

## ДИНАМІКА КЛІТИННИХ СИСТЕМ *in vitro*. ІІІ. ГІПОТЕЗА САМОКЕРУВАННЯ ПРОЦЕСАМИ ДИФЕРЕНЦІАЦІЇ КЛІТИН ТА ЇЇ ФЕНОМЕНОЛОГІЧНА РЕАЛІЗАЦІЯ НА ПРИКЛАДІ КУЛЬТУРИ ТКАНИН РАУВОЛЬФІЇ ЗМІІНОЇ

Н. Ю. Мірюта  
В. А. Кунах

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Київ

E-mail: kunakh@imbg.org.ua

Отримано 27.03.2012

З використанням феноменологічних рівнянь описано динаміку клітинних систем *in vitro* на прикладі високопродуктивного штаму К-27 культури тканин раувольфії зміїної — продуцента протиаритмічного індолінового алкалоїду аймаліну. У стандартних умовах вирощування штаму та зі зміною їх за оптимізації умов досліджено залежність динаміки показників продуктивності від динаміки часток клітин із різним вмістом ДНК в ядрі та різною площею ядра на пасажному ієрархічному рівні, а також залежність динаміки часток клітин із різним вмістом ДНК в ядрі та різною площею ядра від динаміки показників проліферації (кількості мітозів та амітозів) на циркадному рівні. Побудова математичних моделей з використанням диференціальних характеристик засвідчила, що динаміка продуктивності культури тканин раувольфії зміїної залежить від динаміки кількості клітин з різним відносним вмістом ДНК в ядрі. У змінених, особливо стресових, умовах динаміка питомої швидкості накопичення алкалоїдів залежить від динаміки кількості клітин з високим вмістом ДНК в клітинних ядрах, а в стандартних умовах — від динаміки кількості клітин зі вмістом ДНК, близьким до 2С — 4С. Згідно з нашими даними, застосовані біотехнологічні методи та прийоми збільшення продуктивності культури тканин, зокрема зміна умов вирощування, ґрунтуються на механізмах динамічної спадкової пам'яті. Побудовано мережі взаємодії відповідних осциляторів для різних умов вирощування динамічної системи клітин штаму К-27, які є феноменологічною реалізацією епігенної мережі, за допомогою якої гіпотетично здійснюється самокерування клітинною системою.

**Ключові слова:** культура тканин рослин, *Rauwolfia serpentina*, клітинні популяції *in vitro*, епігенні мережі та їх феноменологічна реалізація.

Дослідження функціонування мереж, які контролюють процеси, що відбуваються у клітині та в організмі, розгалужується на дві задачі: управління (керування) та виконання. Керування охоплює генетичний та функціональний епігенетичний рівень (для організму) і динамічний епігенетичний рівень (для клітини), виконання — метаболічний і модифікаційний епігенетичний рівень [1, 2]. Кожен рівень як керування, так і виконання (феноменологічна реалізація схеми керування) є організованим у вигляді циклів та гіперциклів [3]. Враховуючи уявлення та термінологію сучасної математичної біології про генні мережі та їх трансформацію у ме-

режі наступного рівня організації — епігенні мережі (тобто ті, які у динамічний спосіб забезпечують динамічну та функціональну спадкову пам'ять) [4], ми спробували з'ясувати, які саме зміни яких параметрів і на якому рівні відбуваються за вирощування клітин в умовах культури *in vitro*.

На експериментальному матеріалі, описаному в роботах [5–8], здійснено аналіз показників Ляпунова для фазових траєкторій динаміки часток клітин із різним вмістом ДНК в ядрі та різною площею ядра на пасажному й циркадному ієрархічних рівнях і динаміки показників проліферації (кількості мітозів та амітозів) на циркадному

ієрархічному рівні за різних умов вирощування високопродуктивного штаму К-27 *Rauwolfia serpentina* — продуцента протіаритмічного алкалоїду аймаліну. Метою роботи було дослідження станів стійкості під час руху фазової точки від одного стійкого стану до іншого впродовж пасажу на різних ієрархічних рівнях за різних умов культивування штаму К-27 *R. serpentina*. Запропоновано гіпотезу про керування клітинною системою на різних ієрархічних рівнях за допомогою комбінаторних алгоритмів, кожен з яких описує роботу функціонального епігена, на основі дослідження їх феноменологічної реалізації.

### Матеріали і методи

**Об'єкт дослідження.** Вивчали гормонезалежний штам К-27 культури тканин *R. serpentina*, умови вирощування і методи вивчення якого викладено у попередніх публікаціях [5–14].

Штам є гомогенним і стабілізованим за ознакою «накопичення індолінових алкалоїдів» [9–11]. Показано цитогенетичну і молекулярно-генетичну стабільність штаму К-27 як за зміни умов культивування, так і за тривалого вирощування у стабільних умовах [10, 12, 13]. Завдання даного дослідження полягає в кількісному визначенні клітин (так званого «проліферативного пулу»), які здатні ділитися і впливають на значення показника «накопичення біомаси», та клітин, що задіяні у синтезі індолінових алкалоїдів і впливають на значення показника «накопичення індолінових алкалоїдів». Окрім того, враховували субпопуляцію спеціалізованих клітин — трахеїдних елементів, яка може становити наприкінці пасажу до 60% усіх клітин [9, 14].

Схему досліджу, результати якого аналізували, наведено на рис. 1.

Визначені за відносним вмістом ДНК у ядрі та площею ядерця характеристики розбили на класи, розміри яких для кожної характеристики та частки класу відповідних характеристик з урахуванням повного об'єму вибірки подано в попередніх роботах [5–8]. Порівняння динаміки різних характеристик (сил і потоків на кожному з досліджених ієрархічних рівнів) проводили методом парної лінійної регресії [15].

**Математичні методи.** Аналіз стійкості стаціонарного стану пов'язаний з параметром порядку та принципом підпорядкованості і здійснюється на підставі аналізу показників Ляпунова. Дотепер такий аналіз проводили для динамічних рівнянь певного вигляду [16]. Однак цього не завжди до-

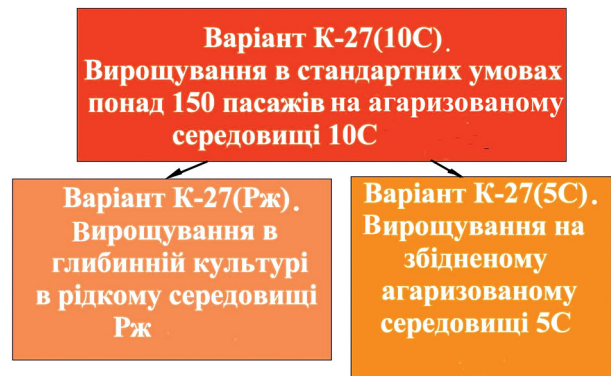


Рис. 1. Схема досліджу з вивчення станів стійкості клітинної системи штаму К-27 *Rauwolfia serpentina* на пасажному ієрархічному рівні за різних умов вирощування

статньо під час дослідження та узагальнення великої кількості експериментального матеріалу, тому для опису складних експериментальних систем було впроваджено поняття «атрактор» [17]. Для аналізу досліджуваної клітинної системи ми застосовували такі теоретичні поняття, як атрактор та фазова траєкторія, подібно до того, як це робили дослідники популяцій різних видів організмів [18]. Для вивчення стійкості фазових траєкторій було досліджено показники Ляпунова [3, 16].

Ми проаналізували досліджувану систему як двовимірну, враховуючи два показники Ляпунова (для попарно задіяних субпопуляцій клітин за однією характеристикою) для різних характеристик на пасажному та циркадному рівні її динаміки. Для визначення показників Ляпунова динаміку чисельного складу різних субпопуляцій добирали за допомогою експоненційної залежності методом найменших квадратів, визначали коефіцієнти кореляції і відповідні значення  $F$ -розподілу, порівняння яких з верхніми точками  $F$ -розподілу дає можливість з'ясувати, є показник Ляпунова нульовим чи ненульовим [15]. На підставі значень показників Ляпунова за класифікацією Пуанкаре [3, 16] було побудовано ланцюжки руху за особливими точками потенційної поверхні для різних варіантів вирощування.

### Результати та обговорення

#### *Стійкість як системи ансамблю клітин штаму К-27 раувольфії змінної в різних умовах вирощування*

Теоретичні основи дослідження стабільності клітинних систем закладено в роботі Зотіних [19]. Ми в своєму дослідженні беремо до уваги таке. Якщо відхилення від

рівноважного стану не є значними під час пересаджування для найбільш рівноважного варіанта вирощування штаму К-27(5С) [5], то для більш жорстких умов вирощування вони можуть виявитись такими, що відводять клітинну систему досить далеко від рівноваги, і це може призводити до зміни коефіцієнтів адаптації [6]. Тоді маємо аналізувати фазові траєкторії кожної із субпопуляцій для кожного з варіантів вирощування культури тканин. Приклади таких фазових траєкторій для дослідженої системи як на циркадному, так і на пасажному рівнях наведено у попередніх повідомленнях [20, 21].

Раніше було показано, що потоки трьох основних характеристик вивченого штаму (накопичення біомаси, трахеїд та індолінових алкалоїдів) визначаються силами, які являють собою динаміки частки клітин певних субпопуляцій [5, 6]. Тут ми зробили спробу отримати й оцінити фазові траєкторії для двокомпонентних систем — субпопуляцій клітин з різним відносним вмістом ДНК та різною площею ядерця. До них належать перша субпопуляція — клітини, ядра яких містять 1–2,99 С, і друга — 3–6,99 С за відносним вмістом ДНК в ядрі, субпопуляції клітин з різною площею ядерця: комбінація другої (12–16,9 мкм<sup>2</sup>) і третьої (>17 мкм<sup>2</sup>) субпопуляцій клітин для першої складової варіанта К-27(10С) або першої (<10,9 мкм<sup>2</sup>) і другої (12–16,9 мкм<sup>2</sup>) субпопуляцій — для другої складової варіанта К-27(10С). Результати цього дослідження наведено в [21].

Такий самий аналіз здійснено для циркадного рівня в околі точки, яка відповідає нульовій швидкості росту для тих самих умов вирощування, що й на пасажному рів-

ні. Приклад наведено у [20]. Раніше було встановлено наявність лінійної залежності на циркадному ієрархічному рівні між потоками (динамікою кількісного складу виділених субпопуляцій клітин за двома показниками, визначеними незалежно: відносний вміст ДНК в ядрі і площа ядерця) та силами (динамікою популяцій клітин, що діляться шляхом мітозу —  $X_1$ , і тими, які щойно вийшли зі стадії поділу —  $X_2$ ) [7, 8]. Тому було також проаналізовано показники Ляпунова для фазових траєкторій двокомпонентної системи, утвореної субпопуляціями клітин, що діляться як мітозом, так і амітозом [20].

Наведені у [20, 21] приклади та зведені в таблиці дані можуть означати, що під час переходу від одного ієрархічного рівня до іншого (від циркадного до пасажного) для варіанта вирощування на агаризованому середовищі К-27(10С) зміни видів атракторів можна подати у вигляді такого ланцюжка руху за станами системи, де особлива точка є сідловою тільки для потенціальної поверхні, яку утворюють субпопуляції з різним відносним вмістом ДНК (ввДНК) в ядрі на циркадному рівні, а стійкий фокус є характерним для потенціальної поверхні, що її утворюють субпопуляції з різною площею ядерця на пасажному рівні (рис. 2).

Із поданої на рис. 2 схеми випливає, що в стандартних умовах вирощування (варіант К-27(10С) найбільш значущою характеристикою для збільшення навіть невеликої флуктуації (зміни) кількості клітин у субпопуляціях на циркадному рівні є відносний вміст ДНК у ядрі. Кількісний перерозподіл між субпопуляціями «диплоїдних» і «тетраплоїдних» клітин, зумовлений, очевидно,

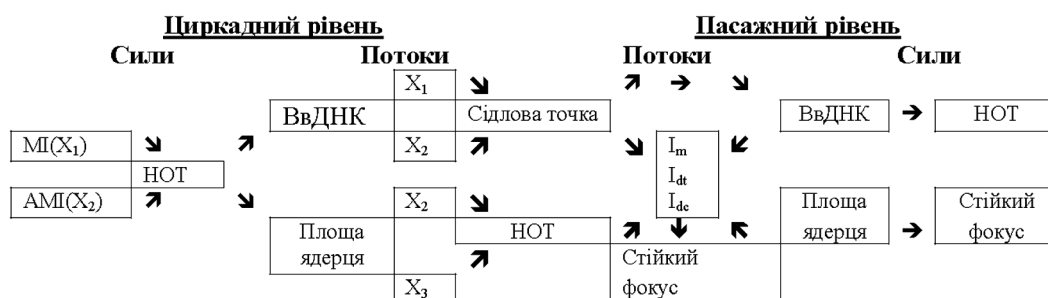


Рис. 2. Ланцюжок руху за станами системи для варіанта К-27(10С),

де  $I_g$  — потік біомаси,  $I_{dt}$  — потік трахеїд,  $I_{dc}$  — потік алкалоїдів, НОТ — нестійка особлива точка (типу центр). Силами, які забезпечують ці потоки, є динаміка субпопуляцій клітин з різним ввДНК та з різною площею ядерця на пасажному рівні; динаміка субпопуляцій клітин з різним ввДНК та різною площею ядерця — потоки на циркадному рівні; силами на цьому рівні є динаміка  $MI(X_1)$  (мітотичного індексу) та  $AMI(X_2)$  (амітотичного індексу); особлива точка є сідловою тільки для потенціальної поверхні, яку утворюють субпопуляції з різним відносним вмістом ДНК в ядрі (ввДНК) завдяки комбінації динаміки  $MI(X_1)$  та  $AMI(X_2)$  на циркадному рівні

процесами реплікації ДНК, імовірно вносить «збурення» до системи субпопуляцій клітин, різних за характеристикою «біосинтетичні процеси» (ознака «площа ядерця»), яка рухається до фокального стоку (стійкий фокус) на пасажному рівні. Це, у свою чергу, спричинює рух системи за трьома потоками (питомі швидкості накопичення біомаси, трахеїд та індолінових алкалоїдів), які враховують задіяні субпопуляції за обома значущими характеристиками (ввДНК і площа ядерця), до стоку (стійкий фокус) на пасажному рівні. Слід зазначити, що логіка переходу від однієї потенціальної поверхні до іншої з переходом від одного гетерархічного рівня до іншого, пов'язана з наявністю атракторів різних видів, зумовлюється стійкістю даної системи від одного пасажу до іншого, адже вона існує в цьому середовищі понад 40 років (більше 400 пасажів, що становить близько 2 000 клітинних поколінь).

Аналогічно було отримано ланцюжок руху станів системи за потенціальною поверхнею для умов вирощування в рідкому середовищі Рж — варіант К-27(Рж) (рис. 3). За умов вирощування в рідкому середовищі Рж найбільш значущою характеристикою для збільшення навіть невеликої флуктуації (зміни) кількості клітин у субпопуляціях є площа ядерця, яка характеризує біосинтетичні процеси на циркадному рівні. Кількісний перерозподіл між субпопуляціями клітин з різною біосинтетичною активністю імовірно має наслідком утворення стаціонарної системи субпопуляцій «диплоїдних» і «поліплоїдних» клітин та субпопуляцій клітин з різною інтенсивністю біосинтетичних процесів. Це, у свою чергу, приводить у рух сис-

тему за трьома потоками (питомі швидкості накопичення біомаси, трахеїд та індолінових алкалоїдів), які враховують задіяні субпопуляції за обома значущими характеристиками (ввДНК і площа ядерця), до стоку (стійкий фокус) на пасажному рівні. Відмінності від системи, описаної вище для варіанта К-27(10С), можна пояснити тією обставиною, що система клітин, перенесена із середовища 10С в рідке середовище Рж потрапляє у стресові умови принаймні за двома показниками: глікемічний стрес і гідродинамічний стрес.

Можливо, саме те, що клітинна система не є атрактором на першому часовому відрізку (0–20-та доба) — за рівнем плоідності (нестійкий тор) і на другому відрізку (20–45-та доба) — за рівнем біосинтетичних процесів на пасажному рівні, призводить до фокального стоку для параметрів продуктивності [20, 21]. Це не виключає того, що залежність пасажної частини ланцюжка від циркадної складніша, ніж конкретний вплив збурення певної «гілочки» на інші «гілочки» дерева, яке нагадує відповідна мережа (рис. 4, 5). Зокрема, у дослідженні, проведеному на дріжджах за допомогою методу real time PCA (principle component analyses) [17], зроблено висновок про те, що інформація від клітини до клітини передається, найімовірніше, за допомогою концентраційних осциляцій з певними параметрами субпопуляцій різних макромолекул, здатних пройти крізь шлюз певного розміру.

Отже, джерелом можливих змін у процесах диференціації клітин систем для варіанта К-27(10С) є флуктуації кількості клітин з різним рівнем плоідності, для варіанта

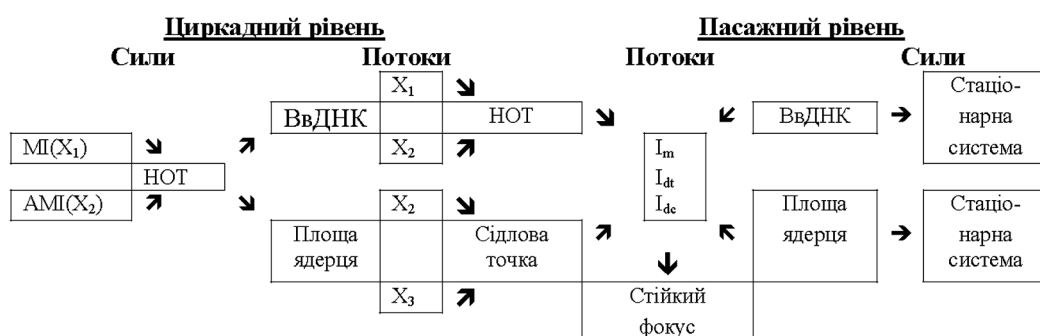


Рис. 3. Ланцюжок руху за станами системи для варіанта К-27(Рж),

де  $I_g$  — потік біомаси,  $I_{dt}$  — потік трахеїд,  $I_{de}$  — потік алкалоїдів, HOT — нестійка особлива точка (типу центр). Силами, які забезпечують ці потоки, є динаміка субпопуляцій клітин з різним ввДНК та з різною площею ядерця на пасажному рівні; динаміка субпопуляцій клітин з різним ввДНК та з різною площею ядерця — потоки на циркадному рівні, силами на цьому рівні є динаміка  $MI(X_1)$  (мітотичного індексу) та  $AMI(X_2)$  (амітотичного індексу); особлива точка є сідловою тільки для потенціальної поверхні, яку утворюють субпопуляції з різною площею ядерця завдяки комбінації динаміки  $MI(X_1)$  та  $AMI(X_2)$  на циркадному рівні



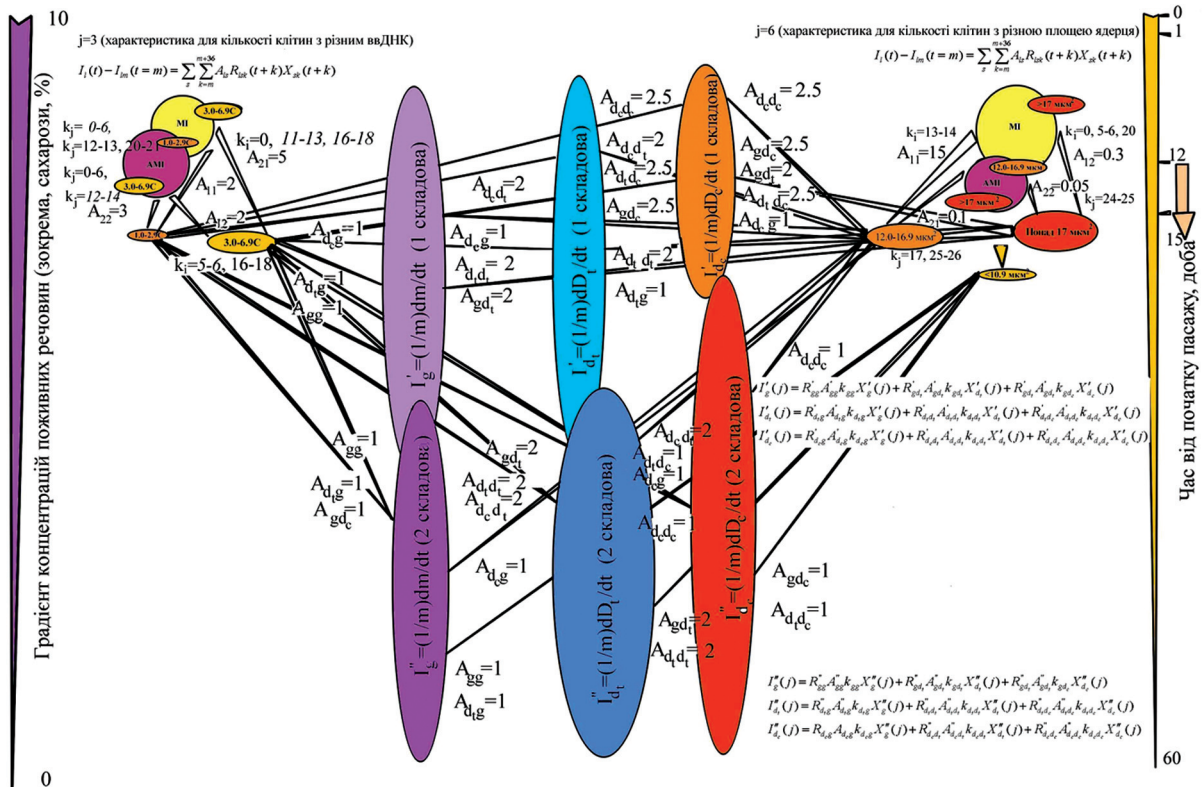


Рис. 4. Мережа, яку утворюють сили та потоки дослідженої системи клітин на циркадному (впродовж трьох діб — від 12-ї до 15-ї) і пасажному (впродовж 60-ти діб, що довше за звичайну тривалість пасажу) рівні за зміни концентрацій сахарози у живильному середовищі від 10% до 0% упродовж дослідженого відрізка часу.

На пасажному рівні:  $I_g$  — потік біомаси,  $I_{dt}$  — потік трахеїд,  $I_{dc}$  — потік алкалоїдів (відповідні потоки для першої складової позначено ', для другої складової — ''),  $L_{mn}$  — феноменологічні коефіцієнти:  $L_{mn} = R_{mn} A_{mn}$ . Конкретне значення та знак коефіцієнта кореляції ( $R_{mn}$ ) свідчить про внесок конкретної динаміки субпопуляції (термодинамічної сили)  $X_g(j)$ ,  $X_{dt}(j)$  чи  $X_{dc}(j)$  за ввДНК ( $j = 3$ ) та площею ядра ( $j = 6$ ) у відповідний біологічний потік,  $A_{mn}$  — коефіцієнти адаптації,  $k_{mn}$  — коефіцієнт розмірності. Конкретні числові значення для дослідженої системи та експериментальне підґрунтя, на якому зроблено вибір відповідних систем рівнянь, подано в [6]. На циркадному рівні:  $I_1(t)$  — потік клітин субпопуляції з ввДНК 1,0–2,9С,  $I_2(t)$  — потік клітин субпопуляції з ввДНК 3,0–6,9С для К-27(10С) або 3,0–8,9С для К-27(Рж), ( $I_l(t)$ ,  $l=1,2$ ); феноменологічні коефіцієнти (як і сили), мають складнішу структуру, ніж  $L_{ls} = R_{lsk} A_{lsk} (X_{lk}(t), s=1,2)$  через урахування впливів попередніх значень сили на наступні значення потоку. Конкретне значення та знак коефіцієнта кореляції ( $R_{lsk}$ ) свідчать про внесок конкретної динаміки зміни частки клітин, що проліферують певним чином (мітозом, амітозом), — термодинамічної сили:  $X_1(t+k)$  чи  $X_2(t+k)$  у відповідний біологічний потік  $I_1(t)$  чи  $I_2(t)$ , ( $t$  — час,  $m$  — первісне значення  $t$  від початку пасажу, з якого розпочато відбір проб циркадної динаміки,  $k$  — кількість точок, на які відбувається зсув динаміки величини, що є силою, відносно динаміки величини, яка є потоком, з метою урахування внесків попередніх значень біологічних сил у моменти часу  $t+m$ , у біологічні потоки у моменти часу  $t+m+k$ );  $A_{ls}$  — коефіцієнти адаптації. Конкретні числові значення для дослідженої системи та підґрунтя, на якому зроблено вибір відповідних систем рівнянь, наведено в [7, 8]

К-27(Рж) — флюктуації кількості клітин з різним рівнем біосинтетичних процесів на циркадному рівні. Ці можливі зміни, найвірогідніше, відповідають за комбінацію керувальної комбінаторної схеми (рис. 6) на пасажному рівні [21]. Стійкість у клітинних системах виникає, відповідно, на пасажному рівні і зумовлена взаємодією певних осциляторів, яка, у свою чергу, є феноменологічною реалізацією комбінаторної схеми керування цією системою.

### Взаємодія осциляторів ансамблю клітин у різних умовах вирощування

Досліджений штаб К-27 є генетично стабільним, популяцію його клітин відібрано за ознакою «накопичення алкалоїдів» [10–13]. Тому опис цієї системи може бути зведений до кількісного дослідження таких її складових: клітин, що проліферують і ростуть, зумовлюючи накопичення маси; клітин, які диференціюються шляхом біосинтезу вто-

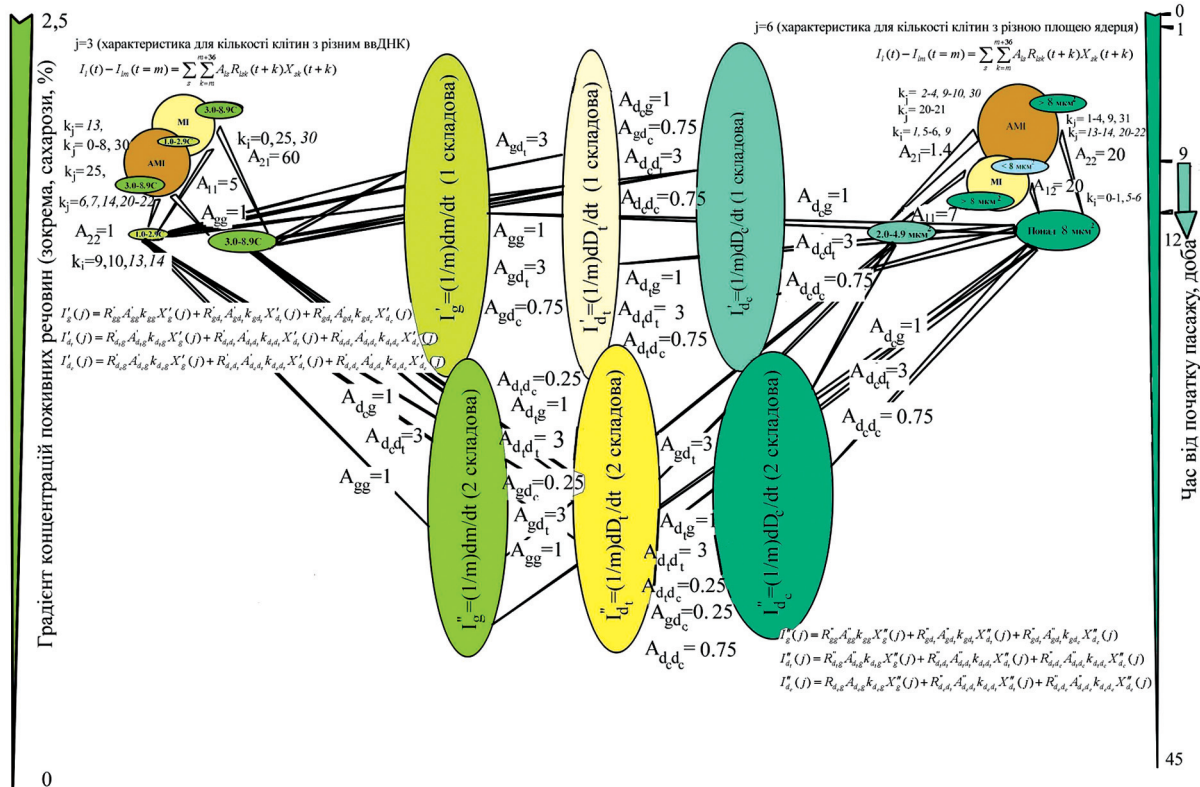


Рис. 5. Мережа, яку утворюють сили та потоки дослідженої системи клітин на циркадному (протягом трьох діб — від 9-ї до 12-ї) і пасажному (впродовж 45 діб) рівні за зміни концентрацій сахарози у живильному середовищі від 2,5% (Рж) до 0% упродовж дослідженого відрізка часу (позначення такі самі, як до рис. 4)

ринних сполук і зумовлюють накопичення системою індолінових алкалоїдів; клітин, що диференціюються у трахеїди і сприяють підведенню до клітин живильних речовин та відведенню алкалоїдів.

Для описання ансамблю клітин штаму К-27 використано математичну модель теорії Пригожина–Віам, яка ґрунтується на вивченні процесів відхилення від рівноваги в біологічних системах, граничними умовами застосування якої до біологічних систем були наявність ембріогенезу, процесів старіння, регенерації та злякнісного росту у тварин, запалення і ушкодження клітин, зокрема у культурі клітин і тканин [19]. Із робіт Зотіних випливає, що під час дослідження культури клітин вищих рослин можна використовувати апарат термодинаміки незворотних процесів, слід лише вибрати сили і потоки, оцінити феноменологічні коефіцієнти та надати їм біологічного змісту. Якщо відхилення від рівноважного стану під час пересадження культури тканин на свіже живильне середовище не є значними, можна обмежитись описом «термодинамічної гілки», для досить великих збурень (стресів) після перенесення в нові умови зростання можуть

виникнути відхилення від лінійності, що потребуватиме додаткового аналізу, застосованого для дослідження систем, що далеко відхиляються від рівноваги. Аналіз відповідності стану штучної системи клітин станові «термодинамічної гілки» проведено в роботах [5–8, 20, 21] на основі експериментальних даних з вивчення динаміки кількісного складу різних субпопуляцій клітин за значущими характеристиками.

Із літературних джерел відомо, що модифікаційна епігенетична система (на структурному рівні) містить у собі метаболічну [1]. Цей підхід було використано під час математичного опису ансамблю клітин штаму К-27 на пасажному [5, 6, 21] та циркадному [7, 8, 20] рівнях.

Критерій часу релаксації визначає систему саме на основі динамічної характеристики процесу і, очевидно, наближається до задовільної класифікації біологічних явищ [1]. Пізніші дослідження показали, що критерій часу релаксації є дуже зручним, коли треба описати пряме порушення протеїнового гомеостазу, яке стане критичною подією, що викличе проліферативну відповідь клітини [22–24], оскільки одна з характерних рис метаболізму в клітині, що перебуває

в стані спокою, — підтримання оптимальної концентрації протеїнів шляхом синтезу і деградації. За регуляції великих груп генів, які керують роботою гіперциклів, контролюється робота не тисяч окремих генів, а лише кількох великих блоків генів. Логіка запропонованої моделі привела до формулювання постулату про різний час життя протеїнів, які кодуються різними блоками:

$$t_{P_m} < t_{P_R} < t_{P_N},$$

де  $t_p$  — час існування протеїнів відповідного блоку.

На рис. 4, 5 подано приклади схем феноменологічної реалізації алгоритму керування динамікою вивченої нами клітинної системи за різних умов вирощування. Схеми та системи диференціальних рівнянь, які ці схеми описують, подано в координатах часу (права вісь) та створюваного системою клітин градієнта концентрацій поживних речовин (ліва вісь). Той факт, що як на пасажному, так і на циркадному рівні ансамбль клітин зручно описувати за допомогою систем диференціальних рівнянь [5–8], свідчить, що керування задіяних на досліджуваних ієрархічних рівнях осциляторів ансамблю клітин відбувається за досить простим алгоритмом [4].

Таким чином, оскільки феноменологічні рівняння, якими описуються взаємодії осциляторів клітинної системи у різних умовах вирощування, є диференціальними, це може слугувати підтвердженням гіпотези про те, що досліджені нами явища є феноменологічною реалізацією керувальної системи, яка задається досить простим алгоритмом, приклад якого наведено на рис. 6.

**Гіпотеза керування динамікою клітинної системи**

**за допомогою епігенної мережі**

На підставі класифікації організації клітинної системи за часом релаксації Гудвін застосовував таку стратегію: заповнив про-

галину відсутньої сформульованої системи взаємин між загальними характеристиками клітини, яка могла б бути зіставлена з феноменологічною термодинамікою [1]. Інші автори [19] заповнили прогалину відсутньої системи взаємостосунків між клітинами в організмі, що розвивається, або у клітинній (тканинній) культурі аналогічно феноменологічній термодинаміці незворотних процесів. У попередніх дослідженнях [5–8] було показано, що для рослинної культури тканин припущення Гудвіна є вірним на пасажному та циркадному рівнях, причому на кожному з цих рівнів динамічний опис може здійснюватися за допомогою рівнянь, подібних до рівнянь феноменологічної термодинаміки, на відміну від якої змінні на кожному ієрархічному рівні самі є динаміками (осциляторами).

У роботах [4, 25] було показано, що генетичні тригери та осцилятори являють собою стаціонарні та нестаціонарні динамічні епігени. Трансформовані мережі можна розглядати як функціональні епігенні мережі, елементами яких є динамічні епігени. Епігенні мережі містять також модулі затримки, логічні комбінатори. Організацію керування клітиною, спеціалізовану певним чином на молекулярних ієрархічних рівнях, можна описати у найпростіший спосіб за допомогою нестаціонарного п'ятикомпонентного епігена (рис. 6). Коли виникає система, яка має кілька видів тканин, керованих різними генними блоками  $m'$  [22], до того ж, можливо, несинхронізованими, контексти тієї самої схеми, позначені літерами А–Е у комірках, матимуть різний зміст для кожного з ієрархічних рівнів.

Перенесемо молекулярні інтерпретації контекстів (тригери, осцилятори та логічні комбінатори) на рівень популяцій клітин. Підставою для цього є експериментальні дані, опубліковані в роботах [6–8], спробу узагальнення яких у вигляді мереж осциляторів на пасажному та циркадному рівнях

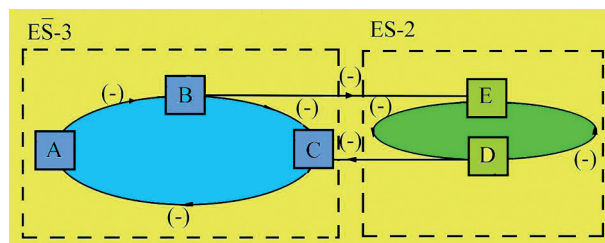


Рис. 6. Структура п'ятикомпонентного нестаціонарного епігена. Елементарні епігени:  $ES\bar{3}$  [E-3] — осцилятор, нестаціонарний трикомпонентний епіген; ES-2 — двопозиційний модуль пам'яті, стаціонарний двокомпонентний епіген. Мінусами позначено негативні зв'язки (за [4])



подано на рис. 4 та 5 для двох варіантів вирощування. Питомі швидкості продуктивності за масою та одержанням цільового продукту, а також швидкість зміни кількісного складу трахеїд упродовж пасажу є осциляторами з найповільнішою частотою. З осциляторів, що мають вищу частоту впродовж пасажу, уповільнювали коливання значень параметрів продуктивності тільки осциляції кількості клітин за такими характеристиками, як рівень плоідності (аналог — вДНК в ядрі) та рівень біосинтетичної активності (аналог — площа ядерця) [5].

«Популяційні реалізації» для кожного варіанта умов вирощування конкретизовано й наведено в таблиці.

Вважаючи силами динаміку кількості клітин, які вступили у поділ та динаміку тих, що поділилися (циркадний рівень), ми розраховали на їх основі потоки — динаміку (градієнт) кількості клітин з відносним вмістом ДНК у ядрі <3С (диплоїдні клітини) та динаміку кількості клітин з відносним

вмістом ДНК у ядрі >3С (поліплоїдні клітини) [7]. Аналогічно чинили стосовно субпопуляцій клітин, різних за площею ядерця [8]. Це дало змогу показати наявність сигнального зв'язку між циркадним і пасажним ієрархічними рівнями (групи комбінаторної схеми (рис. 6, 7), яку утворюють одиниці D та E для кожного з рівнів). Вхід до одиниць D або E на пасажному рівні залежить від умов культивування (складу середовища). На циркадному рівні перемикачі осциляторів D й E — популяційні осцилятори субпопуляції клітин у стані мітозу та клітин, які щойно поділилися, і D' й E' — популяційні осцилятори переважно диплоїдних (<3С ДНК) та поліплоїдних (>3С ДНК) клітин, пов'язані між собою лінійним комбінатором із затримкою [7, 8, 20], залежать від нестационарного тричленного епігена (модуля із затримкою), де популяційні осцилятори A, B, C відповідають популяційним осциляторам біосинтезу відповідних протеїнів, керованих блоками генів m, R та N. Причому, ймовірно,

Характеристики та позначення конкретних осциляторів клітинної системи штаму K-27 *Rauwolfia serpentina* для різних умов вирощування

| Варіант   | Часовий інтервал (доба) | Популяційно-клітинний осцилятор за характеристикою |                       |                       |  |                       |                       |
|-----------|-------------------------|--|-----------------------|-----------------------|--|-----------------------|-----------------------|
|           |                         | відносний вміст ДНК в ядрі (С)                     |                       |                       | сумарна площа ядерця клітини (мкм <sup>2</sup> ) |                       |                       |
|           |                         | A' (m' <sub>1</sub> )                              | B' (m' <sub>2</sub> ) | C' (m' <sub>3</sub> ) | A' (m' <sub>1</sub> )                            | B' (m' <sub>2</sub> ) | C' (m' <sub>3</sub> ) |
| K-27(10С) | 0-30                    | D' (1,0-2,9)                                       | E' (3,0-6,9)          | E' (3,0-6,9)          | D' (12,0-16,9)                                   | E' (>17)              | E' (>17)              |
|           | 0-20                    | D' (1,0-2,9)                                       | E' (3,0-6,9)          | E' (3,0-6,9)          | D' (12,0-16,9)                                   | E' (>17)              | E' (>17)              |
|           | 30-40                   | D' (1,0-2,9)                                       | E' (3,0-6,9)          | D' (1,0-2,9)          | E' (12,0-16,9)                                   | D' (<10,9)            | D' (<10,9)            |
|           | 20-40                   | D' (1,0-2,9)                                       | E' (3,0-6,9)          | D' (1,0-2,9)          | E' (12,0-16,9)                                   | D' (<10,9)            | D' (<10,9)            |
| K-27(5С)  | 0-40                    | E' (3,0-6,9)                                       | D' (1,0-2,9)          | D' (1,0-2,9)          | E' (>5)  | D' (<4)               | D' (<4)               |
| K-27(Рж)  | 0-20                    | E' (3,0-8,9)                                       | E' (3,0-8,9)          | D' (1,0-2,9)          | E' (>8)  | E' (>8)               | E' (>8)               |
|           | 20-45                   | D' (1,0-2,9)                                       | E' (3,0-8,9)          | E' (3,0-8,9)          | D' (2,0-4,9)                                     | E' (>8)               | E' (>8)               |

*Примітка.* A', B', C' — популяційно-клітинні осцилятори (динаміка питомих швидкостей) за характеристиками «накопичення алкалоїдів», «накопичення трахеїдних елементів», «накопичення біомаси» на пасажному рівні відповідно; D' — осцилятор кількості клітин з меншою плоідністю (1–2,9)С, переважно диплоїдні клітини, або з відносно меншим рівнем біосинтетичних процесів (меншою площею ядерця); E' — осцилятор кількості клітин з більшою плоідністю (3–6,9)С, переважно тетраплоїдні клітини (3–8,9)С, поліплоїдні клітини або з відносно більшим рівнем біосинтетичних процесів (більшою площею ядерця) для кожного варіанта вирощування.

Літерами D' та E' позначено популяційно-клітинні осцилятори за характеристикою «відносний вміст ДНК в ядрі» або «площа ядерця», вибрані для моделювання процесів на пасажному рівні (за вимірювання значень параметрів з інтервалом в одну добу), які використано для моделювання процесів переходу від циркадного (за вимірювання значень параметрів з інтервалом дві години протягом трьох діб під час щодобового відбору проб у дослідженому пасажі) до пасажного рівня (який є феноменологічною реалізацією процесів, що відбуваються на циркадному рівні). На циркадному рівні (згідно з аналізом результатів щодві години) задіяними в інтенсивній проліферації клітин (шляхом мітозу або амітозу) чи поліплоїдизації можуть бути тільки ті клітини популяції, якими керує блок m'<sub>3</sub>. Клітини, керовані блоком m'<sub>1</sub>, упродовж першої частини пасажу зайняті продукуванням вторинного метаболіту. Клітини, чисельність яких залежить від блоку генів m'<sub>2</sub>, не беруть участі в подальшій проліферації: вони утворюються, виконують свою функцію і деградує з досить високою частотою — упродовж доби чисельність цієї субпопуляції може змінюватися від значної до нульової і навпаки.



популяційні осцилятори диплоїдних та поліплоїдних клітин за умов дії чинників, які порушують роботу протеїнсинтезуючого апарату (наприклад, акт перенесення на свіже або нове живильне середовище), залежать від популяційних осциляторів клітин, що змогли поділитися мітозом (керованим блоком генів N), коли робота протеїнсинтезуючого апарату нормалізується після одного чи кількох клітинних циклів, та клітин, що поділилися (можливо, на нерівні за кількістю хромосом частини) амітозом (не чекаючи коли буде ввімкнено керування блоком генів N) з приведенням у дію тільки механізму кількісної регуляції транскрипції блоками m або m та R.

Можна надати біологічного змісту контекстам комбінаторної схеми, наведеної на рис. 7 на пасажному та циркадному рівнях, і сигнальному зв'язку між ними. Кожен вид клітин дослідженої системи на вивченому відрізку пасажу визначено одним зі станів функціонального епігена, який на циркадному рівні є модулем затримки поділів (мітозів та амітозів) (рис. 7). Це призводить до ускладнення формул залежності динаміки кількості диплоїдних та поліплоїдних клітин від динаміки кількості клітин, що перебувають у стані поділу (мітози), та клітин, що вже поділилися (можливо, за допомогою амітозу). Нестационарний функціональний епіген у цьому разі є модулем затримки, перемикач осциляторів якого

(D та E) пов'язаний за допомогою лінійного комбінатора із затримкою [7, 8, 20] з перемикачем осциляторів D' та E'.

Для різних варіантів вирощування D' розшифровується так (таблиця). Для варіанта K-27(10C) — осциляції кількості клітин першої субпопуляції (диплоїдних клітин, що містять <3 C) за характеристикою «відносний вміст ДНК в ядрі», які відповідають за продукування алкалоїдів у першій частині пасажу та алкалоїдів і стовбурових клітин у другій частині пасажу, або відповідної субпопуляції із середнім рівнем біосинтетичної активності (з площею ядерця 12,0–16,9 мкм<sup>2</sup>) для субпопуляції, яка продукує алкалоїди у першій частині пасажу, та з низьким рівнем біосинтетичної активності (з площею ядерця <10,9 мкм<sup>2</sup>) для субпопуляції, що продукує трахеїди і стовбурові клітини у другій частині пасажу. Для варіанта K-27(5C) — осциляції кількості клітин першої субпопуляції (диплоїдних клітин, що містять <3 C) за характеристикою «відносний вміст ДНК в ядрі» або відповідної субпопуляції з низьким рівнем біосинтетичної активності (<4 мкм<sup>2</sup>) для субпопуляцій клітин, які продукують трахеїди та стовбурові клітини. Для варіанта K-27(Рж) — осциляції кількості клітин першої субпопуляції (диплоїдних клітин, що містять <3 C) за характеристикою «відносний вміст ДНК в ядрі» для субпопуляції клітин, яка продукує стовбурові клітини

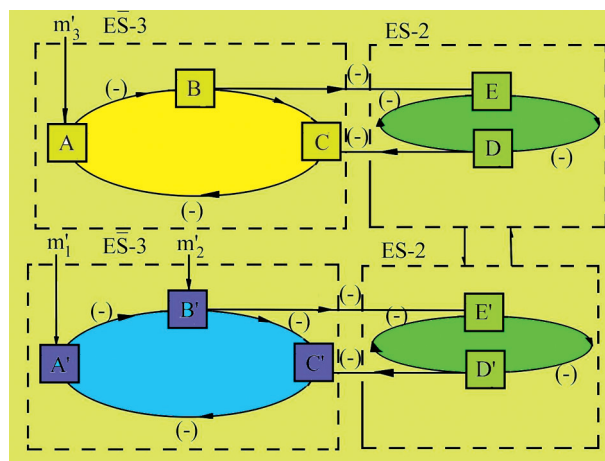


Рис. 7. Гіпотетична гетерархічна схема керування дослідженою системою, яка складається з двох п'ятикомпонентних нестационарних епігенів на кожному з гетерархічних рівнів, пов'язаних між собою лінійним комбінатором із затримкою.

Осцилятори двопозиційного модуля пам'яті (D' та E') визначають поведінку нестационарного трикомпонентного епігена, компонентами якого є осцилятори A', B', C' (динаміка кількості клітин, які диференціюються шляхом синтезу вторинних метаболітів — блок генів, який відповідає за такий спосіб диференціації m'1 (регулює осцилятор A'); динаміка кількості клітин, що задіяні у формоутворенні — популяція трахеїдних елементів (осцилятор B'), його регулює блок генів m'2; динаміка кількості стовбурових клітин (осцилятор C'), його (разом з осциляторами A та B) регулює блок генів m'3). Решта блоків, що їх регулює група генів m'3 (m — A, R — B, N — C), залежать від m' у клітинах різної тканинної орієнтації [22]

у першій частині пасажу та алкалоїди у другій частині пасажу), або відповідної субпопуляції з низьким рівнем біосинтетичної активності ( $2,0-4,9 \text{ мкм}^2$ ) за характеристикою «площа ядерця», що продукує алкалоїди у другій частині пасажу.

Е' розшифровується так (таблиця). Для варіанта К-27(10С) — осциляції кількості клітин другої субпопуляції за характеристикою «відносний вміст ДНК в ядрі» (поліплоїдних клітин, що містять  $>3 \text{ С}$ ) або відповідної субпопуляції з високим рівнем біосинтетичної активності ( $>17 \text{ мкм}^2$ ) у першій частині пасажу для субпопуляцій клітин, які продукують трахеїди та стовбурові клітини; осциляції кількості клітин другої субпопуляції за характеристикою «відносний вміст ДНК в ядрі» у другій частині пасажу для субпопуляції клітин, що продукує трахеїди, та середнім рівнем біосинтетичної активності у другій частині пасажу для субпопуляції клітин, яка продукує алкалоїди. Для варіанта К-27(5С) — осциляції кількості клітин другої субпопуляції за характеристикою «відносний вміст ДНК в ядрі» (поліплоїдних клітин, що містять  $>3 \text{ С}$ ) або з високим рівнем біосинтетичної активності ( $>5 \text{ мкм}^2$ ) для субпопуляції клітин, яка продукує алкалоїди. Для варіанта К-27(Рж) — осциляції кількості клітин другої субпопуляції за характеристикою «відносний вміст ДНК в ядрі» (поліплоїдних клітин, що містять  $>3 \text{ С}$ ), яка у першій частині пасажу продукує алкалоїди і трахеїди, у другій — трахеїди і стовбурові клітини, або осциляції кількості клітин з високим рівнем біосинтетичної активності ( $>8 \text{ мкм}^2$ ) для субпопуляцій клітин, що продукують усі види клітин у першій частині пасажу і трахеїди та стовбурові клітини — у другій за характеристикою «площа ядерця».

Мережа взаємодії популяційних осциляторів штаму К-27 культури тканин *Rauwolfia serpentina* Benth. у різних умовах вирощування на пасажному рівні визначається певною комбінацією осциляторів, що описується схемою, аналогічною схемі п'ятикомпонентного нестационарного функціонального епігена, в якому введено такі позначення: А' — осциляції кількості клітин, які продукують цільовий продукт; В' — осциляції кількості клітин, які диференціюються, утворюючи трахеїди; С' — осциляції кількості клітин, які формують стовбурові клітини; D' — осциляції кількості клітин першої субпопуляції за однією з двох значущих характеристик («відносний вміст ДНК в ядрі» або «сумарна площа ядерця»), Е' —

осциляції кількості клітин другої субпопуляції за однією із цих двох характеристик. Конкретизація позначень для кожного з варіантів вирощування виглядає так.

У найстійкішій своїй формі — за умов вирощування на агаризованому середовищі 10 С — під час першої частини пасажу осцилятор D' з двопозиційного модуля пам'яті забезпечує осциляції кількості клітин А', тимчасом як осцилятор Е' забезпечує осциляції кількості клітин С' та В'. У цей час осцилятори задіяних субпопуляцій клітин за обома значущими характеристиками утворюють аттрактор типу «стійкий фокус». З переходом до другої частини пасажу осцилятор D' забезпечує осциляції кількості клітин А' та С', осцилятор Е' — осциляції кількості клітин В' за характеристикою «відносний вміст ДНК в ядрі», що сприяє утворенню аттрактора «стійкий тор». За характеристикою «площа ядерця» осцилятор D' забезпечує осциляції кількості клітин В' та С', осцилятор Е' — осциляції кількості клітин А', при цьому осцилятори задіяних субпопуляцій клітин не утворюють аттрактора.

У системі клітин, яка може існувати десятки пасажів — за умов вирощування штаму К-27 на агаризованому середовищі 5 С — осцилятор D' забезпечує осциляції кількості клітин В' та С', осцилятор Е' — осциляції кількості клітин А' за обома значущими характеристиками, при цьому осцилятори задіяних субпопуляцій клітин не утворюють аттракторів.

У системі клітин, призначеній для продукування алкалоїдів на збідненому за вмістом сахарози та мінеральних компонентів середовищі — за умов вирощування штаму К-27 у рідкому середовищі Рж при перенесенні з 10 С — під час першої частини пасажу осцилятор D' з двопозиційного модуля пам'яті забезпечує осциляції кількості клітин С', тоді як осцилятор Е' — осциляції кількості клітин А' та В' за характеристикою «відносний вміст ДНК в ядрі», утворюючи «нестійкий тор». За характеристикою «площа ядерця» осцилятор Е' забезпечує осциляції кількості клітин усіх трьох типів, перебуваючи у стані «стационарна система». З переходом до другої частини пасажу осцилятор D' забезпечує осциляції кількості клітин А', осцилятор Е' — осциляції кількості клітин В' та С' за обома значущими характеристиками, причому за першою характеристикою осцилятори задіяних субпопуляцій клітин утворюють аттрактор типу «граничний цикл», за другою характеристикою — не утворюють аттракторів.

Дослідження, проведені на циркадному рівні показали, що для виникнення в системі сили, яка прагне збільшити невелику флюктуацію (зміну) кількості клітин для варіантів вирощування К-27(10С) та К-27(5С), найбільш значущою характеристикою є рівень плоідності культивованих клітин (тобто «відносний вміст ДНК у ядрі»), а для варіантів вирощування К-27(Рж) такою характеристикою є рівень біосинтетичних процесів (тобто «площа ядерця») через наявність на відповідних потенціальних поверхнях особливої точки типу «сідлова точка». Розповсюдження такої сили на циркадному рівні відбувається мережею взаємодії популяційних осциляторів системи клітин для різних типів вирощування і визначається певною комбінацією осциляторів, яку описує схема, аналогічна схемі п'ятикомпонентного нестационарного функціонального епігона. У ньому введено такі позначення: А — осциляції кількості клітин, керовані групою генів *m*; В — осциляції кількості клітин, керовані групою генів *R*; С — осциляції кількості клітин, керовані групою генів *N*; D — осциляції кількості клітин, що перебувають у стані поділу (мітоз), E — осциляції кількості клітин, що вже поділилися (імовірно, амітозом). Нестационарний функціональний епіген в цьому разі є модулем затримки, перемикач осциляторів якого (D та E) пов'язаний з перемикачем осциляторів D' та E' за допомогою лінійного комбінатора із затримкою, де D' — осциляції кількості клітин першої субпопуляції за характеристикою «відносний вміст ДНК в ядрі» («диплоїдні», тобто <3 C) або за характеристикою «площа ядерця» (конкретні дані наведено в таблиці); E' — осциляції кількості клітин другої субпопуляції за цією характеристикою («тетра- чи поліплоїдні», тобто >3 C) або за характеристикою «площа ядерця» (конкретні дані наведено в таблиці) (осцилятори різних типів клітин для циркадного рівня позначено А — E, для пасажного — А' — E') (рис. 7).

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Гудвин Б. Временная организация клетки. — М.: Мир, 1966. — 251 с.
2. Гудвин Б. Аналитическая физиология клеток и развивающихся организмов. — М.: Мир, 1979. — 287 с.
3. Эйген М., Шустер П. Гиперцикл (принципы самоорганизации макромолекул). — М.: Мир, 1982. — 270 с.

Залежність продуктивності культивованих клітин раувольфії зміїної, зокрема кількість накопичуваних індолінових алкалоїдів, від плоідності клітин і від кількості ДНК в їхніх ядрах не є такою однозначною, як це було описано раніше [26, 27]. Побудова математичних моделей з використанням диференціальних характеристик засвідчила, що на цю залежність можуть істотно впливати умови вирощування культури тканин. Зокрема, в стандартних умовах вивченого штаму — варіант К-27(10С) — динаміка швидкості накопичення індолінових алкалоїдів залежить від динаміки кількості «диплоїдних» клітин (ядра яких містять до 3С ДНК). У змінених умовах поверхневого вирощування, — варіант К-27(5С) — динаміка швидкості накопичення індолінових алкалоїдів залежить від динаміки кількості «тетраплоїдних» клітин (ядра яких містять 3С–6,9С ДНК). А в найбільш стресових умовах глибинного вирощування на збідненому середовищі — варіант К-27(Рж) — від динаміки високоплоїдних клітин (вміст ДНК в ядрі 3С–8,9С).

Таким чином, здійснено математичне обґрунтування процесів, які відбуваються в клітинних популяціях у стабільних умовах та за їх зміни. Отримані дані дозволяють зробити висновок, що застосовані біотехнологічні методи та прийоми збільшення продуктивності дослідженої культури клітин використовують механізми динамічної (або функціональної) спадкової пам'яті, яка, ймовірно, згідно з [4], є додатковим еволюційним механізмом формування спадкових програм онтогенезу. Застосування диференціальних характеристик дає змогу виявити відмінності між різними шляхами диференціації клітин *in vitro* залежно від умов вирощування.

4. Чураев Р. Н. Эпигенетика: генные и эпигенные сети в онто- и филогенезе // Генетика. — 2006. — Т. 42, № 9. — С. 1276–1296.
5. Мирюта Н. Ю., Парникова И. Ю., Аммури Ю., Кунах В. А. Применение термодинамического подхода для изучения динамики клеточных популяций *in vitro* на примере культуры тканей *Rauwolfia serpentina* Benth. — продуцента индолиновых алкалоидов // Биотехнология. — 2006. — № 2. — С. 78–95.

6. Парнікоза І. Ю., Мірюта Н. Ю., Ал-Аммурі Ю., Кунах В. А. Динаміка клітинних популяцій *Rauwolfia serpentina* Benth. за зміни умов культивування *in vitro* // Біополімери і клітина (Biopolymers and Cell). — 2008. — Т. 24, № 4. — С. 300–309.
7. Парнікоза І. Ю., Мірюта Н. Ю., Адонін В. І., Кунах В. А. Циркадна динаміка структури клітинних популяцій *Rauwolfia serpentina* Benth. за різних умов культивування *in vitro* // Там само. — 2008. — Т. 24, № 6. — С. 476–486.
8. Парнікоза І. Ю., Мірюта Н. Ю., Адонін В. І., Кунах В. А. Вплив зміни умов культивування на циркадну динаміку структури клітинних популяцій *Rauwolfia serpentina* Benth. *in vitro* // Вісн. Укр. т-ва генетиків і селекціонерів. — 2008. — Т. 6, № 1. — С. 98–107.
9. Кунах В. А. Біотехнологія лікарських рослин. Генетичні та фізіолого-біохімічні основи. — К.: Логос. — 2005. — 730 с.
10. Kunaх V. A. Somaclonal variation in *Rauwolfia* / Y.P.S. Bajaj (ed.) Biotechnology in agriculture and forestry, V. 36. Somaclonal variation in crop improvement. II. — Berlin, Heidelberg, New York: Springer, 1996. — P. 315–332.
11. Кунах В. А. Геномная изменчивость и накопление индолиновых алкалоидов в культуре клеток раувольфии змеиной *Rauwolfia serpentina* Benth. // Биополімери і клітина (Biopolymers and Cell). — 1994. — Т. 10, № 1. — С. 3–30.
12. Спиридонова Е. В., Адноф Д. М., Андреев И. О., Кунах В. А. Стабильность генома высокопродуктивной клеточной линии К-27 *Rauwolfia serpentina* Benth. при изменении условий выращивания // Біополімери і клітина (Biopolymers and Cell). — 2007. — Т. 23, № 2. — С. 86–92.
13. Андреев И. О., Адноф Д. М., Спиридонова Е. В., Кунах В. А. Стабильность генома высокопродуктивных клеточных линий раувольфии змеиной при длительном выращивании *in vitro* // Доп. НАН України. — 2007. — № 10. — С. 147–152.
14. Кунах В. А., Можилевская Л. П., Губарь С. И. Особенности получения и продуктивность суспензионных клонов раувольфии змеиной *Rauwolfia serpentina* Benth. *in vitro* // Биотехнология. — 2001. — № 4. — С. 9–21.
15. Поллард Дж. Справочник по вычислительным методам статистики. — М.: Финансы и статистика. — 1982. — 344 с.
16. Чалый А. В. Неравновесные процессы в физике и биологии. — К.: Наук. думка, 1997. — 183 с.
17. Klevecz R. R., Li C. M., Marcus I., Frankel P. H. Collective behavior in gene regulation: The cell is an oscillator, the cell cycle a developmental process // FEBS J. — 2008. — V. 275. — P. 2372–2384.
18. Печуркин Н. С., Брильков А. В., Марченко Т. В. Популяционные аспекты биотехнологии. — Новосибирск: Наука, Сиб. отделение, 1990. — 170 с.
19. Зотин А. И., Зотина Р. С. Термодинамический подход к проблемам развития, роста и старения // Журн. общ. биол. — 1969. — Т. 30, № 1. — С. 94–109.
20. Мірюта Н. Ю., Кунах В. А. Динаміка клітинних систем *in vitro*. I. Організація у часі та стабільність системи культури тканин раувольфії змінної на добовому рівні організації // Біотехнологія. — 2011. — Т. 4, № 5. — С. 25–38.
21. Мірюта Н. Ю., Кунах В. А. Динаміка клітинних систем *in vitro*. II. Організація у часі та стабільність системи культури тканин раувольфії змінної на пасажному рівні // Там само. — 2011. — Т. 4, № 6. — С. 18–29.
22. Тодоров И. Н. Механизмы клеточной стабильности // В мире науки. — 1986. — № 10. — С. 50–61.
23. Todorov I. N. Mechanisms of stability: subcellular and molecular aspects. — Commack, New York: Nova Science Publishers, Inc., 1994. — 255 p.
24. Тодоров И. Н., Бойков П. Я., Сидоренко Л. И. и др. Стимуляция репликации ДНК в клетках печени крыс как результат ингибирования синтеза белков // Докл. АН СССР — 1978. — Т. 239 — С. 1255–1258.
25. Чураев Р. Н. Прикладные аспекты концепции эпигенов // Журн. общ. биол. — 1982. — Т. 43, № 1. — С. 79–87.
26. Кунах В. А., Костенюк И. А., Волосович А. Г. Увеличение количества ядерной ДНК при биосинтезе алкалоидов в культуре тканей раувольфии змеиной // Докл. АН УССР, Сер. биол. — 1986. — № 7. — С. 62–65.
27. Кунах В. А., Каухова И. Е., Николаева Л. А. и др. Зависимость продуктивности клеточных линий раувольфии змеиной от уровня ploидности культивируемых клеток // Докл. АН СССР. — 1983. — Т. 270, № 4. — С. 979–982.



**ДИНАМИКА КЛЕТОЧНЫХ СИСТЕМ *in vitro*.  
III. ГИПОТЕЗА САМОУПРАВЛЕНИЯ  
ПРОЦЕССАМИ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ  
КЛЕТОК И ЕЕ ФЕНОМЕНОЛОГИЧЕСКАЯ  
РЕАЛИЗАЦИЯ НА ПРИМЕРЕ КУЛЬТУРЫ  
ТКАНЕЙ РАУВОЛЬФИИ ЗМЕИНОЙ**

*Н. Ю. Мирюта  
В. А. Кунах*

Институт молекулярной биологии и генетики  
НАН Украины, Киев

*E-mail: kunakh@imbg.org.ua*

С использованием феноменологических уравнений описана динамика клеточных систем *in vitro* на примере высокопродуктивного штамма К-27 культуры тканей раувольфии змеиной — продуцента противоаритмического индолинового алкалоида аймалина. В стандартных условиях выращивания штамма и при их изменении во время оптимизации условий исследована зависимость динамики показателей продуктивности от динамики доли клеток с разным содержанием ДНК в ядре и разной площадью ядрышка на пассажном иерархическом уровне, а также зависимость динамики доли клеток с разным содержанием ДНК в ядре и разной площадью ядрышка от динамики показателей пролиферации (количества митозов и amitozov) на циркадном уровне. Построение математических моделей с использованием дифференциальных характеристик показало, что динамика продуктивности культуры тканей раувольфии змеиной зависит от динамики количества клеток с разным относительным содержанием ДНК в ядре. В измененных, особенно стрессовых, условиях динамика удельной скорости накопления алкалоидов зависит от динамики количества клеток с высоким содержанием ДНК в клеточных ядрах, а в стандартных условиях — от динамики количества клеток с содержанием ДНК, близким к 2С — 4С. Согласно нашим данным, примененные биотехнологические методы и приемы увеличения продуктивности культуры тканей, в частности изменение условий выращивания, базируются на механизмах динамической наследственной памяти. Построены сети взаимодействия соответствующих осцилляторов для разных условий выращивания динамической системы клеток штамма К-27, которые являются феноменологической реализацией эпигенной сети, с помощью которой гипотетически осуществляется самоуправление клеточной системой.

**Ключевые слова:** культура тканей растений, *Rauwolfia serpentina*, клеточные популяции *in vitro*, эпигенные сети и их феноменологическая реализация.

**DYNAMIC OF CELL POPULATION  
SYSTEMS *in vitro*.  
III. HYPOTHESIS OF CELL DIFFERENTIAL  
PROCESS SELF-CONTROL AND IT'S  
PHENOMENOLOGY REALIZATION  
BY THE EXAMPLE OF *Rauwolfia serpentina*  
BENTH TISSUES CULTURE**

*N. Yu. Miryuta  
V. A. Kunakh*

Institute of Molecular Biology and Genetics  
of National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

*E-mail: kunakh@imbg.org.ua*

Dynamic of cell systems *in vitro* *Rauwolfia serpentina* Benth tissues culture (producer of the antiarrhythmic alkaloid — ajmaline) *in vitro* has been described by the phenomenology equation application. Dependence of the productivity indexes dynamic as well as dynamics of cell part with different DNA content in the nucleous and different nucleoli square at passage level, and dynamics of cell part with different DNA content in the nucleous and different nucleoli square as well as dynamics of proliferation indexes (mitosis and amitosis) at circadian hierarchical level. Model construction with application of the differential characteristic has indicated that dynamic of the *Rauwolfia serpentina* Benth tissues culture productivity varied depending on the dynamic of cell population number with different DNA content in nucleous. Dynamic of the specific speed of alkaloid accumulation depended on dynamic cell quantity with high DNA content in the nucleous under changed conditions (especially under stress conditions) and depended on dynamic cell quantity with 2C — 4C DNA content in the nucleous under standard conditions. According to our data the applied biotechnological methods of productivity increasing in researched cell culture have been assumed to use dynamics hereditary memory. Networks of the appropriate oscillators interaction have been constructed for different culturing condition of dynamic system of the strain K-27 cell which were phenomenology realization of the epigene network that hypothetically effected cell system self-control.

**Key words:** plant tissue culture, *Rauwolfia serpentina*, cell population *in vitro*, epigene network and its phenomenology realization.