



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA



Dipartimento
di Fisica
e Astronomia
Galileo Galilei

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI FISICA E ASTRONOMIA "GALILEO
GALILEI"

CORSO DI LAUREA TRIENNALE IN FISICA

TESI DI LAUREA

SIMULAZIONE DI UN SEMPLICE SISTEMA CHIMICO: SENSING IN UN REGIME DI NON-EQUILIBRIO

Relatore

Dott. Michele Allegra

Università degli Studi di Padova

Candidato

Annachiara Campesan

2000381

*Anno accademico
2022-2023*

Abstract

In una recente pubblicazione [2], Nicoletti et al. hanno proposto un semplice modello per il sensing in regime di non-equilibrio, che comprende un recettore, un'unità di readout e un'unità di storage. Nel limite di perfetta separazione delle principali scale temporali coinvolte, sono stati in grado di risolvere esattamente le master equations rilevanti per il sistema e mostrare che l'unità di storage può stabilizzare il processo di sensing. In questo lavoro vogliamo riprodurre i principali risultati di Nicoletti et al. attraverso una simulazione numerica, e verificare in che misura la simulazione riflette le predizioni analitiche.

In a recent publication [2], Nicoletti et al. proposed a simple model of non-equilibrium sensing including a receptor, a readout, and a storage unit. In the limit of a perfect separation of the main time scales involved, they were able to exactly solve the relevant master equations and show that the storage unit can stabilize the sensing process. Here, we aim to reproduce the main results of Nicoletti et al. in a numerical simulation, and investigate to what extent the simulation aligns with the analytical prediction.

Indice

Abstract	I
Introduzione	V
1 L'algoritmo di Gillespie	1
1.1 Cenni sulle catene di Markov continue	1
1.1.1 Stima del tempo di permanenza e della probabilità di saltare ad un determinato stato	3
1.2 Descrizione dell'algoritmo di Gillespie	4
2 Descrizione del sistema	7
2.1 Descrizione della dinamica	8
2.1.1 Dinamica del recettore	8
2.1.2 Dinamica del readout	9
2.1.3 Dinamica dello storage	9
2.1.4 Separazione delle scale temporali	10
2.2 Generalizzazione formale	10
3 Simulazione del sistema e risultati	13
3.1 Simulazione del sistema con storage vuoto	13
3.1.1 Analisi dell'influenza della temperatura	15
3.1.2 Pseudocodice	18
3.2 Simulazione del sistema completo	19
3.2.1 Pseudocodice	22

Introduzione

Lo studio dei sistemi biologici è un campo molto vasto che può essere approcciato sotto molteplici punti di vista. Il modello che studiamo in questo lavoro è quello presentato da Nicoletti et al. [2]. Si tratta di un modello talmente semplice che può essere applicato a diversi sistemi. Il modello rappresenta un sistema in grado di modulare la produzione di una molecola in base allo stato dell'ambiente esterno, e prevede tre componenti. Primo, un recettore in grado di effettuare una sola semplice azione, attivarsi o disattivarsi, a seconda dell'effetto dell'ambiente esterno. Secondo, un reservoir di *readout* che rappresenta la produzione della molecola (che deve essere alta o bassa a seconda dello stato dell'ambiente). Terzo, un reservoir di *storage* che ha il ruolo di monitorare il sistema e indurre un effetto di feedback negativo per stabilizzare la produzione della molecola. Infine, il modello tiene conto della dissipazione di energia, che è imprescindibile quando si tratta un sistema biochimico reale. Nel loro lavoro originale, Nicoletti et al. hanno derivato esattamente le equazioni del sistema in un particolare limite (quello in cui le scale temporali dei tre componenti sono separate). In questa tesi ci proponiamo di simulare il modello proposto utilizzando l'algoritmo di Gillespie, allo scopo di verificare la correttezza dei risultati ottenuti per via analitica in [2].

Questo lavoro è organizzato in tre capitoli:

- Nel primo capitolo vengono presentate alcune nozioni sulle catene di Markov continue nel tempo e viene illustrato l'algoritmo di Gillespie;
- Nel secondo capitolo vengono descritti il modello del sistema biochimico e la dinamica delle sue componenti;
- Nel terzo ed ultimo capitolo vengono presentati i risultati delle simulazioni e viene analizzata la loro coerenza con le previsioni fatte sulla base di [2].

CAPITOLO 1

L'algoritmo di Gillespie

Nella simulazione dei sistemi biologici uno degli algoritmi più utilizzati è l'*algoritmo di Gillespie*, noto anche come *Stochastic Simulation Algorithm (SSA)*. Come suggerisce il nome, tale procedura è di natura stocastica ed è particolarmente efficace per simulare sistemi biochimici che abbiano pochi reagenti.

Il sistema preso in considerazione, in un certo istante t , si troverà in un determinato stato X_t dove $(X_t)_{t \geq 0}$ è una famiglia di variabili casuali a valori interi positivi che identificano lo stato del sistema. Per far sì che lo stato del sistema venga modificato deve verificarsi una reazione che porti il sistema in un altro stato. Ci sono quindi due variabili che determinano l'evoluzione del sistema: *quando* avviene il passaggio da uno stato ad un altro e verso *quale* stato il sistema si porta. Abbiamo quindi una *catena* di eventi che possono avvenire durante l'osservazione del sistema. Ogni volta che simuliamo il sistema tale catena di eventi cambia in virtù della natura stocastica del processo.

1.1 Cenni sulle catene di Markov continue

Introduciamo brevemente il formalismo delle catene di Markov continue, che ci sarà utile nel seguito per descrivere la dinamica del sistema. Per una descrizione più approfondita si veda [1].

DEFINIZIONE 1.1 (Catena di Markov continua) Una famiglia di variabili casuali $X = (X)_{t \geq 0} \subset \mathbb{N}$ si dice **catena di Markov continua** (in inglese continuous time Markov Chain, ctMC) se la probabilità che $X_{t_n} = i_n$ soddisfa alla condizione

$$P(X_{t_n} = i_n | X_{t_1} = i_1, \dots, X_{t_{n-1}} = i_{n-1}) = P(X_{t_n} = i_n | X_{t_{n-1}} = i_{n-1}) \quad (1.1)$$

per ogni $i, j \in \mathbb{N}$ e $0 < t_1 < \dots < t_n$. Tale condizione è detta **proprietà di Markov**. Inoltre, una catena di Markov continua è **omogenea nel tempo** se

$$P(X_{t+s} = j | X_s = i) = P(X_t = j | X_0 = i) \quad (1.2)$$

Una catena di Markov continua quindi è caratterizzata dal fatto che lo stato del sistema in un certo istante dipende esclusivamente dallo stato immediatamente precedente. Rispetto ad una catena di Markov discreta, in cui i salti da uno stato ad un altro avvengono ad intervalli di tempo regolari, nel caso delle ctMC la probabilità di passare da uno stato ad un altro dipende dal tempo.

DEFINIZIONE 1.2 La **probabilità di transizione** $i \rightarrow j$ per una catena omogenea nel tempo vale

$$P_{ij}(t) = P(X_{t+s} = j | X_s = i) \quad (1.3)$$

Scriveremo $P(t) = (P_{ij}(t))$ per indicare la **matrice delle probabilità di transizione**.

Nel caso in cui la catena sia omogenea, tale probabilità è un gruppo ad un parametro, ovvero soddisfa la proprietà $P(t+s) = P(t)P(s)$. Osserviamo inoltre che $P(0) = \mathbb{1}$. La dinamica di una ctMC è completamente caratterizzata dalla matrice $P(t)$ e in particolare dal suo generatore infinitesimo.

DEFINIZIONE 1.3 Data una ctMC con matrice delle probabilità di transizione $P(t)$, si chiama **generatore infinitesimo** della catena di Markov la matrice

$$Q = \lim_{h \rightarrow 0^+} \frac{P(h) - \mathbb{1}}{h} \quad (1.4)$$

Si può dimostrare che la matrice Q soddisfa le seguenti proprietà:

- $\sum_j Q_{ij} = 0$;
- $Q_{ij} \geq 0 \forall i \neq j$;
- $Q_{ii} < 0$.

Gli elementi Q_{ij} rappresentano dei rate di transizione dallo stato i allo stato j ¹. Inoltre, è possibile calcolare $P(t)$ a partire dal suo generatore:

$$P(t) = e^{Qt} \quad (1.5)$$

¹Se ad esempio facciamo un esperimento prendendo il sistema nello stato i e facciamo in modo che, se lo stato viene modificato, esso venga istantaneamente riportato di nuovo allo stato i , il *rate di transizione* verso j , a_{ij} , si può definire come il rapporto tra il numero di volte che è avvenuta la transizione $i \rightarrow j$ e il tempo totale della durata dell'esperimento.

1.1.1 Stima del tempo di permanenza e della probabilità di saltare ad un determinato stato

DEFINIZIONE 1.4 Il *tempo di permanenza* τ_i è l'intervallo di tempo tra il salto che porta il sistema nello stato i e quello che lo porta in un altro stato.

Vogliamo ora stimare la distribuzione di probabilità di τ_i . In particolare, dobbiamo trovare la probabilità $\Pi_i(t)$ che il sistema rimanga costantemente nello stato i per un intervallo t . Supponiamo che all'istante $t = 0$ il sistema si trovi nello stato i e dividiamo l'intervallo $[0, t]$ in n intervalli più piccoli $[t_k, t_{k+1}]$ con $k = 1, \dots, n-1$ e $t_k = \frac{t}{n}k$, ciascuno di durata $\frac{t}{n}$.

La probabilità che il sistema si trovi nello stato i in tutti gli istanti t_k , se $X_0 = i$, è data da:

$$P(X_{t_n} = i, X_{t_{n-1}} = i, \dots, X_{t_1} = i | X_0 = i)$$

Applicando in modo ricorsivo la proprietà di Markov (1.1) si trova che:

$$P(X_{t_n} = i, X_{t_{n-1}} = i, \dots, X_{t_1} = i | X_0 = i) = \left(\prod_{k=0}^n P(X_{t_{k+1}} = i | X_{t_k} = i) \right) = \left[P_{ii} \left(\frac{t}{n} \right) \right]^n$$

dove $P_{ii}(\frac{t}{n})$ è l'elemento diagonale della matrice delle probabilità di transizione (1.3). Inoltre, riprendendo la (1.5) possiamo usare l'espansione in serie:

$$P_{ii} \left(\frac{t}{n} \right) = (e^{Q_{ii} \frac{t}{n}})_{ii} = 1 + Q_{ii} \frac{t}{n} + \mathcal{O} \left(\frac{1}{n^2} \right)$$

Allora la probabilità $\Pi_i(t)$ si può trovare facendo il limite per $n \rightarrow \infty$:

$$\Pi_i(t) = \lim_{n \rightarrow \infty} \left[P_{ii} \left(\frac{t}{n} \right) \right]^n = \lim_{n \rightarrow \infty} \left[1 + Q_{ii} \frac{t}{n} + \mathcal{O} \left(\frac{1}{n^2} \right) \right]^n = e^{Q_{ii} t} \quad (1.6)$$

A questo termine va moltiplicata la probabilità che lo stato cambi tra l'istante t e l'istante $t + dt$. Essa è data da

$$P(X_{t+dt} = j | X_t = i) = Q_{ij} dt \quad (1.7)$$

Mettendo insieme la (1.6) e la (1.7) troviamo la densità di probabilità che il sistema rimanga nello stato i fino all'istante t e che si sia nello portato stato j all'istante $t + dt$:

$$f_{ij}(t) = \Pi_i(t) \cdot P(X_{t+dt} = j | X_t = i) = Q_{ij} \cdot e^{Q_{ii} t} \quad (1.8)$$

Possiamo riarrangiare la (1.8) moltiplicando e dividendo per $-Q_{ii}$:

$$f_{ij}(t) = Q_{ij} e^{Q_{ii} t} = \left(-\frac{Q_{ij}}{Q_{ii}} \right) \cdot \left(-Q_{ii} e^{-Q_{ii} t} \right)$$

Allora, la probabilità che il sistema stia nello stato i fino al tempo t per poi fare un salto verso un *qualsiasi* stato $j \neq i$ vale

$$f(t) = -Q_{ii}e^{-Q_{ii}t} \quad (1.9)$$

Utilizzando l'identità $P(A|BC) = P(AB|C) / P(B|C)$ possiamo calcolare la probabilità che il salto avvenga verso lo stato j :

$$\begin{aligned} P(X_{t+dt} = j | X_{t+dt} \neq i, X_t = i) &= \frac{P(X_{t+dt} = j, X_{t+dt} \neq i | X_t = i)}{P(X_{t+dt} \neq i | X_t = i)} = \\ &= \frac{P(X_{t+dt} = j | X_t = i)}{P(X_{t+dt} \neq i | X_t = i)} = \frac{Q_{ij}dt}{\sum_{j \neq i} Q_{ij}dt} = -\frac{Q_{ij}}{Q_{ii}} \end{aligned} \quad (1.10)$$

Osserviamo che sia la (1.9) e la (1.10) sono definite positive per le proprietà del generatore infinitesimo.

1.2 Descrizione dell'algoritmo di Gillespie

Supponiamo che il sistema in esame si trovi all'istante t_0 nello stato $X_{t_0} = i$. Sfruttando il fatto che la dinamica del sistema può essere descritta tramite una catena di Markov, possiamo calcolare con che probabilità il tempo di permanenza nello stato i sia pari ad un certo valore τ_i . Essa è data da:

$$P(\tau_i \leq t) = \int_0^t dt' \left(-Q_{ii}e^{Q_{ii}t'} \right) = 1 - e^{Q_{ii}t}$$

Per simulare la dinamica del sistema quindi bisogna generare casualmente una variabile che segua tale distribuzione di probabilità. Per fare ciò per prima cosa si genera casualmente un numero $r \in [0, 1]$ con distribuzione uniforme, e poi si pone $r = P(\tau_i \leq t)$, da cui si ricava, invertendo la formula:

$$t = \frac{1}{Q_{ii}} \log(1 - r) \quad (1.11)$$

Facendo un cambio di variabile $r_1 = 1 - r$, dove vale ancora $r_1 \in [0, 1]$ possiamo semplificare la formula in

$$t = \frac{1}{Q_{ii}} \log(r_1) = -\frac{1}{\sum_{j \neq i} Q_{ij}} \log(r_1) \quad (1.12)$$

Per determinare quale delle reazioni j si verifica generiamo un altro numero casuale $r_2 \in [0, 1]$. In questo caso, bisogna prendere il minimo intero tale che la somma parziale

dei rate di transizione fino a j , normalizzata alla somma totale di tutti i rate di transizione da i agli altri stati, sia maggiore di r_2 . Formalmente:

$$j = \min \left\{ j \in \mathbb{N} : \sum_{j'=1}^j Q_{ij'} > r_2 \sum_{j'} Q_{ij'} \right\} \quad (1.13)$$

A questo punto possiamo applicare l'algoritmo di Gillespie:

1. Inizializzare il sistema nello stato iniziale $t = t_0$ e $X_{t_0} = i$;
2. Generare casualmente i due numeri r_1 ed r_2 e valutare τ e j secondo i criteri sopra esposti;
3. Effettuare la reazione (ovvero cambiare lo stato del sistema) sostituendo $t \rightarrow t + \tau$ e $i \rightarrow j$;
4. Tornare al punto 2, o terminare la simulazione.

CAPITOLO 2

Descrizione del sistema

Il sistema biochimico preso in considerazione in questo lavoro è costituito da un recettore che interagisce con un'unità readout ed uno storage. Il recettore può trovarsi in uno stato attivo oppure passivo, mentre il readout e lo storage sono dei reservoir di molecole che possono essere create o distrutte durante l'evoluzione del sistema, e sono caratterizzati dalla numerosità delle molecole. Tale modello trova applicazione in molteplici sistemi biologici, ad esempio nella chemiotassi e nella risposta neurologica delle larve di danio zebbrato (si veda a tale proposito [2]). Uno schema che illustra la dinamica del sistema è rappresentato in figura 2.1.

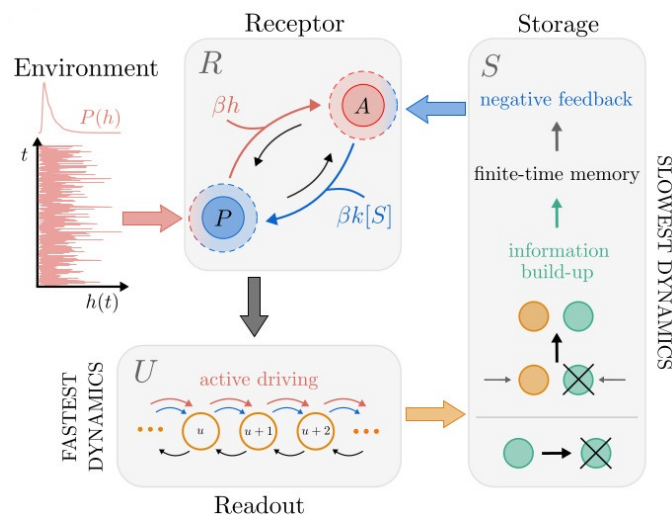


FIGURA 2.1: Schema illustrativo del sistema (per gentile concessione di Giorgio Nicoletti).

Andando più in dettaglio, le componenti principali sono:

- **recettore (R)**: si può trovare in uno stato attivo oppure passivo. Indichiamo con il simbolo r lo stato del sistema, e attribuiamo $r = 0$ per lo stato passivo ed $r = 1$ per lo stato attivo. I due stati sono separati da una barriera energetica $\Delta E = E_A - E_P$. L'attivazione del recettore viene favorita dall'ambiente esterno, che è rappresentato in questo modello da un campo esterno $h(t)$. Come si vede in figura 2.1, lo stato del recettore influisce sul serbatoio di readout, ed è influenzato dallo storage;
- **readout (U)**: si tratta di un serbatoio costituito da molecole caratterizzato dalla variabile intera $u \geq 0$ che ne indica la numerosità; la creazione di una molecola (u aumenta) dipende dallo stato del sistema, mentre è inibita (quindi u tende a diminuire) quando il numero di molecole di readout cresce;
- **storage (S)**: anche in questo caso è un serbatoio costituito da molecole la cui numerosità $s \geq 0$ è un numero intero che può aumentare o diminuire dipendentemente da u e da s stesso. Il ruolo dello storage è quello di fornire un feedback negativo (inibizione) al recettore, favorendo quindi lo stato passivo.

2.1 Descrizione della dinamica

Descrivere la dinamica del sistema significa stabilire quali sono i rate di transizione da uno stato ad un altro per ciascun componente, e in particolare osservare da quali variabili dipendono e come sono correlate tra loro le varie componenti del sistema. In questa sezione descriviamo nel dettaglio come evolvono le varie parti, e a ciascuna di esse associamo una scala temporale.

2.1.1 Dinamica del recettore

Partendo dal recettore, osserviamo che esso è influenzato sia dall'ambiente esterno che dallo storage. Nel primo caso viene favorita l'attivazione (transizione da attivo a passivo, $A \rightarrow P$), mentre nel secondo caso l'inibizione (transizione $P \rightarrow A$). Indichiamo con l'apice H l'effetto dell'ambiente (*canale di sensing*), mentre con I l'effetto dello storage (*canale interno*). In questo caso, i rate di transizione da uno stato all'altro sono dati dalle legge di Arrhenius:

$$\begin{aligned} \Gamma_{P \rightarrow A}^{(H)} &= \Gamma_H^0 e^{\beta(h(t) - \Delta E)} & \Gamma_{A \rightarrow P}^{(H)} &= \Gamma_H^0 \\ \Gamma_{P \rightarrow A}^{(I)} &= \Gamma_I^0 e^{-\beta \Delta E} & \Gamma_{A \rightarrow P}^{(I)} &= \Gamma_I^0 e^{\beta z(s/N_S)} \end{aligned} \quad (2.1)$$

dove β è un parametro che quantifica il rumore termico presente nel sistema, mentre $z(s/N_S) = \kappa \sigma s / N_S$ è una funzione di s , che è nulla quando lo storage è vuoto, ed è cre-

sciente in s , e quindi il rate di transizione $A \rightarrow P$ (che inibisce l'attivazione del recettore) cresce esponenzialmente con l'aumentare di s . κ è una costante di proporzionalità, σ è la quantità di energia richiesta per creare un'unità di storage e N_S è il numero massimo di molecole che può contenere lo storage. I fattori Γ_I^0 e Γ_H^0 , invece, sono delle costanti che definiscono le scale di tempo $\tau = 1/\Gamma$ del sistema. In particolare, si fa l'assunzione che:

$$\Gamma_H^0 \sim \Gamma_I^0 \equiv \Gamma_R^0$$

ovvero che la dinamica dell'ambiente esterno e dello storage si sviluppino con la stessa velocità.

2.1.2 Dinamica del readout

Per quanto riguarda il readout, la formazione di una nuova molecola è favorita dal recettore, mentre il numero di unità di readout può diminuire in base alla numerosità attuale della popolazione. Le reazioni possibili per il readout sono quindi la creazione di una molecola $\emptyset_U \rightarrow U$ e la rimozione di una molecola $U \rightarrow \emptyset_U$. I rate di transizione per queste due reazioni sono nuovamente dati dalla regola di Arrhenius:

$$\begin{array}{ccc} \emptyset_U \rightarrow U & & U \rightarrow \emptyset_U \\ \Gamma_{u \rightarrow u+1} = e^{-\beta(V-cr)}\Gamma_U^0 & & \Gamma_{u+1 \rightarrow u} = (u+1)\Gamma_U^0 \end{array} \quad (2.2)$$

dove V è l'energia richiesta per produrre una molecola di readout, mentre c è un parametro che quantifica l'azione del recettore sul readout. Anche in questo caso, la costante Γ_U^0 determina la scala temporale del processo $\tau_U = 1/\Gamma_U^0$.

2.1.3 Dinamica dello storage

La dinamica dello storage è molto simile a quella del readout. I processi possibili, infatti, sono due anche in questo caso: la produzione di una molecola di storage $\emptyset_S \rightarrow S$ e la distruzione di una molecola $S \rightarrow \emptyset_S$. In questo caso il primo processo è favorito dal readout, mentre il secondo è inibito dallo storage stesso, secondo la legge di Arrhenius:

$$\begin{array}{ccc} \emptyset_S \rightarrow S & & S \rightarrow \emptyset_S \\ \Gamma_{s \rightarrow s+1} = ue^{-\beta\sigma}\Gamma_S^0 & & \Gamma_{s+1 \rightarrow s} = (s+1)\Gamma_S^0 \end{array} \quad (2.3)$$

dove β e σ sono le stesse di sopra. La costante Γ_S^0 determina la scala di tempo del processo $\tau_S = 1/\Gamma_S^0$

2.1.4 Separazione delle scale temporali

Per la risoluzione analitica del sistema (si veda [2]) è necessario assumere la separazione delle scale temporali del recettore, del readout e dello storage. In particolare si ha che

$$\Gamma_S^0 \ll \Gamma_I^0 \approx \Gamma_H^0 \ll \Gamma_U^0$$

ovvero lo storage ha la scala temporale più lenta, mentre il readout evolve molto più velocemente delle altre componenti. Di conseguenza le scale temporali saranno divise secondo il seguente ordine

$$\tau_U \ll \tau_R \ll \tau_S \sim \tau_H \quad (2.4)$$

dove τ_H indica la scala temporale dell'ambiente, e possiamo ragionevolmente assumere che sia simile a quella dello storage.

2.2 Generalizzazione formale

Trattiamo ora l'insieme di recettore, readout e storage nel complesso come sistema, e quindi invece di andare a definire lo stato di ciascuna componente definiamo lo stato complessivo del sistema:

$$\sigma(t) = (r, u, s)$$

dove $r \in \{0, 1\}$ e $u, s \in \mathbb{N}$. Per quanto riguarda la dinamica del recettore, il generatore associato è dato dalla matrice (2.5), dove $\Gamma_r^+ = \Gamma_{P \rightarrow A}^{(H)} + \Gamma_{P \rightarrow A}^{(I)}$ e $\Gamma_r^- = \Gamma_{A \rightarrow P}^{(H)} + \Gamma_{A \rightarrow P}^{(I)}$.

$$Q_R = \begin{pmatrix} -\Gamma_r^+ & \Gamma_r^+ \\ \Gamma_r^- & -\Gamma_r^- \end{pmatrix} \quad (2.5)$$

Per quanto riguarda invece il readout il generatore Q_U è la matrice con gli elementi definiti dalla (2.6), dove $\Gamma_u^+ \equiv \Gamma_{u \rightarrow u+1}$ e $\Gamma_u^- \equiv \Gamma_{u \rightarrow u-1}$, che abbiamo rinominato per semplificare la notazione. Gli elementi di matrice sono non nulli solamente sulla diagonale principale e sulla sopra- e sotto- diagonale, in quanto il salto da uno stato ad un altro può avvenire solamente tramite l'aggiunta o la rimozione di una singola molecola per volta:

$$(Q_U)_{ij} = \begin{cases} -\Gamma_u^+ & \text{se } i = j = 1 \\ -\Gamma_u^+ - \Gamma_u^- & \text{se } i = j \geq 2 \\ \Gamma_u^+ & \text{se } i = j - 1 \\ \Gamma_u^- & \text{se } i = j + 1 \\ 0 & \text{altrimenti} \end{cases} \quad (2.6)$$

Analogamente, anche il generatore per lo storage ha la stessa forma, con $\Gamma_s^+ \equiv \Gamma_{s \rightarrow s+1}$ e $\Gamma_s^- \equiv \Gamma_{s \rightarrow s-1}$.

$$(Q_S)_{ij} = \begin{cases} -\Gamma_s^+ & \text{se } i = j = 1 \\ -\Gamma_s^+ - \Gamma_s^- & \text{se } i = j \geq 2 \\ \Gamma_s^+ & \text{se } i = j - 1 \\ \Gamma_s^- & \text{se } i = j + 1 \\ 0 & \text{altrimenti} \end{cases} \quad (2.7)$$

Avendo generalizzato lo stato del sistema come tripletta degli stati delle singole componenti, ora possiamo pensare ad ogni salto come ad una variazione dello stato σ in cui una sola delle tre componenti viene modificata. In questa ottica, il tempo di permanenza medio nello stato $\sigma(t)$ dipenderà dal reciproco della somma di tutti i rate di transizione Γ_r^\pm , Γ_u^\pm e Γ_s^\pm (escluso il rate verso lo stato $\sigma(t)$), mentre la possibile transizione è il salto che modifica solo una delle componenti di $\sigma(t)$ per volta.

Simulazione del sistema e risultati

3.1 Simulazione del sistema con storage vuoto

Per cominciare abbiamo effettuato una simulazione del sistema supponendo che lo storage fosse vuoto, in modo da verificare il corretto andamento della dinamica del recettore e del readout in assenza del feedback negativo fornito dallo storage. Per fare questo abbiamo implementato un programma che utilizza l'algoritmo di Gillespie, utilizzando come parametri per i rate di transizione quelli previsti dal modello e descritti nelle equazioni (2.1), (2.2) e (2.3). In questo caso i parametri in sé non hanno un significato fisico specifico, che bisognerà attribuire adeguatamente nel momento in cui il modello verrà applicato ad un esempio biochimico reale, ma quello che conta sono i relativi ordini di grandezza che si attribuiscono ad essi. In particolare, bisogna assegnare i valori in modo da rispettare le scale di tempo che abbiamo discusso precedentemente (equazione (2.4)). Per quanto riguarda il campo esterno consideriamo un'onda quadra periodica:

$$h(t) = \begin{cases} h_{\max} & \text{se } 0 \leq t - n\frac{T_h}{2} < \frac{T_h}{2}, \quad n \in \mathbb{N} \\ h_{\min} & \text{se } \frac{T_h}{2} \leq t - n\frac{T_h}{2} < T_h, \quad n \in \mathbb{N} \end{cases} \quad (3.1)$$

Dove T_h è il periodo del campo. I parametri numerici utilizzati per la simulazione sono riportati nella tabella 3.1, dove V e c sono stati calcolati in modo da avere $\langle U_P \rangle = 0.5$ e $\langle U_A \rangle = 150$ i valori medi di u rispettivamente nello stato passivo e attivo del recettore. Inoltre, abbiamo impostato la durata della simulazione pari a 5 u.a. in modo da osservare la risposta al campo che ha un periodo pari ad un quinto di tale durata.

In questa simulazione abbiamo considerato lo storage vuoto, dunque nella dinamica del recettore il canale di transizione dovuto allo storage avrà un rate pari a $\Gamma_{A \rightarrow P}^{(I)} = \Gamma_I^0$

costante ($z(s) = 0$). Il recettore ha quindi un'evoluzione temporale che dipende esclusivamente dal campo esterno. Ci aspettiamo che il recettore si attivi quando il campo è pari ad h_{\max} , mentre quando è pari ad h_{\min} lo stato r dovrebbe passare da 0 ad 1 solamente a causa del rumore termico rappresentato da β : quando β è grande il rumore termico è piccolo (si ha un andamento del tipo esponenziale dove all'esponente è presente β , e in generale l'esponente dipende dal reciproco della temperatura), e quindi il recettore non dovrebbe attivarsi, mentre se β è piccolo si ha molto rumore termico, e quindi ci aspettiamo che il recettore si attivi anche quando il campo è basso. Possiamo quindi considerare β come un parametro libero e vedere come cambia la risposta del recettore al variare di β . Per il momento fissiamo $\beta = 3.5$.

TABELLA 3.1: Parametri utilizzati nella simulazione con lo storage vuoto

Ambiente esterno	Recettore	Readout
$h_{\max} = 1$	$\Gamma_0^H = 10^2$	$\Gamma_0^U = 10^4$
$h_{\min} = 0.1$	$\Gamma_0^I = 10^2$	$V = -\ln(\langle U_P \rangle) / \beta \approx 0.693$
$T_h = 1$ u.a.	$\Delta E = 1$	$c = V + \ln(\langle U_A \rangle) / \beta \approx 5.704$

Come possiamo osservare nella figura 3.1, il recettore si comporta come ci attendiamo: quando il campo è pari ad h_{\max} , r passa continuamente allo stato attivo, infatti il rate di transizione allo stato attivo in questo caso è paragonabile al rate verso lo stato passivo, mentre quando il campo è minimo è predominante $\Gamma_{A \rightarrow P}$, poiché i rate di transizione verso lo stato attivo sono smorzati dall'esponenziale. Quando il campo è minimo si vede che il recettore si può comunque attivare, anche se con molta meno probabilità, sfruttando il canale interno, ovvero sfruttando il fatto che la temperatura è strettamente positiva e quindi c'è anche del rumore termico che può innescare l'attivazione del recettore.

TABELLA 3.2: Valori dei rate di transizione con i parametri utilizzati nella simulazione

	$\Gamma_{P \rightarrow A}^{(H)}$	$\Gamma_{P \rightarrow A}^{(I)}$	$\Gamma_{A \rightarrow P}^{(H)}$	$\Gamma_{A \rightarrow P}^{(I)}$
$h = h_{\min}$	~ 40.7	~ 36.8	100	100
$h = h_{\max}$	100	~ 36.8	100	100

Per quanto riguarda il readout ci aspettiamo che quando il recettore si attiva venga innescata la produzione di molecole di readout, mentre quando il recettore è passivo il serbatoio di readout si deve svuotare rapidamente. In figura 3.2 possiamo osservare l'andamento dello stato del recettore e del readout. Dalla figura appare evidente che lo stato del readout è molto influenzato dallo stato del recettore. Infatti, non appena il recettore si attiva, come atteso, innesca la produzione di molecole di readout, che si assesta attorno al valore medio $\langle U_A \rangle = 150$ molecole, mentre quando il recettore passa

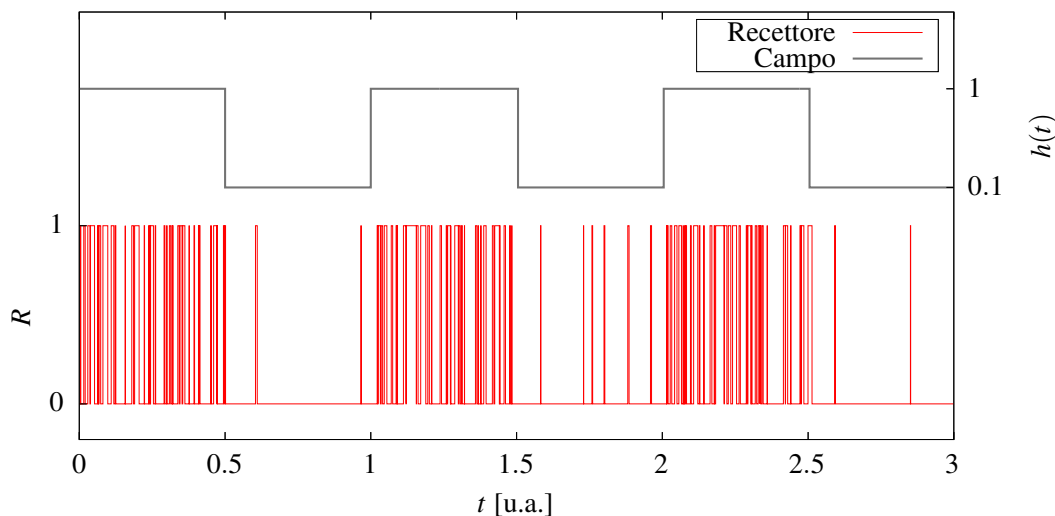


FIGURA 3.1: Stato del recettore e campo esterno in funzione del tempo.

allo stato passivo il readout si svuota molto rapidamente attestandosi attorno al valore medio di $\langle U_P \rangle = 0.5$ molecole. Inoltre, osservando la figura si può anche vedere che la dinamica del readout è molto più veloce di quella del recettore dato che lo stato cambia molte più volte a parità di intervallo di tempo.

Questo è dovuto alla separazione delle scale temporali (dall'equazione 2.4) ci aspettiamo che la dinamica del readout sia quindi 100 volte più veloce di quella del recettore).

3.1.1 Analisi dell'influenza della temperatura

Abbiamo detto che, oltre al campo esterno $h(t)$, ad influenzare la dinamica del recettore è anche il rumore termico ambientale. In questa sezione vogliamo capire in che misura il parametro β modifica l'andamento dello stato del recettore, e per farlo abbiamo effettuato diverse simulazioni del sistema, sempre con lo storage vuoto, lasciando β come parametro libero e modificandolo di volta in volta. Per andare a capire come si comporta il recettore, confrontiamo tra di loro i tempi medi trascorsi negli stati attivo e passivo, rispettivamente quando il campo è massimo o minimo. Per farlo, dopo aver svolto varie simulazioni cambiando il parametro β , abbiamo calcolato il valore medio del tempo di permanenza τ negli stati $(r = 0, h = h_{\min})$, $(r = 1, h = h_{\min})$, $(r = 0, h = h_{\max})$ e $(r = 1, h = h_{\max})$. Per tutti gli altri parametri, invece, abbiamo tenuto i valori riportati nella tabella 3.1, mentre abbiamo aumentato la durata della simulazione fino a 10 u.a. in modo da avere un maggior numero di dati su cui fare la media e rendere più affidabili i risultati. I tempi medi di permanenza nei vari stati sono rappresentati nelle figure 3.3 e 3.4.

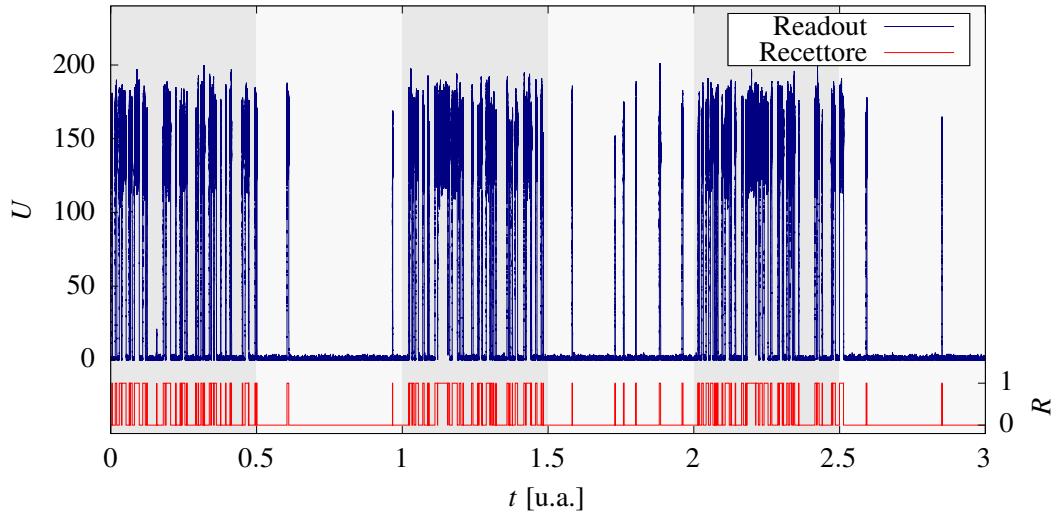


FIGURA 3.2: Andamento del readout e dello stato del recettore in funzione del tempo. Le zone con lo sfondo più scuro corrispondono ad $h(t) = h_{max}$, mentre le zone a sfondo chiaro corrispondono a $h(t) = h_{min}$.

Campo debole (figura 3.3) Osserviamo innanzitutto che quando il campo è debole il tempo medio nello stato attivo ha un andamento pressoché costante, molto vicino allo zero. Per quanto riguarda lo stato $r = 0$, invece, osserviamo che all'aumentare di β aumenta anche il tempo medio trascorso nello stato passivo. Questo risultato è

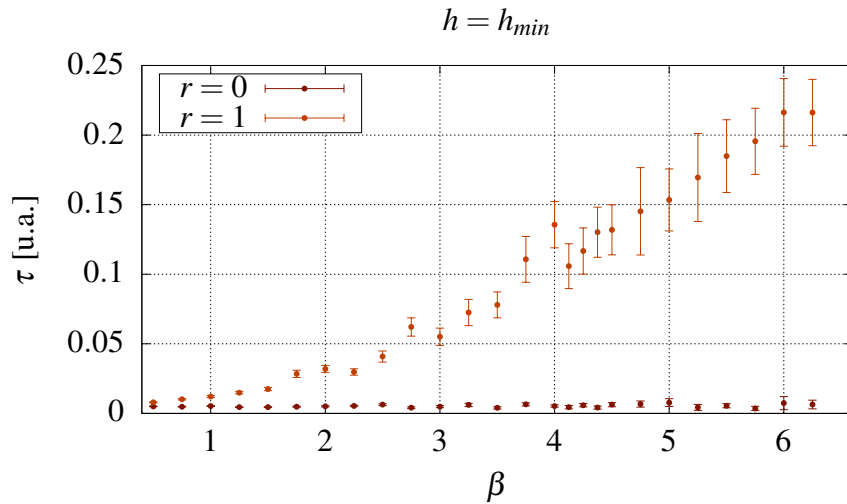


FIGURA 3.3: Tempo medio trascorso in $r = 0$ e $r = 1$ con il campo debole

coerente con ciò che ci aspettiamo, infatti con il campo debole i rate di transizione

$P \rightarrow A$ sono smorzati dai termini esponenziali, dove in uno compare come esponente $\beta(h_{\min} - \Delta E) < 0$ e nell'altro $-\beta V < 0$, mentre i rate $A \rightarrow P$ sono costanti. Di conseguenza il salto dallo stato attivo allo stato passivo sarà molto più probabile, e quindi il recettore si troverà per la maggior parte del tempo in $r = 0$. Tuttavia, aumentando β si osserva che il tempo di permanenza nello stato passivo è crescente; ciò significa che a β maggiori (ovvero a temperature minori) il recettore tende a rimanere in uno stato più a lungo. Anche questo comportamento è coerente con il modello che abbiamo costruito, in quanto il tempo di permanenza nello stato dipende dal reciproco della somma di tutti e quattro i rate di transizione (2.1) secondo la formula (1.12), e all'aumentare di β i rate $A \rightarrow P$ diminuiscono, provocando di conseguenza un aumento del tempo di permanenza nello stato.

Campo forte (figura 3.4) Nel caso in cui $h = h_{\max}$ osserviamo che l'andamento del tempo di permanenza medio nello stato attivo è all'incirca costante, ma in questo caso si aggira intorno al valore di 0.005, significativamente diverso dal caso precedente. Questo

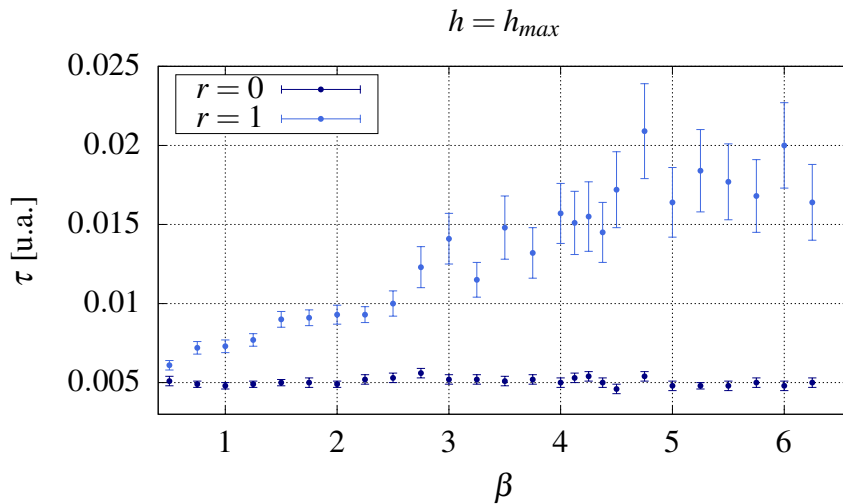


FIGURA 3.4: Tempo medio trascorso in $r = 0$ e $r = 1$ con il campo forte

conferma il fatto che con il campo forte il recettore si attiva continuamente grazie ai rate di transizione $\Gamma_{P \rightarrow A}^{(H)}$, che è costante, e $\Gamma_{P \rightarrow A}^{(I)}$ che in questo caso ha all'esponente $-\beta(V - c) \approx 5.011\beta > 0$. Inoltre, l'andamento costante si può spiegare con il fatto che abbiamo scelto come parametri $h_{\max} = \Delta E$, e quindi l'esponente di $\Gamma_{P \rightarrow A}^{(H)}$ va sempre a 0 per ogni β . L'unico rate che mantiene la dipendenza da β è $\Gamma_{P \rightarrow A}^{(I)}$. Per quanto riguarda il tempo medio di permanenza nello stato passivo osserviamo un comportamento simile al caso precedente. D'altra parte anche con il campo forte ci aspettiamo che al diminuire della temperatura il recettore tenda a non attivarsi a causa del rumore termico, e che

quindi rimanga più tempo nello stato passivo. L'andamento osservato quindi è coerente con le aspettative.

3.1.2 Pseudocodice

Per illustrare il programma utilizzato per la simulazione di seguito è riportato lo pseudocodice relativo. Sono state omesse le funzioni ausiliarie non significative, mentre mostriamo come abbiamo implementato l'algoritmo di Gillespie, che è il cuore della simulazione.

MAIN FUNCTION

- randomize seed to generate 'random' numbers
 - read parameters from an external configuration file
 - declare a chain
 - calculate the chain using Gillespie function
 - print chain to file
-

GILLESPIE FUNCTION

- set time = 0
 - calculate reaction rates for receptor
 - **while** time < simulation time
 - ▷ calculate external field value
 - ▷ calculate reaction rates for receptor
 - ▷ calculate tau (time to the next reaction for receptor, randomized)
 - ▷ calculate pathway for receptor (randomized)
 - ▷ increase time: time = time + tau
 - ▷ change receptor state
 - ▷ print state, time and tau in chain
 - ▷ **while** readout_time ≤ time
 - calculate reaction rates for readout
 - calculate readout_tau (time to the next reaction, randomized)
 - determine reaction to do for readout (increase or decrease, randomized)
 - increase or decrease readout population
 - increase readout_time: readout_time = readout_time + readout_tau
 - print state and tau in chain
 - return chain
-

3.2 Simulazione del sistema completo

Una volta verificato il corretto funzionamento della simulazione a storage vuoto, abbiamo implementato anche la dinamica dello storage. Per farlo abbiamo modificato la simulazione aggiungendo il reservoir di storage, la cui dinamica è la più lenta tra quelle in gioco. La principale differenza, per quanto riguarda il recettore, è che il rate di transizione attraverso il canale interno $\Gamma_{A \rightarrow P}^{(I)}$ non è più costante, dato che $z(s/N_s) \neq 0$ non appena viene prodotta una molecola di storage. Lo storage ha quindi un effetto di feedback negativo sullo stato del recettore.

TABELLA 3.3: Parametri utilizzati nella simulazione del sistema completo

Ambiente esterno	Recettore	Readout	Storage
$h_{\max} = 1$	$\Gamma_0^H = 10^2$	$\Gamma_0^U = 10^4$	$\Gamma_0^S = 1$
$h_{\min} = 0.1$	$\Gamma_0^I = 10^2$	$V = -\ln(\langle U_P \rangle)/\beta \approx 0.693$	$\sigma = 0.1$
$T_h = 1$	$\Delta E = 1$	$c = V + \ln(\langle U_A \rangle)/\beta \approx 5.704$	$\kappa = 1$
$\beta = 3.5$	–	–	$N_s = 10^5$

Per la scelta dei parametri, anche in questo caso è bene specificare che essi non hanno un significato fisico in quanto si tratta di un modello generico che può essere applicato a diverse situazioni, ma abbiamo rispettato la separazione delle scale temporali (2.4). Per questa simulazione abbiamo impostato una durata pari a 10 u.a., mentre gli altri parametri sono riportati nella tabella 3.3. Il campo preso in considerazione, come nella sezione precedente, è un'onda quadra che varia tra due valori h_{\min} e h_{\max} con periodo T_h . Lo stato del recettore nel tempo, insieme al campo $h(t)$, è rappresentato in figura 3.5.

Osserviamo come nel caso precedente che quando il campo è pari ad h_{\min} il recettore tende a rimanere nello stato $r = 0$, mentre quando il campo è forte si porta continuamente in $r = 1$. Il comportamento si spiega facilmente come nel caso precedente poiché il rate di transizione da $r = 0$ a $r = 1$ viene soppresso dai termini esponenziali. Quando il campo è forte, invece, $\Gamma_{P \rightarrow A}^{(H)}$ diventa pari a 100, mentre a fare la differenza è il parametro s , che fa in modo che il rate che determina l'inibizione del recettore diventi molto grande quando s aumenta, e di conseguenza ci aspettiamo che man mano che lo storage si riempie lo stato del recettore tenda a tornare a $r = 0$ più spesso.

Per quanto riguarda il readout, l'andamento è rappresentato nella figura 3.6. Anche in questo caso quando lo stato del recettore è attivo il serbatoio di readout si riempie portandosi molto velocemente attorno al valore di $\langle U_A \rangle = 150$ molecole, mentre quando $r = 0$ anche il readout si svuota molto velocemente tornando attorno a $\langle U_P \rangle = 0.5$ unità.

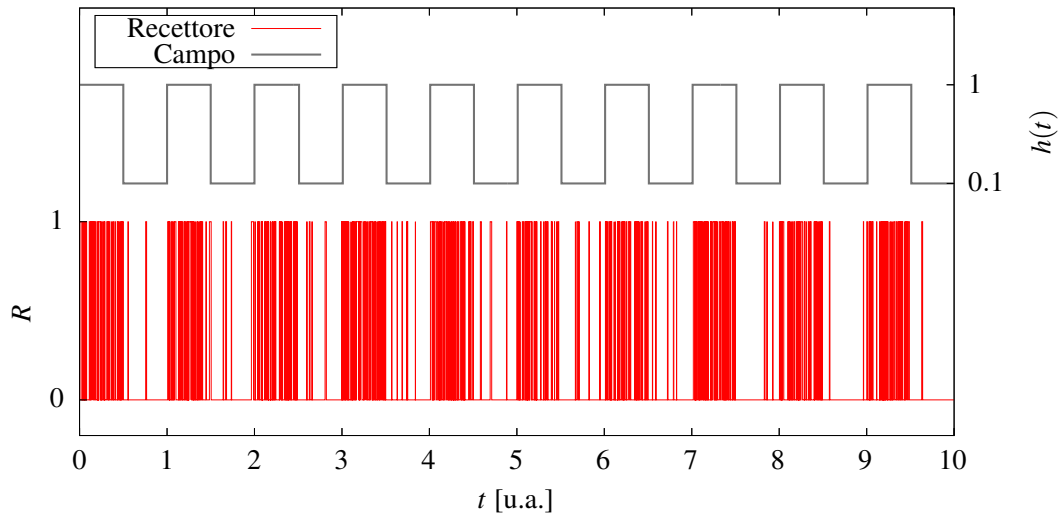


FIGURA 3.5: *Stato del recettore e campo esterno in funzione del tempo.*

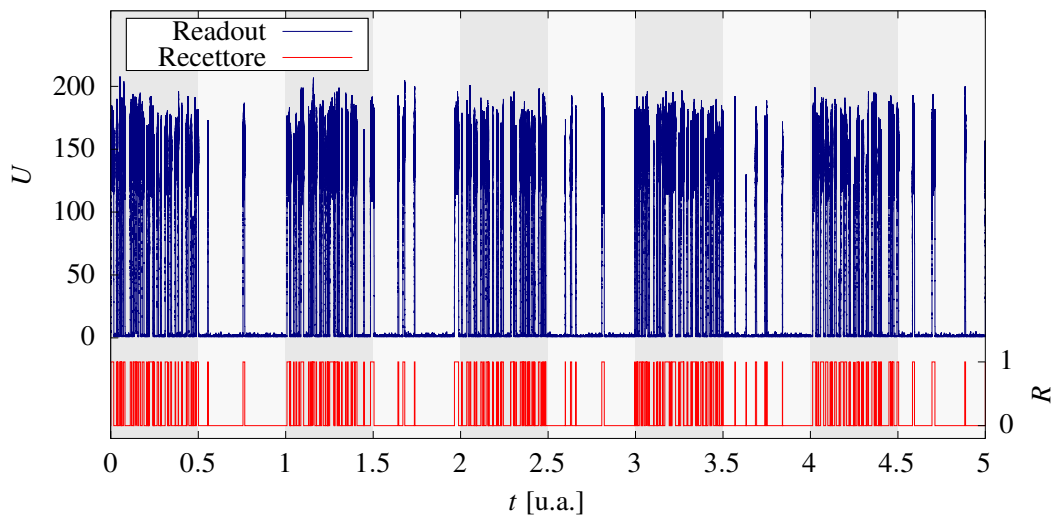


FIGURA 3.6: *Andamento del readout in funzione del tempo. Le zone a sfondo più scuro corrispondono ad $h = h_{\max}$, mentre le zone a sfondo chiaro corrispondono a $h = h_{\min}$.*

Infine, osserviamo l'andamento dello storage. Dalla figura 3.7 si può vedere che lo storage è il serbatoio con la dinamica più lenta, infatti lo stato cambia molto più lentamente di quello del recettore. Inoltre, si può vedere che quando il campo è acceso, ovvero quando il serbatoio di readout si riempie, viene innescata la produzione di molecole di storage, e infatti nelle zone in cui $h = h_{\max}$ (zone a sfondo scuro nella figura) si vede che s è per lo più crescente. Quando il campo è debole invece (zone con sfondo

chiaro) il numero di molecole di storage tende a diminuire, e lo fa tanto più velocemente quanto è maggiore s .

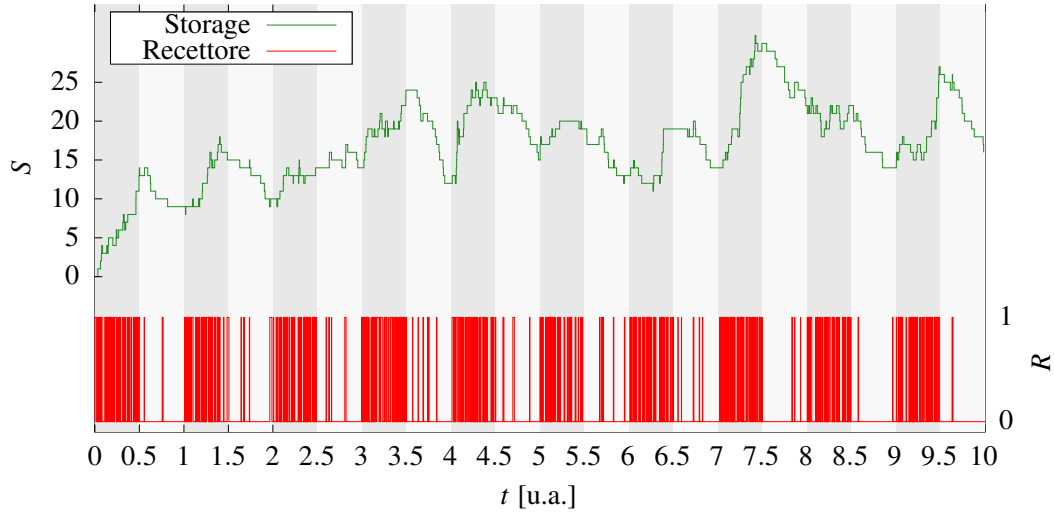


FIGURA 3.7: *Andamento dello storage e dello stato del recettore in funzione del tempo. Le zone a sfondo più scuro corrispondono ad $h = h_{max}$, mentre le zone a sfondo chiaro corrispondono a $h = h_{min}$.*

3.2.1 Pesudocodice

Anche in questo caso per illustrare il programma utilizzato per la simulazione ne riportiamo lo pseudocodice. A cambiare è solamente la funzione che implementa l'algoritmo di Gillespie, che in questo caso è stata scritta pensando allo stato del sistema come rappresentato da un unico $\sigma(t) = (r, u, s)$, come descritto nella sezione 2.2.

GILLESPIE FUNCTION

- **while** time \leq simulation time
 - calculate reaction rates for receptor
 - calculate reaction rates for readout
 - calculate reaction rates for storage
 - calculate tau (time to the next reaction, randomized)
 - select reaction to do (randomized between increase/decrease receptor, readout or storage state)
 - execute reaction
 - increase time: time = time + tau
 - print state and tau in chain
 - return chain
-

Bibliografia

- [1] Crispin W. Gardiner. *Handbook of stochastic methods : for physics, chemistry and the natural sciences / C. W. Gardiner*. eng. Springer series in synergetics. Berlin [etc: Springer-Verlag, 1983. ISBN: 0387113576.
- [2] Giorgio Nicoletti e Daniel Maria Busiello. «Information dynamics emerging from memory and adaptation in non-equilibrium sensing of living systems». In: *arXiv preprint arXiv:2301.12812* (2023).