_+)_{x_1}^c}{(A_+)_{x_2}^c} \approx \frac{\alpha_1}{\alpha_2} \sqrt{\frac{k_{12}k_{22}}{k_{21}k_{11}}} . \quad (69)$$

Это выражение показывает, что при большом θ в случае сильного взаимодействия можно влиять на относительную величину колебаний, изменяя отношение коэффициентов взаимодействия k_{12} и k_{21} . При достаточно большой таландической температуре системы в одном из связанных осцилляторов можно получить сколь угодно большую амплитуду (и следовательно, произвольно большой период). Хорошо установленные свойства систем с нелинейным взаимодействием [39, 64] предсказывают явления именно такого типа, хотя мы все еще не можем считать наличие субгармонического резонанса (деления частоты) твердо установленным свойством нашей системы. Для этого нужно более глубокое изучение условий равновесия в системе. Хотя мы сосредоточили основное внимание на анализе переменных x_i , т. е. на поведении популяций m -РНК, ясно, что субгармонические колебания будут происходить также и в популяциях гомологичных белков.

Внимательно рассмотрев точно вычерченные кривые циркадных ритмов (такие кривые получены Каракашьяном и Гастингсом [46] для случая ритма люминесценции у *Gonyaulax polyedra* и Мори [68] для циркадного ритма значений рН полостной жидкости морского пера *Cavernularia obesa* Valenciennes), можно найти в них некоторые указания на то, что в их формировании участвуют колебания с периодом менее 24 час. Присутствие таких колебаний проявляется в наличии уступов, или выпуклостей, на циркадной кривой, приблизительно одинаковых в в одних и тех же частях цикла; это похоже на появление малых колебаний на кривой фиг. 9, А. Интересно также, что у *Gonyaulax* этот ритм люминесценции более или менее сохранялся даже после того, как сильный дневной ритм был подавлен актиномицином в концентрациях, которые не оказывали на клетки летального действия [46]. В этом случае колебания слабы и в значительной мере нерегулярны, однако частота равна примерно 3—4 периодам в сутки. Именно этого следует ожидать, если при обра-

ботке культуры актиномицином величина θ в результате ингибирования синтеза m -РНК сильно уменьшается. При малом θ колебания будут слабо нелинейны, так что циркадный ритм, зависящий от субгармонического резонанса, будет неустойчивым и угаснет, а останутся только малые свободные колебания.

Возможно и другое объяснение: актиномицин может настолько уменьшить популяции m -РНК в клетке, что они станут слишком малыми и не смогут обеспечить регулярные колебания (аналогичное соображение было высказано нами при рассмотрении колебаний в бактериальных клетках). Тогда все вариации обычно наблюдаемых циркадных переменных следует относить главным образом за счет биохимического шума.

Следует помнить, что при колебаниях люминесценции и рН наблюдаемыми переменными в сущности является не белок и тем более не m -РНК, хотя между уровнем белка и наблюдаемыми переменными имеется весьма тесная связь. Так, система люциферин — люцифераза, ответственная за люминесценцию *Gonyaulax*, контролируется активностью белка люциферазы; уровень люциферина тоже контролируется соответствующими ферментами.

Дополнительные сведения о поведении сильно взаимодействующих осцилляторов может дать изучение средней частоты нулевых значений для переменных x_1 и x_2 . Мы имеем

$$\begin{aligned} \omega^c(x_1 - v) &= \int e^{-\beta G} |\dot{x}_1| \delta(x_1 - v) dv / \int e^{-\beta G} dv = \\ &= \frac{1}{Z_{p_1 p_2} Z_c} \int_{-p_1}^{\infty} \int_{-p_2}^{\infty} e^{-\beta G_{x_1 x_2}} \delta(x_1 - v) dx_1 \int_{-\sigma_1}^{\infty} e^{-\beta G_{y_1}} |\dot{x}_1| dy_1 = \\ &= \frac{|\dot{x}_1|}{Z_{p_1 p_2}} \int_{-p_2}^{\infty} e^{-\beta [h_{11} v^2 + 2h_{12} v x_2 + h_{22} x_2^2]} dx_2 \\ &= \frac{|\dot{x}_1| e^{-\beta h_{11} v^2}}{Z_{p_1 p_2}} \int_{-p_2}^{\infty} e^{-\beta [2h_{12} v x_2 + h_{22} x_2^2]} dx_2, \end{aligned} \quad (70)$$

где $|\dot{x}_1|$ обозначает фазовое среднее от $|\dot{x}_1|$.

С помощью преобразования

$$t = (\beta h_{22})^{1/2} \left(x_2 + \frac{h_{12}}{h_{22}} v \right)$$

интеграл приводится к виду

$$\frac{1}{V\beta h_{22}} \int_{(\beta h_{22})^{1/2}[-p_2 + (h_{12}/h_{22})v]}^{\infty} e^{-t^2 + h_{12}^2/h_{22}v^2} dt,$$

что дает

$$\omega^c(x_1 - v) = \frac{|\bar{x}_1| e^{-\beta(|H|/h_{22})v^2}}{(\beta h_{22})^{1/2} Z_{p_1 p_2}} \int_{V\beta h_{22}[-p_2 + (h_{12}/h_{22})v]}^{\infty} e^{-t^2} dt. \quad (71)$$

Отношение этой величины к средней частоте нулевых значений относительно линии $v=0$ равно

$$\begin{aligned} (\omega_{x_1}^c)_{\text{отн}} &= \frac{\omega^c(x_1 - v)}{\omega^c(x_1)} = e^{-(\beta|H|/h_{22})v^2} \times \\ &\times \int_{(\beta h_{22})^{1/2}[-p_2 + (h_{12}/h_{22})v]}^{\infty} e^{-t^2} dt / \int_{-(\beta h_{22})^{1/2}p_2}^{\infty} e^{-t^2} dt. \quad (72) \end{aligned}$$

Рассматриваемое как функция v , это выражение имеет максимум при v , равном корню уравнения

$$\frac{\partial (\omega_{x_1}^c)_{\text{отн}}}{\partial v} = 0.$$

Найдя частную производную, получим

$$\begin{aligned} e^{-\beta(|H|/h_{22})v^2} \left\{ - \left(\frac{\beta}{h_{22}} \right)^{1/2} h_{12} e^{-\beta h_{22}[-p_2 + (h_{12}/h_{22})v]^2} - \right. \\ \left. - \frac{2\beta|H|v}{h_{22}} \int_{(\beta h_{22})^{1/2}[-p_2 + (h_{12}/h_{22})v]}^{\infty} e^{-t^2} dt \right\} = 0, \end{aligned}$$

или

$$\begin{aligned} h_{12} e^{-\beta h_{22}[p_2 - (h_{12}/h_{22})v]^2} + 2|H| \left(\frac{\beta}{h_{22}} \right)^{1/2} v \times \\ \times \int_{(\beta h_{22})^{1/2}[-p_2 + (h_{12}/h_{22})v]}^{\infty} e^{-t^2} dt = 0. \end{aligned}$$

Корнем этого выражения является всегда некоторое отрицательное значение v . Следовательно, в системе с взаимодействием средняя частота нулевых значений максимальна не относительно оси стационарного состояния $v = 0$, как это было в случае невзаимодействующих осцилляторов, но относительно некоторой оси, смещенной вниз от оси стационарного состояния ($v < 0$). Этот результат справедлив для любых β , но при уменьшении β (т. е. увеличении θ) абсолютная величина корня растет.

Для очень малых β относительная частота средних значений приблизительно равна

$$(\omega_{x_1}^c)_{\text{отн}} \approx \frac{2e^{-\beta(|H|/h_{22})v^2}}{\sqrt{\pi}} \int_{(\beta/h_{22})^{1/2} h_{12}v}^{\infty} e^{-t^2} dt.$$

Подставляя вместо h_{ij} первоначальные параметры, получим

$$\begin{aligned} (\omega_{x_1}^c)_{\text{отн}} = & \frac{2}{\sqrt{\pi}} e^{-\beta(\alpha_1^2 h_{21}/h_{22})[(h_{11}h_{22}-h_{12}h_{21})/2]v^2} \times \\ & \times \int_{\alpha_1 h_{21}(\beta h_{12}/2h_{22})^{1/2}v}^{\infty} e^{-t^2} dt. \end{aligned} \quad (73)$$

Аналогичное выражение для x_2 (β мало, т. е. θ велико) имеет вид

$$\begin{aligned} (\omega_{x_2}^c)_{\text{отн}} = & \frac{2}{\sqrt{\pi}} e^{-\beta(\alpha_2^2 h_{12}/h_{11})[(h_{11}h_{22}-h_{12}h_{21})/2]v^2} \times \\ & \times \int_{\alpha_2 h_{12} \sqrt{\beta h_{21}/2h_{11}}v}^{\infty} e^{-t^2} dt. \end{aligned} \quad (74)$$

Теперь видно, что если субгармонический резонанс проявляется в переменной x_1 , но не в x_2 , в виде колебаний большой амплитуды [это происходит, как мы знаем, при малых β (больших θ), малых k_{21} и больших k_{12}], то при удалении v в положительном направлении от оси стационарных состояний средняя частота нулевых значений будет для x_1 падать медленнее, чем для x_2 . Это видно из уравнений (73) и (74) при соответствующих значениях

параметров: с увеличением ν величина $(\omega_{x_2}^c)_{\text{отн}}$ уменьшается быстрее, чем $(\omega_{x_1}^c)_{\text{отн}}$, хотя очевидно, что относительная скорость их уменьшения зависит, кроме того, от значений других параметров. Так, например, скорости уменьшения $(\omega_{x_1}^c)_{\text{отн}}$ и $(\omega_{x_2}^c)_{\text{отн}}$ при увеличении ν будут малы при малых значениях α_1 и α_2 соответственно; интерпретация этого эффекта пока не ясна и прямых данных о связи его с возможными субгармоническими явлениями у нас нет. Ясно, однако, что при определенных значениях микроскопических параметров и при большом θ (таком, чтобы была заметна нелинейность) возникают сильные колебания переменной x_1 , обусловленные не собственными колебаниями в системе, но их взаимодействием.

ЗАХВАТЫВАНИЕ ЧАСТОТЫ

При взаимодействии нелинейных осцилляторов возникает еще одно явление — захватывание частоты. В определенных условиях собственные колебания двух взаимодействующих осцилляторов как бы «объединяются», так что эти два осциллятора образуют единую колебательную систему, т. е. начинают вести себя как один. При исследовании электрических и механических систем [1, 82] было показано, что взаимодействие таких осцилляторов при захватывании асимметрично, т. е. один осциллятор «захватывает» другой и заставляет его колебаться синхронно с собой. Как установил Прингл [86], роли «хищника» и «жертвы» в таких системах распределяются в зависимости от того, с какой стороны частота одних колебаний приближается к частоте других. Так, если собственные колебания одного осциллятора стационарны, то они будут «захвачены» колебаниями связанного с ним другого осциллятора, если частота последнего приближается к частоте стационарного осциллятора со стороны больших значений. Если же это приближение к стационарной частоте происходит со стороны меньших значений, то уже стационарный осциллятор играет роль «хищника». Прингл показал далее, что в этих двух случаях расстояние между частотами в момент захватывания различно; скачок, или разрыв, по частоте больше, когда приближение происхо-

дит со стороны больших частот, чем когда оно происходит со стороны меньших. На основе этих свойств взаимодействующих нелинейных осцилляторов Прингл создал крайне интересную теорию нервной деятельности и процесса обучения в высших организмах. По его предположению, элементарными осцилляторами, лежащими в основе временной организации нервной деятельности, являются замкнутые цепи нейронов, образующие реверберирующие контуры возбуждения и торможения. Прингл полагает, что многие характерные особенности процесса обучения можно объяснить, исходя из взаимодействия этих нелинейных осцилляторов, связанных между собой общими нейронами. Основное и наиболее важное для нас положение работы Прингла состоит в том, что имеется тесный параллелизм между силами, определяющими временную организацию в системах, состоящих из многих взаимодействующих нелинейных осцилляторов, и теми силами, которые участвуют в эволюции популяций, подчиняющейся дарвиновским законам конкуренции и отбора. Таким образом, смысл основного положения Прингла состоит в том, что *популяция взаимодействующих осцилляторов будет «эволюционировать», т. е. под влиянием случайных возмущений переходить из состояний меньшей сложности в состояния большей сложности*; при этом отбор, действующий на эти состояния, обладает максимальной адаптивной ценностью. Свои остроумные и убедительные аргументы Прингл излагает с помощью понятий, связанных с системой хищник — жертва, которая была использована выше для описания взаимодействия нелинейных осцилляторов. Таким образом, проведена явная параллель между динамическим поведением системы связанных осцилляторов и эволюцией популяций организмов в природе. Применение идей и понятий теории Дарвина для описания совершенно новой ситуации — «эволюции» колебательной системы — приводит к существенному расширению этой теории.

Независимо от того, правильны ли предположения Прингла относительно колебательной структуры нервных сетей, проведенный им анализ поведения систем осцилляторов во времени очень важен и интересен. Все его соображения можно сразу приложить к системе осцил-

ляторов, о которой идет речь в данной книге, и получить важные указания относительно организационных принципов, лежащих в основе временной структуры физиологических явлений в клетках. Значение временной координации физиологической активности для адаптации обсуждал Халберг [35]. Он привел множество экспериментальных фактов, показывающих, что для организма важно совершать нужные действия в нужное время. В основе большинства обсуждаемых им процессов лежит циркадный ритм. Отсюда ясно, что явление захватывания имеет важнейшее значение для адаптивного регулирования физиологической активности относительно 24-часовых световых, температурных и т. п. циклов.

Халберг справедливо заметил, однако, что на основании синхронизации ритма нельзя объяснить существование упорядоченной временной структуры с постоянной или приблизительно постоянной *разностью* фаз между протекающими в системе физиологическими процессами. Наряду с захватыванием, создающим синхронность, между физиологическими осцилляторами должны существовать и другие силы взаимодействия, стремящиеся, например, создать устойчивые фазовые сдвиги. Взяв за основу силы, действующие между компонентами осциллятора, можно, вероятно, найти некоторый общий оптимальный принцип, описывающий колебательные поведения внутриклеточных управляющих систем. При этом можно, следуя по пути, уже проложенному Принглом, использовать представления, разработанные дарвиновской теорией, для описания принципов, которым подчиняются адаптивные процессы в такой системе. Подобный оптимальный принцип был бы тогда аналогичен условию минимума потенциальной энергии в физике. Возможно, что взаимодействие между нелинейными биохимическими осцилляторами описывается определенного вида силовым полем, определяемым некоторой потенциальной функцией. В этом случае система будет стремиться «двигаться», т. е. фазовые и частотные соотношения между взаимодействующими осцилляторами будут изменяться до тех пор, пока потенциал не достигнет минимума. Состояние с минимумом этой потенциальной функции будет соответствовать, таким образом, некоторой временной структуре, построенной

из определенных ритмических составляющих, обладающих достаточной устойчивостью. (Совершенно аналогично в физических системах условие минимума потенциальной энергии соответствует некоторой пространственной упорядоченной структуре и устойчивости.) В такую потенциальную функцию войдет параметр θ , поскольку, как мы видели, он *служит мерой нелинейности системы и, значит, мерой интенсивности взаимодействия*. Так, когда θ очень мало, следует ожидать очень слабого взаимодействия, и система будет слабо организована во времени. Однако с ростом θ степень организации будет возрастать. Несомненно, весь этот вопрос представляет чрезвычайный интерес, и его исследование может привести к некоторому общему закону клеточной организации и дать основу для построения настоящей «термодинамики» клеточной активности. Как, однако, следовало бы сформулировать такого рода принцип, еще не ясно. Для этого мы слишком мало знаем о «микроскопических» взаимодействиях между нелинейными осцилляторами.

Посмотрим теперь, можно ли аналитически обнаружить в нашей системе захватывание частоты, и попытаемся выяснить, какие взаимодействия между сильно связанными осцилляторами можно исследовать средствами развиваемой здесь статистической механики.

Между микроскопическими параметрами существует одно соотношение, которое явно имеет непосредственное отношение к вопросу о захватывании частоты. При взгляде на уравнения (73) и (74) становится ясно, что если положить

$$\frac{\alpha_1^2 k_{21}}{k_{22}} = \frac{\alpha_2^2 k_{12}}{k_{11}}, \quad (75)$$

то оба эти выражения совпадают и не зависят от ν . Отношение этих двух величин при условии (75) равно

$$\frac{(\omega_{x_1}^c)_{\text{отн}}}{(\omega_{x_2}^c)_{\text{отн}}} = 1. \quad (76)$$

Более того, из уравнений (68) и (69) видно, что условие (75) приводит независимо от величины θ к равенству

$$(A_+)_{\bar{x}}^c = (A_+)_{x_2}^c. \quad (77)$$

Эти тождества означают, что при определенных ограничениях, наложенных на микроскопические параметры, поведение двух переменных x_1 и x_2 , определяемое $(\omega_{x_i}^c)_{отн}$ и $(A_+)_{x_i}^c$, одинаково. Другими словами, средняя частота нулевых значений относительно линии $\nu = 0$ и средняя положительная амплитуда этих переменных равны между собой. Это означает, что при выполнении условия (75) между переменными x_1 и x_2 сохраняется некоторое постоянное соотношение, но на основе ограниченной информации, даваемой уравнениями (76) и (77), мы не можем сказать точно, что это за соотношение. Эти уравнения являются необходимыми условиями захватывания, ибо, когда два осциллятора «сцеплены» вместе, переменные x_1 и x_2 должны вести себя одинаково. Но достаточными они не являются, поскольку они столь же хорошо выполняются и при постоянном фазовом сдвиге между осцилляторами или даже при каком-нибудь другом необычном постоянном соотношении между ними. Поскольку мы рассматриваем среднюю частоту нулевых значений относительно фиксированной линии отсчета $\nu = 0$, возможно, например, что колебательная частота одной из переменных в какое-то фиксированное число раз больше другой. Эту последнюю возможность можно исследовать, непосредственно используя выражение для средней частоты, даваемое выражениями

$$\left. \begin{aligned} \omega^c(x_1 - \nu) &= \\ &= \frac{|\bar{x}_1| e^{-\beta(|H|/h_{22})\nu^2}}{(\beta h_{22})^{1/2} Z_{p_1 p_2}} \int_0^\infty e^{-t^2} dt \\ &\quad (\beta h_{22})^{1/2} [-p_2 + (h_{12}/h_{22})\nu] \\ \text{и} \quad \omega^c(x_2 - \nu) &= \\ &= \frac{|\bar{x}_2| e^{-\beta(|H|/h_{11})\nu^2}}{(\beta h_{11})^{1/2} Z_{p_1 p_2}} \int_0^\infty e^{-t^2} dt \\ &\quad (\beta h_{11})^{1/2} [-p_1 + (h_{12}/h_{11})\nu] \end{aligned} \right\} \quad (78)$$

полученными из уравнения (71) и аналогичного уравне-

ния для переменной x_2 . Поскольку далее

$$h_{11} = \frac{k_{11}k_{21}\alpha_1^2}{2}, \quad h_{22} = \frac{k_{22}k_{12}\alpha_2^2}{2},$$

то условие (75) дает просто $h_{11} = h_{22}$.

Если при этих ограничениях объединенные осцилляторы синхронны или имеют постоянный фазовый сдвиг, то должно выполняться равенство

$$\omega^c(x_1 - v) = \omega^c(x_2 - v). \quad (79)$$

Это соотношение не справедливо, однако, когда частота одной переменной отличается от другой в некоторое число раз; в этом случае мы имеем

$$\omega^c(x_1 - v) = r\omega^c(x_2 - v),$$

где r — рациональное число.

Для малых β при $h_{11} = h_{22}$ соотношения (78) дают

$$\frac{\omega^c(x_1 - v)}{\omega^c(x_2 - v)} = \frac{|\dot{\bar{x}}_1|}{|\dot{\bar{x}}_2|}, \quad (80)$$

где

$$|\dot{\bar{x}}_i| = \frac{1}{Z_{q_i}^2} \int_{-\sigma_i}^{\infty} e^{-\beta G_{vi}} |\dot{x}_i| dy_i, \quad (81)$$

как и в уравнении (70).

Здесь мы сталкиваемся с некоторой трудностью; чтобы оценить величину этих интегралов, скажем в пределе при малых β , надо произвести преобразование Фурье несколько необычной функции, затем найти интеграл, для которого произвести интегрирование в явном виде еще не удалось, и после этого исследовать с его помощью ограничения, налагаемые на параметры уравнением (79). Не проделывая всех преобразований, необходимых для получения искомого интеграла из уравнения (81), приведем лишь конечный результат (для очень

малых β):

$$|\dot{x}_i| \approx \operatorname{Re} \left\{ \frac{1}{\pi Z_{q_i}^c} \int_{-\infty}^{\infty} \frac{ds}{s^2} \left[Z_{q_i}^c - e^{b_i(\beta \gamma_i - is)} \gamma_i (\beta b_i \gamma_i)^{-(\beta b_i + 1)} \times \right. \right. \\ \left. \left. \times \int_0^{\infty} e^{is \beta b_i^2 \gamma_i u} e^{-1/|u|} u^{-(\beta b_i + 2)} du \right] \right\}. \quad (82)$$

Внутренний интеграл представляет собой преобразование Фурье, или, что то же, характеристическую функцию стационарного распределения вероятностей с экспонентой $\alpha_i = 1 + \beta b_i$ такого типа, который исследовался в теории вероятностей Полем Леви [55]. Хотя это преобразование и известно, но следующий несобственный интеграл по переменной s берется довольно трудно и не ведет к результату, который можно использовать для исследования корней уравнения (79). Из выражения (82) видно, что уравнение (79) налагает ограничение на параметры b_i , α_i и k_{ij} (k_{ij} входят через γ_i). Таким образом, для захватывания явно не достаточно, чтобы только параметры взаимодействия имели определенные значения. Скорее вся взаимодействующая система должна находиться в определенном параметрическом состоянии.

Теперь рассмотрим еще одну совокупность условий, имеющих отношение к вопросу о синхронизации в случае сильно взаимодействующих осцилляторов. Заметим, что если переменные x_1 и x_2 колеблются синхронно и ведут себя, следовательно, одинаково во всех отношениях, то они должны быть неотличимы одна от другой. В частности, среднее по времени от произведения $x_1 x_2$ должно быть равно средним по времени от x_1^2 и x_2^2 . В нашей статистической механике мы заменяем средние по времени фазовыми средними, так что должны выполняться следующие соотношения:

$$\overline{x_1^2} = \overline{x_1 x_2} = \overline{x_2^2}. \quad (83)$$

Далее, из определения фазового интеграла для x_1 и x_2

$$Z_{p_1 p_2} = \int_{-p_1}^{\infty} \int_{-p_2}^{\infty} e^{-\beta [h_{11} x_1^2 + 2h_{12} x_1 x_2 + h_{22} x_2^2]} dx_1 dx_2$$

мы имеем тождества

$$\left. \begin{aligned} \overline{x_1^2} &= -\frac{1}{\beta} \frac{1}{Z_{p_1 p_2}} \frac{\partial Z_{p_1 p_2}}{\partial h_{11}} = -\frac{1}{\beta} \frac{\partial \log Z_{p_1 p_2}}{\partial h_{11}}, \\ \overline{x_2^2} &= -\frac{1}{\beta} \frac{\partial \log Z_{p_1 p_2}}{\partial h_{22}}, \\ \overline{x_1 x_2} &= -\frac{1}{2\beta} \frac{\partial \log Z_{p_1 p_2}}{\partial h_{12}}. \end{aligned} \right\} \quad (84)$$

Мы можем исследовать соотношения (83) в пределе при больших и малых β , исходя из уравнений (60) и (61), определяющих величину $Z_{p_1 p_2}$ при этих значениях таландической температуры. Для очень малых θ имеем

$$Z_{p_1 p_2} \approx \frac{\pi}{\beta |H|^{1/2}} = \beta \sqrt{h_{11} h_{22} - h_{12}^2}.$$

Следовательно,

$$\left. \begin{aligned} \overline{x_1^2} &\approx \frac{h_{22}}{2|H|\beta}, \\ \overline{x_2^2} &\approx \frac{h_{11}}{2|H|\beta}, \\ \overline{x_1 x_2} &\approx \frac{-h_{12}}{2\beta|H|}. \end{aligned} \right\} \quad (85)$$

Соотношение $\overline{x_1^2} = \overline{x_2^2}$ дает $h_{11} = h_{22}$, но ясно, что два других соотношения не могут быть удовлетворены из-за положительности всех параметров. Следовательно, при очень малых θ захватывание произойти не может. Именно этого и следовало ожидать, ибо, как мы видели, в пределе при малых θ осцилляторы существенно линейны, а захватывание представляет собой нелинейный эффект. Из полученного результата следует также, что условие $h_{11} = h_{22}$ не является достаточным для захватывания, хотя оно, возможно, и определяет какие-то другие постоянные и симметричные соотношения между двумя переменными x_1 и x_2 . Однако в чем они состоят, мы еще не знаем.

При большой таландической температуре нелинейность системы очень заметна и можно ожидать, что захватывание будет возможно. В этом пределе (β очень мало) мы исполь-

зуюм уравнение (61), а именно

$$Z_{p_1 p_2} \approx \frac{\operatorname{arctg} \frac{|H|^{1/2}}{h_{12}}}{2\beta |H|^{1/2}}.$$

Величины (84) теперь равны

$$\begin{aligned} \overline{x_1^2} &\approx \frac{1}{2\beta |H|^{1/2}} \left\{ \frac{h_{22}}{|H|^{1/2}} - \frac{h_{12}}{h_{11} \operatorname{arctg} \frac{|H|^{1/2}}{h_{12}}} \right\}, \\ \overline{x_1 x_2} &\approx \frac{1}{2\beta |H|^{1/2}} \left\{ \frac{1}{\operatorname{arctg} \frac{|H|^{1/2}}{h_{12}}} - \frac{h_{12}}{|H|^{1/2}} \right\}, \\ \overline{x_2^2} &\approx \frac{1}{2\beta |H|^{1/2}} \left\{ \frac{h_{11}}{|H|^{1/2}} - \frac{h_{12}}{h_{22} \operatorname{arctg} \frac{|H|^{1/2}}{h_{12}}} \right\}. \end{aligned} \quad (86)$$

Уравнение $\overline{x_1^2} = \overline{x_2^2}$ дает

$$\frac{h_{22}}{|H|^{1/2}} - \frac{h_{12}}{h_{11} \operatorname{arctg} \frac{|H|^{1/2}}{h_{12}}} = \frac{h_{11}}{|H|^{1/2}} - \frac{h_{12}}{h_{22} \operatorname{arctg} \frac{|H|^{1/2}}{h_{12}}},$$

или

$$\frac{h_{12} |H|^{1/2} (h_{11} - h_{22})}{h_{11} h_{22}} = (h_{11} - h_{22}) \operatorname{arctg} \frac{|H|^{1/2}}{h_{12}}. \quad (87)$$

Ясно, что один из корней этого уравнения есть $h_{11} = h_{22}$. Другие корни определяются выражением

$$\frac{h_{12} |H|^{1/2}}{h_{11} h_{22}} = \operatorname{arctg} \frac{|H|^{1/2}}{h_{12}}$$

или

$$\operatorname{tg} \left(\frac{h_{12}^2 |H|^{1/2}}{h_{11} h_{22} h_{12}} \right) = \frac{|H|^{1/2}}{h_{12}}.$$

Введя

$$x = \frac{|H|^{1/2}}{h_{12}}, \quad a = \frac{h_{12}^2}{h_{11} h_{22}} < 1,$$

приводим уравнение к виду

$$\operatorname{tg} ax = x. \quad (88)$$

При $a < 1$ оно всегда имеет корни, так что условие $h_{12}^2 < h_{11}h_{22}$ обеспечивает колебательное движение взаимодействующей системы.

Уравнение $\bar{x}_1^2 = x_1x_2$ дает

$$\frac{h_{22}}{|H|^{1/2}} - \frac{h_{12}}{h_{11} \operatorname{arctg} \frac{|H|^{1/2}}{h_{12}}} = \frac{1}{\operatorname{arctg} \frac{|H|^{1/2}}{h_{12}}} - \frac{h_{12}}{|H|^{1/2}},$$

или

$$\operatorname{arctg} \frac{|H|^{1/2}}{h_{12}} = \frac{|H|^{1/2}}{h_{11}} \frac{(h_{11} + h_{12})}{(h_{12} + h_{22})} = \frac{|H|^{1/2}}{h_{12}} \left(\frac{h_{11}h_{12} + h_{12}^2}{h_{11}h_{12} + h_{11}h_{22}} \right),$$

или, наконец,

$$\operatorname{tg} \frac{|H|^{1/2}}{h_{12}} \left(\frac{h_{11}h_{12} + h_{12}^2}{h_{11}h_{12} + h_{11}h_{22}} \right) = \frac{|H|^{1/2}}{h_{12}}.$$

Поскольку $h_{11}h_{22} > h_{12}^2$, получаем

$$\frac{h_{11}h_{12} + h_{12}^2}{h_{11}h_{12} + h_{11}h_{22}} = b < 1.$$

При $x = |H|^{1/2}/h_{12}$ уравнение принимает вид

$$\operatorname{tg} bx = x. \quad (89)$$

Поскольку $b < 1$, это уравнение имеет корни. Уравнение $\bar{x}_2^2 = x_1x_2$ дает

$$\operatorname{tg} \frac{|H|^{1/2}}{h_{12}} \left(\frac{h_{22}h_{12} + h_{12}^2}{h_{22}h_{12} + h_{11}h_{22}} \right) = \frac{|H|^{1/2}}{h_{12}}.$$

Видно, что

$$\frac{h_{22}h_{12} + h_{12}^2}{h_{22}h_{12} + h_{11}h_{22}} = c < 1,$$

так что при $x = |H|^{1/2}/h_{12}$ имеем

$$\operatorname{tg} cx = x. \quad (90)$$

Уравнения (88—90) не могут удовлетворяться одновременно, если не выполняется равенство $a = b = c$. Они означают, что либо $h_{12} = 0$, либо $h_{11} = h_{22} = 0$, либо $h_{12}^2 = h_{11}h_{22}$; ни одно из этих равенств не дает устойчи-

вого движения взаимодействующих осцилляторов. Взяв, однако, $h_{11} = h_{22}$, мы удовлетворим уравнению (87) и сделаем $b = c$. Итак, три уравнения из (83) удовлетворяются одновременно при $h_{11} = h_{22}$ и таких значениях h_{11} и h_{12} , которые дают $\operatorname{tg} bx = x$.

Произведя теперь в выражении (86) для $\overline{x_1^2}$ замену

$$\operatorname{arctg} \frac{|H|^{1/2}}{h_{12}} = \frac{|H|^{1/2}}{h_{11}} \frac{(h_{11} + h_{12})}{(h_{12} + h_{22})},$$

мы найдем, помня, что $\alpha_1^2 k_{11} k_{21} = \alpha_2^2 k_{12} k_{22}$ ($h_{11} = h_{22}$),

$$\begin{aligned} \overline{x_1^2} &= \frac{1}{2\beta(h_{11} + h_{12})} = \frac{\theta}{2(h_{11} + h_{12})} = \\ &= \frac{\theta}{\alpha_2 k_{21}(\alpha_1 k_{11} + \alpha_2 k_{12})} = \frac{\theta}{\alpha_2 k_{12}(\alpha_1 k_{21} + \alpha_2 k_{22})}. \end{aligned}$$

Это выражение справедливо также для $\overline{x_1 x_2}$ и $\overline{x_2^2}$.

Корни уравнения (88) при больших θ дадут $\overline{x_1^2} = \overline{x_2^2}$, однако мы видели, что эти значения корней не соответствуют условию захватывания между взаимодействующими осцилляторами. Какому типу взаимодействия соответствуют эти условия, сказать нельзя. Невозможно также определить, являются ли взаимоотношения между переменными устойчивыми в том смысле, что при некоторых фиксированных значениях параметров первоначальное соотношение между колебательными движениями x_1 и x_2 будет восстанавливаться после возмущения. Вопрос об устойчивости взаимоотношений между осцилляторами, который мы здесь рассматриваем, весьма важен и должен быть исследован гораздо более детально, чем это сделано в настоящем исследовании.

Легко показать, что в системе, в которой сильное взаимодействие между компонентами отсутствует, условие $\overline{x_i^2} = \overline{x_i x_j} = \overline{x_j^2}$ никогда не может быть удовлетворено и, следовательно, захватывания не происходит. Это видно из следующего:

$$\overline{x_i^2} = \frac{1}{Z_{p_i}} \int_{-p_i}^{\infty} x_i^2 e^{-\beta c_i (x_i^2/2)} dx_i.$$

При $t = \beta c_i (x_i^2/2)$ это дает

$$\overline{x_i^2} = \frac{\sqrt{2}}{(\beta c_i)^{3/2} Z_{p_i}} \int_{-\beta(c_i p_i^2/2)}^{\infty} t^{1/2} e^{-t} dt.$$

Для очень малых β (θ очень велико) входящий в это выражение интеграл равен примерно $\Gamma(3/2) = \frac{\sqrt{\pi}}{2}$. Кроме того, в пределе при малых β

$$Z_{p_i} \sim \frac{1}{2} \sqrt{\frac{2\pi}{\beta c_i}},$$

так что

$$\overline{x_i^2} \approx \frac{\sqrt{2\pi}}{2 (\beta c_i)^{3/2}} 2 \sqrt{\frac{\beta c_i}{2\pi}} = \frac{1}{\beta c_i} = \frac{\theta}{c_i}.$$

С другой стороны,

$$\overline{x_i x_j} = \frac{1}{Z_{p_i} Z_{p_j}} \int_{-p_i}^{\infty} x_i e^{-\beta c_i (x_i^2/2)} dx_i \int_{-p_j}^{\infty} x_j e^{-\beta c_j (x_j^2/2)} dx_j = \overline{x_i} \overline{x_j}.$$

Каждый из этих интегралов при замене $t = \beta c_i x_i^2/2$ легко преобразуется к виду

$$\frac{1}{\beta c_i} \int_{-\beta(c_i p_i^2/2)}^{\infty} e^{-t} dt$$

и при очень малых β равен примерно $1/\beta c_i$. Используя предельные формулы для фазовых интегралов в пределе при малых β , получим

$$\begin{aligned} \overline{x_i x_j} &\approx 2 \sqrt{\frac{\beta c_i}{2\pi}} \cdot 2 \sqrt{\frac{\beta c_j}{2\pi}} \cdot \frac{1}{\beta c_i} \cdot \frac{1}{\beta c_j} = \frac{2}{\pi \beta \sqrt{c_i c_j}} = \\ &= \frac{2\theta}{\pi \sqrt{c_i c_j}}. \end{aligned}$$

Условие $\overline{x_i^2} = \overline{x_j^2}$ сводится, таким образом, к $c_i = c_j$, или, что то же самое, $\alpha_i k_i / Q_i = \alpha_j k_j / Q_j$. Этому условию можно удовлетворить и без требования идентичности

микроскопических параметров. Но даже при $c_i = c_j$ мы получаем $\overline{x_i x_j} = 2\theta/\pi c_i$, что явно никогда не может быть равно $\overline{x_i^2} = \theta/c_i$. На языке динамики причина отсутствия захватывания в этой системе заключается попросту в том, что взаимодействие, которое по нашему предположению существует между компонентами в силу их зависимости от общего метаболического фонда, недостаточно сильно для синхронизации осцилляторов. Это является следствием наших предпосылок. Вполне возможно, что при некоторых условиях взаимодействия между компонентами метаболического фонда в клетке могут оказаться достаточно сильными, чтобы вызвать динамические взаимодействия некоторого определенного типа. Если два вида белка, например, состоят в основном из остатков одной и той же аминокислоты и если метаболический фонд этой аминокислоты сравнительно мал, то возможно, что между этими видами белка установится взаимодействие, достаточно сильное для того, чтобы их колебательное движение приобрело некоторую стабильную динамическую организацию (которая, однако, не обязательно будет захватыванием частоты). Здесь следует заметить, что первое известное наблюдение синхронизации было сделано Гюйгенсом (1629—1695), который сообщил, что двое часов, идущих слегка «не в ногу», синхронизируются, если их прикрепить к тонкой деревянной доске и повесить ее на стену. В этом случае взаимодействие не очень сильно и может быть сравнимо с взаимодействием между компонентами через метаболический фонд. Ситуацию такого типа можно было бы исследовать в рамках настоящей теории, вводя взаимодействие явно в дифференциальные уравнения и изучая затем его последствия. Ясно, что существует много других способов осуществить сильное взаимодействие между компонентами, и все эти взаимодействия будут иметь динамические последствия для временной организации колебаний в системе. Единственный вывод, который мы можем сделать на основе проведенного обсуждения, состоит в том, что слабое взаимодействие, как оно понималось в этом исследовании, недостаточно, чтобы вызвать захватывание. (Под слабым мы подразумеваем взаимодействие, влияющее на распределение колебательного движения во всей эпигенетической системе клетки

таким образом, что в результате можно говорить об установлении равновесия в этой системе.)

К концу этого довольно беглого исследования взаимодействий, возникающих между сильно связанными компонентами, мы несколько ближе подошли к вопросу об определении параметрических ограничений, при которых может происходить захватывание. Особенно важно заметить, что оно определенно не имеет места при малых θ , тогда как для больших θ можно найти значения параметров, удовлетворяющие необходимым для захватывания условиям. Эти условия еще не являются достаточными, но дальнейшая разработка изложенной нами теории позволит, вероятно, осуществить полное аналитическое исследование механизма захватывания. Имея в виду крайне трудные и утомительные методы, которыми приходится обычно пользоваться при аналитическом исследовании синхронизации в нелинейных осцилляторах, не будет, вероятно, преувеличением сказать, что благодаря применению статистических методов можно достичь значительного упрощения. Наш подход ограничен, однако, тем, что мы вынуждены заниматься лишь интегрируемыми системами; такая ситуация весьма редка в нелинейной механике.

Существуют, по-видимому, и другие типы взаимодействий в сильно связанных системах, которые могут обеспечить устойчивые соотношения между переменными, отличные от наиболее известного явления захватывания частоты. Мы уже упоминали замечание Халберга о том, что на базе одного этого явления невозможно объяснить существование постоянных сдвигов по фазе между различными физиологическими процессами в клетках и организмах. Поэтому представляются весьма важными теоретические поиски других типов взаимодействий. В настоящей работе мы лишь прикоснулись к этой области исследований. Более глубокое изучение сил, действующих между сильно связанными нелинейными осцилляторами, представляет интерес не только для биологии, но и для экономики и техники, где также встречаются системы, состоящие из множества компонентов такого рода. Одна из наиболее привлекательных возможностей, которые открывает анализ сил взаимодействия нелинейных осциллято-

ров для теории эпигенеза, состоит в том, что это позволит, как можно надеяться, сформулировать общий закон временной организации, который будет применим к широкому классу биологических систем, обладающих ритмическими свойствами. Это явится важным шагом к установлению фундаментальных законов биологической организации. Если бы оказалось, что такой закон аналогичен закону естественного отбора, т. е. что временная организация в биологических системах создается в сущности под действием «эволюционных» сил, как это предполагал Прингл, то еще одна область биологии попала бы в сферу действия наиболее всеобъемлющей и интуитивно удовлетворяющей нас теории биологических процессов — теории Дарвина.

Возможные приложения теории и некоторые предсказания

Центральной макроскопической переменной в нашем исследовании является таландическая температура. Эта величина служит мерой колебательного возбуждения, т. е. таландической энергии системы. При этом система считается так микроскопически организованной, что колебания являются ее внутренним свойством. Основной результат данного исследования состоит в том, что такая система при неизменных стационарных значениях микроскопических параметров может находиться во многих состояниях, соответствующих разной таландической энергии. В применении к эпигенетической системе клетки это означает, что при постоянных значениях всех микроскопических параметров, когда размеры различных молекулярных и макромолекулярных популяций не меняются, клетка может находиться в одном из очень многих состояний, различающихся уровнем колебательной активности.

Однако содержание теории не ограничивается только этим. Как следует из классической теории, множество возможных «энергетических» состояний при постоянных значениях микроскопических параметров образует непрерывный спектр и система может непрерывно переходить из одного состояния в другое. Только в квантовой теории переходы совершаются конечными скачками. Использование в этой монографии классических понятий было целиком продиктовано соображениями простоты и предварительным характером этой работы, а потому существование непрерывного спектра колебательных состояний не следует рассматривать как условие успеха или неудачи этого подхода к проблеме временной организации клеток. Кажется весьма правдоподобным, что если в клетке существует много состояний, имеющих таландическую природу, то они будут образовывать дискретный спектр,

т. е. квантоваться. Это произойдет потому, что для биохимических осцилляторов характерны скорее предельные циклы, обладающие высокой устойчивостью, чем консервативные колебания со слабой устойчивостью, являющиеся предметом нашего исследования. Как известно, устойчивые предельные циклы перемежаются с неустойчивыми (см., например, [9]). Мы не будем вновь повторять все доводы для использования здесь классической теории. В данной работе мы стремились выяснить, возникают ли на основе данной микроскопической структуры какие-либо макроскопические параметры, и посмотреть, какие новые пути исследования общего поведения клетки во времени может открыть использование этих макроскопических параметров. Наиболее важным и очевидным из таких макроскопических параметров является таландическая температура, приводящая к понятию таландических энергетических состояний. Рассмотрим теперь, как можно было бы подойти к вопросу об экспериментальном наблюдении θ , а значит, к вопросу о том, каким образом в клетке могут осуществляться различные макроскопические состояния. На основе наших теоретических исследований можно будет сделать тогда некоторые определенные предсказания, касающиеся поведения клетки при определенных экспериментальных воздействиях. Эти предсказания будут достаточно определенными для того, чтобы на их основе можно было поставить решающий эксперимент, который покажет, имеет ли наша теория какую-либо ценность, и тем определит ее будущее.

Проблема определения θ представляется довольно трудной, если учесть, что все микроскопические величины, например скорости синтеза макромолекул, размеры метаболических фондов, средние значения размеров молекулярных и макромолекулярных популяций, должны оставаться неизменными. Для ее решения необходимо отыскать экспериментальные методы, отличные от тех, которые применяют обычно для изменения состояния клетки. Обычно процедура состоит в том, что клетку помещают на какое-то время в различные условия, а затем смотрят, как изменились некоторые заранее выбранные переменные. Такие методы всегда изменяют микроскопические параметры клетки, в результате чего изменяются

многие переменные, из которых лишь небольшая часть подвергается измерению. Нам же хотелось бы изменить уровень колебательной активности и таландической энергии клетки, не изменяя ее микроскопического состояния, которое задается стационарными значениями размеров молекулярных и макромолекулярных популяций. Конкретнее, мы хотели бы, чтобы система переходила с траекторий, близких к стационарному состоянию, на более далекие и наоборот, но чтобы само стационарное состояние при этом не менялось (см. фиг. 3 и 4). Для того чтобы этого добиться, можно, например, воздействовать на систему короткими периодическими возмущениями, которые будут удалять траектории от стационарного состояния или приближать их к нему, но вместе с тем будут достаточно кратковременными, чтобы не вызывать непрерывного изменения микроскопических параметров.

Итак, рассмотрим популяцию микроорганизмов, в которой наблюдаются четко выраженные ритмы (например, люминесценция у *Gonyaulax polyedra* или конъюгация у *Paramecium*); при ограниченном снабжении ее азотом такая популяция растет очень медленно. Будем считать также, что освещение и температура постоянны, т. е. внешняя суточная периодичность отсутствует. Для *Gonyaulax* эти условия означают слабое постоянное освещение, поскольку единственно пригодным источником энергии для этой водоросли является фотосинтез [95]. В этих условиях синтетическая активность этих организмов будет, вероятно, ограничена размерами метаболических фондов предшественников *m*-РНК и белка; эти фонды будут малы из-за ограниченного количества необходимого для них азота, так что клетка будет находиться около стационарного состояния. Представим себе теперь, что к культуре добавляют небольшое количество аминокислот. Этот импульс будет временно стимулировать белковый синтез; но если (что очень важно) он будет настолько мал, что добавленные аминокислоты израсходуются, скажем, за полчаса, то метаболические фонды уменьшатся после этого до первоначальных размеров, ограниченных количеством доступного азота. Такой импульс вызовет временный сдвиг колебательных траекторий различных видов белка. Временного увеличения скорости синтеза

белка следует ожидать по двум причинам. Первая заключается в увеличении метаболического фонда аминокислот, вторая — в индуктивном влиянии аминокислот на синтез *m*-РНК [94].

Направление смещения колебательных траекторий под влиянием импульса (от стационарного состояния или к нему) будет зависеть от того, в какой части траектории находилась система в момент начала воздействия. Если она находилась на части траектории, расположенной под стационарным состоянием, тогда импульс сместит систему «вверх», к нему, уменьшив тем самым амплитуду колебаний. Если же в начале возмущения концентрация белка превосходила стационарную, то в результате сдвига система будет удаляться от стационарного состояния и амплитуда колебаний возрастет. Мы подошли теперь к решающему пункту нашего исследования. Как было показано при обсуждении различных свойств осцилляторов, колебания, происходящие в изучаемых здесь регуляционных системах с обратной связью, явно асимметричны. Эта асимметрия особенно четко проявляется в колебаниях концентраций белка: различные белковые популяции проводят над стационарным состоянием значительно больше времени, чем под ним. Следовательно, временное увеличение синтеза белка в той части цикла, которая расположена над осью стационарных значений, более вероятно; другими словами, малый импульс аминокислот будет иметь большую вероятность увеличить амплитуду колебаний (а значит, и таландическую температуру), чем уменьшить ее.

Вряд ли, однако, один импульс вызовет постоянный сдвиг таландической температуры. Чтобы произвести такое изменение, может потребоваться повторение импульсов с интервалами, положим 2 час, в течение довольно долгого времени, скажем 2 суток. Лучше, если интервалы между импульсами будут меньше среднего периода колебаний, так чтобы импульсы приходились на разные части траектории, а не на одну ее часть, которая может находиться под осью стационарного состояния. Двух-часовой интервал, вероятно, достаточно велик, чтобы система вернулась в свое первоначальное состояние (в смысле микроскопических параметров), и не очень велик,

чтобы перестало сказываться влияние импульса на таландическую температуру. Ранее мы оценили время релаксации эпигенетической системы в 4 час. Наше предположение, следовательно, состоит в том, что импульсное введение в систему аминокислот, повторяемое примерно через 2 час в количестве, которое культура организмов целиком расходует за $\frac{1}{2}$ час, будет увеличивать таландическую температуру клеток, не меняя их микроскопических состояний. Такие изменения таландической температуры следует наблюдать, конечно, следя за ритмическим поведением организмов. Согласно уравнению (57), средняя частота колебаний уменьшается при повышении θ . Следовательно, описанная экспериментальная процедура должна будет замедлять ход биологических «часов» в организмах.

Уменьшение частоты биохимических колебаний при повышении θ само по себе мало интересно. Уменьшение частоты с увеличением амплитуды есть общее свойство нелинейных колебаний. Основная суть предсказания состоит в том, что в результате описанной выше экспериментальной процедуры θ должно увеличиться, и это увеличение можно будет наблюдать по изменениям во временном поведении организма. Ожидаемый результат зависит от того конкретного вида асимметрии, которым обладают исследуемые здесь колебания. В свою очередь эта асимметрия появляется из-за того, что кинетика репрессии в существенной мере описывается изотермой адсорбции, как это бывает в случае торможения активности ферментов, реакций антиген — антитело и других макромолекулярных явлений. Эксперимент, таким образом, должен проверить справедливость этого допущения. Если бы колебания были симметричными, то возмущения не влияли бы на величину средней амплитуды, поскольку импульсы попадали бы с равной вероятностью как в положительную, так и в отрицательную (относительно стационарной оси) часть цикла. А если бы колебания были асимметричны в другом направлении и средний уровень белка был бы меньше величины стационарного состояния, то тогда указанная экспериментальная процедура вызывала бы уменьшение θ .

Из нашей теории следует не только то, что в результате описанной процедуры ход часов замедлится, но и что это замедление будет устойчивым. Другими словами, клетка будет жить по удлинённому «дню» даже после снятия возмущений и не вернется к своему нормальному суточному периоду до тех пор, пока будет находиться при постоянных внешних условиях. Если же описанная процедура изменит период часов, но это изменение будет неустойчивым, т. е. после снятия возмущения период примет свое первоначальное значение, то это будет означать, что циркадный механизм в гораздо большей степени детерминистичен, чем мы предполагали, и что настоящая теория мало пригодна для описания его свойств. Надо сказать, что попытки навязать циркадной системе режим, сильно отличающийся от суточного, почти всегда приводят к неустойчивым состояниям, и после нескольких аномальных периодов система возвращается к обычному суточному циклу. Но мы подчеркиваем, что задача предлагаемого нами эксперимента будет состоять в выявлении значительно меньших изменений основного периода — изменений, которые должны составлять примерно 2—3 час.

Изучение изменений величины θ по изменениям периода циркадных часов само по себе является проблемой, хотя между этими величинами и должна существовать прямая корреляция в некоторой области изменений θ . Если верно наше предположение о том, что циркадные ритмы образуются из колебаний с меньшим периодом посредством субгармонического резонанса, то вполне возможно, что с увеличением θ и уменьшением амплитуды основных колебаний порядок субгармоники уменьшится, так что даже при повышенном G -уровне будет продолжаться генерироваться 24-часовой ритм. Не исключено, что именно этот механизм используется для поддержания устойчивости биологических часов при изменениях в окружающей среде. Поскольку, однако, частота субгармоники всегда кратна основной частоте, то переход от одной субгармоники к другой будет соответствовать скачку от одного значения θ к другому. Между разрывами такого типа период часов должен меняться непрерывно, так что в некоторых пределах можно будет наблюдать непре-

рывные изменения θ . Наличие скачков в периодах циркадных часов было бы явным свидетельством существования субгармонического резонанса.

Рассмотрим один конкретный пример, чтобы оценить, какого порядка изменений можно ожидать в системе (временная организация которой соответствует нашим допущениям), если ее подвергнуть описанной выше экспериментальной процедуре. Используя для грубых оценок уравнения (59), легко получить, что для $\theta = 9$ период основных колебаний должен быть равен примерно 6 час. Если такой осциллятор связать должным образом с другим осциллятором, то может возникнуть субгармонический резонанс порядка $\frac{1}{4}$, в результате чего будет генерироваться циркадный ритм. Повышая θ посредством периодического введения аминокислот описанным выше способом, мы получим, что к тому времени, когда θ станет равным 12, период основных, или свободных, колебаний увеличится до 7 час. Если порядок субгармоники останется равным $\frac{1}{4}$, то часы будут идти с периодом 28 час. В этот момент может оказаться, что порядок субгармоники, равный $\frac{1}{4}$, неустойчив, и система может скачком перейти к порядку, равному $\frac{1}{3}$. Тогда период часов уменьшится до 21 час. Если далее под влиянием импульсов θ повысится, скажем, до 16, то период основных колебаний станет равным примерно 8 час, так что субгармоника порядка $\frac{1}{3}$ снова будет генерировать суточный ритм с периодом около 24 час.

Вряд ли можно ожидать, что поведение такой идеализированной системы можно количественно сопоставить с возможным ответом реальной циркадной системы на воздействие, создаваемое описанной выше процедурой. По этому поведению, однако, можно определить основные свойства ответа реальной системы, предсказываемые нашей теорией (конечно, если считать, что изменения периода часов адекватно отражают изменения величины θ). Одна из явных трудностей, с которой сталкивается наша теория, состоит в том, что мы не можем предложить никакого

другого способа непосредственного измерения θ , кроме прямого наблюдения величин колебаний определенных видов макромолекул в живой клетке посредством какого-нибудь очень тонкого микроспектрофотометрического или аналогичного оптического метода. Однако доступность циркадных ритмов для наблюдения сразу делает их основным средством анализа G -уровней и всей временной структуры клетки. Следует надеяться, что между величинами основных колебаний и всеми прочими ритмическими процессами, в том числе циркадными, существует достаточно тесная причинная связь, для того чтобы наблюдение за одной из этих величин позволяло изучать другую. Такое предположение кажется сейчас довольно разумным.

Описанную выше экспериментальную процедуру можно обратить в том смысле, что она будет вызывать не увеличение, а уменьшение θ . Один из способов такого обращения может состоять в том, чтобы в культуру клеток, в которой наблюдается стационарный (или близкий к стационарному) ритм, подавать в малых концентрациях какой-нибудь ингибитор белкового синтеза (например, пуромицин) в течение, скажем, 20 мин через каждые 2 час. Поскольку антибиотик не расходуется, после каждого 20-минутного периода его следует удалять из культуры. (Каракашьян и Гастингс [46] показали, что у *Gonyaulax* пуромицин вызывает быстрое затухание ритма люминесценции, хотя и не показано, что он влияет только на белковый синтез.) Подобный импульс должен на короткое время замедлять белковый синтез, уменьшая таким образом θ и сдвигая траектории ближе к стационарной оси. Можно предсказать, что если эту процедуру проделывать день или два, то часы станут идти быстрее. Здесь опять возникает основной вопрос: будет ли это изменение периода часов, если оно произойдет, устойчивым в том смысле, что часы будут продолжать идти быстрее и после прекращения эксперимента? Если после прекращения импульсов период сразу вернется к своему первоначальному значению, то это будет указанием на то, что только естественный θ -уровень является устойчивым и что аналогия между таландической и физической энергией не справедлива.

Если подобную процедуру проводить с актиномицином, то эффект должен быть тем же самым, только в этом случае антибиотик будет непосредственно влиять на *m*-РНК. Поскольку снижение уровня *m*-РНК должно снижать также и уровень белка, то следует ожидать, что актиномицин будет влиять сильнее пуромицина. Действительно, в работе Каракашьяна и Гастингса [46] показано, что актиномицин полностью подавляет ритм люминесценции у *Gonyaulax*, прекращая, по их предположению, синтез *m*-РНК. Основная особенность предлагаемых здесь экспериментов (которая отличает их от всех предыдущих работ) состоит в попытке возбудить или уменьшить колебания в системе короткими периодическими возмущениями, не изменяя, однако, радикально ее микроскопического состояния, что обычно происходит при переносе клеток в новую для них химическую среду на длительный срок.

Если применение актиномицина или пуромицина действительно уменьшает величину θ , то в конце концов при продолжении такой процедуры должно возникнуть новое состояние, в котором таландическая температура будет столь мала, что сильно уменьшится нелинейность колебаний и циркадная организация клетки начнет разрушаться. Ясно, что это не обязательно приведет к гибели клетки. И действительно, Каракашьян и Гастингс получили такое состояние у *Gonyaulax*, применяя как пуромицин, так и актиномицин. При концентрации актиномицина 0,02 мкг/мл ритм люминесценции затухал полностью, тогда как рост культуры подавлялся лишь частично. Как мы видели в гл. 7, существуют по крайней мере два возможных объяснения этого явления с точки зрения нашей теории; однако только одно из них использует идею об уменьшении θ до значений, при которых нелинейное взаимодействие становится слишком слабым, чтобы обеспечить существование временной организации. Нужно еще, однако, выяснить, может ли в результате проведения такой процедуры с импульсами антибиотиков возникнуть достаточно жизнеспособное состояние без циркадной временной структуры, как это имеет место при постоянном применении актиномицина в определенной концентрации.

При изучении поведения клетки вообще и ее циркадной организации в частности важнейшим экспериментальным параметром является физическая температура. Это наводит на мысль, что вместо питательных веществ или ингибиторов можно попытаться изменить G -уровни в клетках, изменяя температуру среды. Трудность состоит в том, что в естественных условиях клетка все время испытывает температурные изменения и поэтому ее временной механизм очень хорошо приспособлен к их компенсации. Методы температурной компенсации являются предметом многочисленных исследований, поскольку, вообще говоря, биохимические реакции крайне чувствительны к изменениям температуры, и естественно думать, что столь же чувствительными должны быть и биохимические часы. Как показывает, однако, уравнение (57), средняя частота колебаний в биохимической регуляторной системе с обратной связью является довольно сложной функцией констант элементарных биохимических реакций. Поэтому даже на этой простейшей модели мы можем показать, как могла бы возникнуть температурная компенсация. Для больших θ мы имеем

$$\omega(y_i) \approx b_i \sqrt{\frac{c_i}{2\pi\theta}}.$$

Как следует из уравнения (33), $\theta = c_i \overline{X_i(X_i - p_i)}$, так что предыдущее соотношение принимает вид

$$\omega(y_i) \approx \frac{b_i}{\sqrt{2\pi \overline{X_i(X_i - p_i)}}}. \quad (91)$$

Скорость распада m -РНК измеряется величиной b_i , которая должна иметь положительный температурный коэффициент и возрастать с повышением температуры. Для получения температурной компенсации необходимо, таким образом, чтобы знаменатель тоже возрастал. Для этого нужно, чтобы либо с увеличением амплитуды колебаний возрастала величина $(X_i - p_i)$, либо с увеличением величины стационарного состояния p_i возрастало X_i , либо и то и другое вместе.

Если повышение физической температуры действительно вызывает увеличение амплитуды колебаний, то этот эффект можно будет наблюдать посредством экспериментальной процедуры, аналогичной той, которая предлагалась для изменения θ посредством импульсного введения аминокислот. В этом случае клетку нужно будет поместить в условия, в которых она будет периодически, скажем каждые 2 час, испытывать кратковременное (около 15 мин) небольшое повышение температуры — на $4-5^\circ$. Цель такой процедуры будет состоять в том, чтобы вызвать увеличение θ , не вызывая постоянного изменения микроскопических параметров (скоростей реакций и констант равновесия). Если такой эффект действительно будет иметь место, то ход часов должен замедлиться. Если микроскопические параметры при такой процедуре не меняются, то никакой температурной компенсации не будет, поскольку в выражении (91) меняется только знаменатель. Так как клетка лишь в совершенно исключительных случаях подвергается такого рода естественному температурному режиму, период которого слишком мал, чтобы мог работать механизм температурной компенсации, есть некоторые шансы на то, что в результате такого рода воздействия могут возникнуть возбужденные G -уровни. Эта экспериментальная процедура будет, конечно, проще той, при которой должна изменяться химическая среда, и представляет собой другой, более удобный путь для проверки предположения о том, что эпигенетическая система клетки может находиться на одном из многих различных G -уровней при постоянных микроскопических параметрах.

Не следует полагать, что механизм температурной компенсации клетки может быть описан уравнением для средней частоты простого биохимического осциллятора. Это уравнение было взято лишь в качестве примера, и скорее всего в случае сильно взаимодействующих осцилляторов средняя частота содержит такие отношения микроскопических параметров, что система будет гораздо более устойчива к температурным флуктуациям, чем в том случае, который описывается уравнением (57). Возможно, что при различных физических температурах будут устойчивыми субгармонические резонансы различ-

ного порядка (т. е. разные порядки деления частоты, см. выше). Такой механизм должен давать разрывы в значениях циркадного периода при изменении внешней температуры, что довольно часто случается в такого рода исследованиях. Но механизм температурной компенсации работает, вероятно, гораздо более гладко, и было бы интересно посмотреть, как изменения амплитуды колебаний влияют на частоту.

Здесь нам представляется уместным чисто умозрительно рассмотреть путь, который дал бы возможность на основе нашей теории вывести количественные термодинамические законы и применить их для изучения поведения клеток. Важность физической температуры как внешнего параметра для исследования временной организации клетки уже отмечалась. С точки зрения термодинамики температуру можно считать некоторой экспериментально определяемой величиной, аналогичной в каком-то смысле давлению в случае газов. Мы хотим сейчас показать, как можно было бы вывести уравнения состояния, связывающие T (физическую температуру), θ (таландическую температуру) и некоторую третью, пока еще не определенную величину, входящую в искомое уравнение аналогично объему в уравнении состояния идеальных газов $pV = nkT$. Таким образом, мы хотим выяснить, как найти связь между этими величинами, выражаемую уравнением вида

$$T\overline{F}_T = n\lambda\theta,$$

где $\overline{F}_T$ — некоторая термодинамическая переменная, сопряженная в эпигенетической системе с физической температурой, n — число компонентов системы, λ — некоторая константа. Нижеследующий вывод этого уравнения приводится лишь в качестве иллюстрации того, как могут быть получены общие законы «термодинамического» поведения клетки.

Мы ограничимся рассмотрением систем без сильного взаимодействия, и будем считать G , таландическую энергию всей системы, функцией θ и T , причем G зависит от T через микроскопические параметры b_i и c_i . Мы уже предположили ранее, что b_i слегка увеличивается с ростом температуры, поэтому можно принять, что в некотором

интервале температур эта зависимость имеет вид

$$b_i = \rho_i T^{\sigma_i},$$

где σ_i малы. Теперь надо установить, как зависит c_i от T . Параметр c_i выражается через несколько других параметров;

$$c_i = \frac{\alpha_i k_i}{Q_i}.$$

Поскольку

$$Q_i = \frac{a_i}{b_i},$$

мы получаем

$$c_i = \frac{\alpha_i k_i b_i}{a_i}.$$

Параметр α_i включает в себя константу скорости белкового синтеза, которая увеличивается с температурой, а также константу равновесия реакции между m -РНК и активированными аминокислотами, которая может как расти, так и уменьшаться с температурой. Параметр a_i еще сложнее: он относится к синтезу m -РНК, но включает в себя, кроме константы скорости и константы равновесия, также размер нуклеотидного метаболического фонда. Предположим, что он меняется с изменением T так же, как и α_i , так что их отношение не зависит от T . Третий параметр k_i представляет собой по существу константу равновесия реакции между репрессором и соответствующим участком генома, хотя в него входят и другие параметры. С увеличением T величина k_i вероятнее всего уменьшается, так как следует ожидать, что при большей физической температуре комплекс между репрессором и РНК становится менее прочным. Эта реакция может быть весьма чувствительна к изменениям температуры, и мы примем, что c_i заметно уменьшается с температурой, причем в некотором температурном интервале соотношение между ними имеет вид

$$c_i = \mu_i T^{-\nu}.$$

Из уравнения (44) гл. 5 мы получим, что термодинамическая переменная, сопряженная с T , задается

выражением

$$\bar{F}_T = - \sum_{i=1}^n \left\{ \bar{G}_{x_i} \frac{\partial \log c_i}{\partial T} + \bar{G}_{y_i} \frac{\partial \log b_i}{\partial T} \right\}.$$

Используя зависимости $c_i(T)$ и $b_i(T)$, получим

$$\bar{F}_T = - \sum_{i=1}^n \left\{ \bar{G}_{x_i} \left(\frac{-v_i}{T} \right) + \bar{G}_{y_i} \left(\frac{\sigma_i}{T} \right) \right\}.$$

В случае больших θ , когда может выполняться закон рассматриваемого нами типа, из уравнений (36), (37), (40) мы имеем следующие приближенные равенства:

$$\bar{G}_{x_i} \approx \frac{\theta}{2}, \quad \bar{G}_{y_i} \approx \theta,$$

откуда

$$T\bar{F}_T \approx - \sum_{i=1}^n \left(\frac{-v_i\theta}{2} + \sigma_i\theta \right) = \theta \sum_{i=1}^n \left(\frac{v_i}{2} - \sigma_i \right).$$

Введем теперь величину

$$\lambda = \sum_{i=1}^n \left(\frac{v_i - 2\sigma_i}{2n} \right),$$

представляющую собой результат усреднения членов вида

$$\left(\frac{v_i}{2} - \sigma_i \right),$$

которую будем считать положительной, поскольку v_i значительно больше, чем σ_i . Результат, следовательно, можно записать в виде

$$T\bar{F}_T = n\lambda\theta. \quad (92)$$

Величина $\bar{F}_T$ представляет собой здесь некоторый общий ответ клетки как биохимической системы на изменение температуры. Эту величину, вероятно, можно рассматривать как общий сдвиг различных равновесных и стационарных состояний, определяемый балансом между эндотерми-

ческими и экзотермическими реакциями и различными энергиями активации. Необходимо опять подчеркнуть, что уравнение (92) следует рассматривать лишь как чисто умозрительный результат, служащий для иллюстрации того, как общие макроскопические параметры можно связать таким соотношением, которое будет носить характер количественного «термодинамического» закона поведения клетки. Такое соотношение должно состоять из величин, поддающихся наблюдению и измерению. T , несомненно, является измеримой величиной; относительно θ мы предположили, что ее можно определить, исходя из ритмических свойств клетки. Относительно $\bar{F}_T$, однако, вопрос совершенно не ясен, и пока не будет способа наблюдать или измерять эту величину, уравнение (92) не будет иметь особого смысла.

Другим параметром окружающей среды, используемым обычно при исследованиях временной организации клеток, является свет. Влиянию разных световых режимов на самые различные организмы, от одноклеточных до человека, посвящена крайне интересная и обширная литература. Как уже говорилось в гл. 6, именно благодаря этим исследованиям была получена большая часть сведений о делении частоты. Однако использование света в качестве экспериментального средства для установления справедливости настоящей теории представляется мало перспективным. Клетки крайне чувствительны к свету, и даже очень коротких его вспышек достаточно, чтобы перевести часы в новое состояние [6]. Для изучения синхронизации свет является очень полезным внешним параметром, однако трудно решить, как можно было бы применить его для проверки основного положения нашей теории о существовании в клетке различных уровней колебательного возбуждения при неизменном микроскопическом состоянии.

ТАЛАНДИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЭМБРИОНАЛЬНЫХ СИСТЕМ

Нам хотелось бы теперь вернуться к вопросу о том, какое значение могла бы иметь настоящая теория для изучения временной организации клеток зародыша в про-

цессе развития. Из классических эмбриологических исследований ясно, что временная последовательность биохимических процессов в дифференцирующих клетках крайне важна для эмбрионального развития. Явление компетенции указывает на то, что для клетки важно находиться в нужное время в нужном состоянии. Имеются убедительные данные в пользу того, что длительность времени, в течение которого клетка или ткань компетентны отвечать на специфические индуктивные воздействия, определяется процессами, происходящими внутри клеток, и в значительной мере независима от окружающих условий. Уоддингтон [107, 108] впервые показал, что нейральная компетенция возникает в зародыше цыпленка независимо от воздействия, исходящего от энтодермы, и что в изолированной эктодерме гастролы амфибий происходит автономная утрата компетенции. Позже Гольцфретер [41] установил, что длительность сохранения различных компетенций в изолированной эктодерме бластулы тритона очень хорошо совпадает с длительностью их сохранения у нормального зародыша. Длительность периода компетенции зависит от ее природы, т. е. от того, образуется ли в конечном счете мозг или мышца, опорная мезенхима и т. д.

По наблюдениям Гольцфретера на том же объекте, самой кратковременной была компетенция к образованию мозга или мышцы; она длилась 15 час. Самая длительная компетенция сохранялась 46 час (способность к образованию, опять-таки в эктодерме бластулы, неорганизованных нервных или мезенхимных клеток).

Другое интересное явление, в котором, вероятно, участвуют какие-то временные механизмы, было открыто Кёртисом [11] при изучении деления эмбриональных клеток на разные типы (эктодерма, мезодерма, энтодерма) в процессе формирования первичных зародышевых листков на самых ранних стадиях развития *Xenopus laevis*. Теория, предложенная Кёртисом для объяснения его наблюдений, состоит в том, что клетки разных типов в разные моменты времени достигают состояния компетенции для ответа на определенные стимулы. Эти стимулы вызываются поверхностными силами, действующими между клетками. Как только достигается такое

состояние компетенции, поверхностные свойства клеток меняются: они становятся «липкими» и объединяются друг с другом. В результате того, что разные типы клеток приобретают подобную компетенцию в разное время и стимулы действуют только тогда, когда клетки достигают внешней поверхности скопления беспорядочно перемещающихся клеток, происходит обособление зародышевых листков. Кёртис назвал этот механизм временной специфичностью, чтобы отличить ее от пространственной специфичности, которая была предложена для объяснения процессов обособления зародышевых листков [92, 93, 115]. Изменяя время, за которое различные клетки начинают реагировать после диссоциации из гастролы, Кёртис смог вызвать в своих реактатах инверсию относительно нормального расположения клеток. Если, например, реакгация энтодермы начинается на 6 час раньше, чем эктодермы и мезодермы, то энтодерма образует наружный слой, кнутри от которого будут лежать эктодерма и мезодерма, правильно расположенные друг относительно друга. Варьируя время между началом реакгации для клеток разных типов, удалось получить также различные промежуточные картины. Итак, Кёртис, по всей видимости, расширил понятие компетенции, применив его к явлению обособления зародышевых листков, по крайней мере в зародышах *Xenopus laevis* (Стейнберг [93] подвергает сомнению общность этого процесса); его эксперименты строго доказали, что в клетках зародыша существует какой-то временной механизм.

Интересно заметить, что временные интервалы, необходимые, согласно Кёртису, для нарушения нормального хода процессов реакгации, составляют 4—6 час; это величина того же порядка, что и найденные нами периоды колебаний в биохимических регуляторных системах клеток высших организмов. Можно не без оснований предположить, что градиент метаболической активности, существующий между различными типами клеток зародыша, соответствует различной частоте колебаний; эктодермальные регуляторные системы колеблются быстрее мезодермальных, а те в свою очередь — быстрее энтодермальных. Можно предположить далее, что в клетках зародыша способность реагировать на изменение поверх-

ностных сил возникает в определенной части некоего эндогенного цикла, когда размеры соответствующих популяций белковых молекул достигают критических значений. В более общем плане Фликинджер [26] предложил теорию, согласно которой временной механизм, определяющий эмбриональную компетенцию, действует посредством включения и выключения генов в определенной временной последовательности независимо от условий, в которых находится клетка. В таком случае индукция заключается просто в снабжении клетки в определенное время и в достаточном количестве энергией и предшественниками, так что гены, находящиеся в активном состоянии, могут проявиться; при этом они, по-видимому, стабилизируются. В такой теории большее значение придается не индукции, а компетенции, ибо индукторами в ней могут быть и неспецифические молекулы. Это отсутствие специфичности при индуктивных влияниях много раз наблюдалось эмбриологами с тех пор, как было показано, что столь различные по своей природе и не свойственные живому агенты, как метиленовый синий [113] или же большие или малые значения pH [42], могут вызывать индукцию нервной ткани в эктодерме гастролы. Нет сомнения, что у развивающихся зародышей явления компетенции и индукции комплементарны, но точка зрения, развиваемая Фликинджером, состоит в том, что компетенция представляет собой гораздо более активный и специфичный процесс, чем предполагалось ранее. Его предположение о том, что в дифференцирующейся клетке гены «включаются» в определенное время независимо от окружающих условий (в некоторых пределах) и затем снова «выключаются», если нет индукции, требует гораздо более специфичного временного механизма, чем предлагавшийся ранее для развития компетенции. Именно экзогенный индуктор является агентом, осуществляющим включение гена (аналогично индукции под влиянием субстрата у бактерий), а не внутренний механизм клетки. Фликинджер не делает никаких предположений о возможном биохимическом механизме, лежащем в основе последовательного инициирования активности генов. Трудно, однако, удержаться от того, чтобы не связать его теорию с часовыми меха-

низмами, действующими, как известно, в клетках, и искать объяснений явлений этих двух типов на единой основе, а именно на основе колебаний, происходящих в регуляторных механизмах с обратной связью внутри одной клетки. Можно представить себе, что проявление какой-либо частной компетенции аналогично действию будильника. Биохимические часы могут начать идти на определенной стадии процесса дифференцировки клетки и затем через некоторое время остановиться. К моменту остановки часов определенный локус достигнет максимума генетической активности (аналогично этому в случае циркадных часов определенный генетический локус достигает максимума активности в определенное время суток). Активность имеет некоторое время максимальное значение, а затем снова падает. Динамическую основу такого поведения снова можно найти во взаимодействии нелинейных осцилляторов, где благодаря наличию субгармонической синхронизации часы могут обнаруживать большое разнообразие периодов и амплитуд колебаний.

В теории Фликинджера предполагается, что активность гена подчиняется закону «все или ничего»; это явление не обсуждалось в настоящем исследовании. Ниже мы увидим, однако, как в рассматриваемых здесь цепях регуляции могут происходить такие разрывные колебания; мы будем иметь, таким образом, динамическую основу для описания скачков генетической активности, что и требуется для теории компетенции типа «все или ничего». Итак, мы здесь предполагаем, что временные механизмы, действующие, по-видимому, в развивающихся клетках, могут быть объяснены на основе нелинейных биохимических колебаний рассмотренного нами типа и на основе явлений более высокого порядка, возникающих при их взаимодействии. В теории, предложенной Фликинджером, возможно, придается слишком большое значение автономности при управлении процессами приобретения и утраты компетенции в клетке. Однако достоинство этой теории состоит именно в том, что в ней подчеркнута эта сторона процессов развития и роль генов в нем. Уоддингтон [109] уже много лет назад указывал на важность генетической регуляции

процессов морфогенеза, в частности на специфическую роль генов при возникновении компетенции [111]. Однако при таком более общем подходе к этому явлению остается неразрешенным вопрос о причинах, вызывающих генную активность. Несомненно, в большинстве случаев таким специфическим агентом является экзогенный индуктор; но для объяснения данных эмбриологии необходим также и какой-то другой механизм, и вполне реальным здесь представляется внутренний механизм отсчета времени в клетке.

Мы должны, однако, ясно отдавать себе отчет в том, что между временной структурой клеток зародыша и ритмическими системами типа циркадных имеется одно существенное отличие. Системы типа циркадных строго периодичны, т. е. проходят через одни и те же состояния через одинаковые промежутки времени. Данных о том, что эмбриологическая компетенция является периодической в этом смысле, у нас нет. Согласно данным Кёртиса, компетенция, видимо, появляется лишь через некоторое время после начала агрегации клеток. После того как клетка становится компетентной и отвечает на определенный стимул, она изменяет свое состояние и начинает проявлять новую компетенцию. Но данных о том, что клетка в отсутствие индукции вновь станет компетентной через определенный промежуток времени, получено не было, хотя эта возможность и не исключается исследованиями Кёртиса. В экспериментах Гольтфрета, однако, ясно показано отсутствие цикличности в развитии компетенции, хотя здесь и возникает сложный вопрос о выживании клеток в солевом растворе. Возможно, клетки эктодермы бластулы не имеют достаточного запаса питательных веществ для совершения многих сложных циклов эндогенной активности, так что их «часы» остановятся после одного цикла. Эберт и Вилт [18] сообщили о циклическом возникновении компетенции у клеток куриного эмбриона по отношению к вирусу саркомы Рауса, но это лишь одно из немногих подтверждений периодической активности в развивающихся системах. Другим является ритмичность клеточного деления в регенерирующих клетках печени. Можно думать, что эмбриональное развитие в такой степени необратимо,

что дифференцирующиеся клетки не имеют времени совершить больше одного эндогенного цикла активности, поскольку они сдвигаются в новое колебательное состояние (если, конечно, временные механизмы компетенции основываются на колебательном поведении регуляторных систем). Это делает невозможным исследование таких систем с помощью развитых в данной работе методов статистической механики, которые требуют применения квазиравновесной механики по крайней мере для колеблющихся переменных. Другими словами, чтобы к поведению клетки можно было применять статистическую теорию, осцилляторы должны проделать много полных циклов, прежде чем микроскопические параметры существенно изменятся; следовательно, осцилляторы должны всегда находиться при равновесных условиях, определяемых уравнением (33), или около них. В противном случае параметр θ и другие функции, например средняя частота, не имеют смысла. Было бы весьма интересно и важно иметь возможность описывать морфогенетические процессы с помощью некоторого инварианта высшего порядка, включающего, например, изменения значений стационарных состояний p_i и q_i . Расширенная теория такого типа имела бы большое значение не только для изучения дифференцировки; на самом деле она была бы нужна и для адекватного описания циркадной организации в клетках, поскольку, вообще говоря, циркадные ритмы наблюдаются не только в покоящихся, но и в растущих клетках. Это привело бы нас к иерархии инвариантных теорий того типа, о котором мы говорили в гл. 6. Не исключено, что такая теория может быть развита для анализа временной организации в эмбриональных и других нестационарных (с точки зрения настоящей теории) системах. Следует, однако, признать, что настоящая теория явно не достигает этой цели. Мы можем только высказать предположение, что макромолекулярной динамике в развивающихся клетках вообще присущи колебательные явления типа тех, которые были описаны Гроссом и Джексоном, и что компетенция может быть понята с точки зрения взаимодействия нелинейных биохимических колебаний. Длительность различных периодов компетенции можно было бы в этом случае изменять экспериментально

с помощью воздействия на амплитуду эпигенетических колебаний по типу описанных ранее в этой главе экспериментов с импульсным воздействием. Конечно, было бы очень интересно иметь возможность воздействовать на временные механизмы, управляющие дифференцировкой, и подойти таким образом к морфогенезу через явление компетенции, а не путем более часто применяемого изучения индукции и природы индукторов. Но на основании нашей теории нельзя сделать никаких конкретных предсказаний в этой области, и мы должны признать, что, за исключением довольно специальных случаев, в нынешнем виде ее нельзя использовать для анализа временной организации развивающихся клеток.

Вполне возможно, что временная организация клеточной активности в процессе развития имеет важное значение не только в связи с компетенцией, но также и для образования и непрерывного обновления морфогенетической структуры, которые являются, очевидно, составной частью эпигенеза. Строение кости, мышц и соединительной ткани особенно ясно показывает, что процессы их развития должны обладать определенной пластичностью, которая бы обеспечила достижение оптимальной конструкции, способной противостоять напряжениям, с которыми придется столкнуться взрослому организму. Периодическое образование новых структур, сопровождающееся их частичным разрушением, может обеспечить зародышу пластичность, необходимую для морфогенеза. Обнаруженные Гроссом, Танцером и Джексонном периодические изменения размера метаболического фонда пролина и скорости синтеза коллагена имеют к этому самое непосредственное отношение. Гросс [33] обсуждал вопрос о том, как на основании периодичности процессов синтеза и выделения коллагена из дифференцирующихся клеток в развивающемся эмбрионе можно объяснить замечательное ортогональное залегание фибрилл коллагена в соединительной ткани. Динамической основой для создания пространственной структуры такого типа из временной структуры могло бы служить взаимодействие нелинейных осцилляторов, обсуждавшееся в предыдущей главе.

СТАТИСТИЧЕСКАЯ РАЗРЫВНОСТЬ

В этом последнем разделе мы более детально обсудим результаты, полученные Стерном [95], который обнаружил весьма интересные изменения активности ДНК-азы по принципу «все или ничего», происходящие в развивающихся пыльниках лилии. Поскольку рассмотренные в предыдущих главах уравнения не объясняют явления такого типа, возникает вопрос, как оно может появиться. Возможно ли построить биохимическую цепь управления рассматриваемого нами типа, в которой колебания переменной Y_i были бы разрывными, т. е. такими, чтобы между большими импульсами синтеза Y_i эта переменная полностью или почти полностью исчезала? Мы покажем сейчас, что несколько модифицированные уравнения (14) действительно приводят к явлениям подобного типа. Этот результат ни в коей мере не означает, что кинетика синтеза ДНК-азы в пыльниках лилии обязательно описывается выведенными ниже уравнениями. Но интересная его особенность состоит в том, что разрывность колебаний возникает вследствие слабого взаимодействия через метаболические фонды и не имеет места в изолированной регуляторной цепи. Таким образом, поведение типа «все или ничего» является свойством всей системы, описываемой статистической механикой, но не свойством отдельного ее компонента. Этот вывод говорит, следовательно, о том, что для объяснения результатов Стерна совсем не требуется искать какую-то особую микроскопическую систему переключения, которая периодически включает и выключает локус ДНК-азы; такое поведение может быть макроскопическим следствием интеграции всей эпигенетической системы в клетках пыльника.

Модификация, которую надо произвести в дифференциальных уравнениях, описывающих регуляцию синтеза r -го вида m -РНК и белка, имеет вид

$$\begin{aligned}\frac{dX_r}{dt} &= \frac{a_r X_r}{A_r + k_r Y_r} - b_r X_r, \\ \frac{dY_r}{dt} &= \alpha_r X_r - \beta_r.\end{aligned}\tag{93}$$

Уравнение для синтеза белка остается неизменным, но система синтеза m -РНК содержит теперь механизм самовоспроизведения, в котором ее молекулы служат матрицами для синтеза новых молекул того же вида. Такая схема часто предлагалась для описания синтеза m -РНК, и некоторые виды РНК действительно служат матрицами для собственного синтеза, как, например, у фага ϕX . Не исключена возможность, что и другие типы РНК, в том числе и m -РНК, воспроизводят сами себя, хотя может оказаться, что у бактерий этот механизм не является общим. Как обстоит дело в случае высших растений, например лилии, еще предстоит узнать.

Другое изменение в кинетических уравнениях состоит в том, что мы исходим из предположения, согласно которому скорость распада m -РНК подчиняется закону действия масс и пропорциональна количеству имеющейся в клетке m -РНК. Это опять-таки всего лишь одна из возможностей, и такое видоизменение уравнений диктуется скорее необходимостью получить интегрируемую систему, чем какими-либо соображениями относительно кинетики распада m -РНК, участвующей в синтезе ДНК-азы в пыльниках лилии. Цель такого видоизменения уравнений — повысить их нелинейность. Посмотрим, к чему это приведет.

Уравнения (93) можно переписать в виде

$$\frac{1}{X_r} \frac{dX_r}{dt} = \frac{a_r}{A_r + k_r Y_r} - b_r,$$

$$\frac{dY_r}{dt} = \alpha_r X_r - \beta_r.$$

Стационарные значения у этой системы те же, что и у первоначальной, и мы используем для них те же обозначения, p_r и q_r . Сделаем преобразование

$$x_r = \log \frac{X_r}{p_r}, \quad 1 + y_r = \frac{A_r + k_r Y_r}{Q_r},$$

где снова $Q_r = A_r + k_r q_r$. Следовательно, $X_r = p_r e^{x_r}$ и уравнения принимают вид

$$\frac{dx_r}{dt} = b_r \left(\frac{1}{1 + y_r} - 1 \right),$$

$$\frac{dy_r}{dt} = \alpha_r p_r (e^{x_r} - 1) = \beta_r (e^{x_r} - 1).$$

Эти уравнения можно проинтегрировать, что видно из выражения

$$\beta_r (e^{x_r} - 1) \frac{dx_r}{dt} + b_r \left(1 - \frac{1}{1 + y_r} \right) \frac{dy_r}{dt} = 0.$$

Тогда мы получаем новый интеграл

$$G_r(x_r, y_r) = \beta_r (e^{x_r} - x_r) + b_r [y_r - \log(1 + y_r)] = \text{const.} \quad (94)$$

Пределы изменения переменной y_r по сравнению с предыдущей системой остались теми же, но x_r меняется теперь от $-\infty$ до ∞ , когда X_r меняется от 0 до ∞ .

Допустим теперь, что компонент, кинетика которого описывается уравнениями (93), является частью эпигенетической системы, состоящей из n компонентов; все компоненты снабжаются из метаболических фондов и находятся, таким образом, в одинаковом биохимическом окружении, как описано в гл. 5. Таким образом, исследование поведения этих компонентов может быть проведено методами статистической механики и мы можем использовать нашу обычную процедуру. В частности, вероятность того, что x_r будет находиться в интервале $[x_r, x_r + dx_r]$, определяется выражением

$$P_{x_r} dx_r = \frac{1}{Z_{p_r}} e^{-(\beta_r/\theta)(e^{x_r} - x_r)} dx_r,$$

где теперь

$$Z_{p_r} \equiv \int_{-\infty}^{\infty} e^{-(\beta_r/\theta)(e^{x_r} - x_r)} dx_r.$$

Если теперь написать

$$\xi_r = \frac{X_r}{p_r},$$

так что $x_r = \log \xi_r$, то тогда для распределения вероятностей этой новой переменной получим

$$\begin{aligned} P_{\xi_r} d\xi_r &= \frac{1}{Z_{p_r}} e^{-(\beta_r/\theta)(\xi_r - \log \xi_r)} \frac{d\xi_r}{\xi_r} = \\ &= \frac{1}{Z_{p_r}} \xi_r^{(\beta_r/\theta) - 1} e^{-\beta_r \xi_r / \theta} d\xi_r. \end{aligned} \quad (95)$$

Для отыскания наиболее вероятного значения ξ_r (обозначим его $[\xi_r]$) нужно найти максимум этого выражения. Оно равно, следовательно, корню уравнения

$$\frac{e^{-\beta_r \xi_r / \theta}}{Z_{p_r}} \xi_r^{[(\beta_r / \theta) - 2]} \left[\left(\frac{\beta_r}{\theta} - 1 \right) - \frac{\beta_r}{\theta} \xi_r \right] = 0,$$

откуда

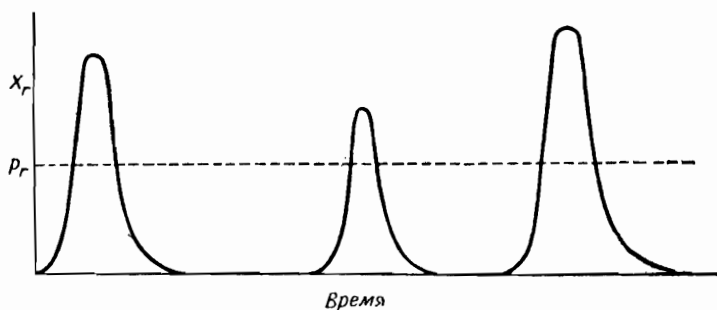
$$[\xi_r] = 1 - \frac{\theta}{\beta_r} \quad (96)$$

при условии, что $\theta < \beta_r$. Если же $\theta \geq \beta_r$, то показатель степени у ξ_r в выражении (95) отрицателен или равен нулю и максимум P_{ξ_r} достигается при $\xi_r = 0$. Другими словами,

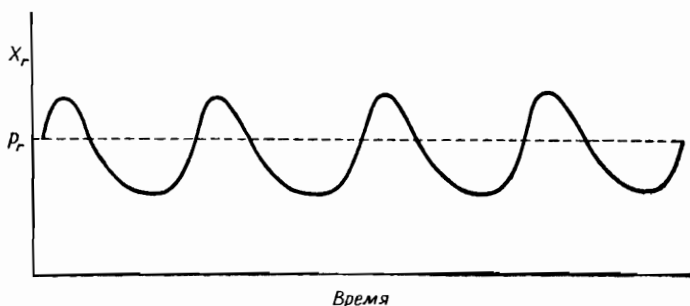
$$[\xi_r] = 0, \quad \text{если} \quad \theta \geq \beta_r.$$

Поскольку $\xi_r = X_r / p_r$, этот результат означает, что при $\theta < \beta_r$ наиболее вероятное значение X_r равно $p_r [1 - (\theta / \beta_r)]$, что всегда меньше стационарного значения p_r ; но при $\theta \geq \beta_r$ наиболее вероятное значение X_r равно нулю. Именно это мы имели в виду в гл. 7, говоря о статистической разрывности, поскольку она определяется отношением макроскопического параметра θ к β_r . Разрывный характер колебаний, описываемых уравнениями (93) совсем не очевиден, так что разрывность должна быть следствием статистического влияния слабых взаимодействий. Пытаясь объяснить этот результат, можно сказать, что если уровень колебательного возбуждения, задаваемый величиной θ , меньше β_r и, следовательно, меньше $\alpha_r p_r$, то стационарное значение X_r достаточно велико для того, чтобы механизм самовоспроизведения мог успешно конкурировать за предшественников m -РНК, и тогда X_r совершает непрерывные колебания. Если же возбужденный уровень превышает $\alpha_r p_r$, то процесс самовоспроизведения при синтезе X_r не может успешно конкурировать за предшественников и, следовательно, r -й локус большую часть времени не действует.

Статистическое поведение осциллятора такого типа было детально исследовано Кернером [48], отметившим



Ф и г. 10.



Ф и г. 11.

сходство этой системы с колебательной системой Вольтерра. И действительно, уравнения [93] очень близки к уравнениям Вольтерра для пары хищник—жертва, отличаясь от них лишь членом, описывающим отрицательную обратную связь. Поведение переменной X_r , однако, совершенно идентично поведению аналогичной переменной в осцилляторе Вольтерра. Кернер показал далее, что при $\theta \gg \beta_r$ в поведении переменной X_r наблюдаются неожиданные резкие пики с довольно нерегулярной частотой; характер изменения X_r в этом случае изображен на фиг. 10.

При $\theta < \beta_r$ колебания, однако, имеют совсем другую форму, напоминающую скорее ту, которая изображена на фиг. 11. Эта форма довольно сильно отличается от формы исследованных нами колебаний популяции m -РНК,

описываемых первоначальными уравнениями (14). Наиболее заметное отличие состоит в том, что асимметрия колебаний относительно оси стационарных значений изменила знак: теперь размер популяции большую часть времени имеет значения ниже стационарного. Если многие виды *m*-РНК в клетке ведут себя так, как указано на фиг. 11, то эксперимент с импульсным воздействием актиномицина будет иметь противоположный результат: ход часов должен будет замедляться, а не убыстряться, поскольку импульсы будут иметь большую вероятность увеличить величину θ , а не уменьшить ее. Если наши оценки скорости распада белка β_r в 20 молекул за 1 мин всегда приблизительно выполняются, то это делает возможным управление характером колебаний в клетке, т. е. превращение их из непрерывных в разрывные, посредством изменения θ -уровня.

Когда популяция молекул *m*-РНК колеблется так, как указано на фиг. 10, в поведении гомологичного ей вида белка появится разрывность, причем конкретная форма колебаний будет зависеть от среднего времени жизни популяции *m*-РНК (X_r), среднего интервала между пиками и степени устойчивости белка. Кернер показал, что частота непрерывных колебаний осциллятора значительно больше частоты рассматриваемых нами разрывных пиков. Исходя из сделанных в гл. 6 оценок средних периодов эпигенетических колебаний (среднее значение около 4 час), можно думать, что средний период разрывных колебаний должен составлять 6—8 час, из которых примерно 2—3 час падает на сами пики и 4—6 час — на промежуток между ними, когда локус неактивен. Если наши оценки для β_r (~ 20 молекул за 1 мин) приблизительно правильны и если мы примем, что во время пика синтезируется 200—300 молекул *m*-РНК, синтезирующих 5000—6000 молекул белка, то поведение разрывного типа в *m*-РНК будет вызывать колебания типа «все или ничего» в гомологичном виде белка. В течение 4—6 час, когда в системе нет *m*-РНК, белок будет распадаться. Подчеркнем еще раз, что эти оценки весьма грубы и что на самом деле они не очень хорошо согласуются с наблюдениями Стерна. Зарегистрированный им средний промежуток времени между пиками синтеза

ДНК-азы составляет как будто больше 8 час. Наши оценки можно было бы легко изменить и получить нужный результат, однако главная цель этого обсуждения состояла не в этом; мы стремились показать, что в изучаемых нами регуляторных системах могло бы осуществляться качественно то же поведение, что и наблюдавшееся Стерном. Новые статистические особенности появились из-за введения дополнительной нелинейности. Значение этого результата заключается в том, что в системах, состоящих из большого числа взаимодействующих компонентов, могут возникать разрывные явления, которые нельзя объяснить с точки зрения микроскопических регуляторных механизмов, образующих основу таких систем. Весьма вероятно, что такие явления более высокого порядка представляют собой одну из важных сторон жизнедеятельности клетки и что не всегда мы можем надеяться установить существование микроскопических детерминированных механизмов, объясняющих определенные явления в клетке.

Несомненно, однако, что микроскопические основания нашей теории слишком бедны и что на самом деле микроскопические взаимодействия могут быть гораздо более разнообразными, чем мы предполагали при построении нашей модели. Один из ее явных недостатков заключается в отсутствии в нашей системе членов, представляющих индукцию. Ближе всего к проблеме переключающих устройств, необходимых для объяснения индукции в частности и дифференцировки вообще, мы подошли при исследовании топологической разрывности, связанной со знаком параметрического выражения $(k_{11}k_{22} - k_{12}k_{21})$. Мы видели, что, когда это выражение положительно, оба компонента 1 и 2 устойчивы, но когда оно отрицательно, то при определенных условиях один из компонентов может исчезнуть и останется один независимый осциллятор. Какой именно из компонентов исчезнет, зависит от начальных условий и от значений параметров. Таким образом, связанная система может находиться в одном из трех состояний, причем лишь в одном из них одновременно присутствуют обе группы переменных. Изменение знака выражения $(k_{11}k_{22} - k_{12}k_{21})$ от отрицательного к положительному можно рассматривать тогда как индук-

цию, в результате которой система вместо одного компонента, скажем номер 1, которому соответствует белок Y_1 , начинает вырабатывать оба компонента, так что белки Y_1 и Y_2 будут присутствовать одновременно. Если теперь функция изменит знак с положительного на отрицательный, то из системы может исчезнуть компонент 1, а компонент 2 останется. Для этого нужно, чтобы существовало такое промежуточное индуктивное состояние, которое обеспечивает надлежащие начальные условия и соответствующие значения параметров для отбора именно этого компонента.

Все это, однако, чисто качественные рассуждения, которые очень мало дают для действительного понимания процесса индукции. Довольно легко построить модель, дающую так называемую параметрическую, или топологическую, разрывность. Тогда при определенных значениях параметров система будет переходить из одного состояния в другое. Трудность состоит в том, чтобы построить модель, которая совершала бы этот переход под влиянием внешнего воздействия (временное изменение параметров), а затем так стабилизировалась бы в этом новом состоянии посредством внутренних изменений, чтобы даже при устранении воздействия она не возвращалась бы в прежнее состояние. Наша модель не обладает таким свойством, ибо при изменении знака выражения $k_{11}k_{22} - k_{12}k_{21}$ от отрицательного к положительному система будет всегда возвращаться в состояние с двумя компонентами. По отношению к своим качественным, или топологическим, свойствам наша динамическая модель является обратимой. Свойство необратимости относится только к распределению в системе величины G ; состояние, в котором G равномерно распределена между всеми компонентами, является состоянием равновесия, и в нем таландическая энтропия имеет максимум. Адекватная динамическая модель индукции обязательно должна быть необратимой в смысле нашей теории, так что стационарные значения p_i и q_i будут испытывать постоянное изменение. Таким образом, мы опять видим неприменимость настоящей теории для описания морфогенетических процессов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Вероятно, наиболее важный вклад данного исследования в развитие теоретической биологии состоит в следующем: оно показало, что на совершенно новой молекулярной основе можно построить инвариантную теорию, аналогичную по своей структуре классической статистической механике, причем такая теория будет гораздо удобнее для исследования поведения клетки и ее функций, чем молекулярные теории, основанные на физике и классической термодинамике. Более того, с помощью основных макроскопических переменных, появляющихся в этой теории, — таландической энергии и таландической температуры — очень удобно исследовать организацию биологических систем, основные динамические особенности которых определяются специфическими молекулярными механизмами регуляции. Это происходит потому, что, как мы неоднократно видели, θ непосредственно определяет степень нелинейности в динамике эпигенетической системы. Возникновение временной структуры высшего типа, которая может иметь место в эпигенетической системе, зависит от таких явлений, как субгармонический резонанс, захватывание и другие соотношения, имеющие место при взаимодействии осцилляторов. Так как при этом необходима существенная нелинейность в динамике отдельных блоков молекулярных регуляторных систем, то ясно, что θ , а следовательно, и G тесно связаны с возможностями организации эпигенетической системы во времени. Таким образом, клетка, которая находится в состоянии со сравнительно высокой таландической температурой, может обладать значительно более сложной временной структурой, чем та, которая имеет очень низкую таландическую температуру и динамика которой приближается, следовательно, к линейной.

Мы можем пойти еще дальше и сказать, что клетка, в которой эпигенетическая система находится на высоком G -уровне, имеет значительное преимущество в смысле адаптации перед клеткой с очень низким G -уровнем (если обе они помещены в периодически изменяющиеся внешние условия, что обычно и происходит на нашей планете). Кроме того, для достижения устойчивых упорядоченных

во времени взаимоотношений между происходящими в клетке биохимическими процессами и приспособления ее к периодическим изменениям внешней среды требуется значительная нелинейность. Однако подобные соображения следует развивать строго, в частности точно определить понятие внешней периодичности; надо показать далее, что эпигенетическая система, находящаяся на высоком G -уровне, должна совершить меньше таландической работы, чтобы адаптироваться, чем система, находящаяся в состоянии с очень малым θ . Мы не пытались здесь сделать это, а хотели лишь показать, что на основании соображений и идей, возникших при статистическом исследовании взаимодействующих внутриклеточных регуляторных систем, можно сформулировать аналитически точно определение понятия временной организации клеток. Мы хотели также продемонстрировать, что макроскопические переменные, используемые в этой теории, могут служить количественной основой для измерений таких общих свойств клеток, как их способность к адаптации и организации.

Наше исследование носит в основном предварительный характер. Тем не менее мы получили достаточно информации о статистическом поведении регуляторных систем, лежащих в основе клеточной организации,— достаточно для того, чтобы можно было предложить определенные эксперименты, позволяющие проверить справедливость наших основных постулатов. Таким образом, нами предложена адекватная экспериментальная процедура, которая позволяет решить, можно ли развить дальше и улучшить разработанную в нашем исследовании «термодинамическую» теорию клеточного поведения или же эта теория ошибочна в своей основе и ее следует оставить. В последнем случае надо, конечно, продолжать поиск альтернативных микроскопических, или молекулярных, оснований для подобного термодинамического описания поведения клеток и организмов. Ведь цель биологии как раз и состоит в объяснении организационных принципов, лежащих в основе явлений адаптации, компетенции, регуляции, ритмического поведения и других свойств клеток. Если удастся, однако, получить некоторое экспериментальное подтверждение теории, развитой на этих

страницах, то мы обречем почву для ее дальнейшего расширения и улучшения.

По-видимому, два наиболее существенных улучшения, которые нам потребуются, заключаются в введении квантования в теорию и в таком расширении ее, чтобы можно было исследовать не только стационарные, но и растущие клетки. Под квантованными осцилляторами, как уже говорилось в начале этой главы, мы понимаем такие, которые обладают набором предельных циклов, т. е. осцилляторы, в фазовом пространстве которых устойчивые траектории перемежаются с зонами неустойчивости. При таком расширении теории могут возникнуть некоторые трудности, однако это ни в коей мере не означает, что оно невозможно. Основа такой теории уже создана в работах Крылова и Боголюбова, главным образом в их статье, написанной в 1937 г. [51], где указан ряд способов исследования нелинейных осцилляторов определенного типа; можно показать, что к таким осцилляторам принадлежат и рассматриваемые нами биохимические регуляторные системы. Вполне выполнимо и другое необходимое расширение теории, а именно ее можно сделать применимой к клеткам, растущим с постоянной скоростью. Развитую здесь теорию для клеток, находящихся в стационарном состоянии, можно будет тогда получить в качестве предельного случая этой более общей теории. Однако все эти усовершенствования будут иметь смысл лишь после того, как удастся экспериментально подтвердить существование тех макроскопических явлений, которые предсказываются настоящей теорией.

Литература

1. Appleton E. V., The automatic synchronisation of triode oscillators, Proc. Camb. Phil. Soc., **21**, 231 (1922).
2. Bateson W., Materials for the Study of Variation, Macmillan, London, 1894.
3. Beale G. H., The Genetics of *Paramecium Aurelia*, Cambridge University Press, London and New York, 1954.
4. Britten R. J., McClure F. T., The amino acid pool in *E. coli*. Bact. Rev., **26**, 292 (1962).
5. Brown D. E. S., The pressure coefficient of «viscosity» in the eggs of *A. punctulata*, J. Cell. Comp. Physiol., **5**, 335 (1934).
6. Bruce V. G., Pittendrigh C. S., Endogenous rhythms in insects and microorganisms, Am. Naturalist, **91**, 179 (1957).
7. Byrne R., Techniques for ordering peptide sequences in proteins, Ph. D. thesis, Massachusetts Institute of Technology (1963).
8. Chance B., Hess B., Metabolic control mechanisms, J. Biol. Chem., **234**, 2404 (1959).
9. Coddington E. A., Levinson N., The Theory of Ordinary Differential Equations, McGraw-Hill, New York, 1955.
10. Cowie D. B., McClure F. T., Metabolic pools and the synthesis of macromolecules, Biochim. Biophys. Acta, **31**, 236 (1959).
11. Curtis A. S. G., Timing mechanisms in the specific adhesion of cells, Exp. Cell Res., Suppl., **8**, 107 (1961).
12. Davis B. D., Discussion on page 43 of Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol., **26** (1961).
13. Demerec N., Hartman P. E., Complex loci in microorganisms, Ann. Rev. Microbiol., **13**, 377 (1959).
14. Denbigh K. G., The Thermodynamics of the Steady State, Methuen, London, 1951.
15. Denbigh K. G., Hicks M., Page F. M., The kinetics of open reaction systems, Trans. Faraday Soc., **44**, 479 (1948).
16. Dintzis H. M., Assembly of the peptide chains of hemoglobin, Proc. Nat. Acad. Sci., Wash., **47**, 247 (1961).
17. De Duve C., Wattiaux R., Baudhuin P., The distribution of enzymes between subcellular fractions in animal tissues, Adv. Enzymol., **24**, 291 (1962).
18. Ebert J. D., Wilt F. H., Animal viruses and embryos, Quart. Rev. Biol., **35**, 261 (1960).
19. Ehret C. F., Barlow J. S., Toward a realistic model of a biological period-measuring mechanism, Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol., **25**, 217 (1960). (Биологические часы, стр. 360, М., изд-во «Мир», 1964.)
20. Eigen M., Hammes G. G., Elementary steps in enzyme reactions (as studied by relaxation spectrometry), Adv. Enzymol., **25**, 1 (1963).
21. Elliott D. F., Bradykinin and its mode of release, Ann. N.Y. Acad. Sci., **104**, 35 (1963).

22. El s a s s e r W. M., The Physical Foundation of Biology, Pergamon Press, London and New York, 1958.
23. F e i g e l s o n P., G r e e n g a r d O., Immunochemical evidence for increased titers of liver tryptophane pyrrolase during substrate and hormonal enzyme induction, J. Biol. Chem., **236**, 158 (1962).
24. F e l l e r W., Acta biotheoretica, **5**, 11 (1939).
25. F i s h e r R. A., The Genetical Theory of Natural Selection, Clarendon Press, Oxford, 1930.
26. F l i c k i n g e r R. A., Sequential gene action, protein synthesis and cellular differentiation, Int. Rev. Cytol., **13**, 75 (1962).
27. G e r h a r d t J. C., P a r d e e A. B., The enzymology of control by feedback inhibition, J. biol. Chem., **237**, 891 (1962).
28. G l a n s d o r f f P., P r i g o g i n e I., Sur les propriétés différentielles de la production d'entropie, Physica, **20**, 723 (1954).
29. Г о н ч а р о в В., Из области комбинаторики, Изв. АН СССР, сер. матем., **1** (1944).
30. G o r i n i L., G u n d e r s e n W., B u r g e r M., Genetics of regulation of enzyme synthesis in the arginine biosynthetic pathway of *Escherichia coli*, Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol., **26**, 173 (1961).
31. G o r i n i L., M a s s W. K., Feedback control of the formation of biosynthetic enzymes. In «The Chemical Basis of Development» (eds. W. D. McElroy and B. Glass), Johns Hopkins University Press, p. 469 (1958).
32. G r e e n g a r d O., F e i g e l s o n P., The activation and induction of rat liver tryptophane pyrrolase *in vivo* by its substrate, J. biol. Chem., **236**, 158 (1961).
33. G r o s s J e r o m e, Collegen, Scientific American, May (1961).
34. G u i l d W. R., Discussion on page 71 of J Cell. Comp. Physiol., **47**, Suppl. 1 (1956).
35. H a l b e r g F., Temporal coordination in physiologic function, Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol., **25**, 289 (1960). (Биологические часы, стр. 475, М., изд-во «Мир», 1964.)
36. H a r k e r J. E., Diurnal rhythms in the animal kingdom, Biol. Rev., **33**, 1 (1958).
37. H a s t i n g s J. W., Unicellular clocks, Ann. Rev. Microbiol., **13**, 297 (1959).
38. H a s t i n g s J. W., S w e e n e y B. M., The *Gonyaulax* clock. In «Photoperiodism and Related Phenomena in Plants and Animals» (ed. A. P. Withrow), American Association for the Advancement of Science, Washington, D.C., p. 567 (1959).
39. H a y a s h i C., Forced Oscillations in Nonlinear Systems, Nippon Printing Co., Osaka (1953).
40. H e s s B., C h a n c e B., Metabolic control mechanisms VI. Chemical events after glucose addition to ascites tumor cells, J. biol. Chem., **236**, 239 (1961).
41. H o l t f r e t e r J., Veränderungen der Reaktionsweise im alternden isolierten Gastrulaektoderm, Arch. Entwicklungsmech. Org., **138**, 163 (1938).

42. Holtfreter J., Neuralisation and epidermalisation of gastrula ectoderm, *J. exp. Zool.*, **98**, 161 (1945).
43. Hotta Y., Stern H., Transient phosphorylation of deoxyribosides and regulation of deoxyribonucleic acid synthesis, *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **11**, 311 (1961).
44. Jacob F., Perrin D., Sanchez C., Monod J., L'opéron: groupe de gènes à expression coordonnée par un opérateur, *C.R. Acad. Sci.*, **250**, 1727 (1960).
45. Kacser H., Appendix in «The Strategy of the Genes» (C. H. Waddington), Allen and Unwin, London (1957).
46. Karakashian M. W., Hastings J. W., The inhibition of a biological clock by actinomycin D., *Proc. Nat. Acad. Sci. Wash.*, **48**, 2130 (1962).
47. Kerner E. H., A statistical mechanics of interacting biological species, *Bull. Math. Biophys.*, **19**, 121 (1957).
48. Kerner E. H., Further considerations on the statistical mechanics of biological associations, *Bull. Math. Biophys.*, **21**, 217 (1959).
49. Kimura M., On the change of population fitness by natural selection, *Heredity*, **12**, 145 (1958).
50. Koch A. L., The evaluation of the rates of biological processes from tracer kinetic data. I. The influence of labile metabolic pools, *J. Theoret. Biol.*, **3**, 283 (1962).
51. Крылов Н., Боголюбов Н., La théorie générale de la mesure dans son application à l'étude des systèmes dynamiques de la mécanique non linéaire, *Ann. Math.*, **38**, 65 (1937).
52. Крылов Н., Боголюбов Н., Introduction to Nonlinear Mechanics, Princeton University Press, 1947.
53. Lark K. G., Studies on the mechanism regulating periodic DNA synthesis in synchronised cultures of *Alcaligenes fecalis*, *Biochim. Biophys. Acta*, **45**, 121 (1960).
54. Levinthal C., Keynan A., Higa A., Messenger RNA turnover and protein synthesis in *B. subtilis* inhibited by actinomycin D., *Proc. Nat. Acad. Sci. Wash.*, **48**, 1631 (1962).
55. Lévy P., Processus Stochastiques et Mouvement Brownien, Gauthier-Villars, Paris, 1948.
56. Lofthield R. B., Eigner E. A., The time required for the synthesis of a ferritin molecule in rat liver, *J. biol. Chem.*, **231**, 925 (1958).
57. Ludeke K., An experimental investigation of forced vibrations in a mechanical system having a non-linear restoring force, *J. Appl. Phys.*, **17**, 603 (1946).
58. Lwoff A., Lwoff M., Événements cycliques et molécules métastables, *J. Theoret. Biol.*, **2**, 48 (1962).
59. Magasanik B., The metabolic regulation of purine interconversions and of histidine biosynthesis. In «The Chemical Basis of Development» (eds. W. D. McElroy and B. Glass), Johns Hopkins University Press, p. 485 (1958).
60. Mandelstam J., The intracellular turnover of protein and nucleic acids and its role in biochemical differentiation, *Bact. Rev.*, **24**, 289 (1960).

61. Margenau H., Murphy G. M., The Mathematics of Physics and Chemistry, van Nostrand Co. Ltd., N.Y., 1943.
62. McCulloch W. S., Pitts W., A logical calculus of the ideas immanent in nervous activity, Bull. Math. Biophys., 5, 115 (1943).
63. McQuillan K., Roberts R. P., Britten R. J., Synthesis of nascent protein by ribosomes in *E. coli*, Proc. Nat. Acad. Sci. Wash., 45, 1437 (1959).
64. Minorsky N., Nonlinear Oscillations, van Nostrand, Princeton, N.J., 1962.
65. Monod J., Allosteric proteins and cellular regulation, Lecture given at Harvard Medical School, 1 November (1962).
66. Monod J., Changeux J. P., Jacob F., Allosteric proteins and cellular control systems, J. Mol. Biol., 6, 306 (1963).
67. Monod J., Jacob F., Teleonomic mechanisms in cellular metabolism, growth and differentiation, Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol., 26, 389 (1961).
68. Mori S., Influence of environment and physiological factors on the daily rhythmic activity of a sea-pen, Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol., 25, 333 (1960). (Биологические часы, стр. 545, М., изд-во «Мир», 1964.)
69. Mucibabic S., The effect of temperature on the growth of *Chilomonas paramecium*, J. exp. Biol., 33, 627 (1956).
70. Nanney D. L., Epigenetic control mechanisms, Proc. Nat. Acad. Sci. Wash., 44, 712 (1958).
71. Needham A. E., Regeneration and Wound Healing, Methuen, London, 1952.
72. Needham J., Biochemistry and Morphogenesis, Cambridge University Press, London, 1950.
73. Pardee A. B., In The Bacteria (eds. I. C. Gunsalus and R. Y. Stanier), Academic Press, New York, vol. III (1962).
74. Pardee A. B., Jacob F., Monod J., The genetic control and cytoplasmic expression of «inducibility» in the synthesis of β -galactosidase in *E. coli*, J. Mol. Biol., 1, 165 (1959).
75. Penman S., Scherrer K., Becher Y., Darnell J. E., Polyribosomes in normal and poliovirus-infected HeLa cells and their relationship to messenger-RNA, Proc. Nat. Acad. Sci. Wash., 49, 654 (1963).
76. Pirson A., Schön W. J., Döring H., Wachstum und Stoffwechselperiodik bei *Hydrodictyon*, Z. Naturforsch., 9b, 349 (1954).
77. Pittendrigh C. S., Circadian rhythms and the circadian organisation of living systems, Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol., 25, 159 (1960). (Биологические часы, стр. 263, М., изд-во «Мир», 1964.)
78. Pittendrigh C. S., On temporal organization in living cells. The Harvey Lectures, Academic Press, New York, Series 56, p. 93 (1960—1961).

79. Pittendrigh C. S., Bruce V. G., In Rhythmic and Synthetic Processes in Growth (ed. D. Rudnick), Princeton University Press (1957).
80. Poincaré H., Sur l'équilibre d'une masse fluide animée d'un mouvement de rotation, *Acta Math.*, **7**, 259 (1885).
81. Poincaré H., Les Methodes Nouvelles de la Mécanique Céleste, Gauthier-Villars, Paris, 1892.
82. Van der Pol B., On oscillation hysteresis in a triode generator with two degrees of freedom, *Phil. Mag.*, **43**, 700 (1922).
83. Prigogine I., Etude Thermodynamique des Phénomènes Irréversibles, Desoer, Liège, 1947.
84. Prigogine I., Balescu R., Sur les propriétés différentielles de la production d'entropie, *Acad. Roy. Belg. Classe des Sciences. Bull.*, **41**, 917 (1955).
85. Prigogine I., Balescu R., Phénomènes cycliques dans la thermodynamique de processus irréversibles, *Acad. Roy. Belg. Classe des Sciences Bull.*, **42**, 256 (1956).
86. Pringle J. W. S., On the parallel between learning and evolution, *Behaviour* **3**, 174 (1951).
87. Rice S. O., The mathematical analysis of random noise, *Bell System Tech. J.*, **23**, 1 (1944).
88. Rubin H., Sitgreaves R., Probability distributions related to random transformations on a finite set, *Tech. Rep. Appl. Maths. and Stats. Lab., Stanford University*, No. 19A (1954).
89. Sand S. A., Position effects and the genetic code in relation to epigenetic systems, *Am. Naturalist.*, **45**, 235 (1961).
90. Spangler R. A., Snell F. M., Sustained oscillations in a catalytic chemical system., *Nature*, **191**, 457 (1961).
91. Spiegelman S., Differentiation as the controlled production of unique enzymatic patterns, *Symp. Soc. Exp. Biol.*, **2**, 286 (1948).
92. Steinberg M. S., On the chemical bonds between animal cells. A mechanism for type-specific association, *Am. Naturalist*, **92**, 65 (1958).
93. Steinberg M. S., Mechanism of tissue reconstruction by dissociated cells, II: Time-course of events, *Science*, **137**, 762 (1962).
94. Stent G. S., Brenner S., A genetic locus for the regulation of ribonucleic acid synthesis, *Proc. Nat. Acad. Sci. Wash.*, **47**, 2005 (1961).
95. Stern H., Periodic induction of deoxyribonuclease activity in relation to the mitotic cycle, *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **9**, 271 (1961).
96. Sugita M., Functional analysis of chemical systems *in vivo* using a logical circuit equivalent, *J. Theor. Biol.*, **1**, 415 (1961).
97. Sugita M., The idea of a molecular automation, *J. Theor. Biol.*, **4**, 179 (1963).
98. Sweeney B. M., Hastings J. W., Characteristics of the diurnal rhythm of luminescence in *Gonyaulax polyedra*, *J. Cell. Comp. Physiol.*, **49**, 115 (1957).

99. Swick R. W., Measurement of protein turnover in rat liver, *J. Biol. Chem.*, **231**, 751 (1958).
100. Szilard L., The control of the formation of specific proteins in bacteria and in animal cells, *Proc. Nat. Acad. Sci. Wash.*, **46**, 277 (1960).
101. Tanzer M., Gross J., Collagen metabolism in the normal and lathyrotic chick, *J. Exp. Med.* (1963).
102. Thompson D'arcy W., *On Growth and Form*, Cambridge University Press, London, Vol. II, 2nd edition, p. 923 (1959).
103. Tsien H. S., *Engineering Cybernetics*, McGraw-Hill, New York, 1954.
104. Umbarger H. E., End-product inhibition of the initial enzyme in a biosynthetic sequence as a mechanism of feedback control. In «Control Mechanisms in Cellular Processes» (ed. D. M. Bonner), Ronald Press, New York (1961).
105. Vogel H. J., Aspects of repression in the regulation of enzyme synthesis: pathway-wide control and enzyme-specific response, *Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol.*, **26**, 163 (1961).
106. Volterra V., *Leçons sur la Théorie Mathématique de la Lutte pour la Vie*, Gauthiers-Villars, Paris, 1931.
107. Waddington C. H., The competence of the extra-embryonic ectoderm in the chick, *J. exp. Biol.*, **11**, 211 (1934).
108. Waddington C. H., The origin of competence for lens formation in the amphibian, *J. exp. Biol.*, **13**, 86 (1936).
109. Waddington C. H., *Organisers and Genes*, Cambridge University Press, 1940.
110. Waddington C. H., The genetic control of development, *Symp. Soc. exp. Biol.*, **2**, 145 (1948).
111. Waddington C. H., *Principles of Embryology*, Allen and Unwin, London, 1956.
112. Waddington C. H., *The Strategy of the Genes*, Allen and Unwin, London, 1957.
113. Waddington C. H., Needham J., Brachet J., The activation of the evocator, *Proc. roy. Soc. London, Series B*, **120**, 173 (1936).
114. Warner J. R., Rich A., Hall C. E., Electron microscope studies of ribosomal clusters synthesizing hemoglobin, *Science*, **138**, 1399 (1962).
115. Weiss P., The problem of specificity in growth and development, *Yale J. Biol. Med.*, **19**, 235 (1947).
116. Weiss P., Kavanau J. L., A model of growth and growth control in mathematical terms, *J. Gen. Physiol.*, **41**, 1 (1957).
117. Wiener N., *Cybernetics: or Control and Communication in the Animal and the Machine*, Massachusetts Institute Technology Press, 1948. (Н. Винер, Кибернетика, Сов. радио, 1958.)
118. Winograd S., Cowan J. D., *Reliable Computation in the Presence of Noise*, Massachusetts Institute Technology Press, 1963.

ОГЛАВЛЕНИЕ

<i>Предисловие к русскому изданию</i>	5
<i>Предисловие к английскому изданию</i>	13
<i>Из предисловия автора</i>	17
Глава 1. ВВЕДЕНИЕ	21
Глава 2. СИСТЕМА И СРЕДА	34
Метаболическая система	37
Эпигенетическая система	40
Соотношения между системами	43
Глава 3. РЕГУЛЯТОРНЫЕ СИСТЕМЫ И РИТМИЧЕСКИЕ ЯВЛЕНИЯ В КЛЕТКЕ	46
Молекулярные регуляторные механизмы	46
Сильная и слабая связь	50
Колебательный режим работы регуляторных систем	52
Глава 4. ДИНАМИКА ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ	57
Схема цепей управления	57
Уравнения регуляции синтеза белка	59
Уравнения регуляции синтеза <i>m</i> -РНК	61
Свойства сигнала обратной связи	64
Уравнения регуляции для метаболита	67
Уравнения динамики элементарного блока управления	69
Аналогии с классической механикой	74
Более сложные структуры цепей управления	77
Системы с сильной связью	87
Ограниченность теории	96
Глава 5. СТАТИСТИЧЕСКАЯ МЕХАНИКА ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ	99
Необходимость статистической теории	99
Канонический ансамбль	104
«Термодинамические» функции эпигенетической системы	119

<i>Глава 6. ВРЕМЯ РЕЛАКСАЦИИ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ СИСТЕМ</i>	135
Размеры популяций макромолекул в клетках	135
Оценка периодов эпигенетических колебаний	143
Экспериментальные данные	154
Время релаксации и необратимые процессы	158
<i>Глава 7. СТАТИСТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ</i>	163
Средняя частота	167
Динамические свойства системы при наличии сильного взаимодействия	177
Статистические характеристики сильно взаимодействующих осцилляторов и субгармонический резонанс	184
Захватывание частоты	196
<i>Глава 8. ВОЗМОЖНЫЕ ПРИЛОЖЕНИЯ ТЕОРИИ И НЕКОТОРЫЕ ПРЕДСКАЗАНИЯ</i>	211
Таландические свойства эмбриональных систем	225
Статистическая разрывность	233
Заключение	241
<i>ЛИТЕРАТУРА</i>	244