

# MICOSI: ОТКРЫТЫЙ ПАКЕТ ДЛЯ КОМПЬЮТЕРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ МИТОЗА В СТАДИЯХ ПРОМЕТАФАЗЫ, МЕТАФАЗЫ И АНАФАЗЫ

М. А. Кривов<sup>1</sup>, П. С. Иванов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 119991, Москва*

УДК 519.688

DOI: 10.24411/9999-016A-2019-10040

В работе рассмотрена концепция разрабатываемого авторами открытого пакета для численного моделирования трёх последовательных фаз митоза. Он основан на трёхмерной мета-модели клетки, которая эволюционно расширяется за счёт встраивания других моделей микроуровня, в том числе конкурирующих. Описаны ключевые компоненты пакета, такие как расчётный модуль, визуализатор и библиотеки для интеграции с языком программирования C#. Проиллюстрирована схема работа с пакетом на примере оценки числа меротельных зацеплений микротрубочек в метафазе.

**Ключевые слова:** компьютерное моделирование, митоз, деление клетки, прометафаза, метафаза, анафаза.

## Введение

Актуальной проблемой биофизики является изучение процессов, протекающих при митотическом делении клетки. Сегодня, благодаря различным методам синхронизации делящихся культур, имеются достаточно точные описания каждой фазы митоза. С другой стороны, до сих пор отсутствует детальное понимание механизмов, позволяющих клетке при всем многообразии протекающих в ней процессов в результате митоза перейти в строго ожидаемое состояние и разделиться на две новых.

К настоящему времени предложено множество математических моделей [1, 2], описывающих отдельные стадии митоза на уровне как всей клетки, так и её частей. Получаемые результаты численного моделирования в большинстве случаев верифицируются путём сопоставления с данными экспериментов, однако это не всегда позволяет исключить конкурирующие интерпретации одних и тех же явлений. Среди причин, приводящих к появлению альтернативных моделей, можно отметить ограниченность временного масштаба, а также упрощение взаимосвязей между частями клетки, которые заменяются искусственными условиями или просто игнорируются.

В статье представлены промежуточные результаты разработки расширяемой мета-модели, описывающей происходящие в клетке изменения в рамках трёх последовательных фаз митоза и реализованной в виде программного комплекса с открытым исходным кодом [3]. В отличие от схожих работ, подобная концепция «модели-конструктора» позволяет оценить долгосрочный эффект от выбора конкретных моделей и параметров микроуровня, например, проверить, как влияет рост тубулиновых микротрубочек на процесс центрирования хромосом перед их расхождением.

## 1 Исследуемый процесс

Основной задачей митоза является разделение генетической информации, содержащейся в клеточном ядре, на две строго идентичные копии. Рассматриваемое явление сопровождается различными биохимическими реакциями и сложными белок-белковыми взаимодействиями, поэтому часто его рассматривают как процесс,

---

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №19-07-01164а

протекающий одновременно в нескольких пространственно-временных масштабах. При этом пространственный масштаб должен охватывать как микрометры (процессы на уровне всей клетки), так и нанометры (белок-белковые взаимодействия). Характерные же времена отдельных митотических процессов находятся в диапазоне от нескольких секунд (события типа сцепления белков) до десятков минут и даже часов (механическое центрирование хромосом).

В протекании митоза на уровне клетки выделяют пять основных этапов (Рис. 1):

1. Профаза (Рис. 1а). В клеточном ядре происходит конденсация хромосом, в результате чего в каждой из них проявляются две связанные сестринские хроматиды (т. е. будущие хромосомы, «склеенные» в пары), в сумме содержащие два идентичных набора ДНК. Независимо от этого в пространстве клетки происходит формирование веретена деления — полимерной структуры, которая в дальнейшем отвечает за разделение хромосом и их расхождение к полюсам веретена деления.
2. Прометафаза (Рис. 1б). Ядерная мембрана разрушается, и пары хромосом начинают дрейфовать в пространстве клетки. В то же время в веретене деления выделяются два полюса, которые расходятся в диаметрально противоположные концы клетки. От каждого полюса в случайных направлениях начинают расти тонкие тубулиновые микротрубочки, которые при соударении с хромосомами либо прикрепляются к ним и тянут их к соответствующему полюсу, либо отталкивают их. Конкретный сценарий зависит от места соударения: центральная часть хромосом, именуемая кинетохором, обеспечивает зацепление, а белки хромокинезина, содержащиеся в боковых частях (так называемые руки хромосомы), приводят к появлению отталкивающих сил.
3. Метафаза (Рис. 1с). За счёт достижения баланса притягивающих и отталкивающих сил все пары хромосом располагаются в экваториальной плоскости. Для перехода клетки в данное устойчивое состояние требуется продолжительное время, которое может достигать нескольких часов и на протяжении которого наблюдаются осцилляции. Другой особенностью данного этапа является достижение хромосомами нужной ориентации, в соответствии с которой каждая из хроматид «направлена» на один из полюсов.
4. Анафаза (Рис. 1д). Одновременно во всех парах хромосом происходит разрыв центромеры — эластичной структуры, связывающей хромосомы в районе кинетохора. Как следствие, ставшие независимыми хромосомы под действием сил со стороны микротрубочек притягиваются к одному из полюсов, что обеспечивает требуемое распределение генетической информации по двум будущим дочерним клеткам.
5. Телофаза (Рис. 1е). На финальной фазе митоза происходит разборка веретена деления и формирование ядерных мембран вокруг каждой группы хромосом. Таким образом, в клетке образуются два новых ядра, которые потом на стадии цитокинеза (этап, следующий за митозом) станут ядрами двух дочерних клеток.

Если не учитывать белок-белковые взаимодействия, то изменения в ходе отдельных этапов выглядят случайными и хаотичными, тем не менее в результате пяти этапов митоза клетка практически всегда приходит к строго ожидаемому состоянию.

В настоящей работе рассматриваются три ключевые фазы митоза — прометафаза, метафаза и анафаза. Они представляют наибольший научный интерес, так как из-за возникающих на этих этапах ошибок клетка может стать анеуплоидной [4], что в ряде случаев приводит к развитию злокачественных опухолей [5]. Стоит отметить, что механизмы подавления подобных ошибок могут быть различны и в целом недостаточно изучены [6]. В этой связи понимание фундаментальных механизмов митоза может стать толчком к разработке новых классов лекарственных препаратов, замедляющих неконтролируемое деление клеток-мишеней, что и определяет востребованность подобных исследований.

## 2 Идея проекта

Большинство предложенных математических моделей описывают отдельные аспекты митоза, например, рост и сокращение микротрубочек [7], их взаимодействие с хромосомами [8], осцилляция хромосом в пространстве клетки [9], их распределение по новым ядрам [10]. При всём разнообразии предлагаемых идей, можно выделить два ключевых подхода к такому моделированию:

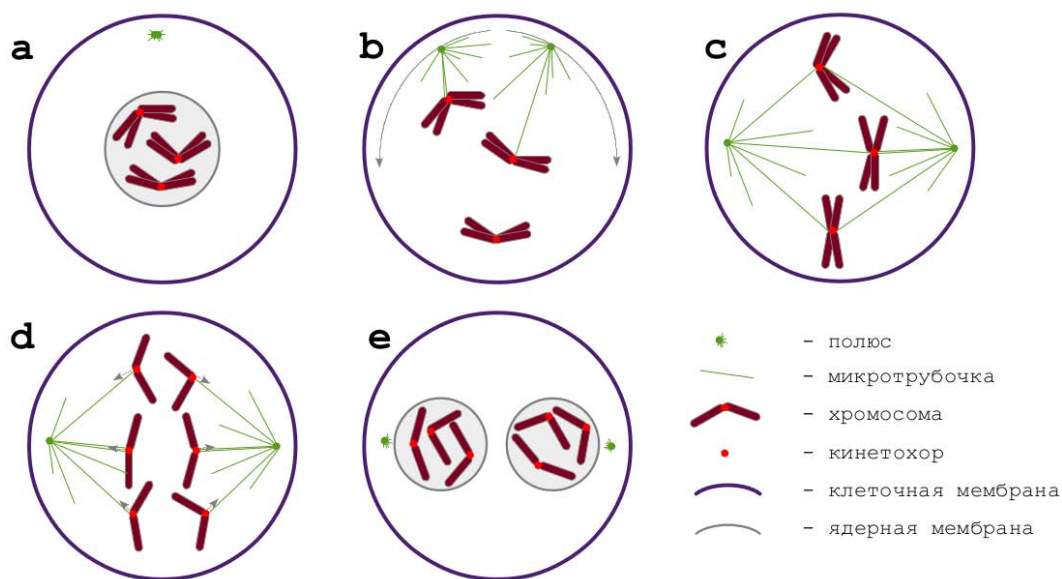


Рис. 1: Стадии митоза. (а) – профаза, (b) – прометафаза, (с) – метафаза, (d) – анафаза, (е) - телофаза

1. «Поиск-и-захват» [11]. Как отмечалось выше, центрирование и разделение хромосом осуществляется благодаря зацеплению микротрубочек за кинетохор. При этом остается открытым вопрос, каким образом микротрубочки находят столь небольшие области в пространстве клетки. Например, первые зацепления могут наблюдаться уже на десятой минуте, а к концу метафазы к каждому кинетохору прикрепляются десятки микротрубочек. Согласно принципу «поиск-и-захват», микротрубочки растут в случайных направлениях, постоянно переходя из состояния полимеризации (роста) в состояние деполимеризации (сокращения), и обратно. Именно благодаря подобной нестабильности они «сканируют» всё пространство клетки и обнаруживают хромосомы.
2. «Баланс сил» [12]. Расположение хромосом в экваториальной плоскости, в соответствии с данным принципом, обеспечивается исключительно за счёт достижения баланса действующих на них сил, в то время как сами хромосомы свободно перемещаются в вязкой цитоплазме клетки. Набор учитываемых сил зависит от модели, но обычно включает в себя притягивающие и отталкивающие силы со стороны микротрубочек, эффекты броуновского движения и вязкости цитоплазмы, а также силу растяжения центромеры.

Идея выполняемого авторами проекта заключается в разработке на базе подобных принципов самодостаточной каркасной мета-модели, которая непрерывно описывает динамику клетки в стадиях прометафазы, метафазы и анафазы. Подобная мета-модель допускает расширение путем встраивания сторонних моделей микроуровня, например, задающих скорости роста и сокращения микротрубочек или определяющих конкретный список действующих сил. Предложенная мета-модель реализуется в виде открытого пакета MiCoSi и дополнительно снабжается набором базовых виртуальных экспериментов с заранее известными ожидаемыми результатами.

Таким образом, построенная мета-модель позволяет исследователю сконструировать виртуальную клетку, задав биофизические параметры и описав взаимодействия её отдельных частей. После этого у него появляется возможность запустить стандартные вычислительные эксперименты и оценить, насколько в них воспроизводятся факты о митозе, установленные опытным путём. Независимо от этого, он может составить свою программу для загрузки требуемой информации с целью проверки целевых гипотез. По мнению авторов, подобный инструмент будет полезен для изучения конкретных культур клеток и определения их биологических особенностей, а также для более комплексного сравнения конкурирующих моделей митоза.

### 3 Мета-модель

Подробное описание используемой авторами математической модели содержится в работе [13]. Данная модель относится к классу геометрических, так как все белковые структуры представлены в виде наиболее близких к ним геометрических фигур. Например, клеточная мембрана описывается сферой, хромосома — группой из трёх полуцилиндров, а микротрубочки — отрезками заданной длины. Настройка численных опытов под конкретную культуру клеток осуществляется за счёт задания значений для 26 варьируемых параметров. Они определяют размеры самих белковых структур, вероятности для биохимических событий (зацепление микротрубочки за кинетохор, переход микротрубочки из состояния роста в состояние сокращения и др.), а также характер белок-белковых взаимодействий (силы, точки их применения, изменение формы).

В начальный момент времени, соответствующий прометафазе, полюса деления расходятся по искусственному закону в диаметрально противоположные стороны клетки. Рост микротрубочек реализован в аналогии с [14] и задаётся четырьмя параметрами — скоростями полимеризации и деполимеризации, а также вероятностями катастрофы и восстановления (т. е. событий перехода из состояния роста в состояние сокращения, и наоборот). При наложении микротрубочки на хромосому она может либо оборваться, либо перейти в состояние деполимеризации. Если плюс-конец микротрубочки накладывается на кинетохор, то с определённой вероятностью происходит зацепление. В свою очередь, также имеются вероятностные события для отцепления микротрубочек.

Метафаза наступает после окончания расхождения полюсов и продолжается до момента разрыва центромеры, представляемой стержнем или гуковской пружинкой. За это время хромосомы перемещаются в пространстве клетки под действием трёх сил: притяжения со стороны микротрубочек, тепловой диффузии и сжатия центромеры. В случае, если требуется обеспечить центрирование пар хромосом искусственным образом, то имеется возможность ограничить их движение только экваториальной плоскостью (что равносильно подавлению осцилляции). Разрыв центромер, соответствующий началу анафазы, происходит либо при достижении пороговой силы, либо при зацеплении требуемого числа микротрубочек за каждый кинетохор.

Как отмечалось ранее, предложенная модель выступает в роли каркаса, в который могут встраиваться более сложные модели микроуровня. Среди подобных механизмов, которые планируется внедрить в первую очередь, стоит отметить предположение о неявном влиянии концентрации свободных белков тубулина на направления роста микротрубочек [16], взаимодействие микротрубочек с белками хромокинезина [9], а также возможность зацепления микротрубочки за хромосому путём сцепления с другой небольшой микротрубочкой, порождённой самим кинетохором [8]. Стоит отметить, что хотя в текущей мета-модели подобные клеточные механизмы ещё не отражены, она уже способна воспроизвести основные факты о митозе. Например, авторы повторили виртуальный опыт по оценке влияния геометрических параметров клетки на подавление меротельных (ошибочных) зацеплений [15], уточнив ряд сделанных ранее выводов [13].

### 4 Структура пакета

В соответствии с используемым численным алгоритмом [13], переход от времени  $t$  к  $t + \Delta t$  разделён на два этапа. На первом из них осуществляется логика выполнения белок-белковых взаимодействий и вероятностных событий, в результате чего становятся известными значения и точки приложения действующих на хромосомы сил. Второй этап заключается в обновлении состояния клетки и самом переходе на следующий временной слой. Для этого достаточно решить систему линейных уравнений с матрицей  $6 \times 6$ , что позволяет по списку сил определить текущие значения линейных и угловых скоростей. Далее, интегрируя найденные скорости с помощью метода Эйлера, удаётся вычислить новые координаты белковых структур для времени  $t + \Delta t$ .

Так как в модель уже внесена искусственная погрешность, отвечающая броуновскому движению молекул, то первый порядок точности численного метода не является недостатком. Также стоит отметить, что основные операции, на которые уходит наибольшая часть времени, заключаются в проверке наложения геометрических объектов друг на друга, а не в решении СЛАУ или в интегрировании скоростей. На базе данного численного метода разработан открытый пакет MiCoSi [3], состоящий из пяти компонент:

1. Расчётный модуль (Рис. 2а). Консольная программа Mitosis.exe реализует численный алгоритм и позволяет по заданным файлам проекта провести серию виртуальных опытов. Результаты сохраняются в

виде бинарных файлов .cell, содержащих полную информацию о клетке. Предполагается, что работа с данным модулем осуществляется через утилиты-помощники, которые подготавливают файлы проекта и вызывают расчётный модуль с нужными аргументами командной строки.

2. .NET интерфейсы. Две библиотеки для .NET-совместимых языков программирования (в первую очередь, C#) предназначены для настройки виртуальных опытов и анализа их результатов. Первая из них, Mitosis.API, содержит классы для загрузки результатов моделирования из файлов .cell. Вторая, Mitosis.Launcher, позволяет описать требуемый опыт, запустить соответствующие расчёты и напрямую из C# отслеживать ход их выполнения.
3. Визуализатор (Рис. 2b). Полноценная программа для воспроизведения результатов моделирования, которая позволяет просматривать файлы .cell в режиме плеера, выделять объекты и измерять их параметры. Дополнительно к этому, имеется возможность выгрузки интересующих моментов в виде картинок или видео-фрагментов формата .wmv.
4. Функциональные тесты (Рис. 2c). Набор из 42 автоматических тестов построен на базе библиотеки Google Tests и разделён на три уровня. В первом из них работа с пакетом осуществляется в режиме «чёрного ящика», т. е. проверяется только сам факт успешного или аварийного завершения расчётов. Тесты второго уровня проверяют корректность моделирования на простейших сценариях, например, произошло ли зацепление микротрубочки за кинетохор, соответствует ли растяжение центромеры прикладываемым силам и т. д.. Наконец, третий уровень содержит более комплексные проверки, в частности, на нём осуществляется сбор статистической информации о клетке для дальнейшего сопоставления полученных данных с ожидаемыми.
5. Эксперименты. В настоящий момент в проекте реализованы два виртуальных эксперимента по оценке числа меротельных зацеплений и осцилляции хромосом. Они представлены в виде консольной программы, которая для заданной конфигурации клетки выполняет соответствующие расчёты, выдавая на выходе ответ о переходе ансамбля целевых клеток в ожидаемое состояние (в формате «да или нет»), а также .csv таблицы с более подробной информацией о числе меротельных зацеплений и амплитудах колебаний соответственно.

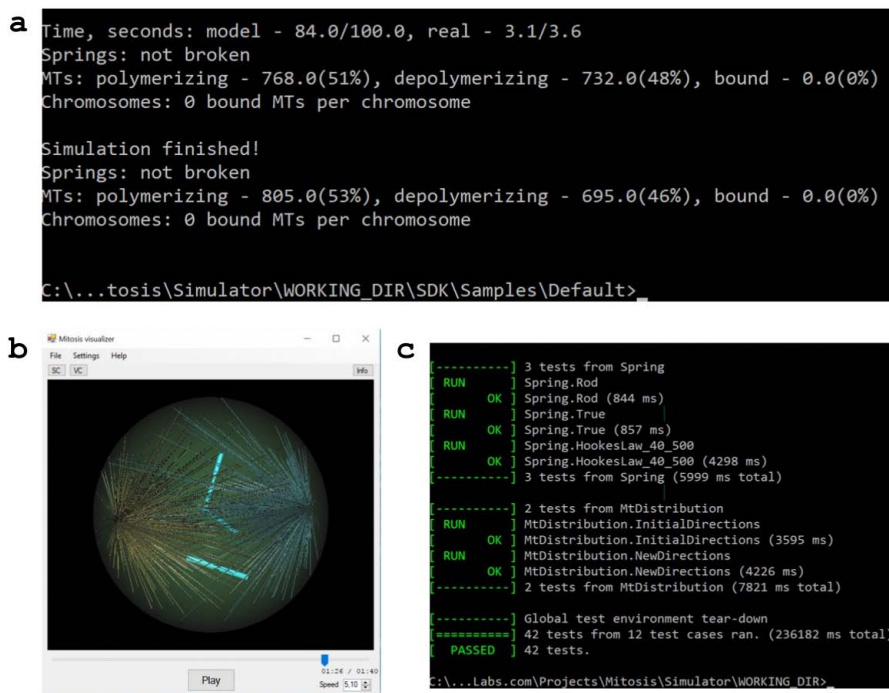


Рис. 2: Интерфейсы пакета MiCoSi. (a) — модуль для проведения расчётов, (b) — визуализатор результатов моделирования, (c) — набор встроенных автоматических тестов

## 5 Работа с пакетом

Схему использования пакета можно проиллюстрировать на примере работы виртуального эксперимента MerotelicKTs, в котором анализируется влияние геометрических особенностей клетки на подавление меротельных зацеплений в метафазе (версия от 16 апреля 2019 года). Для этого необходимо выполнить пять следующих шагов:

1. Подготовка. Требуется провести клонирование исходных кодов из git-репозитория, после чего осуществить автоматическую настройку с помощью утилиты CMake. В случае, если на системе установлена библиотека Google Tests, то также будут созданы правила сборки для функциональных тестов.
2. Компиляция. Подготовленный через утилиту CMake проект необходимо скомпилировать с помощью среды Visual Studio. В случае успеха все требуемые файлы будут помещены в директорию WORKING\_DIR, непосредственно из которой можно осуществлять работу с пакетом. В частности, рекомендуется запустить функциональные тесты (приложение FunctionalTests), чтобы оценить работоспособность сборки.
3. Настройка опыта. К собственному C# проекту следует подключить библиотеки Mitosis.API и Mitosis.Launcher. С помощью содержащегося в них класса LaunchParameters можно задать значения для 26 параметров клетки (поле Config), описать начальное состояние клетки (поле InitialStates) и закон, по которому двигаются полюса (поле PoleCoords), а также переопределить аргументы командной строки решателя (например, указать зерно генератора случайных чисел). В рассматриваемом эксперименте этим операциям соответствуют строки 48-108.
4. Анализ результатов. Чтобы запустить расчёты по ранее подготовленному сценарию, требуется задействовать класс Launcher (строки 109-114). Далее, с помощью класса TimeStream необходимо открыть полученный файл формата .cell и обойти все временные слои, собирая нужную информацию о клетке (строки 122-175). Для каждой белковой структуры имеется соответствующий ей класс (Pole, Chromosome, MT), через поля которого можно узнать значения её параметров. Непосредственный анализ результатов зависит от цели виртуального опыта — в рассматриваемом примере измеряется число меротельных зацеплений и угол поворота пары хромосом (строки 183-331), которые в дальнейшем сохраняются в табличном формате .csv.
5. Визуализация. Крайне важным моментом является визуальная проверка корректности опыта, поэтому требуется дополнительно запустить визуализатор (приложение Visualizer) и открыть созданный файл .cell, проследив за динамикой клетки. Это позволит удостовериться в том, что настройки опыта верны, а также что в нём отсутствуют аномалии, которые могли быть упущены при экспорте данных в упрощённый табличный формат.

## Заключение

Целью представленного проекта является создание настраиваемой математической модели делящейся клетки, в которую авторами поэтапно встраиваются сторонние модели микроуровня, в подавляющем большинстве случаев представленные только в виде статей. Ключевой особенностью является реализация данной мета-модели в виде пакета с открытым исходным кодом, что должно позволить исследователям проводить более качественный анализ экспериментально наблюдаемых клеточных механизмов.

На текущем этапе развития предложенная модель уже достаточна для моделирования трёх последовательных фаз митоза — прометафазы, метафазы и анафазы. Так как в пакете предусмотрена возможность гибкой настройки виртуальных опытов за счёт интеграции с языком программирования C#, то это делает возможным его использование при изучении различных явлений, например, таких, как подавление меротельных зацеплений микротрубочек за кинетохор в рамках метафазы.

## Список литературы

- [1] McIntosh R. et. al., Quarterly Reviews of Biophysics. 2012. Vol. 45(2). P. 147–207.

- [2] Civelekoglu-Scholey G., Cimini D., Modelling chromosome dynamics in mitosis: a historical perspective on models of metaphase and anaphase in eukaryotic cells // *Interface Focus*. 2014. Vol. 4(3). P. 1–9.
- [3] Портал проекта MiCoSi: <https://github.com/m-krivov/MiCoSi> (дата обращения: 01.06.2019).
- [4] Cimini D., Merotelic kinetochore orientation, aneuploidy, and cancer // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Reviews on Cancer*. 2008. Col. 1786(1). P. 32–40.
- [5] Heim S., Mitelman F., *Cancer Cytogenetics: Chromosomal and Molecular Genetic Aberrations of Tumor Cells*, Fourth Edition. Wiley. 2015. P. 632.
- [6] Gregan J., Merotelic kinetochore attachment: causes and effects // *Trends in Cell Biology*. 2011. Vol. 21(6). P. 374–381.
- [7] Gregoret I., et al., Insights into cytoskeletal behavior from computational modeling of dynamic microtubules in a cell-like environment // *Journal of Cell Science*. 2006. Vol. 119. P. 4781–4788.
- [8] Vasileva V. et al., Molecular mechanisms facilitating the initial kinetochore encounter with spindle microtubules // *Journal of Cell Biology*. 2017. Vol. 216(6). P. 1609–1622.
- [9] Campas O., Sens P., Chromosome Oscillations in Mitosis // *Physical Review Letters*. 2006. Vol. 97(12). P. 128102-1–128102-4.
- [10] Gerlich D. et al., Global Chromosome Positions Are Transmitted through Mitosis in Mammalian Cells // *Cell*. 2003. Vol. 112. P. 751–764.
- [11] Kirschner M., Mitchison T., Beyond self-assembly: From microtubules to morphogenesis // *Cell*. 1986. Vol. 45. P. 329–342.
- [12] Joglekar A., Hunt A., A Simple, Mechanistic Model for Directional Instability during Mitotic Chromosome Movements // *Biophysical Journal*. 2002. Vol. 83(1). P. 42–58.
- [13] Кривов М.А. и др., Моделирование деления биологических клеток в стадии метафазы на суперкомпьютере "Ломоносов-2" // *Вычислительные методы и программирование: Новые вычислительные технологии*. 2018. Том 19, С. 327–339.
- [14] Gliksman N., Skibbens R., et al., How the Transition Frequencies of Microtubule Dynamic Instability (Nucleation, Catastrophe, and Rescue) Regulate Microtubule Dynamics in Interphase and Mitosis: Analysis Using a Monte Carlo Computer Simulation // *Molecular Biology of the Cell*. 1993. Vol. 4. P. 1035–1050.
- [15] Zaytsev A., Grishchuk E., Basic mechanism for biorientation of mitotic chromosomes is provided by the kinetochore geometry and indiscriminate turnover of kinetochore microtubules // *Molecular Biology of the Cell*. 2015. Vol. 26. P. 3985–3998.
- [16] Wollman R., et al., Efficient Chromosome Capture Requires a Bias in the ‘Search-and-Capture’ Process during Mitotic-Spindle Assembly // *Current Biology*. 2005. Vol. 15. P. 828–832.

*Кривов Максим Андреевич — математик факультета ВМК МГУ им. М. В. Ломоносова*  
*e-mail: m\_krivov@cs.msu.ru;*

*Иванов Павел Сергеевич — к.ф.-м.н., с.н.с. физического факультета МГУ им. М. В. Ломоносова*  
*e-mail: psmart@rambler.ru;*

*Дата поступления — 01 июня 2019 г.*