

Eötvös Loránd Tudományegyetem
Természettudományi Kar

Természetes baktérium populációk növekedési dinamikájának modellezése

Írta: **Lakatos Péter Pál** Matematika-fizika szak
Témavezető: **dr. Horváth Ákos** Atomfizikai Tanszék
Konzulens: **Vellai Tibor** Genetika Tanszék

1999

A szakdolgozat alapját képező biológiai elmélet Vellai Tibor baktérium populációkon végzett kutatásaiból fakad. Köszönettel tartozom azért a türelemért és alaposágért, mellyel munkámat segítette. Köszönettel tartozom Horváth Ákosnak, témavezetőmnek, aki fáradhatatlanul igyekezett a készülő dolgozatot a helyes mederbe terelni. Köszönet illeti őket a kellemes és konstruktív légkörért, mely a munkát kísérte.

Tartalomjegyzék

| | |
|---|-----------|
| 1. BEVEZETÉS | 4 |
| 1.1. BAKTÉRIUMOK NÖVEKEDÉSE ÉS OSZTÓDÁSA | 5 |
| 1.1.1. <i>A populáció növekedési görbéje</i> | 5 |
| 1.1.2. <i>A baktériumok osztódása</i> | 7 |
| 1.2 A HAGYOMÁNYOS NÉZETEK KRITIKÁJA | 8 |
| 1.2.1 <i>Elméleti felvetések</i> | 8 |
| 1.2.2 <i>Kísérleti ellentmondások a tradicionális modellekkel szemben</i> | 9 |
| 1.3 TRADICIONÁLIS MATEMATIKAI MODELLEK | 12 |
| 1.3.1 <i>Szaporodási ráta</i> | 12 |
| 1.3.2 <i>A logisztikus görbe</i> | 13 |
| 1.3.3 <i>Késleltetett modellek</i> | 14 |
| 2 BAKTÉRIUM POPULÁCIÓK SZAPORODÁSI DINAMIKÁJÁNAK MODELLEZÉSE | 15 |
| 2.1 ENERGIAFÜGGŐ MODELL..... | 15 |
| 2.1.1 <i>Bevezetés</i> | 15 |
| 2.1.2 <i>Szaporodási ráta energiafüggése</i> | 15 |
| 2.1.3 <i>Szimulációs eljárás energiafüggő szaporodási rátával</i> | 17 |
| 2.2 REKOMBINÁCIÓS ENERGIA MODELLJE | 18 |
| 2.2.1 <i>A modell alapfeltevései</i> | 19 |
| 2.2.2 <i>Matematikai megoldás</i> | 21 |
| 2.2.3 <i>Szimulációs eljárás eredményei</i> | 23 |
| 2.2.4 <i>Diszkusszió</i> | 26 |
| 3 VÁLTOZÁSOK A BAKTÉRIUMOK DNS TARTALMÁBAN | 29 |
| 3.1 BEVEZETŐ | 29 |
| 3.2 GENOMSZERVEZŐDÉS HOMOGÉN ENERGIA JELENLÉTÉBEN | 31 |
| 3.2.1 <i>A szaporodási ráta DNS tartalom függése</i> | 31 |
| 3.2.2 <i>Matematikai modell és alapfeltevései</i> | 32 |
| 3.2.3 <i>A szimulációs eljárás eredményei</i> | 34 |
| 3.2.4 <i>Diszkusszió</i> | 35 |
| 3.3 ÍNHOMOGÉN ENERGIA MODELLJE | 36 |
| 3.3.1 <i>Sejtek génszám szerinti eloszlásának időfüggése</i> | 36 |
| 3.3.2 <i>Átlagos génszám időfüggése</i> | 38 |
| 4. A MODELLEK EGYESÍTÉSE: GENOMMÉRET ÉS SZAPORODÁS | 40 |
| 5. ÖSSZEFOGLALÁS | 43 |
| IRODALOMJEGYZÉK..... | 44 |

1. Bevezetés

A természetes közegben előforduló baktérium populációk növekedési dinamikájának megértése a biológiai kutatások alapvető fontosságú problémái közé tartozik. A szakdolgozatban arra vállalkoztam, hogy egy új, a természetes populációk növekedését leíró koncepció¹ matematikai modelljét állítsam fel. Az eredmények tükrében átértékelhető a mikrobiális genetika és populációbiológia néhány kulcskérdése, amelyek alapvető hatással lehetnek mindennapi életünkre. Eredményeim és azok következményei megoldást nyújthatnak az evolúcióbiológia számos problémájára is.

Az *1.2.2 fejezetben* említendő kísérletek és elméleti megfontolások alapján úgy tűnik, hogy több szempontból sem támaszthatóak alá a jelenlegi nézetek, amelyek nem tulajdonítanak megfelelő jelentőséget a tápanyaghiányos környezetben fejlődő baktériumpopulációk esetén tapasztalható jelenségeknek. A baktériumpopulációk sejtszámának és a populációt alkotó sejtek genetikai állományának vizsgálata arra enged következtetni, hogy a baktérium populációk jóval bonyolultabb szabályok szerint növekednek, mint azt jelenleg gondolják. A baktériumok szaporodásáról alkotott tradicionális nézetek két ponton is megkérdőjelezhetőek. Egyrészt a populáció növekedésére felállított egyenletek a laboratóriumi körülmények között szaporított populációkra vonatkoznak, így azok nem írják le a természetes körülményeket. Másrészt figyelmen kívül hagyják a szaporodás során végbement genomredukciót – a DNS-tartalom egy részének elvesztését – és annak jelentőségét az egyedi sejtek szaporodási rátájában.

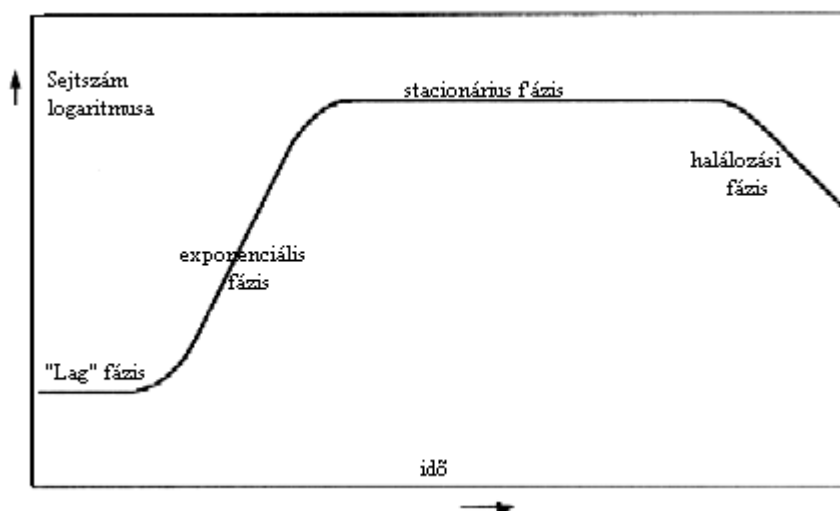
Jelen szakdolgozat keretein belül megkísérlem modellezni a prokarióta populációk szaporodási dinamikáját oly módon, hogy a kapott eredmények összhangban legyenek a kísérleti megfigyelésekkel.

¹ A szakdolgozat biológiai alapját Vellai Tibor, az ELTE Genetika Tanszék munkatársának elmélete képezi.

1.1. Baktériumok növekedése és osztódása.

1.1.1. A populáció növekedési görbéje

A baktérium populációk szaporodási dinamikájának nyomonkövetése egy mikrobiális kultúra² növekedési görbéjének vizsgálatán keresztül történik^[1]. Amikor a baktériumokat laboratóriumi körülmények között egy folyadék-kultúrában³ tenyésztik, akkor azok egy zárt rendszerben szaporodnak. Mivel friss médiumot, vagyis újabb tápanyagot nem adnak a kultúrához a tenyésztés során, a tápanyagok koncentrációja folyamatosan csökken, ezzel szemben az anyagcsere végtermékek koncentrációja folyamatosan növekszik. Egy ilyen rendszerben az osztódással szaporodó baktériumok növekedését (sejtszám/inkubációs idő) az alábbi görbe írja le (1.1.1a ábra). A görbének négy élesen elhatárolható fázisa van.



[1.1.1a ábra]

1, *Lag fázis*. Amikor a baktériumokat egy friss tápoldatba helyezik el, akkor rendszerint nem történik azonnali sejtosztódás (sejtszám növekedés). Ezt a nyugvó periódust hívják lag fázisnak. Noha ebben a fázisban nem megy végbe sejtosztódás, a sejtek új sejtalkotó komponenseket szintetizálnak, amelyek előfeltételül szolgálnak a későbbi osztódás megindulásához. A friss oldatba juttatott "kimerült" sejtek kezdetben alultelítettek energiában (ATP), esszenciális növekedési faktorokban és riboszómákban; ezeket kell először

² Laboratóriumi körülmények között fenntartott tenyészet, melyben többnyire valamilyen prokarióta fajt növesztenek.

³ baktériumokat laboratóriumban pl. úgy lehet fenntartani, hogy egy különböző tápanyagokat tartalmazó oldatba oltják be őket – a leggyakrabban használt folyadék az ún. LB oldat (nevét feltalálójáról, Luria Broth-ról kapta)

megszintetizálni. Sokszor az új oldat más tápanyagokat tartalmaz, mint az, amelyben a sejtek előzőleg növekedtek. Itt ezért új enzimeket is kell szintetizálni, amelyek képesek lebontani az új típusú forrásokat. A sejtek végezetül megkettőzik DNS-üket (genetikai információjukat), megnövelik sejtömegüket, majd végezetül osztódnak. A lag fázis időtartama nagymértékben változhat a baktériumok kondíciójának és a médium összetételének függvényében.

2, *Exponenciális fázis*. Az exponenciális vagy log fázis során a baktériumok a genetikai potenciáljuk (DNS-tartalom) és a tápoldat energiatartalma által meghatározott maximális rátával osztódnak és szaporodnak egy adott közegben. Az *Escherichia coli* baktériumkultúra esetén, optimális körülmények között (37°C-on, nagy fordulaton rázatva LB médiumban) 20 perces szaporodási időt jelent: egy újonnan képződött sejt átlagosan 20 perc alatt képes újra ketté osztódni. Mivel a sejtek osztódása aszinkron történik, a növekedési görbe egyenletesen növekszik, nem diszkrét ugrásokkal. Ebben a fázisban a sejtek biokémiai és fiziológiai tulajdonságai közel egyöntetűek.

3, *Stacionárius fázis*. Ez a fázis általában 10^9 sejtszám/ml sejtszám szintnél (denzitáció) következik be. Itt a növekedési görbe horizontális egyenessé válik, azaz az életképes sejtek száma állandó marad. Ez a stacionárius állapot egy dinamikus egyensúly eredménye; az újonnan keletkezett sejtek száma megegyezik az elhalt sejtek számával. Nagyon fontos kihangsúlyozni, hogy ebben a fázisban a sejtek halála már meghatározó tényezővé válik. Természetesen a fázisra jellemző sejtszám nagymértékben változhat a különböző mikroorganizmusok és médiumok esetében.

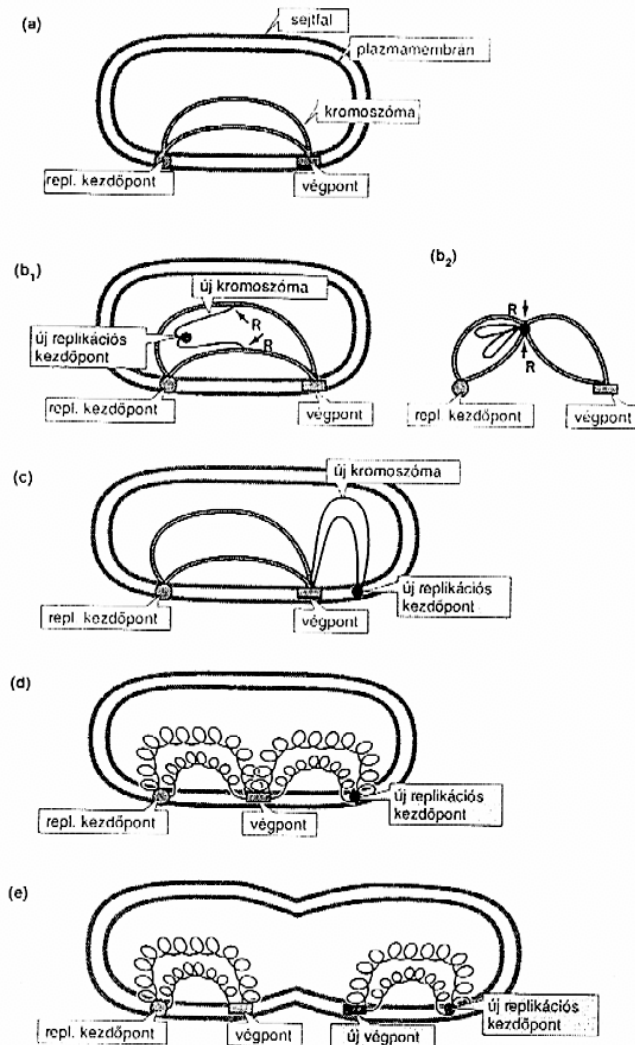
A stacionárius fázisba érkezésnek (azaz a sejtek tömeges pusztulásának) számos oka van. Egyik legnyilvánvalóbb faktor a tápanyagok kimerülése miatt bekövetkező limitáció. Másik ok lehet az aerob baktériumok esetében az oxigén hiánya, amely jelen esetben egyfajta tápanyagként értelmezhető. Az oxigén nem nagyon oldékony, ezért hamar lecsökken a koncentrációja olyan szintre, amely korlátozó tényezőként hat a baktériumok növekedésére. A káros anyagcsere termékek felszaporodása (toxikus végtermékek) szintén a sejtek tömeges pusztulását idézi elő. A prokariota sejtek potenciálisan halhatatlanok. Mindaddig osztódnak, amíg genetikai hiba – mutáció –, környezeti tényező – pl. magas hőmérséklet, sejtmérgezés – nem eredményezi a sejt halálát.

4, *Pusztulási fázis*. A mérgek felhalmozódása és a tápanyagok teljes kimerülése végül a sejtek számának drasztikus csökkenését idézi elő. A mikrobiális populációk pusztulása, akárcsak a növekedése az exponenciális fázis során, általában exponenciális görbét követ; a sejtek egy konstans része pusztul el adott időegység alatt. Ez még akkor is így van, ha a teljes sejtszám

állandó marad, ugyanis az elpusztult sejtek jelentős része nem esik szét (nem lizál), hanem ott lebeg az oldatban. A pusztulási fázis végén a halálozási ráta (sejtek pusztulása) jelentősen csökkenhet a különösen rezisztens, megnövekedett túléléssel rendelkező, sejtek elszaporodása miatt.

1.1.2. A baktériumok osztódása

A mikrobiális genetika hagyományos nézete szerint egy faj vagy egy törzs minden egyede tartalmazza az adott fajra vagy törzsre jellemző genetikai információt. A DNS a baktériumokban egyetlen cirkuláris kromoszómába rendeződik. A sejtosztódást a DNS megkettőződése (replikációja) előzi meg. A replikáció egyetlen replikációs pontban (origó) kezdődik, a kör mindkét irányába halad, míg végül az egyetlen végpontban (terminus) ismét találkozik (*1.1.2a ábra*). A kiindulási kromoszóma a kezdőpontnál és a végpontnál csatlakozik a sejtfalhoz. A két replikációs villa magával viszi az új kezdőpontot és végighalad a kromoszóma mentén. Miután a teljes kromoszóma megkettőződött, az új origó csatlakozik a sejtfalhoz. A végpont megkettőződik, majd új sejtfal képződik a régi és az új végpont között és a sejt osztódása befejeződik. A DNS replikáció mechanizmusa olyan, a DNS egyedi szerkezetéből következően, hogy a keletkezett két utód DNS molekula szerkezete, és így információtartalma, teljesen megegyezik a kiindulási (szülői) DNS molekulával. Ez az alapja a genetikai öröklődésnek. Következésképpen, hogy az utód DNS-ek megegyeznek egymással és ugyanazon genetikai információval rendelkeznek, mint a kiindulási DNS molekula. A replikációt a sejtosztódás követi. A DNS és sejtosztódás eredményeként a keletkezett két utódsejt DNS-ei megegyeznek egymással. ^[2]



[1.1.2a ábra]

1.2 A hagyományos nézetek kritikája

1.2.1 Elméleti felvetések

A baktériumok nagymértékű szaporodási potenciáljának ellenére – amennyiben tetszőleges mennyiségű tápanyag állna egy *E-coli* baktérium populáció rendelkezésére, akkor 2 nap alatt a Föld tömegével megegyező tömegű baktérium kultúra keletkezne – mennyiségük korlátozott a földi bioszférában. Növekedési rátájukat leginkább meghatározó tényező a táplálékforrások szűkössége vagy inkább azok hiánya. Ezért a laboratóriumi kísérletekkel és megfigyelésekkel ellentétben életük legjellemzőbb fázisa nem a tápanyagok gazdagságával jellemezhető exponenciális és stacionárius fázisban, hanem a pusztulási fázisban található. Ráadásul a természetes baktérium populációk nyílt rendszerben élnek. Feltételezhető, hogy a pusztulási fázis részletes analizisével, amelyet eddig csak néhány cikkben tettek meg

viszonylag elhanyagolt módon, a valódi (természetes körülmények között élő) populációk egészen új szaporodási dinamikája írható le.

Számos olyan genom⁴ szerveződési jelenség figyelhető meg kizárólagosan a baktériumok világában, amely azt sugallja, hogy a prokarióta genetikai szerveződés más, némileg bonyolultabb a hagyományosan leírtaknál. Számos esetben figyelték meg bizonyos DNS szekvenciák elvesztését (deléciók) és a hiány stabilizálódását a baktérium populációkban, ill. számos olyan mechanizmus ismert és vizsgált részleteiben, amelyek segítségével a baktérium sejtek képesek külső DNS aktív felvételére. A felvett idegen DNS bizonyítottan képes volt integrálódni a gazdasejt genetikai rendszerébe és ott élettani funkciókat ellátni. Feltehetően az ilyen mechanizmusok sokkal gyakrabban mennek végbe a természetes populációkban, mint a mesterséges, laboratóriumi körülmények között fenntartott és tenyésztett populációk esetében.

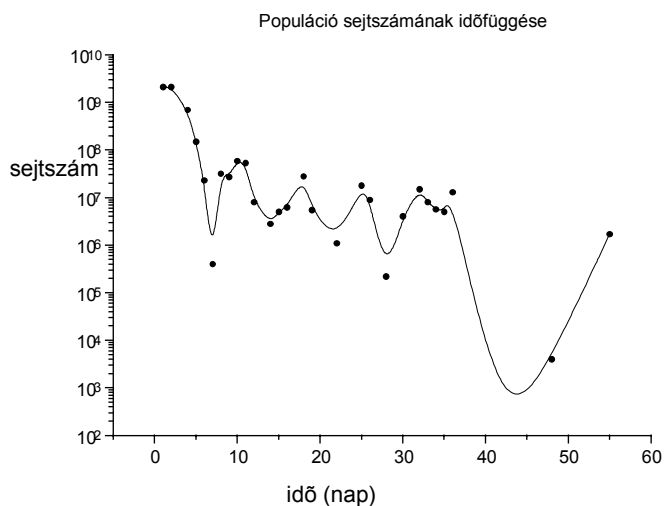
Nagyon valószínű, hogy természetes állapotban a bakteriális növekedési ráta és genetikai szerveződés összhangja sokkal szorosabb és összefüggőbb, mint azt valaha is gondolták.

1.2.2. Kísérleti ellentmondások a tradicionális modellekkel szemben

Egy standard *E. coli* populáció növekedési görbáját követtük nyomon kihegyezve a pusztulási fázisban történt eseményekre⁵ (1.2.2a. ábra). A hagyományos kísérletekkel ellentétben azonban nem csak egy-két napig, hanem több héten át vizsgáltuk a populáció szaporodási dinamikáját. A tenyésztés körülményei a következők voltak. Friss LB médiumba oltottunk *E. coli* baktérium sejteket, majd további tápanyag hozzáadás nélkül, 37°C-on, erőteljesen rázatva a tenyészetet 40 napig inkubáltuk. Minden nap mintát vettünk, melynek alapján meghatároztuk a populáció életképes sejtjeinek számát, és így felrajzoltuk a populáció hosszú távú növekedési görbáját.

A kísérlet valójában a természetes állapotban lévő sejtek életkörülményeit szimulálta; tehát a hosszan tartó éhezést. Megfigyelhető, hogy a tápanyagforrás kimerülésével a sejtszám nem exponenciális függvény szerint csökken, hanem egyfajta hullámzó populációszám csökkenés figyelhető meg. Vagyis a halálzási fázisban lokális növekedési periódusok figyelhetők meg.

⁴ Genom: a baktérium teljes DNS tartalma. Két részre osztható: a kromoszómára (genofor) és a "plussz" DNS tartalomra (plazmid)

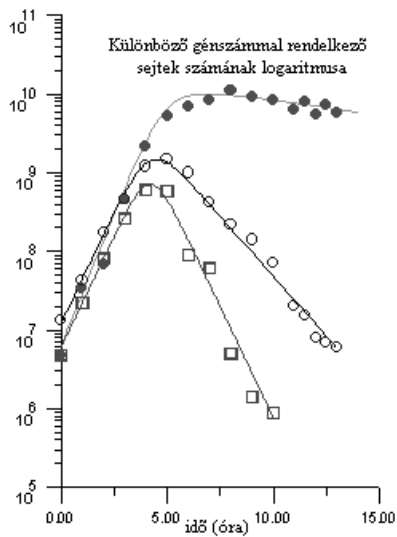


[1.2.2a ábra]

Egy másik kísérletben^[3] arra voltunk kíváncsiak, hogy a különböző DNS tartalmú, de egyazon baktérium faj sejtjei milyen szaporodási rátával rendelkeznek azonos körülmények közepette (1.2.2b. ábra). Egy adott *E. coli* baktérium 3 genetikailag módosított változatát tenyésztettük együtt: az első változat 5000 bázispár (bp) hosszú, nem kódoló (un. semleges) DNS szakaszt hordozott, a második 10.000 bp, míg a harmadik változat 20.000 bp hosszúságú "fölösleges" DNS darabot tartalmazott. Összehasonlításképpen az *E. coli* baktérium teljes genomja 4.6 millió bp hosszúságú. Az 1.2.2b ábrán az idő függvényében ábrázoltuk azon baktériumok számát, melyek az adott időpillanatban még tartalmazták a megfelelő fölösleges DNS-szekvenciát. Az eredmény azt sugallja, hogy ugyanazon közegben a nagyobb DNS tartalmú sejtek kiszelektálódnak az idő előrehaladtával. Feltehetően szaporodási rátájuk lassabb, mint azon sejteknek, amelyek kisebb DNS tartalmat hordoznak egyazon közegben. A DNS szintézishez energiára és prekursorokra⁶ van szükség, és ez energia-limitált közegben (éhezés) feltehetően a szaporodási ráta csökkenését eredményezi. Végeredményként a gyorsabban osztódó (kisebb DNS tartalommal rendelkező) sejtek túlnövik társaikat, így azok teljesen kiszorulnak a populációból.

⁵ Vellai T. 1998.

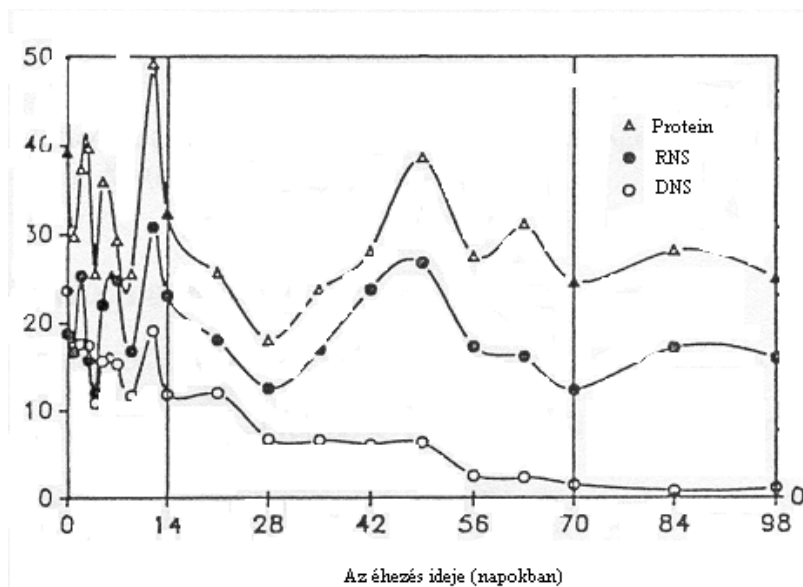
⁶ Prekursor: előanyag, valamely szintézis kiindulási anyaga



[1.2.2b ábra]

Vizsgálatainkat indokoló következő kísérletben^[4] alacsony tápanyagtartalmú közegben növesztett sejtek DNS-tartalmának időbeni alakulását figyelve az oregoni kutatók arra a következtetésre jutottak, hogy éhezés folyamán a sejtek DNS tartalma folyamatosan csökkent.

Az 1.2.2c ábrán feltüntették a populáció DNS, RNS és proteintartalmának időbeni változását.



[1.2.2c ábra]

Egy matematikai modell szintén a DNS tartalom csökkenését valószínűsítette a természetes baktérium populációk esetén (Stouthamer és Kooijman 1993)

Célul tehát azt tűztük ki, hogy a fenti kísérleteket alapul véve fokozatosan felépítsünk egy olyan matematikai modellt, mely megfelelően írja le az újszerű jelenségeket. A dolgozat 2. fejezetében az alkalmazott alapfeltevéseket folyamatosan finomítva a halálzási fázisban tapasztalható hullámzó sejtszám-lecsengésre igyekszünk egyenleteket felállítani. A következő részben arra keressük a választ, hogy milyen törvényszerűségekkel magyarázható, hogy a limitált tápanyagtartalmú közegben levő baktériumok DNS tartalma kisebb, mint a tápanyaggazdag környezetben levőké. Végezetül pedig a modellek egyesítésével komplex módon vizsgáljuk a populáció sejt- és génszámának dinamikáját.

1.3 Tradicionális matematikai modellek

A sejtszám-idő grafikonok matematikai leírására és a jelenség modellezésre figyelemreméltó eredmények születtek^[5]. Az alkalmazott modellek azonban vagy komoly hiányosságokkal adoptálhatók a jelenlegi problémákra, vagy oly módon szolgáltatnak a tapasztalattal tulajdonképpen egyező eredményeket, hogy alapfeltevéseik nem indokolhatóak kellőképpen.

1.3.1 Szaporodási ráta

Amennyiben egy sejt megkettőződéséhez t_g generációs idő szükséges, akkor N_0 sejtől kiindulva, a sejtszám a generációs idő egész számú többszöröseinél ugrásszerűen növekedne a duplájára, közben pedig nem változna. Amennyiben azonban feltételezzük, ahogy ez a természetes populációkban is történik, hogy a sejtek egy része már előrehaladott vagy késleltetett az osztódási folyamatban, akkor t_g átlagosan érvényes. Amennyiben a populáció mérete elég nagy, feltételezhető, hogy sejtszám az idő függvényében kvázi folytonosan és nem diszkrét módon változik. Ekkor tehát az exponenciális fázisban a sejtszám következő összefüggés szerint nő:

$$N(t) = N_0 \cdot 2^{\frac{t}{t_g}} = N_0 \cdot e^{\frac{\ln 2}{t_g} t} . \quad [1.3.1a]$$

Ezen feltevéssel élve a szaporodási rátán, illetve az osztódás valószínűségén a továbbiakban a következő kifejezést fogjuk érteni:

$$\alpha = \frac{dN}{dt} = \frac{\ln 2}{t_g} N \quad [1.3.1b]$$

1.3.2 A logisztikus görbe

A populáció sejtszámának időbeni változását – az exponenciális és a stacionárius fázisban – a tapasztalattal megegyező módon leíró összefüggéshez jutunk abban az esetben, ha a sejtszám időegységre eső változását a következő összefüggéssel adjuk meg:

$$dN = \gamma \cdot N(N_{\max} - N) - \beta \cdot N \quad [1.3.2a]$$

$$dN = (\gamma \cdot N_{\max} - \beta) \cdot N - \gamma \cdot N^2 \quad [1.3.2b]$$

ahol : $\gamma \cdot N_{\max} = \alpha$ szaporodási ráta

$\gamma \cdot N^2$ szelekciós hatás

β halálozási ráta

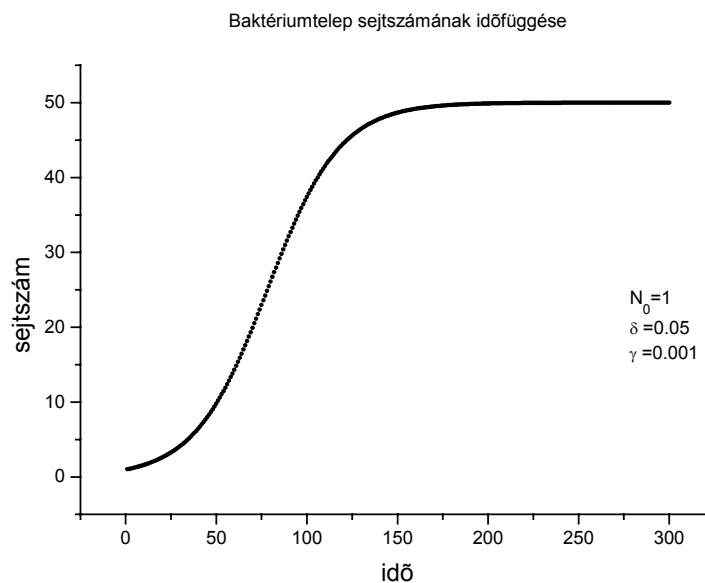
Az 1.3.2a egyenlet arra enged következtetni, hogy az osztódó sejtek száma nem kizárólag a populáció adott értékétől, hanem a környezet eltartóképességétől is függ.

A fenti egyenlet egy úgynevezett logisztikus görbéhez vezet, melynek a szaporodási folyamatokra való alkalmazását *Verhulst* ajánlotta 1836-ban.

Bevezetve a $\delta = \gamma N_{\max} - \beta$ jelölést a fenti differenciálegyenlet egzakt megoldása:

$$N = \delta \cdot N_0 \cdot (\gamma \cdot N_0 + (\delta - \gamma \cdot N_0) \cdot e^{-\delta \cdot t})^{-1} \quad [1.3.2c]$$

A fenti megoldást $N_0=1$; $\delta=0.05$ és $\gamma=0.001$ paraméterértékekkel ábrázolva:



[1.3.2a ábra]

Az alkalmazott matematikai modell *eredményét tekintve* lényegében helyesen írja le a sejtszám időbeni alakulását az exponenciális és a stacionárius fázisban, hiszen jól láthatóan elkülönül egymástól a két fázis.

Meghatározható továbbá a görbe inflexiós pontja:

$$t_{\text{infl}} = -\frac{1}{\delta} \cdot \ln \frac{\gamma \cdot N_0}{\delta - \gamma \cdot N_0} \quad [1.3.2c]$$

vagyis azon időpillanat, melytől kezdve a sejtszám már csökkenő ütemben növekszik.

Figyelemreméltó tulajdonsága a modellnek továbbá, hogy a maximális populációméret független a sejtek kezdeti számától, hiszen $\lim_{t \rightarrow \infty} N(t) = \frac{\delta}{\gamma}$, vagyis beáll a maximálisan eltartható sejtszám értékre. A már említett paraméterértékekkel a $t_{\text{infl}} \approx 7\delta$, valamint $N_{\text{max}} \approx 50$.

A modell hiányossága azonban, hogy a halálozási fázis nem szerepel benne, nehezen indokolható a szelekciós hatás sejtszámtól való négyzetes függése, valamint nem szerepel az egyenletekben a sejtek rendelkezésére álló energia. Ennek bevezetését próbálja tulajdonképpen a szelekciós hatás figyelembevételével kiküszöbölni.

1.3.3 Késleltetett modellek

A biológiai rendszerek modellezésekor gyakran találkozhatunk olyan esetekkel, amikor a vizsgált rendszer t . időpontbeli állapota nem kizárólag a $t-1$. időpontbeli állapotától függ, hanem közvetlen hatást gyakorol a $t-T$. időbeli állapot is. Ezeket a modelleket nevezzük késleltetett modelleknek. Amennyiben N a változónk, a modellek általános képlete:

$$\frac{dN}{dt} = f(N(t), N(t-T)) \quad [1.3.3a]$$

Hasonló egyenleteket kell felírunk például abban az esetben, ha a sejteknek el kell érniük egy bizonyos életkort a szaporodási képesség eléréséhez.

Az előzőekben megismert logisztikus görbe következőképpen módosul, amennyiben feltételezzük, hogy a szelekciós hatás mértéke egy korábbi T időponttól jobban függ, mint a jelentől:

$$dN = \gamma \cdot N(t) \cdot (N_{\text{max}} - N(t-T)) - \beta \cdot N(t) \quad [1.3.3b]$$

2 Baktérium populációk szaporodási dinamikájának modellezése

2.1 Energiafüggő modell

2.1.1 Bevezetés

A természetes állapotokat elsősorban a tápanyagok limitált mennyisége vagy azok hiánya jellemzi, azaz az élő organizmusok számára az energialimitált közeg a meghatározó környezet. Ezért a baktériumokkal kapcsolatos kísérletek eredményei csak abban az esetben jelenthetnek releváns információt a számunkra, amennyiben a vizsgálatokból levont következtetések megállják helyüket a baktériumok természetes életkörülményei esetén is.

Az 1.2.2 fejezetben említett kísérlet alapján feltételezhető, hogy a tápanyagok kimerülése esetén (természetes környezet) a sejtszám nem monoton csökken az idő függvényében. Nem helytálló tehát az a végletesen leegyszerűsített kép, mely szerint a sejtszám a stacionárius fázist követően exponenciálisan csökken. Ráadásul feltételezhető, hogy a természetes prokarióta populációk életciklusa nagyrészt a korábban érintőlegesen vizsgált halálzási fázisban zajlik.

Célunk olyan törvényszerűségek megállapítása, melyek alapján egy konzisztens matematikai modellt lehet felírni a természetes közegben növekvő prokarióta populációk szaporodási és halálzási dinamikájára.

Ennek eléréséhez bizonyos alapfeltevésekből kiindulva a modellt folyamatosan bővítjük mindaddig, amíg a kísérleti eredményeket (1.2.2a ábra) jól leíró algoritmushoz nem jutunk.

2.1.2 Szaporodási ráta energiafüggése

Ha a baktérium környezetében nagy mennyiségű olyan tápanyag található, melyet hasznosítani tud, a szaporodási ráta nagyobb, mint tápanyagszegény környezetben, vagyis a sejtciklus ideje lerövidül.

A szaporodási ráta, így a t_g generációs idő függ a környezet – sejt számára felhasználható – energiakonzentrációjától.

Modellünknek feltesszük, hogy a tápanyag koncentrációja a folyamat során mindvégig homogén, vagyis a tápoldat diffúziója gyors. Feltételezzük továbbá, hogy a sejt energiafelvétele egyenesen arányos az energiakonzentrációval. Ezek alapján a sejt

energiafelvevő sebességére felírható a következő összefüggés: $\frac{dE_{felvett}}{dt} = \eta_1 \cdot \rho_E$, ahol $E_{felvett}$

a sejt által felvett energiát jelöli, ρ_E az energiasűrűség, η_1 pedig egy arányossági tényező.

Határozzuk meg a továbbiakban, hogy a megszerzett energia miként hat az osztódási időre. A sejtek akkor osztódnak, ha elfogyasztották a teljes DNS-tartalom szintéziséhez szükséges energiát, azaz megkettőzték a genetikai információt. Nagy tápsűrűségű közegben a sejt gyorsabban jut a szükséges energiához, mint ritkább közegben, tehát a t_g generációs idő lecsökken.

Amennyiben az osztódás folyamata alatt a $\frac{dE_{felvett}}{dt}$ evési sebességet (tápanyag felvételének sebessége) állandónak feltételezzük, a következő összefüggés írható fel az evési sebesség, a generációs idő és a DNS-szintézishez szükséges ε energiamennyiség között.:

$\frac{dE_{felvett}}{dt} \cdot t_g = \varepsilon$, azaz a generációs idő: $t_g = \frac{\varepsilon}{dE/dt}$, melyet ha a tápanyag energiatartalmával

($E = \rho_E V$) fejezünk ki: $t_g = \frac{\varepsilon \cdot V}{\eta_1 \cdot E}$, mivel E kivételével az összes többi paraméter állandó, ezért

$t_g = \frac{\kappa}{E}$, vagyis a generációs idő fordítottan arányos a környezet energiájával.

Mindezek alapján a sejtek szaporodási rátájának energiatartalmától való függése:

$$\alpha_1 = \frac{\ln 2}{t_g} = \mu \cdot E$$

[2.1.2c]

A 2.1.2c képlet alapján állítható, hogy a szaporodási fázis nem exponenciális görbe mentén történik, hiszen ez csak állandó szaporodási ráta esetén igaz.

Fontos azonban megjegyezni, hogy a szaporodási ráta fent bevezetett energiatartalmától való függése csak bizonyos energiatartományban feltételezhető. Ugyanis ha a rendelkezésre álló tápanyag/sejtszám hányad nagyon magas, vagyis a környezet eltartó kapacitása nagy, akkor a szaporodási ráta nem növekedhet az energiával arányosan. A sejttömeg és a DNS megkettőzéséhez mindenképpen szükség van egy bizonyos minimális generációs időre, melyet már a környezet tápanyag-koncentrációjával sem lehet tovább csökkenteni. Számunkra azonban a továbbiakban az energialimitált közeg fog fontos szerepet játszani, így a szaporodási ráta energiától való lineáris függése változatlanul feltehető.

2.1.3 Szimulációs eljárás energiatartó szaporodási rátával

A szaporodási ráta energiatartó függését tehát mindenképpen figyelembe kell venni. A populáció növekedési és halálozási dinamikáját – figyelembe véve az energia limitáltságát – az alábbi differenciálegyenlet-rendszer írja le:

$$\begin{cases} \frac{dN}{dt} = \mu \cdot E(t) \cdot N(t) - \beta \cdot N(t) \\ \frac{dE}{dt} = -\varepsilon \cdot N(t) \end{cases}$$

[2.1.3a]

Az egyenletrendszer felállításakor tekintettel voltunk a következő alapfeltevésekre is:

- a rendszerben nincs energiatartó pótlás, vagyis környezetétől izolált.
- időegységenként minden sejt adott ε energiát fogyaszt el – csökkentve ezáltal a környezet energiáját ($dE = -\varepsilon \cdot N$)
- a sejtek β valószínűséggel meghalnak. Ennek oka lehet a toxikus anyagok koncentrációjának növekedése, a tápanyag hiánya, esszenciális gén mutációja, ... ($dN = -\beta \cdot N$)
- ha nem éheznek, vagyis amennyiben a környezet energiája nem nulla, akkor $\alpha(E) = \mu \cdot E$ valószínűséggel osztódik.
- a sejtek szaporodási rátája egyenlő, és függ a környezet energiájától

Az egyenletrendszerből felírható egy másodrendű differenciálegyenlet a sejtszám időfüggésére:

$$\frac{\partial^2 N}{\partial t^2} \cdot N - \left(\frac{\partial N}{\partial t} \right)^2 = -\mu \cdot \varepsilon \cdot N^3$$

[2.1.3b]

Az egyenlet független a halálozási ráta értékétől.

A sejtszám és energia kapcsolatát kifejező N - E fázistér egyenletét $N, E > 0$ esetén a következő egyenlet írja le:

$$\varepsilon \cdot \frac{dN}{dE} = -\alpha \cdot E + \beta$$

[2.1.3c]

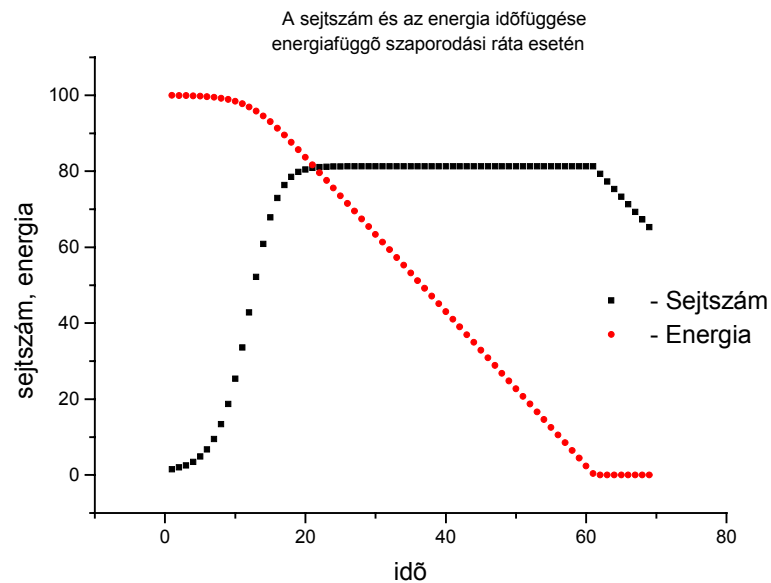
megoldásként pedig a következő összefüggés adódik:

$$\varepsilon \cdot (N - N_o) = \alpha \cdot (E_o^2 - E^2) - \beta \cdot (E_o - E)$$

[2.1.3d]

amelynek érdekessége, hogy a sejtszám négyzetesen függ az energiától.

Az egyenletrendszer összefüggései alapján készítettünk egy számítógépes szimulációt, mely $N_0=1$, $E_0=100$, $\mu=1$, $\varepsilon=1$, $\beta=1$ paraméterértékekkel a következő grafikont szolgáltatta:



[2.1.3a ábra]

Modellünk tehát az energiafüggés bevezetésével feltételezhetően jól modellezi a sejttelepek fejlődési görbéjének exponenciális, stacionárius és halálzási fázisát. Megfigyelhető, hogy a szimuláció eredményeként megjelennek a növekedés jól elkülönülő fázisai. Az exponenciális felfutás az inflexiós pontot követően egyre lassulóbb növekedést eredményez ugyanis az energia csökkenésével jelentősen visszaesik a szaporodási ráta értéke is, mindaddig, amíg – jelentős energiatartalékok ellenére – meg nem jelenik a stacionárius fázis, amely esetén dinamikus egyensúly alakul ki a halálzás és a szaporodás között. Az energia végleges kimerülésekor ($t=60$) a sejtszám-idő egyenletből a szaporodásért felelős tag nullává válik és így a sejtszám β paraméterű exponenciális görbe mentén csökkenni kezd.

Azt tapasztaltuk tehát, hogy az energia – a szaporodási rátán keresztül – modellbe való bevezetése sikeres próbálkozás volt, ugyanis a tapasztalattal egyező sejtszám-idő grafikonhoz jutottunk a nehezen értelmezhető szelekciós hatás kiküszöbölésével. Az energiafüggés bevezetése esszenciális kérdés, hiszen e nélkül nem vizsgálhatók az alacsony tápanyagtartalmú közegben lezajló folyamatok.

2.2 Rekombinációs energia modellje

Modellünket megpróbáljuk oly módon bővíteni, hogy visszakapjuk az 1.2.2a ábrán tapasztalt hullámszó sejtszám-idő görbét. A hullámszót alapvetően új energiaforrás jelenlétének tulajdonítjuk. Ugyanis a halálzási fázisba való jutás feltétele – az előbbi modell

alapján – az energiaforrások kimerülése. Ekkor azonban, ha az energia értéke folyamatosan 0 volna, nem tapasztalhatnánk a populáció újbóli növekedését. Feltevésünk az, hogy mivel a rendszer környezetétől izolált, energiaforrást kizárólag az elhalt sejtek jelenthetnek^[6,7]. Kérdés azonban, hogy a hullámszás dinamikai tulajdonságai visszakaphatók-e?

A folyamatot írják le tehát a következő differenciálegyenletek:

$$N(t+1) = N(t) + \alpha \cdot \min(N(t), \lambda \cdot \frac{E(t)}{\varepsilon}) - \beta \cdot (N - \min(N(t), \frac{E(t)}{\varepsilon})) \quad [2.2a]$$

$$E(t+1) = E(t) - \varepsilon \cdot \min(N(t), \frac{E(t)}{\varepsilon}) + k \cdot \varepsilon \cdot R(t - T_0) \quad [2.2b]$$

$$R(t - T_0) = \beta \cdot (N(t - T_0) - \min(N(t - T_0), \frac{E(t - T_0)}{\varepsilon})) \quad [2.2c]$$

természetesen mindvégig: $N(t) \geq 0, E(t) \geq 0, R(t) \geq 0$.

ahol:

| | |
|---|--|
| $N(t), E(t):$ | t . időpontban a sejtszám és energia |
| $\min(N(t), E(t)/\varepsilon)$ | táplálékhoz jutott sejtek száma |
| $\alpha \cdot \min(N(t), \lambda \cdot E(t)/\varepsilon)$ | t . időpontban osztódott sejtek száma |
| $N(t) - \min(N(t), E(t)/\varepsilon)$ | éhező sejtek száma |
| $\beta \cdot [N(t) - \min(N(t), E(t)/\varepsilon)]$ | t . időpontban elpusztult sejtek száma |
| $\varepsilon \cdot \alpha \cdot \min(N(t), E(t)/\varepsilon)$ | elfogyasztott energiamennyiség |
| $k \cdot \varepsilon \cdot R(t - T_0)$ | meghalt sejtekből <i>rekombinált</i> energia |

2.2.1 A modell alapfeltevései

A 2.2a-c egyenleteket a következő feltevések indokolják:

- a rendszer az energiaforrások tekintetében izolált a környezetétől.
- ha a tápanyag fedezi a teljes populáció energiaszükségletét, akkor időegységenként minden sejt adott ε energiát fogyaszt el. Ha a rendelkezésre álló energia nem elegendő a teljes populáció számára, akkor csak azon sejtek szerzik meg energiaadagjukat, melyeknek még jut, a többiek *éheznek*. (2.2b képlet 2. tagja)
- éhezés alatt azt értjük, hogy egy sejt nem tudja felvenni a számára szükséges ε energiát

- szaporodni kizárólag azok a sejtek képesek, melyek energiához jutottak – hiszen a DNS szintézishez energiára van szükségük. Ezen sejtek α valószínűséggel osztódni fognak.
- abban az esetben, ha a tápközeg energiatartalma még elegendő a teljes populáció eltartásához, azonban értéke olyannyira lecsökkent, hogy $\lambda\%$ -a már nem fedezné minden sejt energiaigényét, nem minden sejt képes szaporodni, hanem csak a tápanyaghoz jutottak $\alpha \cdot \lambda\%$ -a.
- az előbbi modellben feltételeztük, hogy a halálozás a folyamat egésze alatt történik. Ezt viszont csak abban az esetben állíthatjuk, ha a halál oka nem kizárólag a tápanyagok kimerülése. Jelenleg viszont kizárólagosan az energiahiányt tekintjük halálozási oknak. – ha ezt nem tennénk, a halálozási rátát sem tekinthetnénk konstansnak (tekintettel arra, hogy pl. a toxikus anyagok koncentrációja folyamatosan nő, az oxigéntartalom pedig csökken), ami jelentősen megnövelné a paramétereink számát, mindamelllett, hogy nem érintené a jelenség lényegét. Vagyis kizárólag azon sejtek halhatnak meg, β valószínűséggel, melyek éheznek.
- a halott sejtek szétesnek – lizálnak –, és a belőlük felszabaduló molekulák egy része tápanyagforrásként hasznosul a többi sejt számára. Így az elpusztult sejtek adott T_0 idő elteltével energiaforrást jelentenek a többiek számára. – *Rekombinációs energia* –, mégpedig az ε energiamennyiség k –szorosát. A rekombinációs energia nem robbanásszerűen töltődik vissza a rendszerbe, hanem csak a $t-T_0$ időpontban elpusztult sejtekből származó tápanyag töltődik vissza a t . időpontban. (2.2c és 2.2b képlet 3. tagja)

Vezessük be továbbá a következő fogalmat:

$$P_e(t) = \frac{E(t)}{\varepsilon} \quad \text{max. elosztható energiaadagok száma: } \textit{eltartó kapacitás}, \text{ vagyis}$$

azon populációméret, amely időegység alatt éppen $E(t)$ energiát fogyasztana el.

Alapfeltevéseinkkel a következő fázisok különböztethetők meg:

| Fázis | $N - E$ viszony | Energiaellátás | Szaporodás | Halál |
|-------|---------------------|--------------------|-------------------------------|------------------|
| I. | $\lambda P > N$ | Mindenki ehetséges | Mindenki szaporodik | 0% |
| II. | $P > N > \lambda P$ | Mindenki ehetséges | $\alpha \lambda P$ szaporodik | 0% |
| III. | $N > P$ | P db. ehetséges | λP szaporodik | $\beta(N - P_e)$ |

2.2.2 Matematikai megoldás

A 2.2a-b egyenletek folytonos határesetben differenciálegyenleteket szolgáltatnak, melyek a különböző fázisokban az alábbi módon oldhatóak meg, feltételezve, hogy $t < T_0$, tehát az energia a halott sejtekből még nem töltődött vissza a rendszerbe:

I. Fázis.
$$N(t) < \lambda \cdot \frac{E(t)}{\varepsilon}$$

$$\begin{cases} \frac{dN}{dt} = \alpha \cdot N & \Rightarrow N = N_0 \cdot e^{\alpha t} \\ \frac{dE}{dt} = -\varepsilon \cdot N & \Rightarrow E - E_0 = \int_0^t -\varepsilon \cdot N_0 \cdot e^{\alpha \tau} d\tau \end{cases}$$

[2.2.2.Ia]

Az egyenletrendszer megoldására a következő kifejezés adódik:

$$N(t) = \left[N_0 + \alpha \cdot \frac{E_0}{\varepsilon} \right] - \alpha \cdot \frac{E(t)}{\varepsilon}$$

[2.2.2.Ib]

Eltartó kapacitással kifejezve:

$$N(t) = [N_0 + \alpha \cdot P_e(t_0)] - \alpha \cdot P_e(t)$$

[2.2.2.Ic]

Azt várjuk tehát, hogy a szimulációs eljárás eredményeként is lineáris kapcsolat álljon fenn a sejtszám és az evési potenciál, illetve az energia között, az I. fázisban.

A fázis határán, tehát azon t^* időpontban, amikor $N(t^*) = \lambda \cdot P_e(t^*)$ a sejtszám és az eltartó kapacitás értékét a kezdeti feltételek a következő összefüggésen keresztül határozzák meg:

$$P_e(t^*) = \frac{N_0 + \alpha \cdot P_0}{\lambda + \alpha}, \quad \text{valamint:} \quad N(t^*) = \lambda \cdot \frac{N_0 + \alpha \cdot P_0}{\lambda + \alpha}$$

[2.2.2.Id]

II. Fázis $\lambda \cdot P_e(t) < N(t) < P_e(t)$

$$\begin{cases} \frac{dN}{dt} = \lambda \cdot \alpha \cdot P_e \\ \frac{dE}{dt} = -\varepsilon \cdot N \end{cases} \Rightarrow \frac{d^2 N}{dt^2} = \lambda \cdot \alpha \cdot \frac{dP_e}{dt} \Rightarrow \frac{d^2 N}{dt^2} = -\lambda \cdot \alpha \cdot N$$

[2.2.2.IIa]

megoldásként két trigonometrikus függvény adódik:

$$N(t) = C \cdot \sin(t\sqrt{\lambda \cdot \alpha} + \varphi_0) \quad , \quad \text{valamint} \quad P_e(t) = C \cdot \frac{1}{\sqrt{\lambda \cdot \alpha}} \cdot \cos(t \cdot \sqrt{\lambda \cdot \alpha} + \varphi_0)$$

[2.2.2.IIb]

Látható, hogy a *II. fázis* esetén minden időpillanatban a két mennyiség elliptikus kapcsolatban áll egymással, ugyanis: $N^2(t) + \lambda \cdot \alpha \cdot P_e^2 = C^2$

III. Fázis $N(t) > P_e(t)$

$$\begin{cases} \frac{dN}{dt} = \lambda \cdot \alpha \cdot P_e - \beta \cdot (N - P_e) = (\lambda \cdot \alpha + \beta) \cdot P_e - \beta \cdot N \\ \frac{dP_e}{dt} = -P_e \end{cases}$$

[2.2.2.IIIa]

Az eltartó kapacitás változását leíró egyenletből látszik, hogy az utolsó fázisban ha tápanyag jelenik meg a rendszerben, akkor azt a sejtek azonnal felélik. Ha ez nem történik meg, vagyis az eltartó kapacitás nagyobbá válik az aktuális sejtszámnál, akkor azonnal átkerül a rendszer valamelyik előző fázisba.

A differenciál-egyenletrendszer általános megoldása:

$$P_e(t) = P_0 \cdot e^{-t} \quad , \quad \text{valamint} \quad N(t) = +N_0 \cdot e^{-\beta \cdot t} - \frac{(\lambda \cdot \alpha + \beta)P_0}{1 - \beta} \cdot e^{-(1-\beta)t}$$

[2.2.2.IIIb]

Lényeges azonban megjegyezni, hogy a differenciálegyenletek csak abban az esetben a fenti alakúak, ha nincs rekombinációs energia, tehát $R(t - T_0) \neq 0$

Amennyiben a rekombinációs energiával is számolnunk kell, az egyenletekben az energiaoldalon megjelenik egy $k \cdot \varepsilon \cdot \beta \cdot (N(t - T_0) - \frac{E(t - T_0)}{\varepsilon})$ alakú tag, mely az

egyenleteket egy T_0 idővel korábbi állapothoz csatolja, minek következtében analitikus úton az egyenletrendszerek nem oldhatók meg.

Az energia folyamatos visszatöltődésekor az egyes fázisokban levezetett függvényalakok jellegei változatlanok maradnak, azonban folyamatosan módosulnak a változó energiaértékeknek megfelelően. Tehát például a *II. fázisban* mindvégig elliptikus a kapcsolat N és P_e között, azonban a rekombinációs energia mindvégig más ellipszisre kényszeríti őket.

Valójában a tápanyag kimerülését követően folyamatosan számolni kell a rekombinációs energiával. Számunkra éppen az egzaktul nem megoldható esetek a legérdekesebbek. (ekkor remélhetjük a hullámzás megjelenését). Ezért alkalmaztunk ismételten számítógépes szimulációt a folyamat szemléltetésére:

2.2.3 Szimulációs eljárás eredményei

Egyenleteink tehát nem oldhatók meg egzaktul a rekombinációs energiából adódó csatolt tagok hatásának következtében. Számítógépes szimuláció eredményeként azonban az alábbi ábrákat nyertük a paraméterek értékeitől függően:

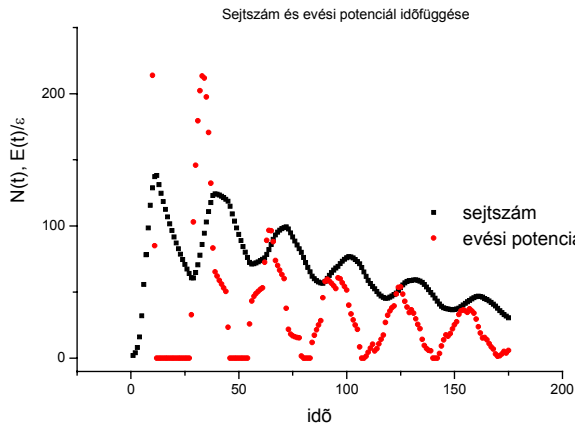
A fázisokban megrajzolt egyenesek a különböző fázisokat választják el egymástól. Ennek megfelelően a nagyobb meredekségű egyenes egyenlete: $P_e=N$, illetve a kisebb meredekségű: $\lambda P_e=N$. A fázisok a függőleges tengelytől a vízszintes felé haladva követik egymást.

Paraméterek I.

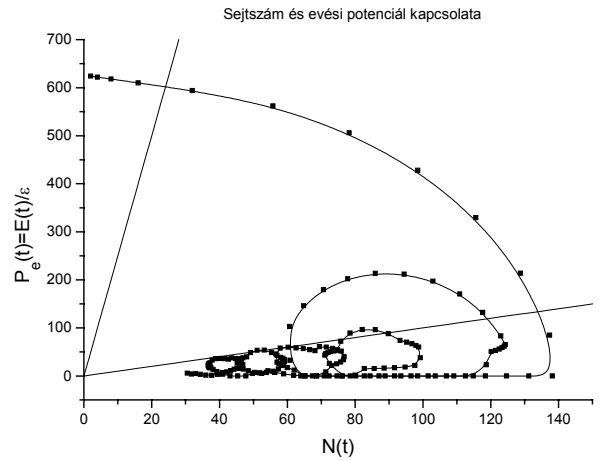
| | | | |
|----------------------------------|----------------------|-------------------------|-----------|
| Energiaszükséglet: ε | Rekomb. energia: k | Szaporod. ráta α | λ |
| 0,0016 | 15 | 0,05 | 4% |

Időfüggés: Sejtszám és evési potenciál

Fázistér: sejtszám és evési potenciál kapcsolata



[2.2.3.Ia ábra]



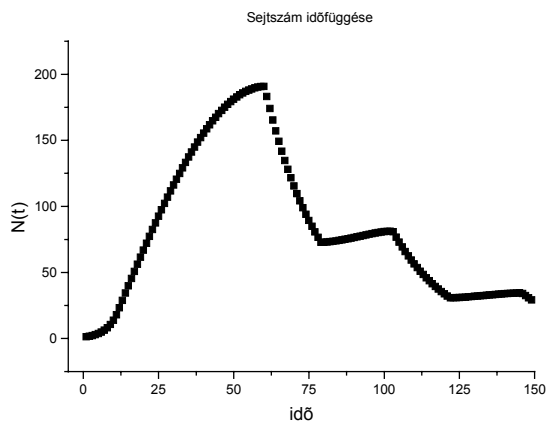
[2.2.3.Ib ábra]

Paraméterek II.

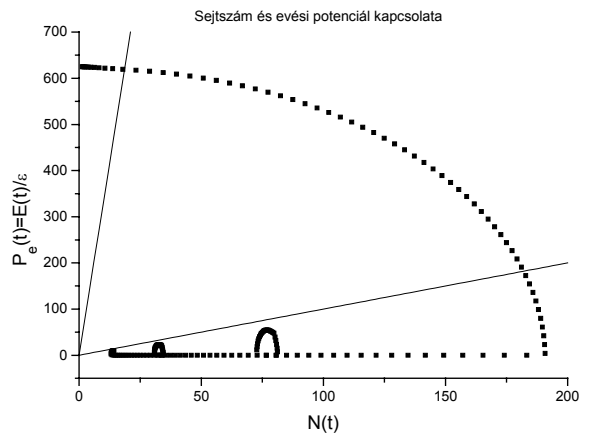
| | | | |
|----------------------------------|----------------------|-------------------------|-----------|
| Energiaszükséglet: ε | Rekomb. energia: k | Szaporod. ráta α | λ |
| 0,0016 | 15 | 0,05 | 2% |

Időfüggés: Sejtszám és evési potenciál

Fázistér: sejtszám és evési potenciál kapcsolata



[2.2.3.IIa ábra]



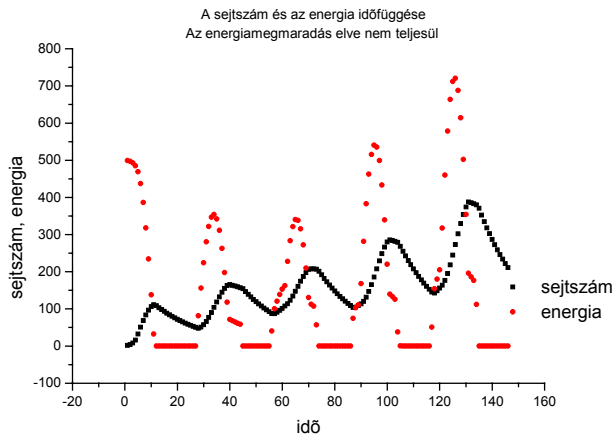
[2.2.3.IIb ábra]

Paraméterek III.

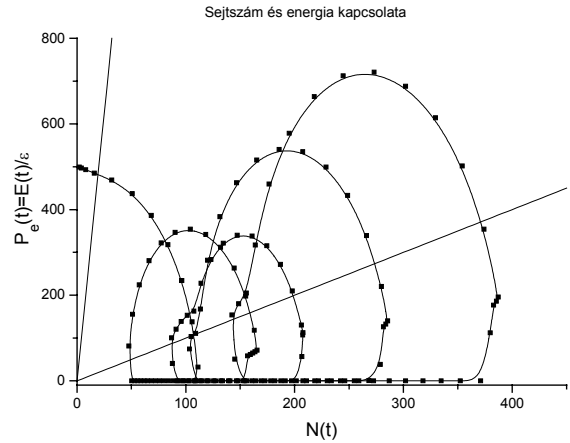
| Energiaszükséglet: ε | Rekomb. energia: k | Szaporod. ráta α | λ |
|----------------------------------|----------------------|-------------------------|-----------|
| 0,0016 | 22 | 0,05 | 4% |

Időfüggés: Sejtszám és evési potenciál

Fázistér: sejtszám és evési potenciál kapcsolata:



[2.2.3.IIIa ábra]



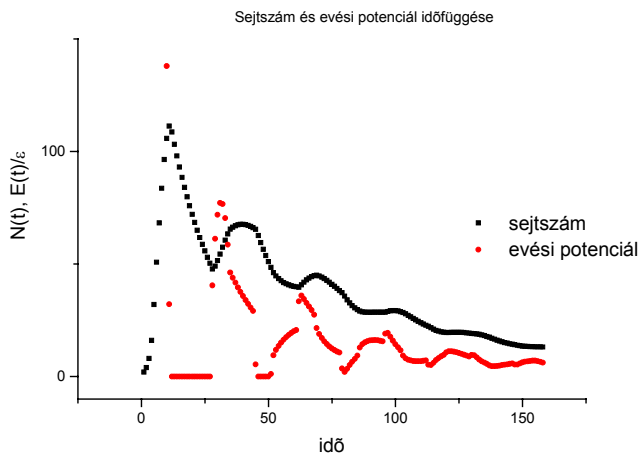
[2.2.3.IIIb ábra]

Paraméterek IV.

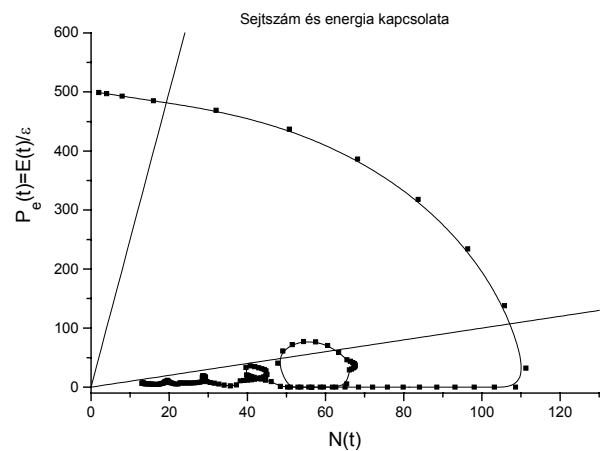
| Energiaszükséglet: ε | Rekomb. energia: k | Szaporod. ráta α | λ |
|----------------------------------|----------------------|-------------------------|-----------|
| 0,0016 | 11 | 0,05 | 4% |

Időfüggés: Sejtszám és evési potenciál

Fázistér: sejtszám és evési potenciál kapcsolata



[2.2.3.IVa ábra]



[2.2.3.IVb ábra]

2.2.4 Diskusszió

A görbék kezdeti szakaszában a már megszokott, hagyományos exponenciális felfutást figyelhetjük meg, mindaddig, amíg el nem fogy az energia és be nem következik a sejtek pusztulása. Hiányossága az ábráknak, hogy nem eléggé hangsúlyos az exponenciális fázist követő stacionárius fázis. Ennek megjelenését is elérhetjük azonban akkor, ha a λ paraméter értékét kisebbnek választjuk (2.2.3.IIa-b ábra), vagyis ha a szaporodási ráta értéke, az energia csökkenésével párhuzamosan, sokkal drasztikusabban csökkenne. Ebben az esetben azonban a hullámzó sejtszám csökkenés a populáció teljes sejtszámához viszonyítva kisebb mértékű volna. Ezáltal a stacionárius fázis és a hullámozás nagysága között kaptunk kapcsolatot. A stacionárius fázis megjelenését eredményezné a sejtek azon magatartásának a modellbe való beépítése, mely szerint a hirtelen megjelenő éhezési fázisra a sejtszám nem csökken sokszerűen, hanem csak bizonyos „lappangási” idő elteltével következik be a sejtek tömeges pusztulása.

Az energiaforrást jelentő tápanyag kimerülésével a sejtszám rohamosan csökkenni kezd, β paraméterű halálozási rátának megfelelő exponenciálisan lecsengő görbe mentén. Ez a folyamat mindaddig tart, amíg T_0 idő elteltével energiaként vissza nem töltődik a rendszerbe a már meghalt sejtek számával, illetve az egy sejt által időegységenként elfogyasztott ε energiaadaggal arányos ún. *rekombinációs energia*. A rekombinációs energia megjelenésével természetesen nem jár együtt azonnal a sejtszám újbóli növekedésének megindulása, hiszen a szaporodáshoz feltétel, hogy az energia elérje az evési potenciálnak λ -szorosát. Az energia tehát kezd „visszatöltődni” a rendszerbe, minek következtében – ha az energiából származtatott evési potenciál értéke eléri a populáció aktuális nagyságát – leáll a sejtek exponenciális kihalása, majd ha a visszatöltődés tovább folytatódik, ismét növekedésnek indulhat a populáció.

A sejtszám növekedésével párhuzamosan azonban ismételten nő a populáció energiaigénye, melyet természetesen a rekombinációs energia sem tud bármeddig fedezni. Ennek következtében az ismét szerephez jutó szaporodási ráta csökkenni kezd, a sejtszám lassuló ütemben növekszik, eléri az adott energiakészletnek megfelelő maximumát, majd amikor a rendelkezésre álló energia már nem fedezi a teljes sejttelep szükségletét, ismételten megindul a sejtszám csökkenése. A halálozás megjelenésével töltődni kezd a rekombinációs energia, mely újabb T_0 idő elteltével visszatöltődik a rendszerbe.

A természetes prokarióta populációk szaporodási görbéje sokkal dinamikusabb, mint azt valaha is gondolták. A hullámozást legnagyobb mértékben a rekombinációs energia értékét

meghatározó k faktor befolyásolja. Ez az a paraméter, amely megszabja, hogy egyetlen sejt pusztulása esetén mekkora energiaadaggal növekszik a rekombinációs energia mértéke. A 2.2.3.III ábrákon látható, hogy a halálzási fázist követő ismételt sejtszám növekedést az említett paraméter értéke milyen mértékben befolyásolta. $k=22$ paraméterérték esetén gyakorlatilag az energiamegmaradás elve sem teljesül, ami annak tudható be, hogy bomlásukkor a sejtek nagyobb energiaértékkel járultak hozzá a környezet tápanyagtartalmának növeléséhez, mint amekkora energiaadagot fejlődésük során összesen elfogyasztottak, vagyis elvontak a környezetüktől.

Alapfeltevéseink egy viszonylag állandó periódusú sejtszám-idő összefüggést eredményeztek. Ezt döntően a sejtek halálától a tápanyagforrásként való felhasználhatóságukig eltelt T_0 idő befolyásolta. Mindhárom ábra esetén $T_0 = 17$ volt, a periódusidő értéke pedig gyakorlatilag konstans $P=30$ -nak adódott. Két, egymást követő maximum között eltelt időt természetesen legnagyobb mértékben az szabja meg, hogy milyen időközönként töltődik vissza a rendszerbe a lebomlott sejtekből származó energia, valamint az, hogy az így nyert energiaadagokat milyen gyorsan éli fel a populáció, vagyis, hogy mekkora az egy sejt által elfogyasztott ε energiaadagok, az α szaporodási ráta és β halálzási ráta, valamint a λ paraméter értéke.

Megjegyzendő, hogy amennyiben a rekombinációs energiát oly módon vesszük be a modellbe, hogy a halott sejtek azonnal – bomlási idő nélkül – visszatöltődnek tápanyagként a rendszerbe a fenti hullámzó sejtszám-idő összefüggést nem tapasztaljuk. Átmenetileg – az újabb energia megjelenésével – felfüggesztődik a sejtek exponenciális csökkenése, azonban a sejtszám újbóli növekedését nem tapasztaltuk. Az energia bomlási idővel késleltetett visszajuttatása a rendszerbe tehát esszenciális a jelenség kialakulása szempontjából.

Ahogy a hullámok relatív amplitúdója a k paraméter értékétől függ, az abszolút nagyságuk az ε -tól, hiszen ha ε értéke kisebb, akkor a sejtek a rendelkezésükre álló energiát kisebb adagokban fogyasztják el, tehát adott kezdeti tápanyagmennyiség nagyobb populáció eltartására ad lehetőséget.

Az ábrákon jól látszik, hogy a megfelelő fázisokban valóban a levezetett függvényalakoknak megfelelő kapcsolat fedezhető fel az evési potenciál és a sejtszám között. Valamint az is, hogy a rekombinációs energia betöltődésekor az adott fázisra jellemző függvényalakot megtartva módosult egyenletek írják le N és P_e közötti összefüggést. Különösen jól látható mindez a 2.2.3.IIIb ábrán.

Összefoglalva tehát elmondható, hogy a bomlási T_0 idővel késleltetve bevezetett rekombinációs energia azt eredményezte, hogy éhezés esetén az idővel exponenciálisan lecsengő sejtszámra egy szinuszos jellegű függvény szuperponálódott, jellegzetes – a valóságban is tapasztalt – hullámzó populáció-kihalást eredményezve. Az exponenciális trend meredekségét a halálzási ráta értéke határozza meg, míg a hullámok relatív amplitúdóját döntően a sejtek bomlásakor visszanyert energia mértéke. A periodikus lecsengés amplitúdóját a bomlási idő szabja meg. A sejtszám időfüggését a halálzási fázisban egy hasonló jellegű függvény írja le:

$$N(t) = A \cdot (\sin \omega \cdot t) \cdot e^{-\lambda \cdot t}$$

[2.2.4a]

3 Változások a baktériumok DNS tartalmában

3.1 Bevezető

Az éhezés nem kizárólag a populáció sejtszámában okoz változásokat, hanem –mint ahogyan azt majd látni fogjuk- nagymértékben befolyásolja a baktériumok DNS tartalmát is. A prokarióták genomszerveződésének megértése a genetika kulcsfontosságú kérdései közé tartozik.

A probléma megválaszolásához esszenciális fontosságú megértenünk a prokarióták energia-transzformációs mechanizmusát. Prokarióták esetében az energia közvetlenül a cytoplazmában keletkezik és azonnal az anyagcserére fordítódik. Ez magyarázza, hogy kedvező körülmények esetén miért olyan gyors a baktériumok sejtciklusa⁷. Tekintettel arra, hogy az energia szinte azonnal a DNS-lánc szintézisére fordítódik, a prokarióták genommérete felülről korlátossá válik (ez az érték 9.5 Mb.(millió bázispár)), hiszen legtöbbször olyan limitált közegben léteznek, amelyben nincs energiaforrás a génállomány növelésére. A tápanyagokból nyert energia ugyanis keletkezésekor azonnal felhasználódik.

Éhezés esetén, amikor az egyedi sejtek a túlélésért küzdenek, a genomszerveződés leginkább meghatározóbb motívuma a genom méretének csökkentése, deléciók által^[8,4]. A sejtek kedvezőtlen körülmények esetén képesek a nem létfontosságú gének elvesztésére^[9]. Éhezési stressz esetén ez a folyamat nagy mértékben felgyorsul. Tekintettel arra, hogy egyes gének kiszórása véletlenszerűen következik be, egyes sejtek belehalnak, mások viszont gyorsabb szaporodási rátára tesznek szert, a “főlöslleges” géntől való megszabadulás által. Hosszantartó éhezés esetén azon sejtek, melyek megőrizték eredeti méretüket energetikai okokból kisselektálódnak.^[10] Az éhezésen átesett populáció sejtjeinek genomjának hossza kisebb, mint azoké, melyek tápanyagban gazdag környezetben nevelkedtek. Erre utal a bevezetőben említett kísérlet is, melyben *E. coli* populáció egyedeinek genomját különböző hosszúságú semleges DNS-szakasszal növeltük meg^[3] (1.2.2b ábra). Az említett – genom mért csökkentéséből adódó – szaporodási előny azonban nem következik be tápanyagban gazdag, stresszmentes környezetben. A tápanyag lebontásához ugyanis többnyire igen összetett génstruktúrára van szükség. Amennyiben a baktérium – pl. az éhezési stressz következtében – már nem rendelkezik a szükséges génekkel valószínűleg szelektációs hátrányba kerül azon sejtekkel szemben, akik a tápanyag lebontásához szükséges géneket

nem szórták ki. A hosszabb ideje éhező populáció sejtjei tehát optimális génszámmal rendelkeznek – abban az értelemben, hogy génjeik száma az életfunkciók fenntartásához minimálisan szükséges génszámmal egyezik meg.

Amennyiben a populáció a későbbiek folyamán ismételt tápanyaghoz jut, a baktérium sejtek képesek külső gének aktív felvételére és annak saját genomjukba való beépítésére.^[11] és ezáltal szaporodási előnyhöz juthatnak, amennyiben a beépített DNS-szekvenciákkal képesek lebontani a környezetben található tápanyagokat.

A baktériumok fent vázolt DNS-t kiszóró és külső DNS-t felvevő mechanizmusa, vagyis a genom méret csökkentése deléciók által, valamint új szekvenciák felvétele transzformációval és rekombinációval megmagyarázza a baktériumok limitált genom méretét és azt, hogy miért olyan elterjedt a horizontális géntranszfer⁸ a prokarióták körében.

Az *E-coli* baktérium faj a *Salmonella* baktériumokból fejlődött 100 millió év alatt. A kiindulási *Salmonella* csoportnak 4.8 millió bázispárnyi (Mb) DNS-e volt (genofor). 100 millió év alatt kívülről felvett 1.6 Mb szekvenciát (horizontális transzfer). Ebből azonban elveszett 1 Mb, vagyis nem fixálódott. Az eredeti *Salmonella* genomból is elveszett az idők folyamán 0.8 Mb, ugyanis az új élőhelyen nem volt rá szükség, minek következtében delécióval kisesett. A végeredményt tekintve a mai *E-coli* baktériumoknak 4.6 Mb nagyságú DNS-e van.^[12]

Célul azt tűztük ki, hogy a baktériumok genom méretében tapasztalt változásokat magyarázó törvényszerűségek helyességét ellenőrizzük oly módon, hogy ezen feltevések, mechanizmusok alapján funkcionáló modell valóban a tapasztalatokkal^[3,4] egyező eredményeket szolgáltat-e.

⁷ *E-coli* baktérium esetében az átlagos generációs idő 20 perc.

⁸ A baktérium képes a saját genomjába más fajok által kiszórt géneket beépíteni

3.2 *Genomszerveződés homogén energia jelenlétében*

A fenti elméleti megfontolásokkal összhangban az alábbiakban felállítunk egy matematikai modellt, mely reményeink szerint hűen adja vissza a kísérletek által alátámasztott eddigi eredményeket.

Jelen modellben az éhezés fogalmát abban az értelemben használjuk, hogy a baktériumok rendelkezésére álló tápanyagok mennyisége alacsony szaporodási rátát tesz lehetővé, valamint a tápanyag lebontásához kevés gén is elegendő. Ezen feltevést az indokolja, hogy jelenleg még nem kívánjuk feltételezni a tápanyag genom szempontjából való inhomogenitását, vagyis ezáltal biztosítjuk, hogy csökkenő genomméret esetén is le tudja bontani a baktérium a tápanyagot.

A bevezetőben említettek alapján^[9,10] limitált tápanyagmennyiség esetén a kevesebb – főlegesen – génnel rendelkező baktériumok szelekciós előnyt élveznek a nagyobb génnel rendelkezőkkel szemben. Ennek megfelelően modellünkben mindenképpen meghatározó szerep jut a szaporodási ráta génszámfüggésének.

Homogén energia alatt jelen esetben azt értjük, hogy a sejtek rendelkezésére álló tápanyag lebontásához – feltevésünk szerint – a baktériumok életfunkcióinak fenntartásához mindenképpen szükséges minimális génszám elegendő. Vagyis a rendszerbe egyféle tápanyag van jelen, ez pedig az ATP. (Az elnevezést az indokolja, hogy az ATP hasznosításához van szükség a legkevesebb génre.)

3.2.1 *A szaporodási ráta DNS tartalom függése*

A genomméret szintén befolyásolja a generációs időnek a hosszát. Azzal a feltevéssel élünk, hogy a sejt osztódásához szükséges energia arányos a génszámmal. Ugyanis a sejt megkettőződéséhez a teljes génállomány duplikálása szükséges (a sejt tömeg megkettőzése mellett), ami természetesen szintén energiaigényes folyamat. Ennek megfelelően feltételezhető, hogy a szaporodási ráta fordítottan arányos a baktériumok genomméretével.

Mindezek alapján a szaporodási ráta energia- és génszámfüggésére felírható a következő összefüggés:

$$\alpha = \frac{\ln 2}{\kappa} \cdot \frac{E}{g}$$

[3.2.1a]

Tehát a szaporodási ráta fordítottan arányos a sejt génszámával és egyenesen arányos a rendelkezésre álló, *adott DNS-tartalommal lebontható* energia mennyiségével. A sejtek rendelkezésére álló tápanyag csak abban az esetben képviselhet energiaforrást a sejtek számára, ha azt a saját génállományával le is tudja bontani. Ezt a lebontható energiamennyiséget jelöljük $E_{\text{funkcionális}}$ -val.

3.2.2 Matematikai modell és alapfeltevései

A populáció a további alaptulajdonságok figyelembevételével fejlődik:

- A modellben az éhezés fogalmát a bevezetőben említettek alapján használjuk.
- A rendszer jelenleg nem zárt, vagyis folyamatosan utántöltjük az energiát.
- Feltesszük, hogy a rendszerben levő tápanyag lebontásához az életfunkciók fenntartásához minimálisan szükséges génszám is elegendő.
- A kezdeti sejtpopuláció génszámeloszlása a következő: $N(g=g_0, t=0)=1$, valamint $N(g, t=0)=0$ ha $g \neq g_0$. Vagyis $t=0$ időpillanatban kizárólag $g_0=125$ génnel rendelkező sejtek alkotják a populációt.
- Időegységenként minden sejttel a következő események történhetnek:
 - α valószínűséggel osztódik. A szaporodási ráta értéke a már említett módon függ a sejt által lebontható energiától, illetve a sejt DNS láncának a hosszától, röviden a génszámától

$$\alpha = \mu \cdot \frac{E_{\text{funkcionális}}}{g}$$

[3.2.2a]

- β valószínűséggel meghal. Halálozásnak igen sokféle oka lehet: bekövetkezhet egy esszenciális gén elvesztése, éhezés, a táptalajban felszaporodott toxikus anyagok következtében. Ezen hatásokat – melyek egyforma valószínűséggel érnek minden baktériumot – jelenleg egyetlen konstanssal vesszük figyelembe
- δ_1 valószínűséggel „kidob” 1 gént. Vagyis génszáma csökken 1 db génnel. A valóságban többnyire nem egyetlen géntől szabadulhat meg a prokarióta sejt, azonban ez a különbség a modellünk eredményeit lényegileg nem befolyásolja
- δ_2 valószínűséggel „felvesz” 1 gént

- amennyiben egy sejt már mindössze $g_{min} = 80$ génnel rendelkezik és újabb deléció történik, akkor meghal. Tehát g_{min} génnél kevesebb génnel nem élhet sejt.

A fenti alapfeltevések figyelembevételére esetén a következő egyenlet szerint alakul a sejtek géneloszlásának időbeni fejlődése:

$$n(g, t+1) = n(g, t) - \delta_1 \cdot n(g, t) - \delta_2 \cdot n(g, t) + \delta_1 \cdot n(g+1, t) + \delta_2 \cdot n(g-1, t) + \alpha \cdot n(g, t) - \beta \cdot n(g, t) \quad [3.2.2b]$$

- ahol:
- $n(g, t)$ t időpillanatban g db. génnel rendelkező sejtek száma
 - $\delta_1 \cdot n(g, t)$ azon g génnel rendelkező sejtek, melyek $t - t+1$ -ben kiszórtak gént
 - $\delta_2 \cdot n(g, t)$ felvettek gént
 - $\delta_1 \cdot n(g+1, t)$ azon $g+1$ génnel rendelkező sejtek, melyek kiszórtak 1 gént, és ezáltal átkerültek a g db. génnel rendelkezők csoportjába
 - $\delta_2 \cdot n(g-1, t)$ $g-1$ génnel rend., melyek felvettek gént
 - $\alpha \cdot n(g, t)$ osztódott sejtek száma
 - $\beta \cdot n(g, t)$ elhalt sejtek száma

Az alapfeltevésekből következő 3.2.2b képlet az alábbi differenciálegyenlethez vezet:

$$\frac{\partial n}{\partial t} = \delta_1 \cdot \frac{\partial^2 n}{\partial g^2} + (\delta_1 - \delta_2) \cdot \frac{\partial n}{\partial g} + (\alpha - \beta) \cdot n \quad [3.2.2c]$$

Perem-, illetve kezdőfeltételek:

$$n(g, t) \geq 0, \quad \forall g, t \geq 0$$

$$n(g, t) = 0 \text{ ha } g < g_{min}$$

$$N(g=g_0, t=0) = 1, \text{ valamint } N(g, t=0) = 0 \text{ ha } g \neq g_0.$$

Az egyenletben szereplő tagok a következő tartalmat hordozzák ^[5]:

- Megmutatható, hogy amennyiben a kezdeti feltételünk: $N(g=g_0, t=0) = N_0$, valamint $N(g, t=0) = 0$ ha $g \neq g_0$ és a populáció a 3.2.2d egyenlet alapján fejlődik: (diffúziós egyenlet)

$$\frac{\partial n}{\partial t} = \delta_1 \cdot \frac{\partial^2 n}{\partial g^2} \quad [3.2.2d]$$

akkor a sejtszám időfüggésére az alábbi megoldás adódik:

$$n(g, t) = \frac{N_0}{\sqrt{4\pi \cdot \delta_1 \cdot t}} e^{-\frac{(g-g_0)^2}{4\delta_1 \cdot t}} \quad [3.2.2e]$$

vagyis a baktériumok géneloszlása minden időpillanatban normális eloszlást követ, melynek átlaga mindvégig $g=g_0$ -nál adódik, maximális értéke az idővel folyamatosan csökken, szórásnégyzete pedig nő lineárisan nő az idővel: $\sigma^2 = 2 \cdot \delta_1 \cdot t$.

- A $(\delta_1 - \delta_2) \cdot \frac{\partial n}{\partial g}$ tag következtében a Gauss—görbe maximuma folyamatosan tolódik el a kisebb génszámok felé, ugyanis deléció a génfelvételnél nagyobb valószínűséggel következik be a baktériumpopulációk esetében.
- Az $(\alpha(g, E) - \beta) \cdot n$ kifejezés a szaporodásnak és a halálzásnak tulajdonítható. Tekintettel arra, hogy a szaporodási ráta génszámfüggő, ez a tag sem szimmetrikus a génszám tekintetében, ugyanis az együttható értéke a kisebb gének esetén nagyobb.

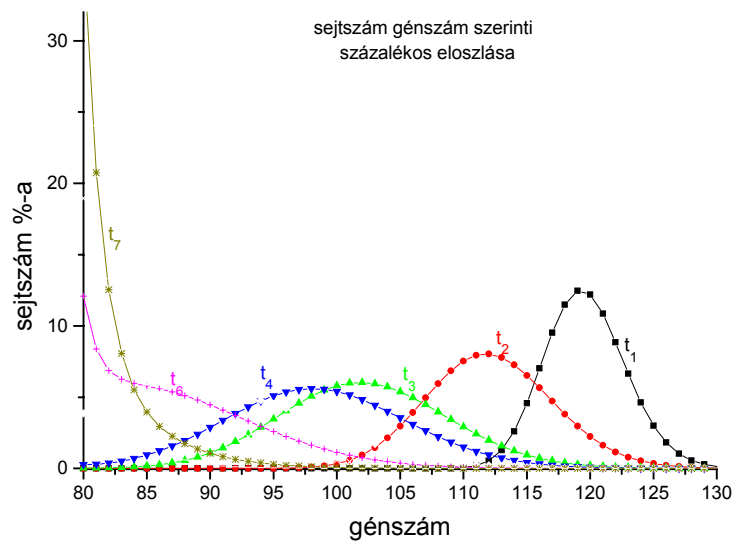
A fenti megállapításokra tekintettel tehát azt mondhatjuk, hogy a baktériumpopuláció génszámeloszlásának időfüggését egy folyamatosan növekvő szórással, a kisebb génszámok felé eltolódó maximummal rendelkező Gauss-görbét ír le, mindaddig, amíg a populációban nincsenek g_{min} -nel rendelkező sejtek. Ekkor ugyanis a szimmetria megbomlik, és a populáció fejlődését már nem a 3.2.2c összefüggés határozza meg.

3.2.3 A szimulációs eljárás eredményei

Az előző fejezetben tárgyalt modell feltevéseit felhasználva készítettünk egy számítógépes szimulációt a sejtpopuláció génszám szerinti eloszlásának időfüggéséről.

Tekintettel arra, hogy jelenleg a génszámdinamikára helyeztük a hangsúlyt, az eloszlást minden eltel időlépés után normáltuk 100-ra, hogy a sejtek populáción belüli arányát mutathassuk be.

$\beta = 0.01$ $\delta_1 = 0.04$ $\delta_2 = 0.03$ paraméterértékekkel – az α szaporodási rátára a 3.2.1a képlet érvényes, $\mu=10^{-5}$ – a következő eloszlást kaptuk: ($t_1 > t_2 > \dots > t_7$)



[3.2.3a ábra]

3.2.4 Diskusszió

Látható, hogy az eloszlás a 3.2.2c egyenletnek megfelelően minden időpillanatban egy-egy Gauss-görbét eredményez, amely az idő múlásával egyre nagyobb szórásúvá válik, illetve a várható érték eltolódik a minimális génszám felé. A $g_{min.}$ közelében az eloszlás szimmetrikus volta megbomlik, tekintettel arra, hogy $g_{min.}$ alatt már nem találhatunk sejtet.

Amennyiben a szimulációs eljárást tetszőleges, az előzőektől eltérő paraméterekkel lefuttatjuk, azt tapasztaljuk, hogy az átlagos génszám csökkenésének sebességét a δ_1 - δ_2 valószínűség, valamint a szaporodási ráta génszámfüggése befolyásolja.

A szimmetria a minimális génszámnál érhető módon felborul, ugyanis a modell feltevései alapján gyakorlatilag az idő előrehaladtával majdnem a teljes populáció $g_{min.}$ -el fog rendelkezni, tekintettel arra, hogy a szaporodási ráta szempontjából ez a legkedvezőbb állapot. Valójában a populáción belüli átlagos génszám a fenti értéknél ($g_{min.}$) valamivel nagyobb lesz, azonban ezt részletesebben a 3.3.2 fejezetben vizsgáltuk.

3.3 Inhomogén energia modellje

Modellünk mindeddig feltételezi a sejtek rendelkezésére álló tápanyag minőségének homogenitását, abban az értelemben, hogy lebontásához nem tesz különbséget a baktériumok genomját alkotó gének között, mindössze azt feltételezi, hogy az életfunkciók fenntartásához szükséges minimális génszámmal a tápanyag már felhasználható. Az eddigi modelljeink azonban csak limitált tápanyagmennyiség esetén voltak képesek modellezni a populáció génszámának időbeni alakulását. A valóságban tapasztalható tápanyagtartalom-fluktuálást – a tápanyag hiánya, majd újbóli megjelenésének váltakozása hosszabb-rövidebb időtartamok alatt jellemzi a valódi életkörülményeket – nem tudták kezelni. Ezt a hiányosságot szeretnénk most kiküszöbölni az alábbi módon:

- álljon a sejtek rendelkezésére kevés ATP, vagyis olyan energia, melyet $g_{min.}$ -el is fel tudnak használni.
- t_E idő elteltével vigyünk a rendszerbe olyan tápanyagot, amely lebontásához mindenképpen szükséges $g_E = 100$ gén. Tehát azon sejtek, melyekre $g > g_E$ teljesül egyrészt a génszám tekintetében a kisebb génszámmal rendelkezőkhöz képest szaporodási hátránnyal, másrészt a számukra nagyobb felhasználható energiaforrás miatt szaporodási előnnyel rendelkeznek. Vagyis:

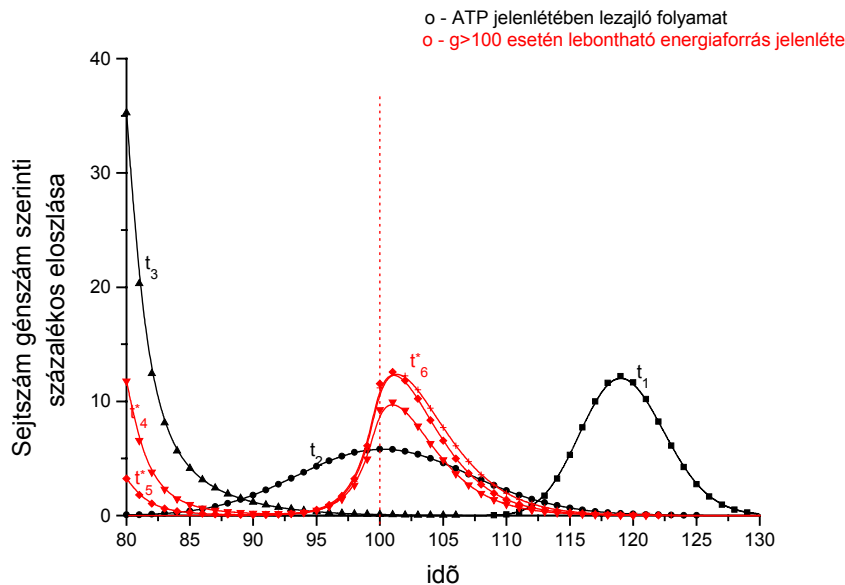
$$\alpha(g=100, E(g_{funkcionális}=100)) = k \cdot \alpha(g=g_{min}, E(g_{min})=ATP)$$

ahol k értéke 1-nél nagyobb.

3.3.1 Sejtek génszám szerinti eloszlásának időfüggése

A módosított alapfeltevések lényegében azt az esetet szimulálják, amikor éhezés után a sejtek ismét energiához jutnak, minek következtében már nem jelent szaporodási előnyt a génszám g_E alá csökkentése.

Az előbbi paramétereket megtartva a következő génszámeloszlás nyerhető:



[3.3.1a ábra]

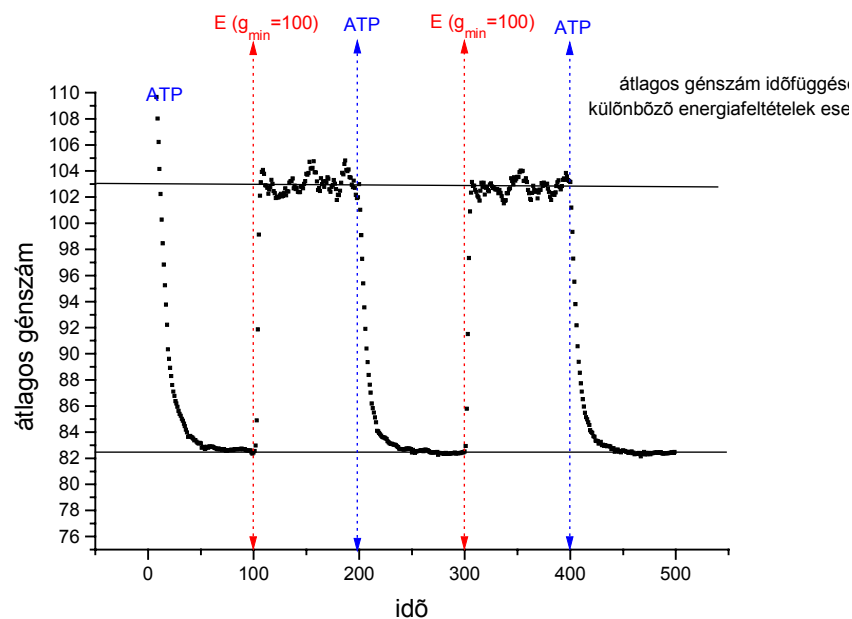
t_E időpillanatig a már ismert folyamat szerint csökken a sejtek génszáma, majd a nagy energiaforrást jelentő tápanyag rendszerbe juttatását követően ismételen növekedni kezd azon sejtek populáción belüli aránya, melyek $g_E = 100$ -nál több génnel rendelkeznek, vagyis hasznosítani tudják az új tápforrást. Mindez megtörténhet oly módon, hogy a populációban még $g > g_E$ génnel rendelkező sejtek túlnövik társaikat, illetve ha ezek aránya már szinte elenyésző, akkor a véletlenszerűen bekövetkező génfelvételnek köszönhetően egyes sejtek visszatöltik ^[11] azokat a géneket, melyek által már lehetővé válik a számukra az új tápanyag lebontása.

Mindkét modell sajátossága azonban, hogy bizonyos idő elteltével a sejtek génszám szerinti – normált – eloszlása stacionáriussá vált, vagyis előbb-utóbb bekövetkezik egy **dinamikus egyensúly**. Vagyis a szimulációt tetszőleges paraméterekkel lefuttatva azt tapasztaltuk, hogy bizonyos idő elteltével megszűnik a génszámeloszlás időbeni fluktuációja és egy időben állandó görbe rajzolódik ki. Ez azonban nem azt jelenti, hogy deléció, génfelvétel, halálozás és szaporodás nem következik be a populáción belül, hanem azt, hogy a fenti folyamatok gyakorlatilag egyensúlyba kerülnek abban az értelemben, hogy minden időpillanatban tetszőleges génszámmal rendelkező sejtekből ugyanannyi szór ki, vagy vesz fel gént, mint ahányan éppen a fenti génszámuk közzé kerülnek – hasonló folyamatok következtében – a populációt alkotó többi baktérium közül. Ez az egyensúly mindaddig fennáll, amíg a paraméterek értékei nem változnak. (pl. csökken az energia értéke)

Abban az esetben, ha a populáció fejlődését a 3.2.2d képlet írná le hasonló dinamikus egyensúly csak akkor következne be, ha a szórás már nem nőhetne, vagyis minden lehetséges génszámmal pontosan egy sejt rendelkezne.

3.3.2 Átlagos génszám időfüggése

Az előző fejezet feltevéseit megtartva jelen pontban azt vizsgáljuk, hogy miként alakul a populáció átlagos génszáma az idő függvényében, miközben periodikusan váltakozik a csak ATP-t tartalmazó tápanyag, energiaszegény, és a tápanyagban gazdag, azonban nagyobb genomméretet igénylő állapot. Kezdetben kizárólag ATP áll a sejtek rendelkezésére, majd $t=100$ időegység elteltével betöltjük a rendszerbe az E energiaforrást, melynek felhasználásához azonban $g_E = 100$ gén minimálisan szükséges, melyet azonban újabb $t=100$ időegység elteltével elvonunk. Amikor a rendszerben nem kizárólag ATP van jelen a génszám és az adott genommérettel lebontható energia közötti összefüggést egy lépcsős függvény adja meg: $E(g)$ értéke g_{min} -ig konstans, majd $g > g_E = 100$ esetén az előbbi érték k -szorosára növekszik.



[3.3.2a ábra]

Amennyiben a baktériumok genomszerveződési dinamikájára a 3.2.2c egyenletet alkalmazzuk, akkor a vártnak – és a kísérleti tapasztalatoknak – megfelelően éhezés esetén a sejtek géneloszlásának maximuma a minimális génszám felé tolódik el. Az előző, valamint a 3.2.3a ábra alapján ez az érték valamivel nagyobb, mint g_{min} , hiszen a lehető legkisebb génszám biztosítja ugyan a legnagyobb szaporodási rátát, azonban az eloszlás szimmetriája

megettörnek. Ennek következtében $n(g_{min}, t)$ értéke nem növekedhet azáltal, hogy a kevesebb génnel rendelkező sejtek felvesznek külső gént, átkerülve ezáltal az egyel nagyobb génszámmal rendelkezők kategóriájába. Vagyis ATP jelenlétében a populáció átlagos génszáma valamivel nagyobb lesz, mint g_{min} . ATP-től különböző tápanyag jelenléte esetén hasonló megfontolások alapján g_E -nél szintén nagyobb lesz az átlagos génszám.

A 3.3.2a ábra szemléletesen mutatja a prokarióták genomméretének fluktuálását a tápanyag függvényében. Kis energiaértékű, kevés génnel lebontható tápanyag esetén a baktériumok átlagos génszáma a minimális érték közelire csökken, majd a nagyobb energiaforrás megjelenésével ez az érték folyamatosan nő, hiszen azon baktériumok, melyek képesek lebontani az új tápanyagot, szaporodási előnyhöz jutnak. A folyamat a tápanyag jellegének és energiatartalmának változásával párhuzamosan ismétlődik.

4. A modellek egyesítése: genomméret és szaporodás

Egyesítsük a sejtek genomméretében történő változásokat leíró modellt a 2. fejezetben tárgyalt szaporodási modellel. Ennek megfelelően a továbbiakban nem normaljuk a populáció génszámeloszlását, illetve az energia értékét nem tekintjük konstansnak, hanem az idővel, a populáció méretével arányosan folyamatosan csökken. A rendszerünk tehát ismételten zárt. Az energia változását a sejtszám és az energia – melyek csatolt változók – alakulása szabja meg.

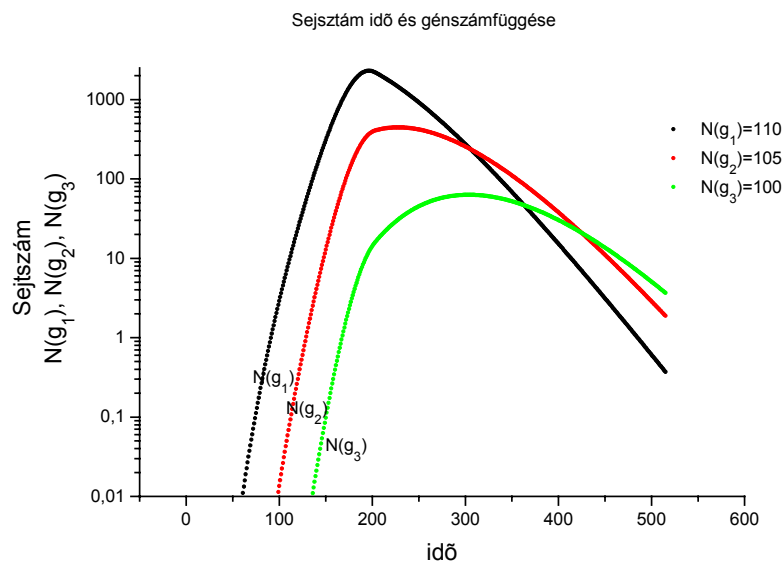
Mindezek alapján arra keressük a választ, hogy tápanyagpótlás hiányában óhatatlanul bekövetkező éhezés esetén miként alakul a populáción belül a baktériumok genommérete.

Kezdeti feltételünk a 3. fejezetben már megszokott:

$$N(g=g_0, t=0)=1, N(g, t=0)=0 \text{ ha } g \neq g_0.$$

A paraméterek értékei a következők: $\delta_1=0.05$, $\delta_2=0.01$, $\beta=0.02$, $\varepsilon=10^{-5}$, $\mu=1$.

A szimuláció ezen paraméterekkel a következő ábrát eredményezi:



[4a ábra]

A kezdeti feltételnek megfelelően a kisebb génszámmal rendelkező sejtek később jelennek meg. A növekedési fázis nem tiszta exponenciális görbe, mert az adott génnel rendelkező sejtek számát nem kizárólag az osztódás befolyásolja, hanem a folyamatosan bekövetkező deléciók és génfelvételek is növelhetik számukat.

Az igazán figyelemreméltó a halálozási fázis, vagyis amikor a telítődést követően csökkenni kezd a sejtszám. Megfigyelhető, hogy a nagyobb génszámmal rendelkező sejtek

nagyobb halálozási rátával rendelkeznek – ahogyan az a bevezetőben említett kísérletnek^[3] (1.2.2b ábra) megfelelően várható is volt.

A 4a ábra alapján a halálozási ráták értékei:

$$\beta_{g_1} = 0.01303 \pm 0.00005$$

$$\beta_{g_2} = 0.01099 \pm 0.00002$$

$$\beta_{g_3} = 0.01013 \pm 0.00008$$

A kisebb génszámmal rendelkező sejtek tehát az energia csökkenésével nem csak szaporodási előnnyel rendelkeznek, hanem már a halálozási fázisban is megtartják a populáción belüli viszonylagos előnyüket azáltal, hogy a halálozási rátájuk is alacsonyabb! A szimuláció által szolgáltatott értékekből számított halálozási ráták mindegyike kisebb a halálozási ráta paraméter szerinti 0.02-es értékénél, ugyanis a g génnel rendelkező sejtek száma folyamatosan csökken (a kiszórás következtében is), mégis a kevesebb génnel rendelkezők csoportjába folyamatosan kerülnek – deléciók által – nagyobb génszámmal rendelkező baktériumok közül.

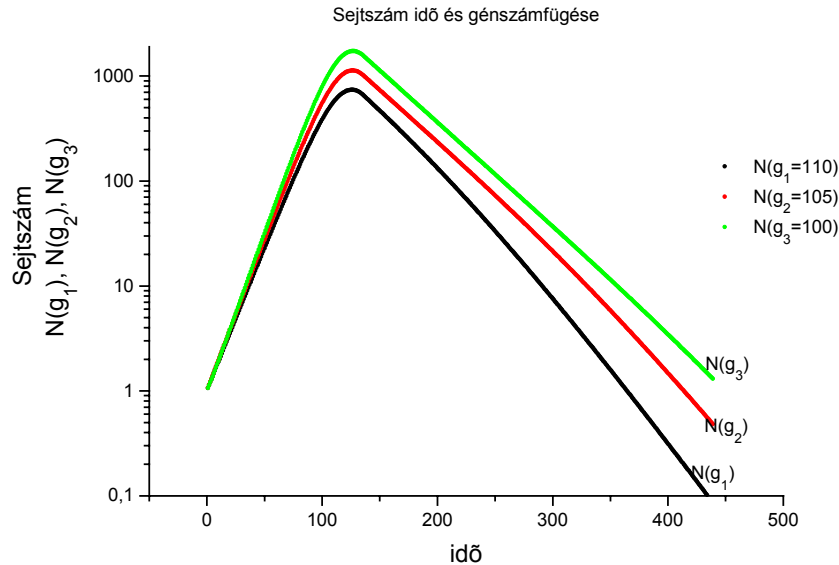
A kisebb génszámmal rendelkező sejtek maximuma alacsonyabb, mint a nagyobbaké, de ez mindössze a választott paramétereknek tulajdonítható, ugyanis az energia valamivel azután, hogy a deléciók következtében a kisebb génszámmal rendelkező baktériumok is megjelentek a rendszerben kifogyott. ($t=180$) Meggátolva azt a lehetőséget, hogy a kisebb génszámúak túlnójják a társaikat.

Vizsgáljuk most azt az esetet, amikor kezdeti feltételeink:

$$N(g, t = 0) = 1 \quad \forall g \in [100, 120] ; N(g, t = 0) = 0 \quad \forall g \notin [100, 120]$$

Ezáltal a vizsgált génszámmal rendelkező sejtek számának időfüggését nem befolyásolja az a tény, hogy a kisebb genomméretű baktériumok eleve később jelentek meg a populációban.

A szimuláció eredménye a következő:



[4b ábra]

A fenti ábrán jól látszik, hogy a kisebb génszámú sejtek nagyobb szaporodási rátával rendelkeznek, így a tápanyag kimerüléséig ($t=120$) lényegesen nagyobb részt képeznek a populáción belül.

Az adatokból nyert halálozási ráta értékek:

$$\beta_{g_1} = 0.01303 \pm 0.00005$$

$$\beta_{g_2} = 0.01099 \pm 0.00007$$

$$\beta_{g_3} = 0.01012 \pm 0.00009$$

A halálozási fázisra illesztett egyenesek meredekségéből megállapítható, hogy szignifikáns különbség mutatkozik a halálozási ráták között. A nagyobb génszámmal rendelkező sejtek halálozási rátája magasabb.

5. Összefoglalás

Néhány új kísérleti eredmény^[3,4] azt sugallja, hogy a baktériumok szaporodási dinamikája jelentősen különbözik attól, mint ami napjainkban a biológusok körében elfogadott.

A halálzási fázisban a sejtszám nem exponenciális görbe mentén csökken, hanem azáltal, hogy éhezési stressz esetén a sejtek képesek elfogyasztani a halott baktériumok anyagait, a halálzási görbe hullámzó lesz. (1.2.2a és 2.2.3I-IV ábrák) Vagyis az új energiaforrásnak köszönhetően a sejtszám periodikusan növekedésnek indul, melyet azonban ismételt hosszabb-rövidebb halálzási fázis követ. A folyamat mindaddig ismétlődik, amíg a sejtszám végül valóban minimálisra csökken.

Mindamellet, hogy a populáció mérete éhezés esetén nem egyszerű exponenciális görbe mentén csökken, figyelemreméltó tulajdonságot mutat a populáció átlagos génszáma is. Az éhezési stressz következtében a kisebb génnel rendelkező sejtek szelekciós előnyt élveznek a nagyobb gennossal rendelkező társaikkal szemben. Azonban ha a populáció ismételt tápanyagban – melynek lebontásához feltételezhetően jóval komplexebb génállomány szükségeltetik, mint az alap-életfunkciók fenntartásához – gazdag környezetbe kerül szelekciós előnyt azok a sejtek fognak élvezni, melyek képesek fel is használni a meglévő energiaforrást. (3.3.2a ábra) A tápanyag lebontásához szükséges géneket vagy véletlenszerű folyamatok révén a környezetből veszik fel, vagy pedig még nem szórták ki őket és még rendelkeznek velük.

A populációk teljes mérete mellett a különböző génnel rendelkező sejtek számának időbeni alakulását vizsgálva arra a megállapításra jutottunk, hogy éhezés esetén a kevesebb génnel rendelkező egyedek a halálzási fázisban is szelekciós előnyt élveznek, tekintettel arra, hogy kisebb a halálzási rátájuk. (4a-b ábra)

Tehát természetes körülménye között élő – vagyis szinte folyamatosan éhező – baktériumpopulációk sejtjei különböző génszámmal rendelkeznek, valamint a halálzási görbékük nem egyszerű exponenciális lecsengést mutat.

Irodalomjegyzék

1. Prescott, L., Harley, J., Klein D. 1996 *Microbiology*, 3rd ed. WBC, Dubuque, IA, pp37-73
2. Cavalier-Smith, T. 1987 The origin of eukaryotic and archaebacterial cells. *Annals of the New York Academy of Sciences* **503**:361-372
3. Vellai T., Takács K., Vida G. 1998 A new aspect to the origin and evolution of eukaryotes, *J. Mol. Evol.* **64**, pp 499-507.
4. Morita, Richard Y. 1998 Low-Nutrient Environments, *Encyclopedia of Microbiology*, vol.2
5. Murray, J.D. 1993 Mathematical biology, *Springer Verlag* pp 5-20.
6. Redfield R. 1993 Genes for breakfast: the have-your-cake-andeat-it-too of bacterial transformation. *Journal of Heredity* **84**: 400-404
7. Stewart G., Carlson C. 1986 The biology of natural transformation. *Annual Review of Microbiology* **40**:211-235
8. Bridges, B. 1997 Hypermutation under stress. *Nature* **387**:557-558
9. Albert, B., Godelle, B., Gouyon, P.-H. 1998 Evolutuon of the Plant Mitochondrial Genome: Dynamics of Duplication and Deletion of sequences, *J. Mol. Evol.* **46**:155-158
10. Stouthamer A, Kooijman, S. 1993 Why it pays for bacteria to delete disused DNA and maintain megaplasmids. *Antonie Van Leeuwenhoek* **63**, 39-43.
11. Solomon, J., Grossman A. 1998 Who's competent and when: regulation of natural genetic competence in bacteria. *Trends in Genetics* **12**:150-155
12. Redfield, R., Schrag, M., Dean A. 1998 The evolution of bacterial transformation: sex with poor realtions. *Genetics* **146**:27-38
13. Lawrence,J.,Ochman,H 1998 Molecular archeology of the *Escherichia coli* genome. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **95**:9413-9417