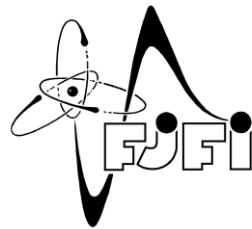


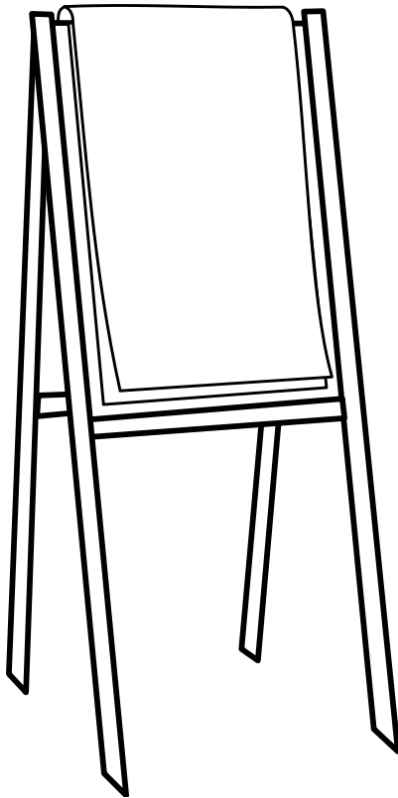
# Modelování a simulace interakce monoklonálních bakteriálních kolonií

Josef Smolka

Fakulta jaderná a fyzikálně inženýrská



# Obsah



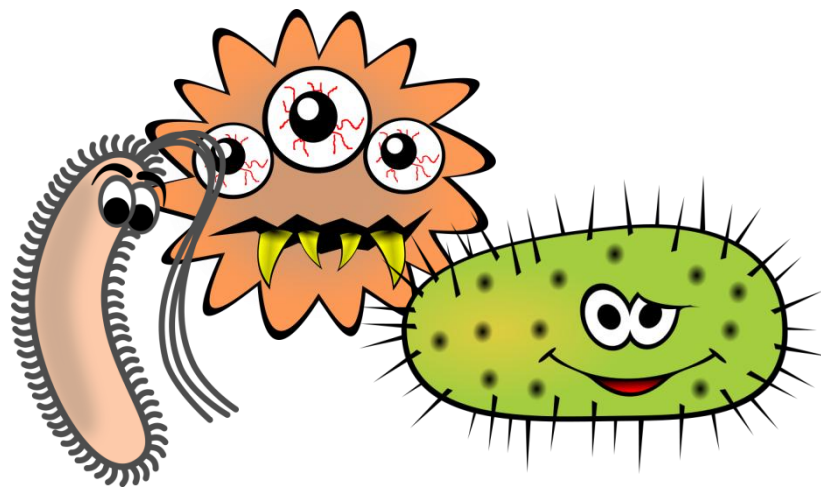
- Motivace
  - Bakterie a jejich chování
  - Výzkum na PŘF UK
- Modelování
  - 1. pokus – mikro model
  - 2. pokus – makro model
- Simulace

Bakterie a jejich chování

# MOTIVACE

# Bakterie

- Jednobuněčné organismy tyčinkovitého nebo kulovitého tvaru.
- Rozmnožují se nepohlavně binárním dělením.



# Bakterie

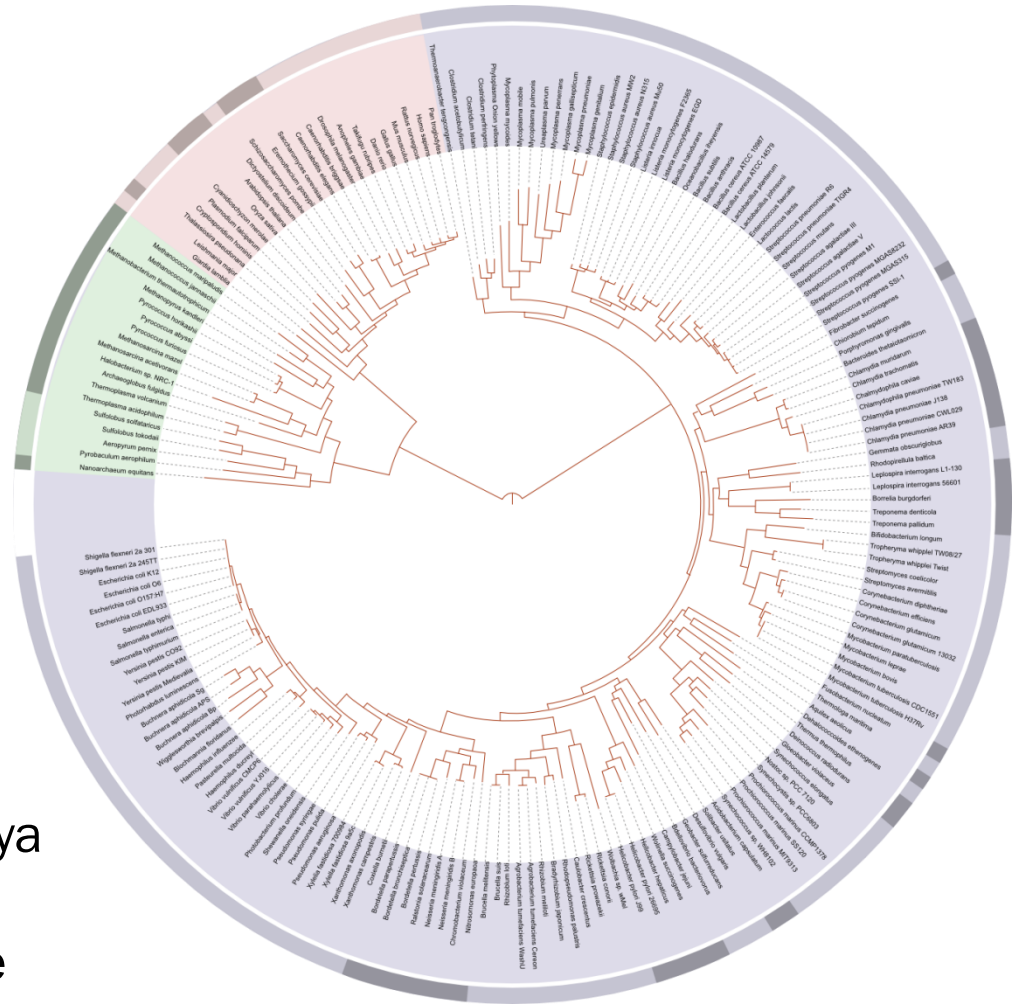
- Nejrozšířenější organismus na světě.

Legenda:

Červená – doména eukarya

Zelená – doména archea

Modrá – doména bakterie

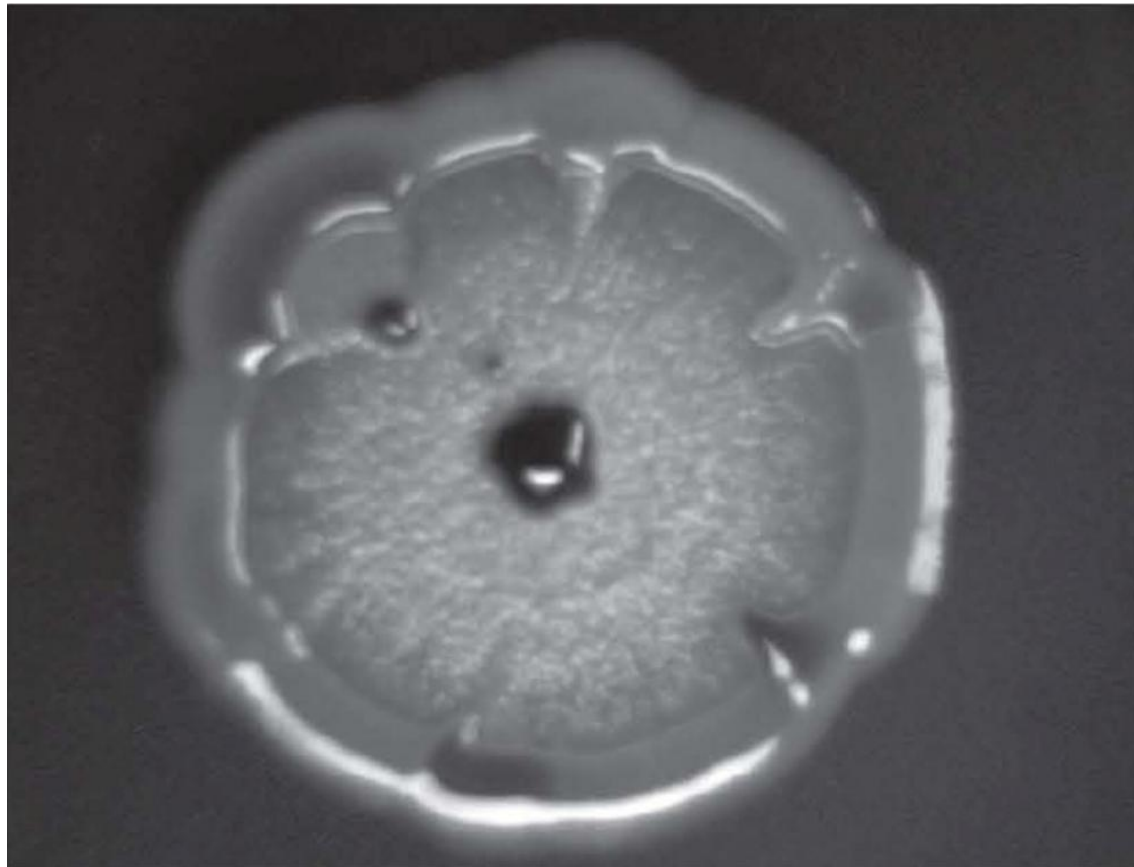


# Bakterie

- Tvoří rozličné mnohobuněčné struktury.
- Jejich tvar ovlivňuje mnoho faktorů:
  - živiny,
  - susedé,
  - chemické látky,
  - prostředí.



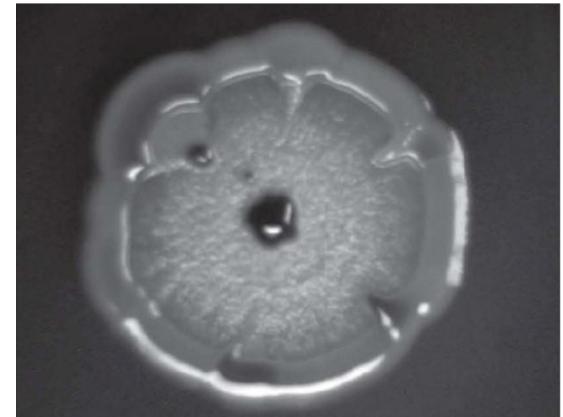
# Serratia rubidaea



Převzato z: Žák, M: Estetická podstata přírodních dějů. Inspiromat 10/2010

# Serratia rubidaea

- Pojmenována po italském fyzikovi – Serrafino Serrati.
- Čeled' enterobakterie,
  - množí se příčným dělením,
  - tyčinkovité,
  - fakultativně anaerobní.
    - Kyslík nevyžadují, ale tolerují.

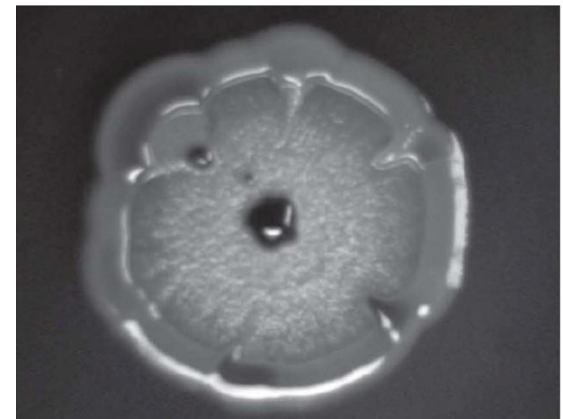


Převzato z: Žák, M: Estetická podstata přírodních dějů. Inspiromat 10/2010



## Serratia rubidaea

- Vyskytuje se ve vodě či v půdě.
- U oslabeného člověka může způsobit infekci.
- Obvykle vytváří červené lesklé kulovité kolonie.



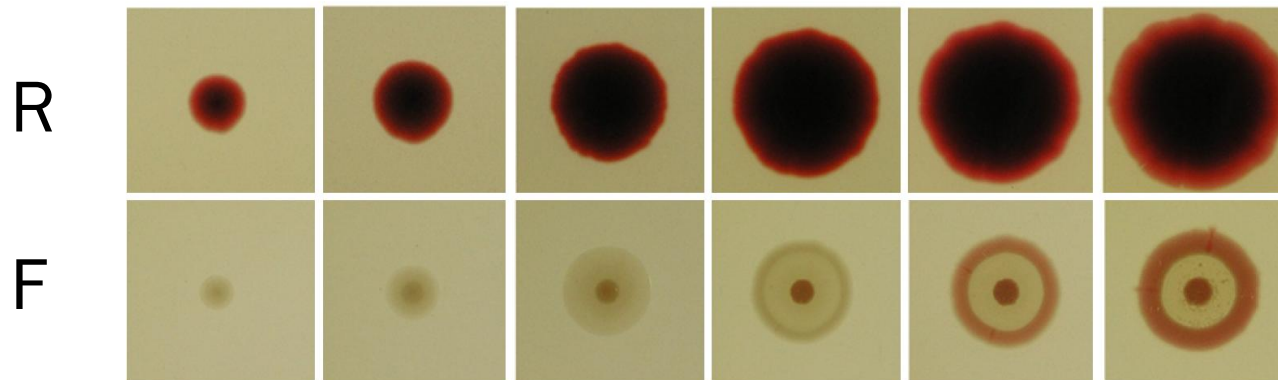
Převzato z: Žák, M: Estetická  
podstata přírodních dějů.  
Inspiromat 10/2010

Výzkum na PřF UK

# MOTIVACE

## Vzájemné interakce kolonií

- Různé fenotypy *Serratia rubidaea*

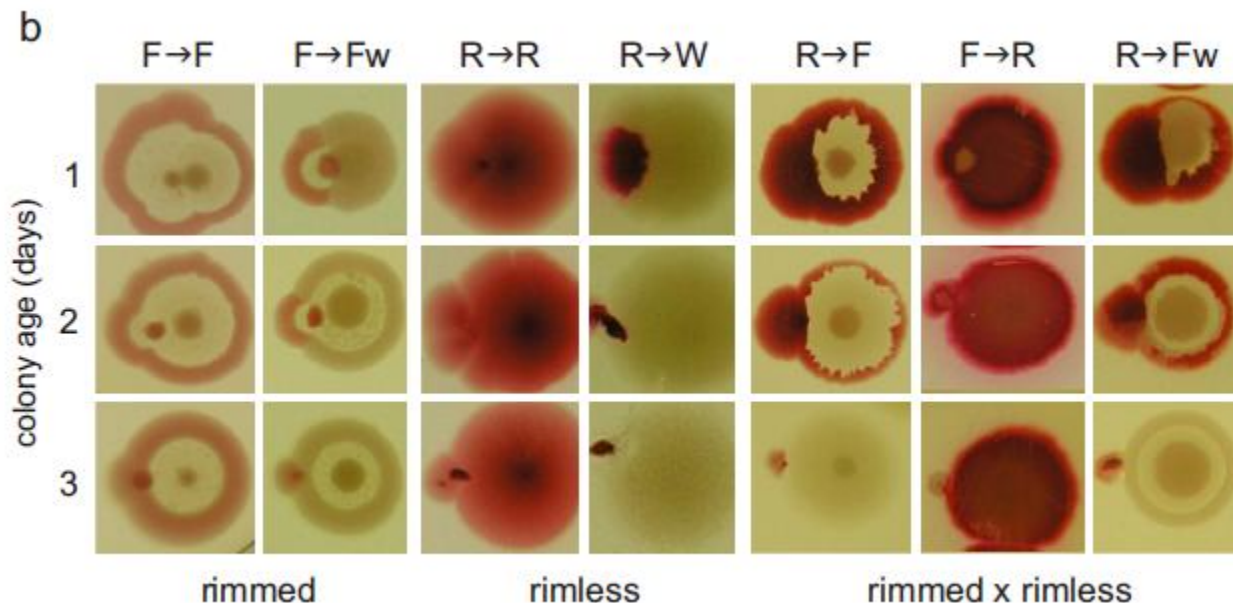


Převzato z Čepel et al. *Patterning of mutually interacting bacterial bodies: close contacts and airborne signals*. BMC Microbiology 2010, 10:139

- Další: Fw (bezbarvá varianta F), W (bezbarvá varianta R)

## Vzájemné interakce kolonií

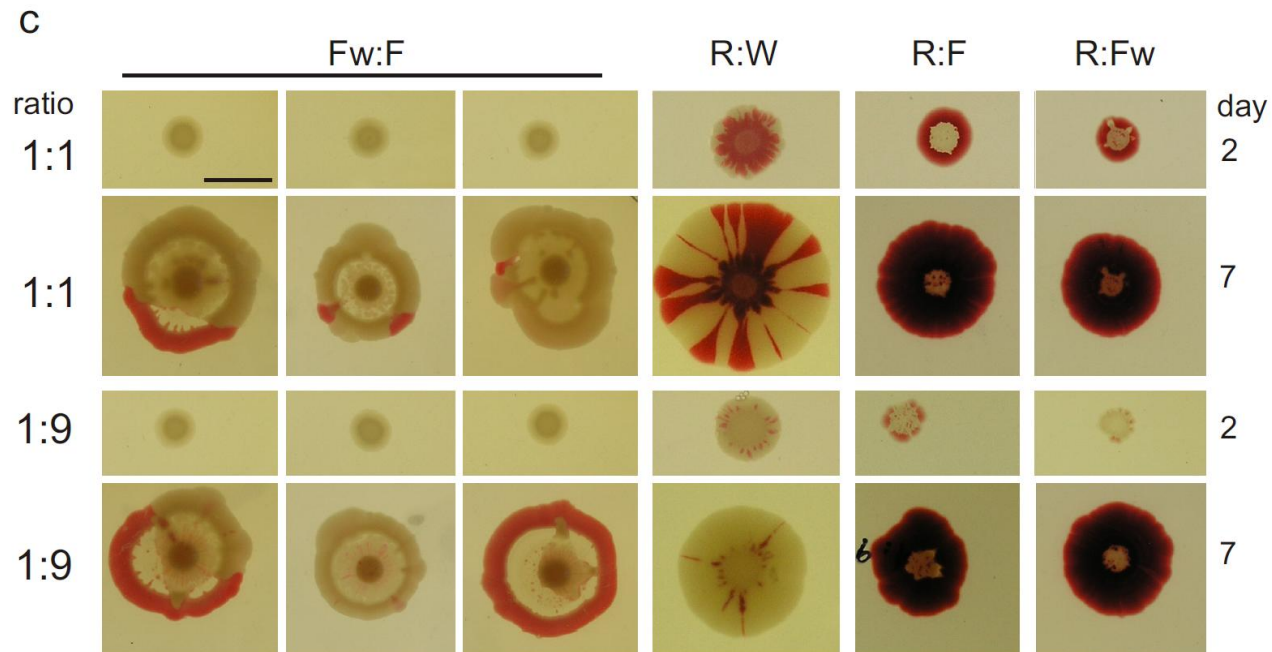
- Výzkum na Katedře filosofie a dějin přírodních věd PŘF UK



Převzato z Čepel et al. *Patterning of mutually interacting bacterial bodies: close contacts and airborne signals*. BMC Microbiology 2010, 10:139

# Vzájemné interakce kolonií

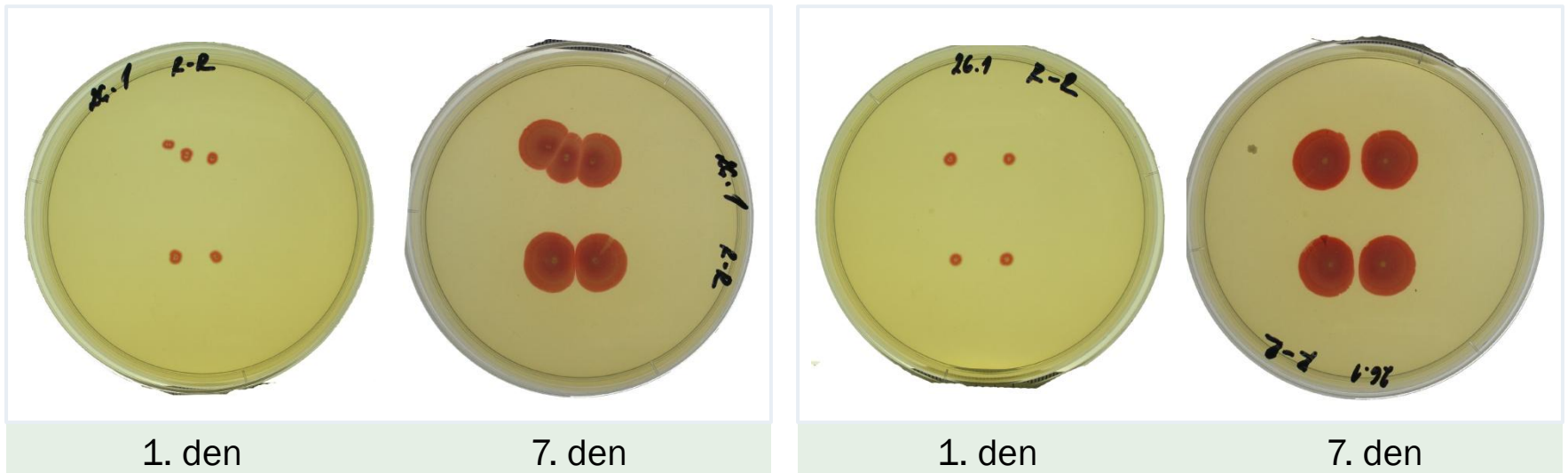
- Výzkum na Katedře filosofie a dějin přírodních věd PŘF UK



Převzato z Čepel et al. *Patterning of mutually interacting bacterial bodies: close contacts and airborne signals*. BMC Microbiology 2010, 10:139

# Modelovaný experiment

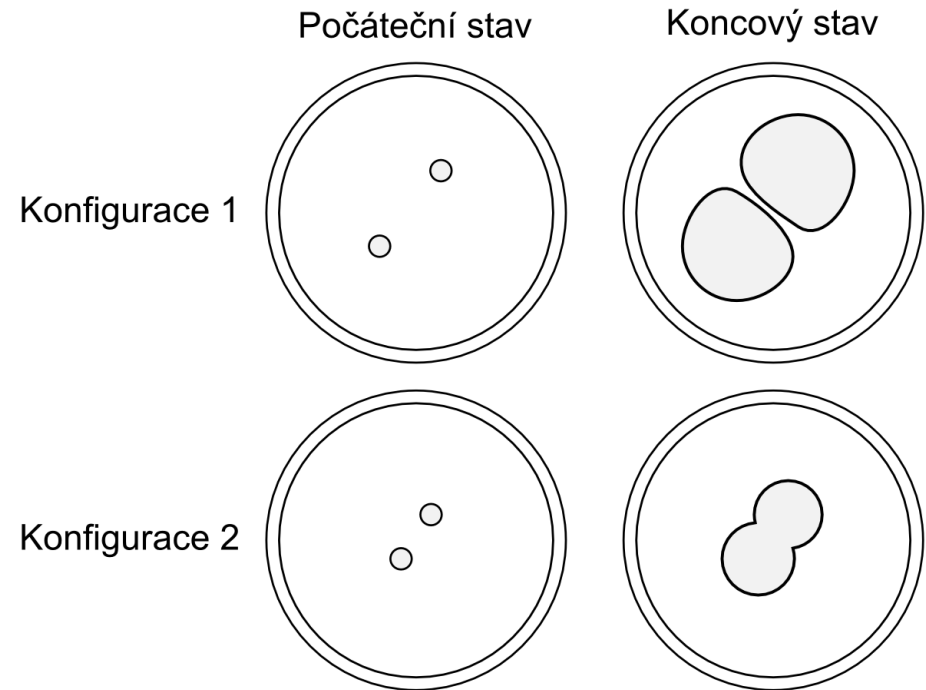
- Máme N kolonií fenotypu R.
- Zkoumáme vliv rozložení na růst kolonií.



Experiment proveden a dokumentován Irenou Pátkovou a Jaroslavem Čeplem, PŘF UK

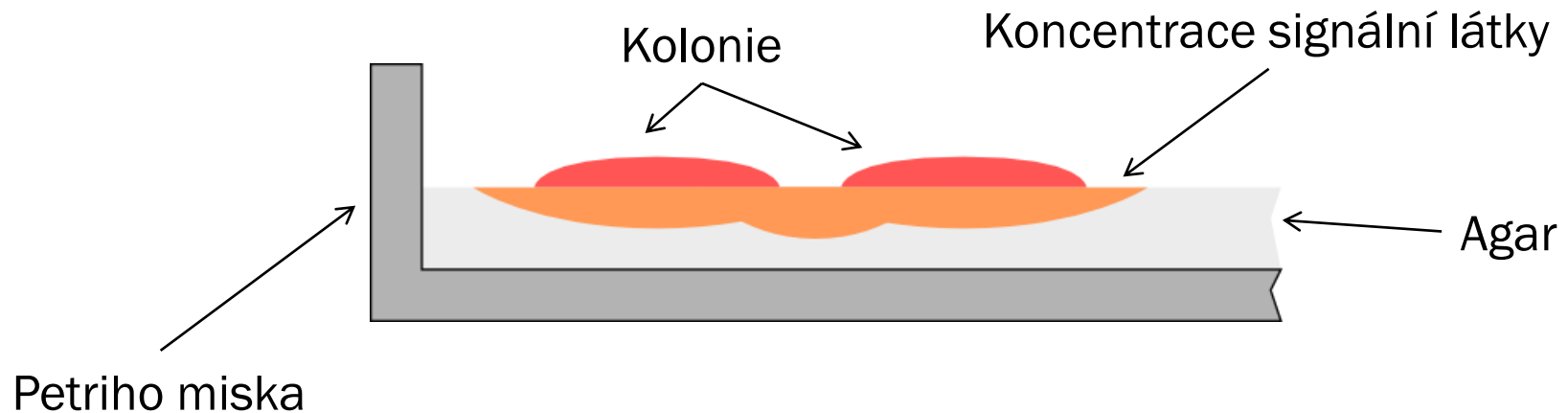
# Modelovaný experiment

- Monoklonální kolonie → tvořeny identickými buňkami
- Proč si kolonie v prvním případě zachovají samostatnost?
- Poznají bakterie *cizí* kolonii?



# Modelovaný experiment

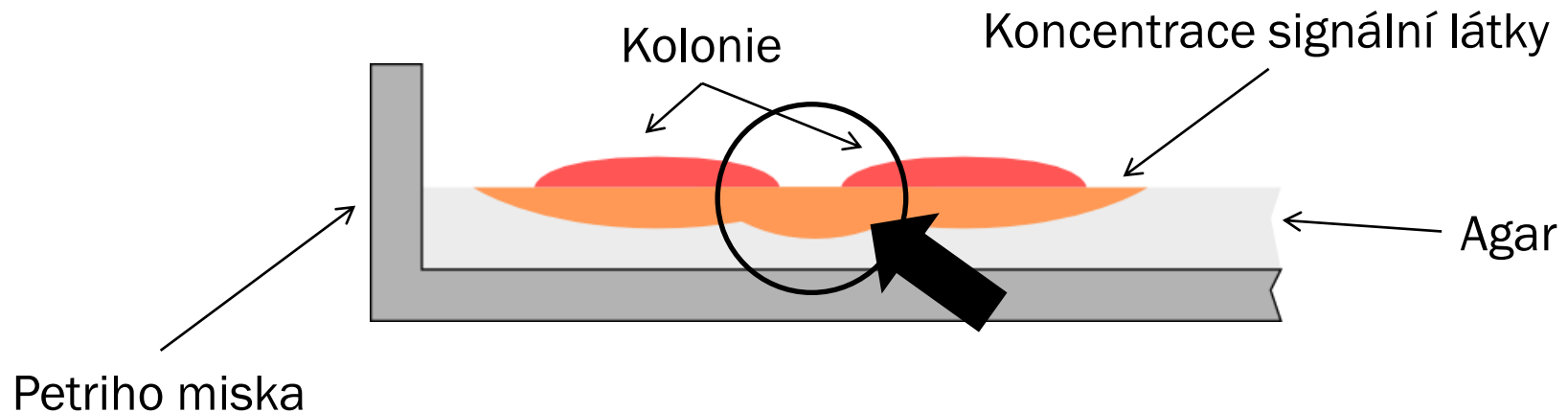
- Quorum sensing,
  - signální látky v agaru,
  - kritická koncentrace signální látky mění metabolismus.





# Modelovaný experiment

- Quorum sensing,
  - signální látky v agaru,
  - kritická koncentrace signální látky mění metabolismus.



První pokus – mikro model

# MODELOVÁNÍ

## Předpoklady modelu

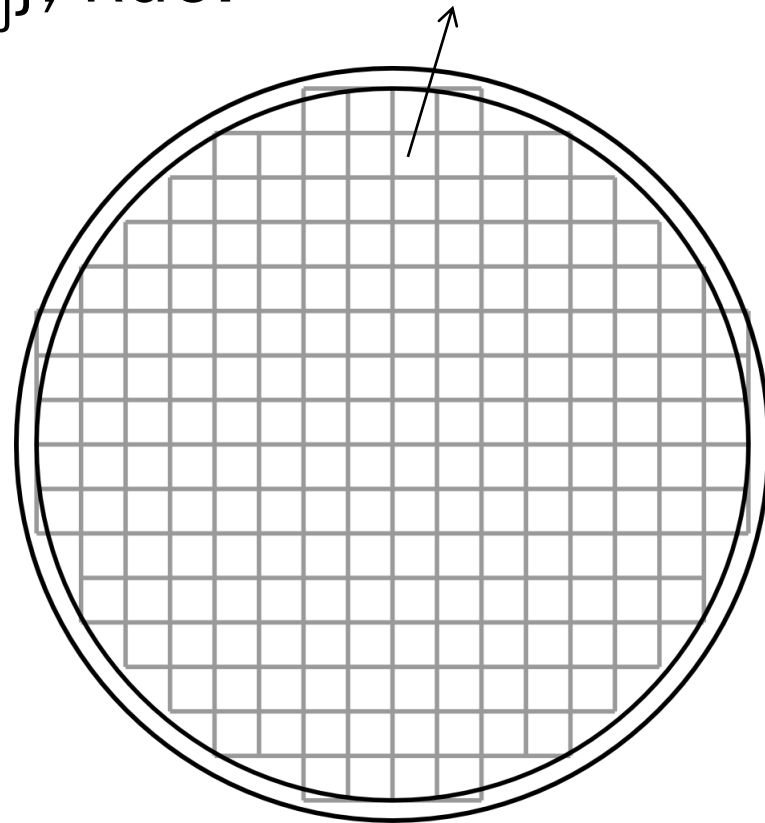
- Každá bakterie hraje sama za sebe.
- Kolonie má přibližně kruhový tvar.
- Bakterie potřebuje živiny a životní prostor.
- Bakterie produkuje signální látku.
- Při kritické koncentraci signálu se bakterie přestává dělit.

## Specifikace modelu

- Základem síť  $S = \{S_{i,j}\}$ , kde:

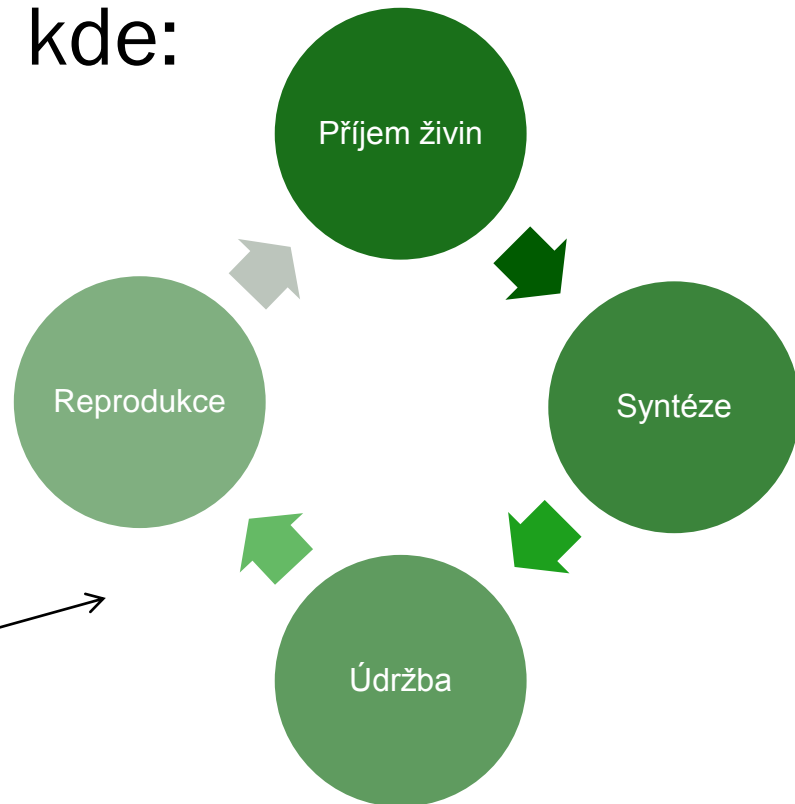
- $G \in \mathbf{R}$  koncentrace signální látky,
- $R \in \mathbf{R}$  koncentrace živin,
- $B = \{b_1, b_2, \dots, b_k\}$  množina bakterií.

$$S_{i,j} = \{G, R, B\}$$



## Specifikace modelu

- Bakterie  $b_i = \{m, r, Q\}$ , kde:
  - $m \in \mathbf{R}$  hmota bakterie,
  - $r \in \mathbf{R}$  množství živin,
  - $Q \in \{q_1, q_2\}$  stav metabolismu.
- Model bakterie

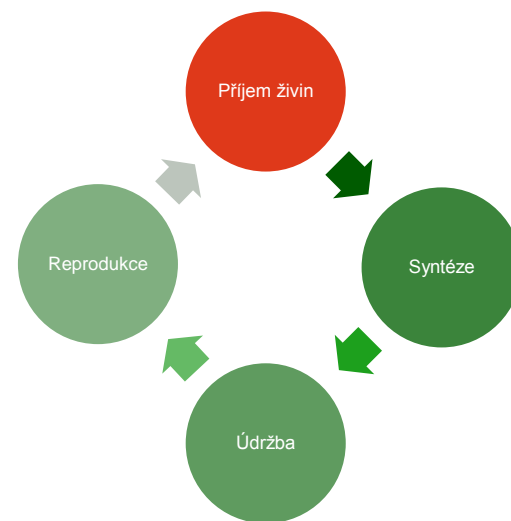


# Model bakterie

## Příjem živin

$$R(b_l) = r_1 c_1 sm(b_l)^{c_2}$$

- $r_1$  – náhodná veličina (se střední hodnotou  $R_{\max}$ ),
- $R_{\max}$  – maximální množství odebrané živiny na jednotku hmoty za čas  $\Delta t$ ,
- $c_1 \in \mathbf{R}$  – lin. kalibrační koeficient.

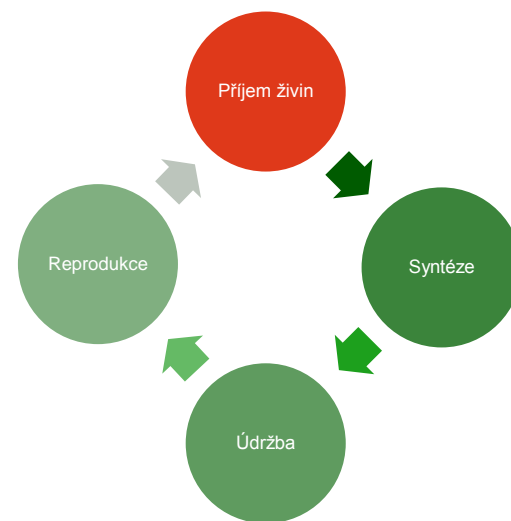


# Model bakterie

## Příjem živin

$$R(b_l) = r_1 c_1 s m(b_l)^{c_2}$$

- $m(b_l)$  – hmota buňky  $b_l$ ,
- $c_2 \in (0, 1)$  – nelin. kalibrační koeficient,
- $s$  – přísun živin klesá s rostoucí hustotou bakterií v okolí.



$$s = 1 - \frac{B(S_{ij} + O(S_{ij}))}{B_{\max} (S_{ij} + O(S_{ij}))}$$

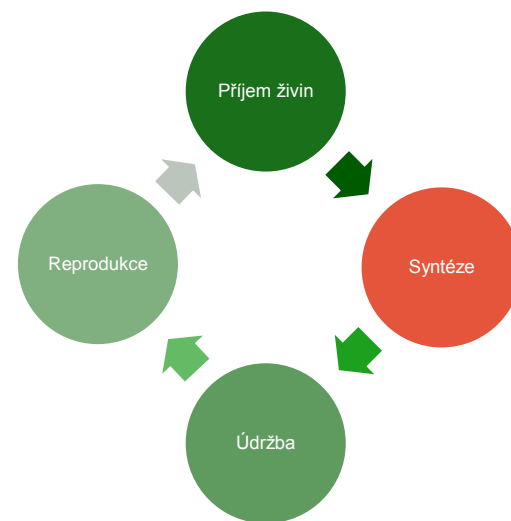
# Model bakterie

## Syntéza

$$\Delta m(b_l) = c_s r(b_l)$$

$$\Delta G(S_{ij}) = \sum_{b_l \in S_{ij}} c_g m(b_l)$$

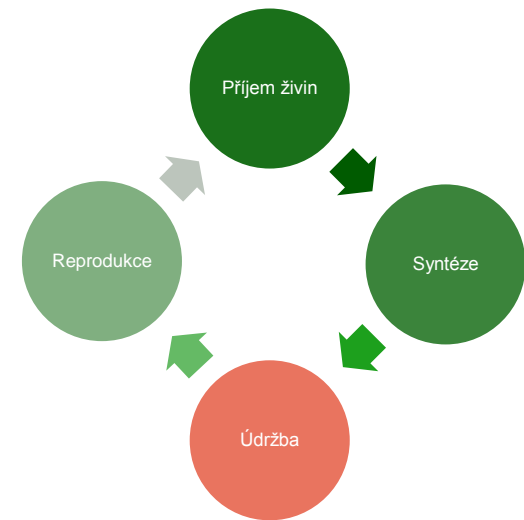
- $c_s \in (0, 1)$  – účinnost syntézy,
- $r(b_l)$  – množství živin bakterie  $b_l$ ,
- $c_g$  – lin. kalibrační koeficient.





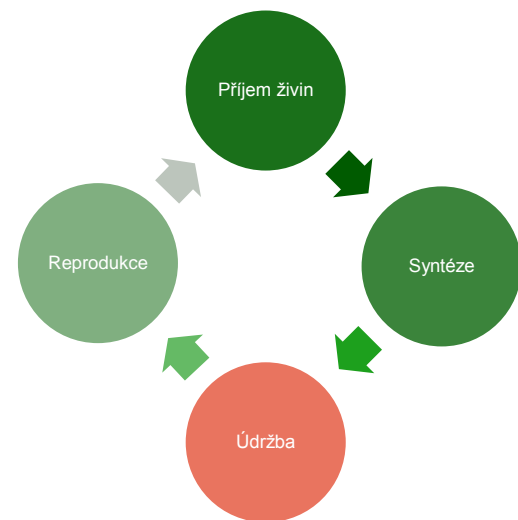
## Model bakterie

- Bakterie se snaží zajistit si nejlepší podmínky.
- S rostoucí hustotou osídlení v  $S_{ij}$  roste pravděpodobnost, že se bakterie přemístí.
  - Ze sousedních políček s nejmenší hustotou se vybere náhodně.
  - Další podmínky viz reprodukce (dále).



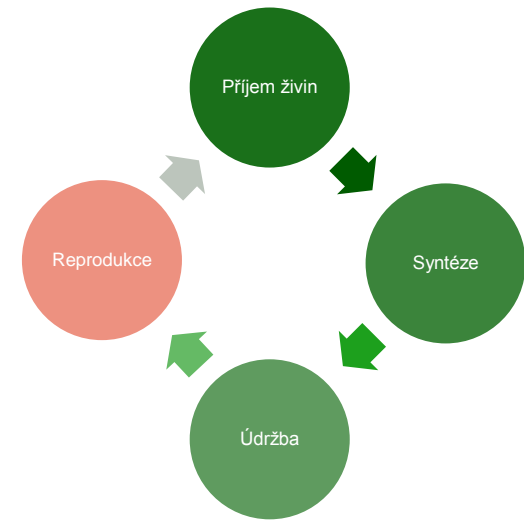
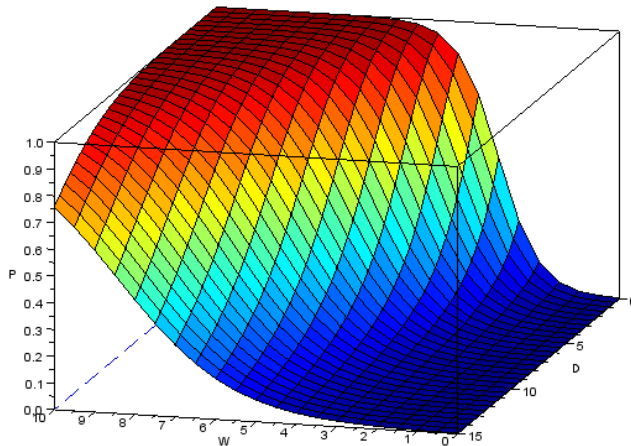
# Model bakterie

- Přepnutí metabolismu:
  - V případě, že se bakterie nachází v oblasti vysoké koncentrace signálu.
  - pokud  $G(S_{kl} + O(S_{kl})) \geq 5G_{krit}$
  - pak  $Q(b_l) = q_1 \rightarrow Q(b_l) = q_2$



# Model bakterie

- $p(b_l)$  – pravděpodobnost, že se bakterie  $b_l$  rozdělí
  - roste s rostoucí hmotou  $m(b_l)$
  - klesá s rostoucí hustotou  $B(S_{ij})$



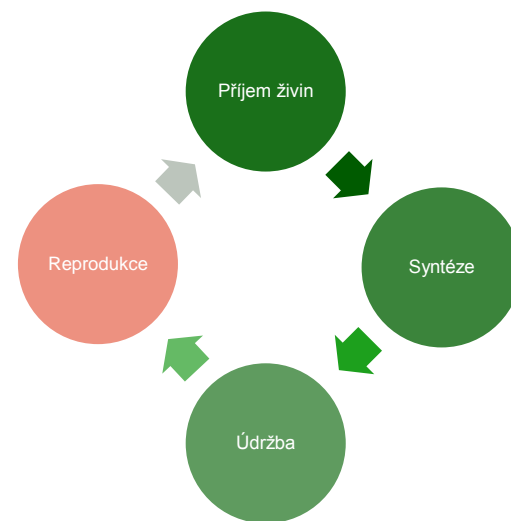
$$p(b_l) = \frac{1}{1 + e^{-\frac{m(b_l)}{1+a_1 B(S_{ij})}}}$$

## Model bakterie

- Bakterie se dělí následovně:
  - Najdou se vhodná sousední políčka  $S_{kl}$  – musí platit:

$$B(S_{kl} + O(S_{kl})) \geq B_{\min}(S_{kl} + O(S_{kl}))$$

- Z vhodných s min. hustotou se náhodně vybere políčko, kam se bakterie rozdělí.
- Bakterie  $b_l$  se dělí jen v případě  $Q(b_l) = q_1$



## Model prostředí

- Prostředí není statické.
  - Živiny difundují v agaru – příjem živin zároveň způsobuje jejich přesun.
  - Signální látka difunduje v agaru a ve vzduchu.

Difuze

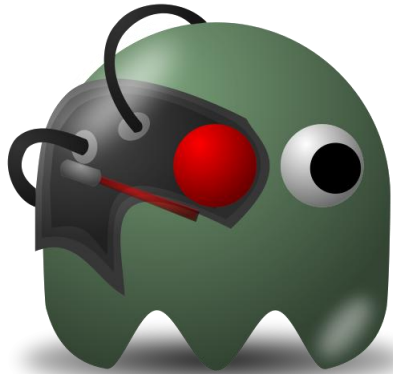
$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \left( \frac{\partial^2 C}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 C}{\partial y^2} \right)$$

Difuze diskrétně

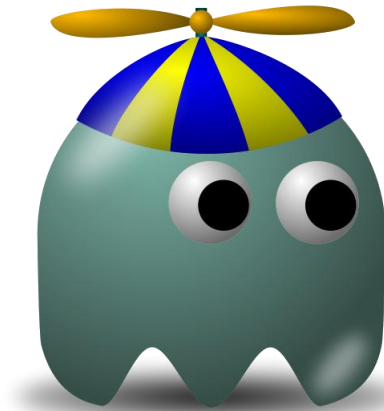
$$\Delta c_{S_{ij}} = \frac{D\Delta t}{(\Delta x)^2} \left( \sum_{S_{kl} \in O(S_{ij})} c_{S_{kl}} - 4c_{S_{ij}} \right)$$

# Ponaučení

- Proč to nedopadlo?
  - První návrh (nebyl prezentován):

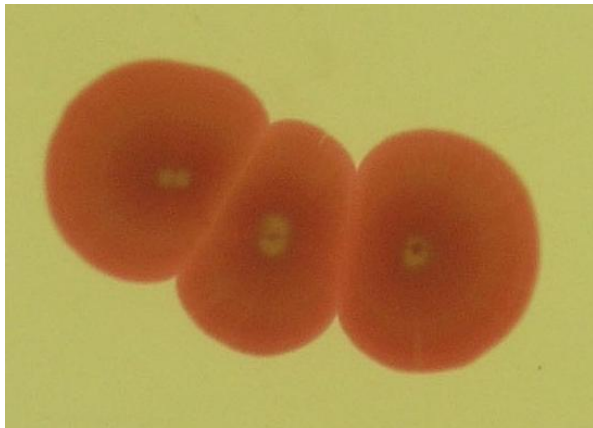


vs.

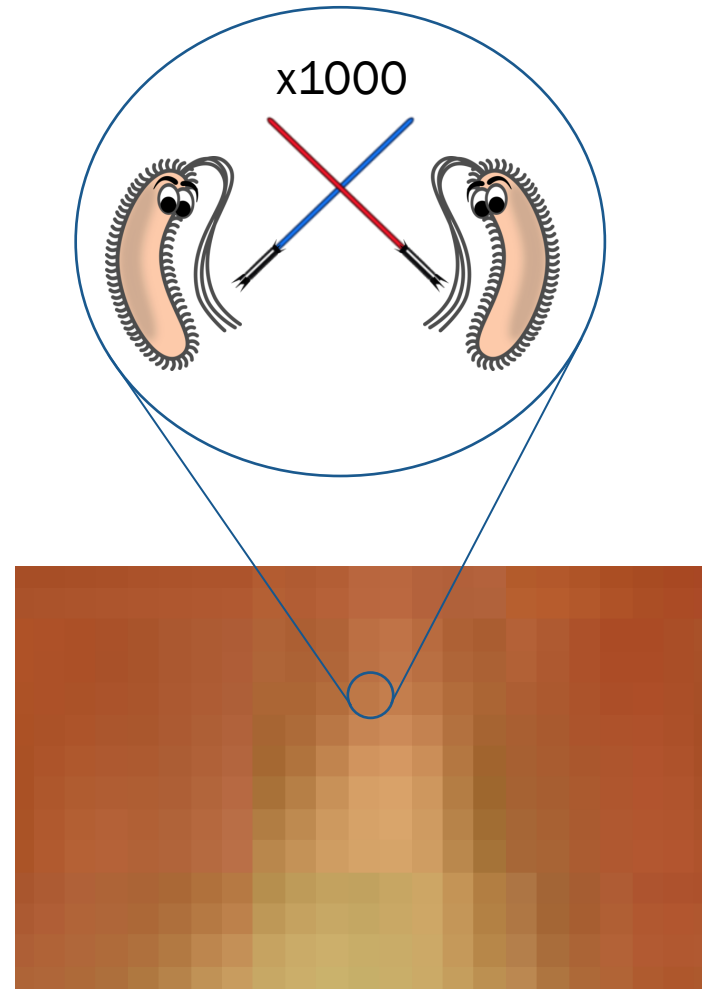


# Ponaučení

- Proč to nedopadlo?
  - Druhý návrh:

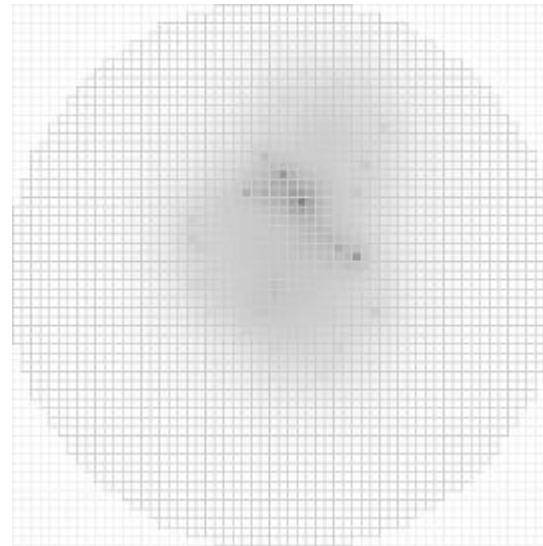
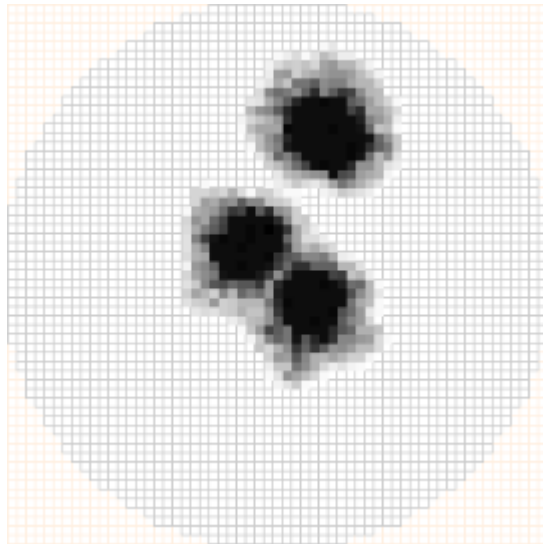


VS.



# Výsledky

- Mám zlozvyk věci zahazovat, takže pouze:





Druhý pokus – makro model

# MODELOVÁNÍ

## Změny v předpokladech

- Sledujeme pouze koncentraci bakterií B a signálu G.
- Bakterie jsou kultivovány na bohatém médiu  
→ můžeme zanedbat vliv živin.

## Difúzně reakční model

- Koncentrace popsány soustavou PDR:

$$\frac{\partial B}{\partial t} = D_1 \left( \frac{\partial^2 B}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 B}{\partial y^2} \right) + R_B(B, G)$$

$$\frac{\partial G}{\partial t} = D_2 \left( \frac{\partial^2 G}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 G}{\partial y^2} \right) + R_G(B)$$

## Difúzně reakční model

- V diskrétní podobě:

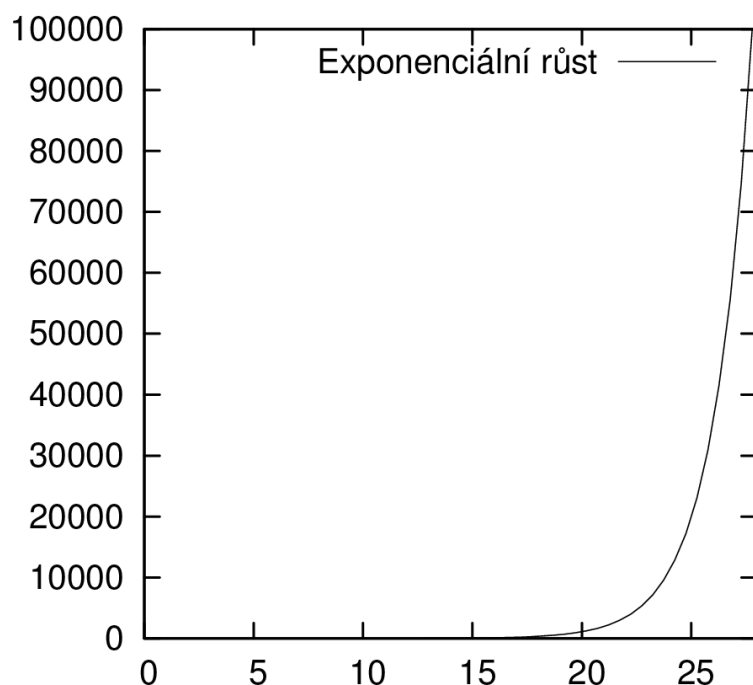
$$\Delta B_{S_{ij}} = c_1 \left( \sum_{S_{kl} \in O(S_{ij})} B_{S_{kl}}^N - 4B_{S_{ij}}^N \right) + R_B(S_{ij})$$

$$\Delta G_{S_{ij}} = c_2 \left( \sum_{S_{kl} \in O(S_{ij})} G_{S_{kl}} - 4G_{S_{ij}} \right) + R_G(S_{ij})$$

- kde  $R_B$  je model růstu bakterií,
- kde  $R_G$  je model produkce signálu.

# Neomezený růst

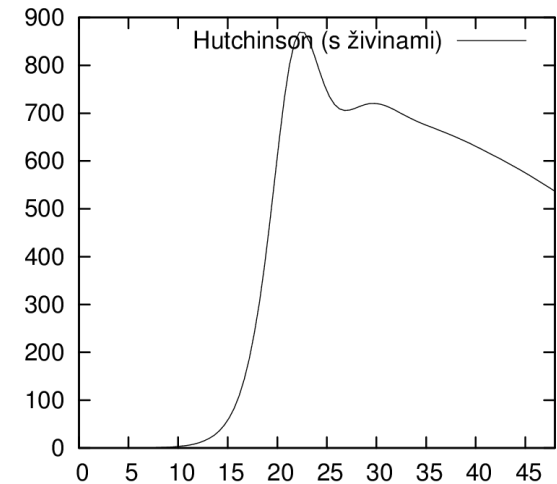
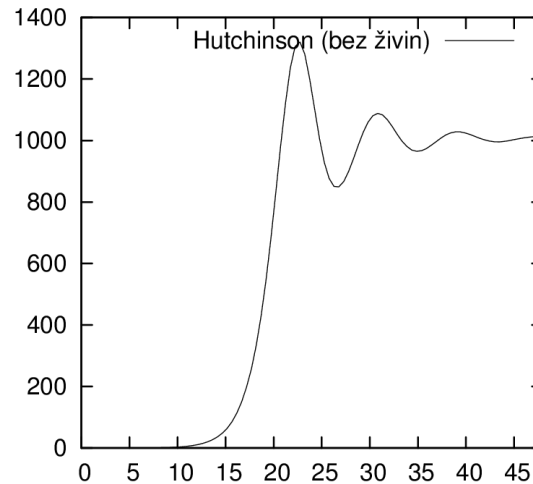
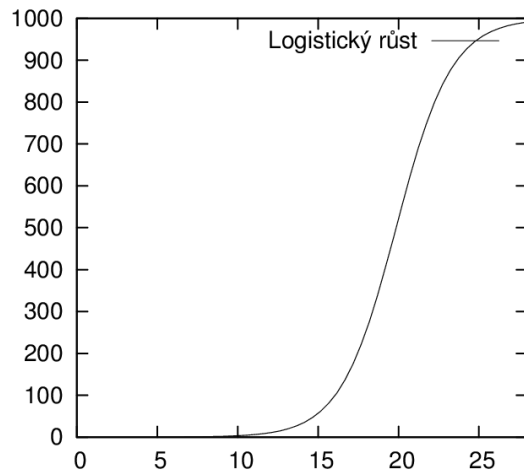
- Růst kolonie není omezen vnitřními ani vnějšími vlivy → **exponenciální růst**.



## Rovnice

$$\frac{dy(t)}{dt} = k_1 y(t)$$

# Omezený růst



## Logistický růst

$$\frac{dy(t)}{dt} = (k_1 t - k_2 y(t)) y(t)$$

## Hutchinsonův růst s omezenými zdroji

$$\frac{dy(t)}{dt} = (k_1 t - k_2 y(t - T_c) - k_3 \frac{y(t)}{r}) y(t)$$

$$\frac{dr(t)}{dt} = -k_r y(t)$$

## Model růstu $R_B$

- Výchozí exponenciální model:

$$B_{S_{ij}}^N = k B_{S_{ij}}$$

- S „drobnou“ změnou:

$$B_{S_{ij}}^N = r_1(1 - g)b_1b_2 B_{S_{ij}}$$

- kde  $r_1$  – náhodná veličina z  $\mathbf{N}(c_b; \sigma_1^2)$ ,

## Model růstu $R_B$

$$B_{S_{ij}}^N = r_1(1 - g)b_1b_2B_{S_{ij}}$$

- kde  $g$  – podíl neaktivních buněk v důsledku kritické koncentrace signálu

$$g = \frac{G(S_{ij} + O_3(S_{ij}))}{25G_{krit}}$$

- neaktivní buňka:  $Q(b_1) = q_2$



## Model růstu $R_B$

$$B_{S_{ij}}^N = r_1(1 - g)b_1b_2B_{S_{ij}}$$

- kde  $b_1$  – snížení tempa růstu v důsledku zvyšující se hustoty v  $S_{ij}$  
$$b_1 = 1 - \frac{B(S_{ij})}{B_{\max}(S_{ij})}$$
- kde  $b_2$  – snížení tempa růstu v důsledku malé hustoty v  $O_2(S_{ij})$

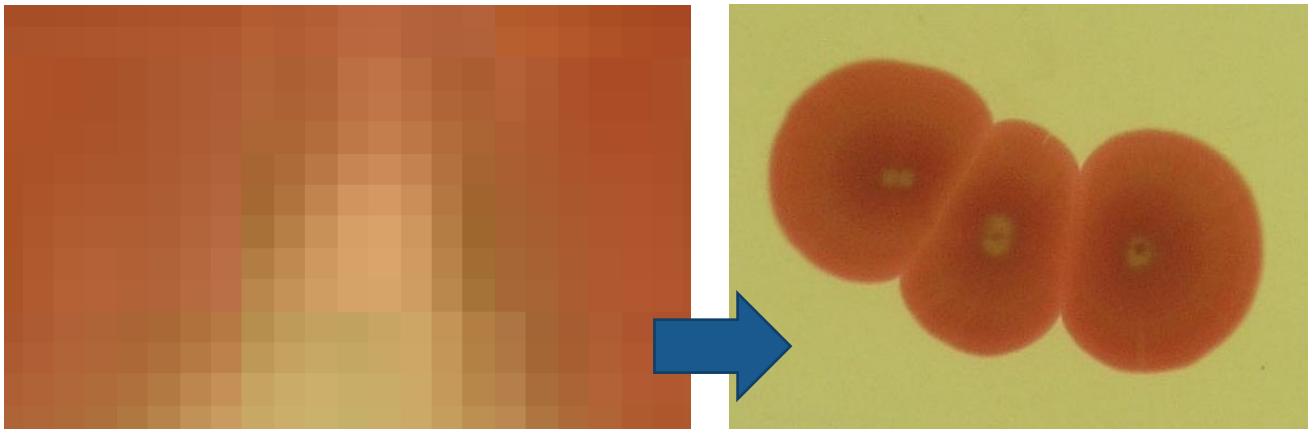
## Model produkce signálu $R_G$

$$\Delta G_{S_{ij}}^P = r_2(1 - g)B_{S_{ij}}^{g_1}$$

- kde  $r_2$  – náhodná veličina z  $\mathbf{N}(1; \sigma_2^2)$ ,
- kde  $g_1 \in (0, 1)$  – nelin. kalibrační koeficient
- Má smysl člen  $(1-g)$ ?

## Posun od prvního modelu

- Modelování vnějšího pozorování vs. modelování vnitřních procesů.
  - Celkové zjednodušení modelu.
  - Snížení počtu parametrů.

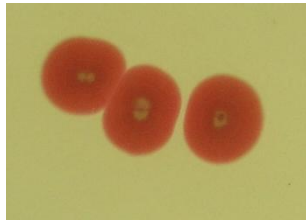
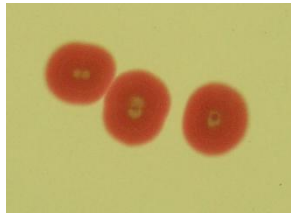
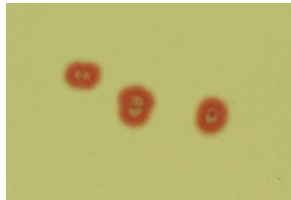


# Výsledky

t



Experiment



Bakterie



Model

Signál

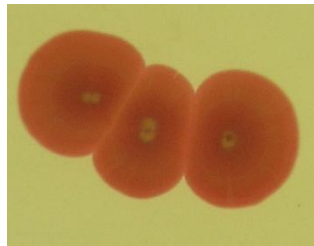
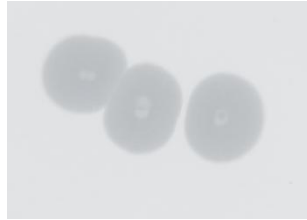


# Výsledky

t



Experiment



Bakterie



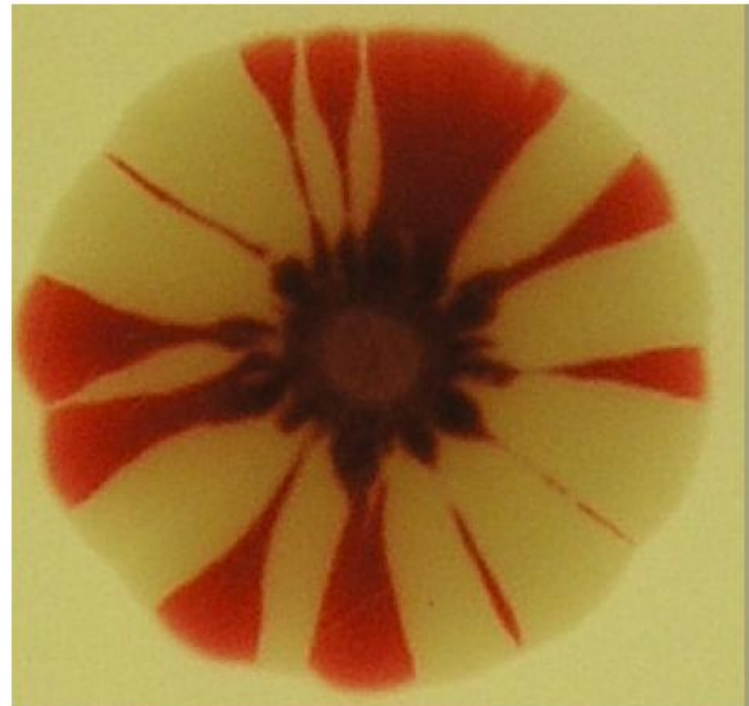
Model

Signál



## Další postup

- Vývoj kolonie trvá přibližně 10 dní.
  - Model sedí jen na prvních 5-7 dní.
  - Odhad parametrů.
- Interakce mixu fenotypů R a W.



Implementace modelu

# **SIMULACE**

# Popis experimentu

- Experiment a procesy popsány pomocí DSL.

Př.: Difuze signální látky

```
def S = {L, w ->
  return d.s.loc(L.x+w?.x?:0, L.y+w?.y?:0)?.subst(p.signal) ?: 0.0
}

def SD = {L ->
  def SI = c1 * (p.WAYS.sum {w -> S} - 4 * S)
  L.add(p.signal, SI)
}

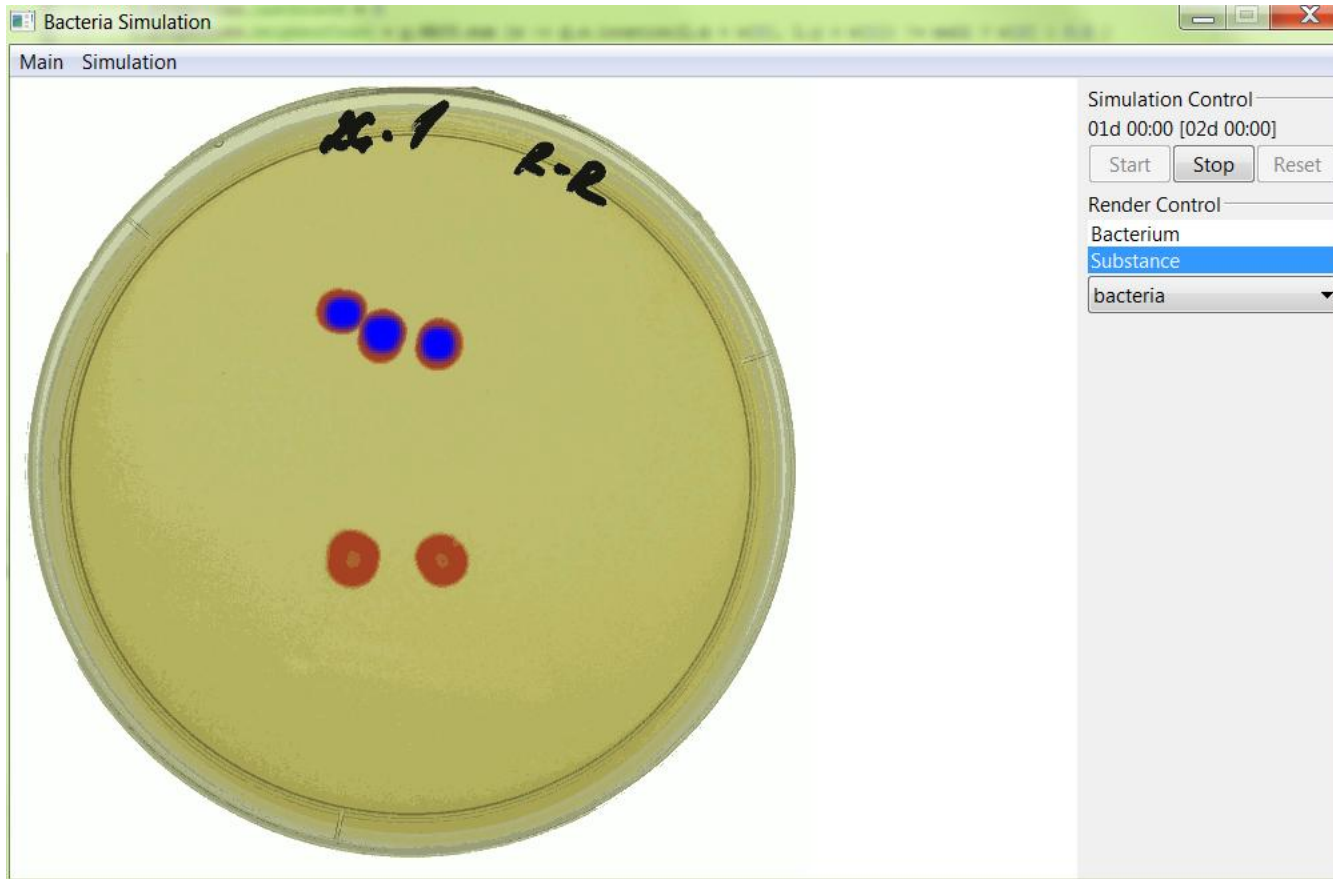
d.s.locations.each{L -> SD}
```



## Popis experimentu

- Experiment a procesy popsány pomocí DSL.
  - Založeno na  $\lambda$  výrazech.
  - Jádro tvoří JVM jazyk Groovy.
- Stav experimentu uložen v objektové DB.
- Samotný simulátor implementován v Javě+SWT

# Za běhu



# Za běhu



# Za běhu

The screenshot displays the 'Bacteria Simulation' application. The main window, titled 'Main Simulation', shows a petri dish with a yellowish bacterial colony. A 'Control Points' table is overlaid on the dish, listing time intervals and file paths. To the right, a 'Simulation Control' panel is visible with buttons for Start, Stop, and Reset, and a dropdown menu for 'Substance'.

Time	Path to image file	Stop
0d 00:00	c:\myspace\documents\skola\bakterialni.kolonie\experiment1\bakterie-...	No
1d 00:00	c:\myspace\documents\skola\bakterialni.kolonie\experiment1\bakterie-...	Yes
1d 00:20	c:\myspace\documents\skola\bakterialni.kolonie\experiment1\bakterie-...	No
2d 00:00	c:\myspace\documents\skola\bakterialni.kolonie\experiment1\bakterie-...	Yes
2d 00:20	c:\myspace\documents\skola\bakterialni.kolonie\experiment1\bakterie-...	No
3d 00:00	c:\myspace\documents\skola\bakterialni.kolonie\experiment1\bakterie-...	Yes
3d 00:20	c:\myspace\documents\skola\bakterialni.kolonie\experiment1\bakterie-...	No
5d 00:00	c:\myspace\documents\skola\bakterialni.kolonie\experiment1\bakterie-...	Yes



# Zdroje

- J. Čepl, I. Patkova, A. Blahůšková, F. Cvrčková, A. Markoš. *Patterning of mutually interacting bacterial bodies: close contacts and airborne signals*. In: 'BMC Microbiology' (2010), 10:139
- R. Farana, L. Landryova, J. Lokosova, L. Smutny, A. Viteček, M. Vitečkova, R. Wagnerova. *Programova podpora simulace dynamických systémů (sbírka řešených příkladů)*. Ostrava, 1996, ISBN 80-02-01129-5
- M. Ginovart, D. Lopez, J. Valls, M. Silbert. *Individual based simulations of bacterial growth on agar plates*. In: 'Physica A 305' (2002), 604–618
- Z. Kutalika, M. Razaza, J. Baranyib. *Connection between stochastic and deterministic modeling of microbial growth*. In: 'Journal of Theoretical Biology 232' (2005), 285–299
- P. Melke, P. Sahlin, A. Levchenko, H. Jonsson. *A Cell-Based Model for Quorum Sensing in Heterogeneous Bacterial Colonies*. In: 'PLoS Computational Biology' Vol. 6, No. 6 (2010)