

Tema V: Modelado y simulación de procesos biológicos usando modelos celulares

Aproximación clásica: el estudio de la dinámica de los procesos celulares se realiza a través de la identificación y caracterización de cada una de sus componentes moleculares.

- ▶ No analiza las propiedades que emergen de las interacciones entre sus diferentes componentes.

Biología de Sistemas (T. Ideker, 2001):

- ▶ Profundizar en el conocimiento de la dinámica de los sistemas celulares a través de las interacciones entre los diferentes sistemas.
- ▶ Campo interdisciplinar que entremezcla la Biología clásica, las Matemáticas y la Informática.
- ▶ Esta nueva disciplina producirá una nueva generación de científicos capaces de entender y aplicar conceptos y técnicas usando fuentes de inspiración provenientes de cada una de esas áreas.
- ▶ El modelado es una tarea central en esta disciplina.

Modelos

Intrínseco a cualquier actividad científica.

- ▶ Diagramas, gráficos, etc. para describir y comprender la realidad que examinan.
- ▶ El modelado computacional matemático y cuantitativo ha permanecido fuera de la corriente principal de investigación biológica (escasez de técnicas apropiadas tanto en la parte experimental y en la parte matemática/computacional).
- ▶ La complejidad de los procesos celulares y la gran cantidad de datos producido por los experimentos en laboratorios, hacen imprescindible el modelado matemático–computacional, la simulación y el análisis.

Necesidad de desarrollar **modelos formales** que faciliten el estudio de la dinámica y las propiedades de los procesos celulares.

Un buen modelo

Requisitos¹:

- ▶ Relevancia.
- ▶ Tratabilidad matemática.
- ▶ Computabilidad.
- ▶ Comprensibilidad.
- ▶ Extensibilidad.

Finalidad en el modelado de procesos celulares:

- ▶ Marco formal para integrar grandes cantidades de conocimiento empírico.
- ▶ Ampliación del conocimiento.
- ▶ Post-dicción y predicción.
- ▶ Posibilidad de diseñar y manipular sistemas celulares reales con un comportamiento fijado *a priori* (*Biología Sintética*: T.S. Ray 1994 y S.A. Benner, A.M. Sismour 2005).

¹A. Regev, E. Shapiro. The π -calculus as an abstraction for biomolecular systems. In Gabriel Ciobanu and Grzegorz Rozenberg, editors, *Modelling in Molecular Biology*, Springer Berlin, 2004, pp. 219–266.

Aproximaciones de los modelos:

- ▶ Según el nivel de precisión en el escalado:
 - ★ Macroscópica.
 - ★ Microscópica.
 - ★ Mesoscópica.
- ▶ Según la dinámica:
 - ★ Determinista.
 - ★ Estocástica.
- ▶ Según los resultados que proporciona:
 - ★ Cuantitativa.
 - ★ Cualitativa.

Modelado de sistemas celulares

- ▶ Ecuaciones diferenciales ordinarias (ODEs).
- ▶ Redes de Petri (P.J.E. Goss y J. Peccoud, 1998)
- ▶ Álgebra de procesos (π -cálculo, A. Regev y E. Shapiro, 2004; bioambientes, A. Regev, E.M. Panina, W. Silverman, L. Cardelli y E. Shapiro, 2004; brane cálculo, L. Cardelli, 2005, etc.)
- ▶ Sistemas basados en agentes (M. Holcombe, M. Gheorghe y N. Talbot, 2003, entre otros)
- ▶ Sistemas P (Gh. Păun, 1998)

Ecuaciones diferenciales ordinarias (I)

- ▶ Se ha utilizado desde hace décadas para modelar procesos dinámicos.
- ▶ Constituyen el primer marco para el modelado en Biología de Sistemas.
- ▶ El modelado de procesos celulares basado en EDOs parte de dos supuestos:
 - ▶ *Las células tienen volúmenes homogéneos.*
 - ▶ *Las concentraciones químicas varían de manera continua y determinista.*

Cuestionable en sistemas celulares con un bajo número de moléculas, en reacciones lentas o en estructuras no homogéneas

- ▶ Para estos casos se han propuesto aproximaciones mesoscópicas, estocásticas y discretas, así como basadas en sistemas de EDPs.

Ecuaciones diferenciales ordinarias (II)

Han sido usados con éxito para modelar distintos procesos celulares:

- ▶ *Cascada de señales del factor EGFR* (B. Schoeberl, et al. 2002)².
- ▶ *Apoptosis mediatizada por la proteína FAS* (F. Hua et al. 2005)³.

Aproximación macroscópica, continua, determinista, cuantitativa/cualitativa.

²B. Schoeberl, C. Eichler-Jonsson, E.D. Gilles, G. Muller. Computational Modeling of the Dynamics of the MAP Kinase Cascade Activated by Surface and Internalized EGF Receptors, *Nature Biotechnology*, **20**, 4 (2002), 370–375.

³F. Hua, M. Cornejo, M. Cardone, C. Stokes, D. Lauffenburger. Effects of Bcl-2 Levels on FAS Signaling-Induced Caspase-3 Activation: Molecular Genetic Tests of Computational Model Predictions. *The Journal of Immunology*, **175**, 2 (2005), 985–995.

Redes de Petri

K.A. Petri, 1962: herramienta matemático-computacional para el modelado y análisis de sistemas de eventos discretos con un comportamiento concurrente.

La variante *Place transition Petri net* (PT-net) ha sido utilizada para modelar:

- ▶ *Sistemas de interacciones moleculares* (V.N. Reddy et al., 1996) ⁴.
- ▶ *Cascadas de señales de las proteínas ERK y RKIP* (D. Gilbert y M. Heiner, 2006) ⁵.

Se está estudiando conexiones entre las PT-nets y los sistemas P ⁶.

Aproximación mesoscópica, estocástica, cuantitativa/cualitativa.

⁴V.N. Reddy, M.N. Liebman, M.L. Mavrouniotis. Qualitative Analysis of Biochemical Reaction Systems, *Computers in Biology & Medicine*, **26**, 1 (1996), 9–24.

⁵D. Gilbert, M. Heiner. From Petri nets to differential equations: An interactive approach for biochemical network analysis, *Lecture Notes in Computer Science*, **4024** (2006), 181–200.

⁶J. Klejin, M. Koutny. Synchrony and asynchrony in membrane systems. *Lecture Notes in Computer Science*, **4361** (2006), 66–85.

Álgebra de procesos: π -cálculo

R. Milner, Parrow, y Walker, 1999 ⁷: lenguaje formal para describir procesos concurrentes móviles

- ▶ Permite modelar sistemas que interactúan y tienen una topología de comunicación dinámica.

Ha sido propuesto como un marco general para modelar sistemas biomoleculares (A. Regev y E. Shapiro, 2004 ⁸).

Diferentes variantes han sido usadas para modelar **interacciones moleculares**, **redes de genes** y para **integrar redes moleculares y de genes** (A. Phillips y L. Cardelli, 2004) ⁹.

Se está estudiando conexiones entre el π -cálculo y los sistemas P ¹⁰.

Aproximación mesoscópica, estocástica, cuantitativa/cualitativa.

⁷ R. Milner. *Communication and Mobile Systems: The π -calculus*. Cambridge University Press, 1999.

⁸ A. Regev, E. Shapiro. The π -calculus as an abstraction for biomolecular systems. In G. Ciobanu and G. Rozenberg, ed, *Modelling in Molecular Biology*, Springer, 2004, pp. 219–266.

⁹ A. Phillips, L. Cardelli. A Correct Abstract Machine for the Stochastic Pi-calculus. In *BioConcur 2004. Electronic Notes in Theoretical Computer Science*.

¹⁰ F.J. Romero, M. Gheorghe, G. Ciobanu, J.M. Auld, M.J. Pérez-Jiménez. Cellular modelling using P systems and process algebra. *Progress in Natural Science*, **17**, 4 (2007), 375-383.

Modelado basado en agentes (I)

Cada *componente individual* del sistema es un agente que tiene asociado su propio conjunto de reglas, e interactúa con el entorno y con agentes vecinos.

Modelos basados en agentes de distintos sistemas biológicos:

- ▶ *Comunidades de insectos* (M. Holcombe et al. 2003¹¹, M. Gheorghe et al.¹², D. Jackson et al. 2004¹³).
- ▶ *Tejido epitelial* (D. Walker et al. 2004¹⁴).
- ▶ *Cascadas de señales* (M. Pogson et al. 2006¹⁵).
- ▶ *Migración de células tumorales* (L. Dib et al. 2005¹⁶).

¹¹ M. Holcombe, M. Gheorghe, N.A. Talbot. A hybrid machine model of rice blast fungus, Magnaporthe Grisea. *BioSystems*, **68**, 2–3 (2003), 223–228.

¹² M. Gheorghe, C. Martín-Vide, V. Mitrana, M.J. Pérez-Jiménez. An agent based approach of collective foraging. *Lecture Notes in Computer Science*, **2686** (2003), 638–645.

¹³ D. Jackson, M. Holcombe, F. Ratnieks. Trail geometry gives polarity to ant foraging networks. *Nature* **432** (2004), 907–909.

¹⁴ D.C. Walker, J. Southgate, G. Hill, M. Holcombe, D.R. Hose, S.M. Wood, S. MacNeil, R.H. Smallwood. The epitheliome: modelling the social behaviour of cells. *BioSystems*, **76**, 1–3 (2004), 89–100

¹⁵ M. Pogson, R. Smallwood, R., E. Qvarnstrom, M. Holcombe. Formal agent-based of intracellular chemical interactions. *BioSystems*, **85**, 1 (2006), 37–45.

¹⁶ L. Dib, Z. Guessoum, N. Bonnet, M.T. Laskri. Multi-agent system simulating tumoral cells migration. *Lecture Notes in Artificial Intelligence* **3809** (2005), 624–632.

Modelado basado en agentes (II)

Un modelo bioquímico basado en agentes no tiene las restricciones a las que está sujeto el modelado basado en EDOs.

Se está estudiando conexiones entre los sistemas de agentes y los sistemas P ¹⁷.

Aproximación microscópica/macrocópica, determinista/estocástica, cuantitativa/cualitativa.

¹⁷ I. Stamatopoulou, M. Gheorghe, P. Kefalas. Modelling dynamic organization of biology-inspired multi-agent system with communication X-machines and population P systems. *Lecture Notes in Computer Science*, **3365** (2005), 389–403.

Sistemas P (I)

En las aproximaciones anteriores no se tiene en cuenta el papel que juegan las membranas biológicas en la compartimentalización y funcionamiento de las células de los organismos vivos.

Sistemas P como marco de modelado computacional:

- ▶ Integra los aspectos estructurales y dinámicos de los sistemas celulares en una forma comprensiva y relevante
- ▶ Proporciona la formalización necesaria para poder realizar análisis matemáticos y computacionales.
- ▶ Los conceptos usados están más próximos a los de biología celular y molecular que las otras aproximaciones (formalizadas a partir de diferentes fuentes de inspiración antes de ser aplicadas al modelado de sistemas celulares).

Hecho diferencial:

- ▶ La *estructura de membranas* que representa la compartimentalización en la organización estructural de las células vivas.

Sistemas P (II)

Los *sistemas P* tienen en cuenta el carácter discreto de las componentes del sistema, usando reglas de reescritura que actúan sobre multiconjuntos de objetos (símbolos y/o cadenas).

En la versión inicial, las reglas se aplican de manera *paralela maximal*.

El carácter *no determinista/aleatorio* de los fenómenos biológicos se captura mediante el uso de *estrategias estocásticas*.

Para ello se ha propuesto el uso de variantes del *algoritmo de Gillespie* que se ajusten a la estructura jerarquizada de los sistemas P.

Aproximación mesoscópica, determinista/estocástica, cuantitativa.

Sistemas P (III)

Modelos basado en sistemas P de distintos sistemas biológicos:

- ▶ *Oscilaciones mitóticas* (V. Manca et al. 2008¹⁸).
- ▶ *Rutas señalizadoras* (M.J. Pérez et al. 2005¹⁹, S. Cheruku et al. 2007²⁰).
- ▶ *Sistemas reguladores de genes* (F.J. Romero et al. 2008²¹, D.W. Corne et al. 2008²²).
- ▶ *Quorum sensing* (F.J. Romero et al. 2008²³).
- ▶ *Dinámica de poblaciones* (M. Cardona et al. 2008²⁴).

¹⁸V. Manca, L. Bianco. Biological networks in metabolic P systems. *BioSystems*, **91**, 3 (2008), 489–498.

¹⁹M.J. Pérez–Jiménez, F.J. Romero–Campero. A Study of the Robustness of the EGFR Signalling Cascade using Continuous Membrane Systems. *Lecture Notes in Computer Science*, **3561** (2005), 268–278.

²⁰S. Cheruku, A. Paun, F.J. Romero, M.J. Pérez–Jiménez, O.H. Ibarra. Simulating FAS-induced apoptosis by using P systems. *Progress in Natural Science*, **17**, 4 (2007), 424–431.

²¹F.J. Romero, M.J. Pérez–Jiménez. Modelling gene expression control using P systems: The Lac Operon, a case study. *BioSystems*, **91**, 3 (2008), 438–457.

²²D.W. Corne, P. Frisco. Dybanics of HIV infection studied with cellular automata and conformon-P systems. *BioSystems*, **91** (2008), 531–544.

²³F.J. Romero, M.J. Pérez–Jiménez. A model of the Quorum Sensing System in *Vibrio Fischeri* using P systems. *Artificial Life*, **14**, 1 (2008), 95–109.

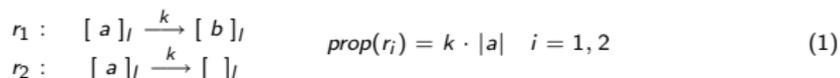
²⁴M. Cardona, M.A. Colomer, M.J. Pérez Jiménez, D. Sanuy, A. Margalida. Modelling ecosystems using P systems: The Bearded Vulture, A case study. *Nineth Workshop on Membrane Copmputing*, Aceptado para su publicación en *Lecture Notes in Computer Science*.

Principios del modelado en sistemas P

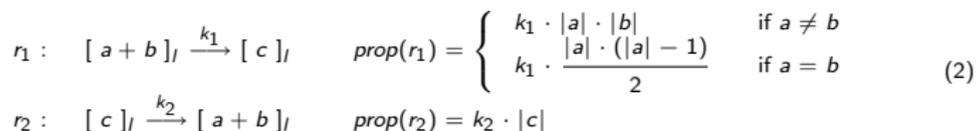
Bioquímica	Sistemas P
Compartimento	Región definida por una membrana
Molécula	Objeto
Población molecular	Multiconjunto de objetos
Transformación bioquímica	Regla de evolución

Una especificación de las interacciones proteínicas

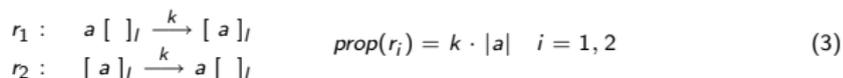
- Reglas de transformación y degradación:



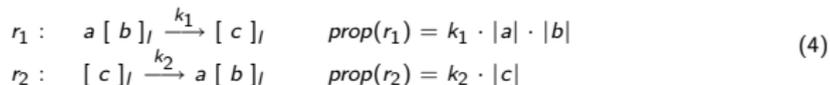
- Reglas de formación de complejos y disociación:



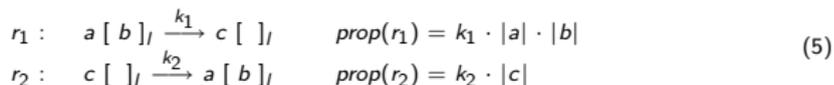
- Reglas de difusión hacia adentro y hacia afuera:



- Reglas de unión y desunión receptor-ligando:



- Reglas de reclutamiento y de liberación:



Algoritmo (clásico) de Gillespie (I)

Es un algoritmo de Monte Carlo que genera trayectorias de cadenas de Markov que representan interacciones moleculares que tienen lugar en un **volumen fijo**²⁵ (ver ²⁶ para algunas mejoras del algoritmo).

- ▶ **Entrada:** el estado de un medio m en el que hay unas sustancias sometidas a posibles reacciones químicas r_1, \dots, r_q , de las que se conocen sus *propensiones*.
- ▶ **Salida:** la reacción química a ejecutar y su correspondiente *tiempo de espera*, para hallar el siguiente estado.

²⁵D.T. Gillespie. Exact Stochastic Simulation of Coupled Chemical Reactions. *The Journal of Physical Chemistry*, **81**, 25 (1977), 2340–2361.

²⁶M.A. Gibson, J. Bruck. Efficient Exact Stochastic Simulation of Chemical Systems with Many Species and Many Channels. *Journal of Physical Chemistry*, **104**, 25 (2000), 1876–1889.

Algoritmo (clásico) de Gillespie (II)

1. Calcular $a_0 = \sum_{j=1}^q p_j$, siendo p_j las propensiones de las reglas.
2. Generar dos números aleatorios b_1 y b_2 uniformemente distribuidos sobre el intervalo unidad $(0, 1)$.
3. Calcular el tiempo de espera para la siguiente reacción: $\tau_m = \frac{1}{a_0} \ln\left(\frac{1}{b_1}\right)$.
4. Elegir el índice j_0 , de la siguiente reacción química, que verifica:
$$\sum_{k=1}^{j_0-1} p_k < b_2 \cdot a_0 \leq \sum_{k=1}^{j_0} p_k.$$
5. Devolver la terna (τ_m, j_0, m) .

Entonces se aplicará *una vez* la regla r_{j_0} y se actualizarán las moléculas de m

Algoritmo de Gillespie multicompartimental (I)

Los sistemas P constan de una estructura delimitando regiones (volúmenes), cada una con su propio conjunto de reglas y multiconjunto de objetos.

El algoritmo (clásico) de Gillespie sirve para la simulación estocástica de procesos biológicos que tienen lugar en un determinado volumen.

Por ello, definimos una **extensión** de dicho algoritmo (*Algoritmo de Gillespie Multicompartimental*) a fin de que cada célula evolucione de acuerdo con el algoritmo de Gillespie.

Algoritmo de Gillespie multicompartimental (II)

- **Inicialización:**

- Poner el tiempo de simulación a $t = 0$.
- Para cada membrana m en la estructura μ hacer:
 - Ejecutar el algoritmo de Gillespie clásico en m , devolviendo una terna (τ_m, j, m) .
- Ordenar la lista de ternas (τ_m, j, m) con relación a τ_m .

- **Iteración:**

- Elegir la primera terna de la lista, (τ_m, j, m) .
- Poner el tiempo de simulación a $t = t + \tau_m$.
- Actualizar el tiempo de espera para el resto de las ternas, restando τ_m .
- Aplicar una vez la regla r_j modificando las membranas afectadas.
- Para cada membrana m' afectada, eliminar la terna $(\tau'_{m'}, j', m')$ de la lista y ejecutar el algoritmo de Gillespie clásico en el nuevo contexto, obteniendo una nueva terna $(\tau''_{m'}, j'', m')$.
- Añadir las ternas $(\tau''_{m'}, j'', m')$ a la lista y ordenarlas de nuevo.
- Iterar el proceso.

- **Finalización:**

- Si el tiempo de la simulación t alcanza o excede a un tiempo maximal prefijado, finalizar el proceso.

Sistemas P multientorno (I)

Un *sistema P multientorno de orden* (m, n, k) , con $m, n, k \geq 1$, es una tupla $ME = (\Gamma, H, G, E_1, \dots, E_m, R_1, \dots, R_m, \Pi_n, k)$, en donde:

- ▶ Γ es un alfabeto finito (objetos presentes en los entornos);
- ▶ H es un conjunto finito (etiquetas para los entornos);
- ▶ $G = (V, S)$ es un grafo no dirigido de tamaño m (nodos: entornos).
- ▶ E_j , $1 \leq j \leq m$, es un multiconjunto finito de objetos.
- ▶ R_j , $1 \leq j \leq m$, es un conjunto finito de reglas asociadas al entorno j .
- ▶ $\Pi_n = (\Sigma, L, \mu, M_1, \dots, M_n, R'_1, \dots, R'_n)$ es un sistema P de grado n .
- ▶ k es el número de copias de Π_n distribuidas aleatoriamente en los m entornos de la configuración inicial.

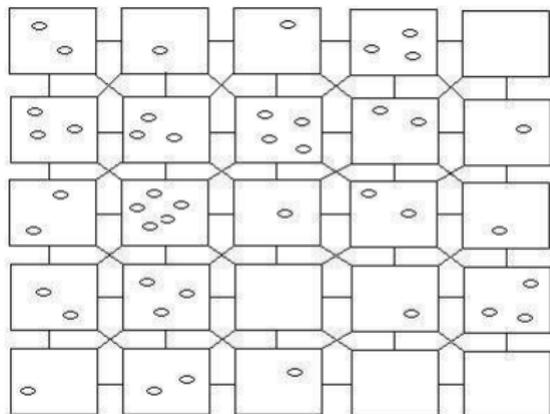
Sistemas P multientorno (II)

Reglas asociadas a los entornos:

$$[u]_I - []_{I'} \xrightarrow{k_1} []_I - [u]_{I'} \quad (6)$$

$$[[]_{I''}]_I - []_{I'} \xrightarrow{k_2} []_I - [[]_{I''}]_{I'} \quad (7)$$

Sistema P multientorno (III)



Quorum Sensing

Quorum sensing: mecanismo de control de expresión de genes en función de la densidad celular ²⁷.

Este fenómeno permite a una colonia de bacterias dar una respuesta coordinada.

- ▶ Emisión de *luminiscencia* (Vibrio Fischeri)
- ▶ Secreción de *sustancias viscosas* provocando infecciones (Pseudomona aeruginosa, Gram negativa)
- ▶ Liberación de *toxinas* que matan a organismos que servirán de alimento (Pfiesteria)

²⁷C.M. Waters, B.L. Bassler. Quorum Sensing: Cell-to-Cell Communication in Bacteria. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 21 (2005), 319–346.

La bacteria *Vibrio Fischeri*

Puede vivir:

- ▶ Librementemente en el plancton.
- ▶ En estado de simbiosis en un calamar (*Euprymna scolope*).

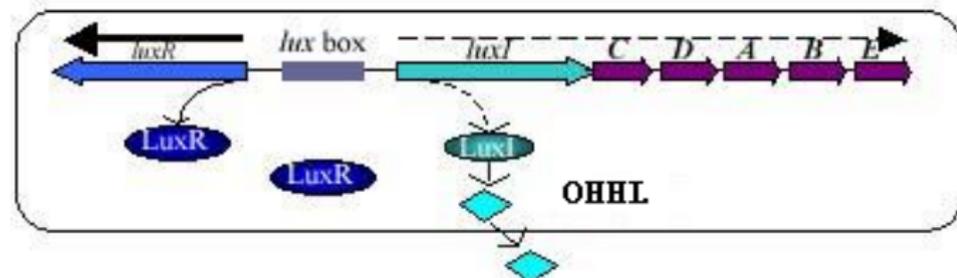
Es capaz de producir luz en determinadas condiciones.

- ▶ **NO** en el plancton.
- ▶ **SÍ** en simbiosis.

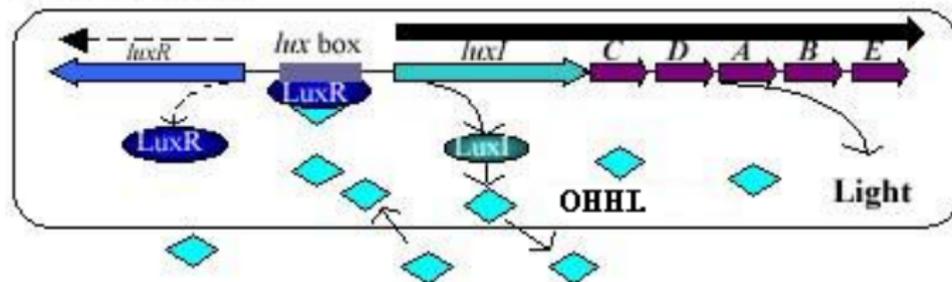
La bacteria *Vibrio Fischeri*

Mecanismo del Quorum Sensing en *Vibrio Fischeri* (K.H. Neilson y J.W. Hasting, 1979; K.L. Visic et al., 2000):

Low cell density



High cell density



Modelo del Quorum Sensing en la bacteria *Vibrio fischeri*

Sistema P multientorno de orden $(25, 1, N)$.

$\mathbf{ME} = (\Gamma, H, G, E_1, \dots, E_{25}, R_1, \dots, R_{25}, \Pi_1, N)$ en donde:

$\Gamma = \{\text{OHHL}\}$.

$H = \{e\}$.

G representa la estructura del multientorno (25 entornos).

$E_i = \emptyset$, para $i = 1, \dots, 25$.

$\Pi_1 = (\Sigma, L, \mu, M_1, R_1)$ en donde:

- $\Sigma = \{\text{OHHL}, \text{LuxR}, \text{LuxR.OHHL}, \text{LuxBox}, \text{LuxR.OHHL.LuxBox}\}$.
- $L = \{b\}$.
- $\mu = [\]$.
- $M_1 = \{\text{LuxBox}\}$.

Reglas de los sistemas Π_1 (bacterias)

$$r_1 : [\text{LuxBox}]_b \xrightarrow{c_1} [\text{LuxBox} + \text{OHHL}]_b$$

$$r_2 : [\text{LuxBox}]_b \xrightarrow{c_2} [\text{LuxBox} + \text{LuxR}]_b$$

$$r_3 : [\text{LuxR} + \text{OHHL}]_b \xrightarrow{c_3} [\text{LuxR.OHHL}]_b$$

$$r_4 : [\text{LuxR.OHHL}]_b \xrightarrow{c_4} [\text{LuxR} + \text{OHHL}]_b$$

$$r_5 : [\text{LuxR.OHHL} + \text{LuxBox}]_b \xrightarrow{c_5} [\text{LuxR.OHHL.LuxBox}]_b$$

$$r_6 : [\text{LuxR.OHHL.LuxBox}]_b \xrightarrow{c_6} [\text{LuxR.OHHL} + \text{LuxBox}]_b$$

$$r_7 : [\text{LuxR.OHHL.LuxBox}]_b \xrightarrow{c_7} [\text{LuxR.OHHL.LuxBox} + \text{OHHL}]_b$$

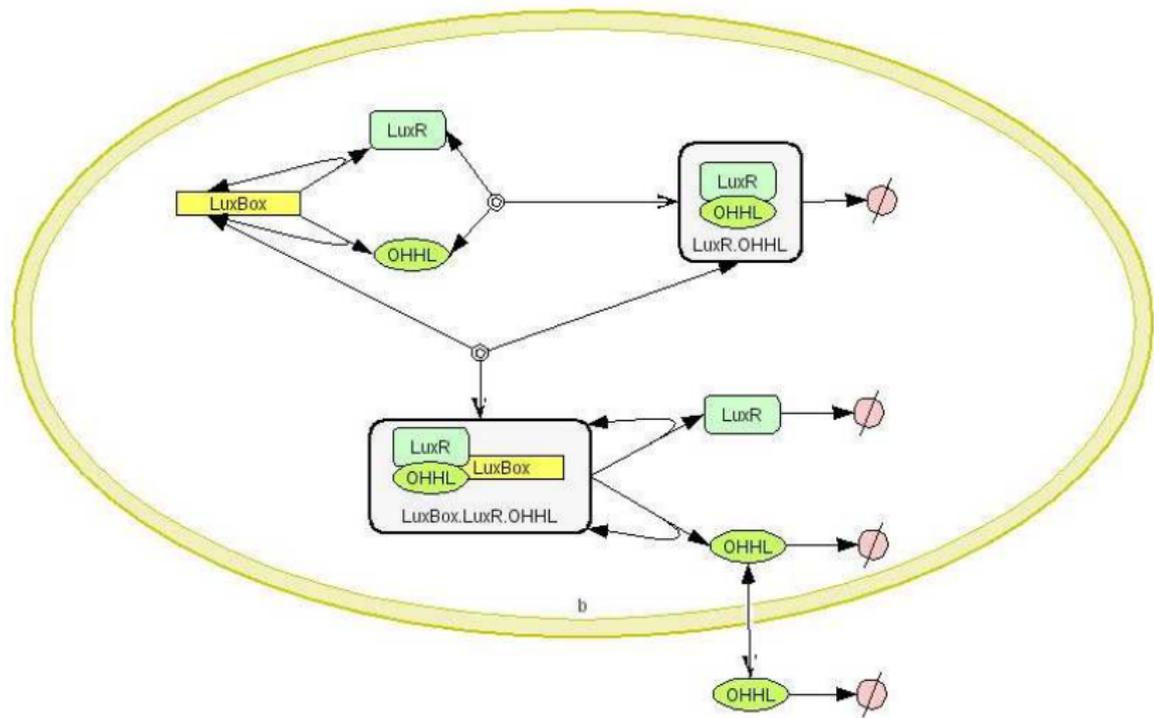
$$r_8 : [\text{LuxR.OHHL.LuxBox}]_b \xrightarrow{c_8} [\text{LuxR.OHHL.LuxBox} + \text{LuxR}]_b$$

$$r_9 : [\text{OHHL}]_b \xrightarrow{c_9} \text{OHHL} []_b$$

$$r_{10} : [\text{OHHL}]_b \xrightarrow{c_{10}} []_b$$

$$r_{11} : [\text{LuxR}]_b \xrightarrow{c_{11}} []_b$$

$$r_{12} : [\text{LuxR.OHHL}]_b \xrightarrow{c_{12}} []_b$$



Representación gráfica de las reglas en las bacterias

Reglas de los entornos:

$$r_{13} : \text{OHHL} []_b \xrightarrow{c_{13}} [\text{OHHL}]_b$$

$$r_{14} : [\text{OHHL}]_e \xrightarrow{c_{14}} []_e$$

$$r_{15} : [\text{OHHL}]_e - []_e \xrightarrow{c_{15}} []_e - [\text{OHHL}]_e$$

$$r_{16} : [[]_b]_e - []_e \xrightarrow{c_{16}} []_e - [[]_b]_e$$

Constantes mesoscópicas asociadas a las reglas:

$$c_1 = 2, c_2 = 2, c_3 = 9, c_4 = 1, c_5 = 10, c_6 = 2, c_7 = 250, c_8 = 200 ,$$

$$c_9 = 50, c_{10} = 30, c_{11} = 20, c_{12} = 20, c_{13} = 1, c_{14} = 5, c_{15} = 8, c_{16} = 2.$$

Resultados y Discusiones

El modelo descrito ha sido representado en SBML, Systems Biology Markup Language ²⁸.

El código SBML fue generado usando CellDesigner ²⁹.

Las simulaciones han sido ejecutadas usando un programa escrito en C con un fichero de entrada SBML especificando nuestro modelo.

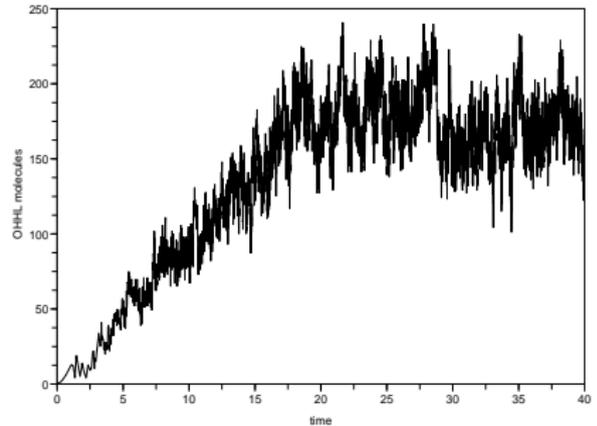
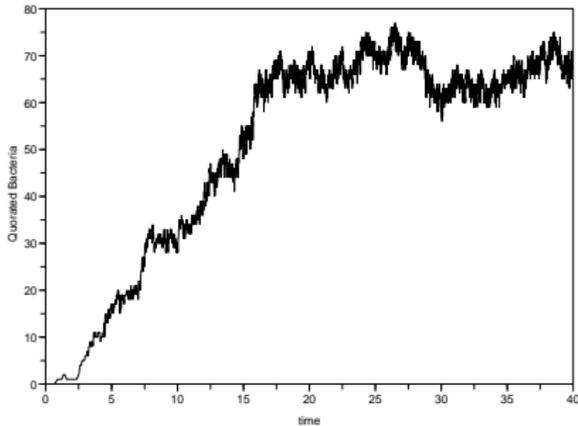
Se ha estudiado la conducta emergente del sistema para poblaciones de diferente tamaño, a fin de examinar cómo las bacterias pueden percibir la densidad celular.

²⁸SBML Web Site <http://sbml.org/index.psp>

²⁹Cell Designer Web Site <http://www.celldesigner.org/>

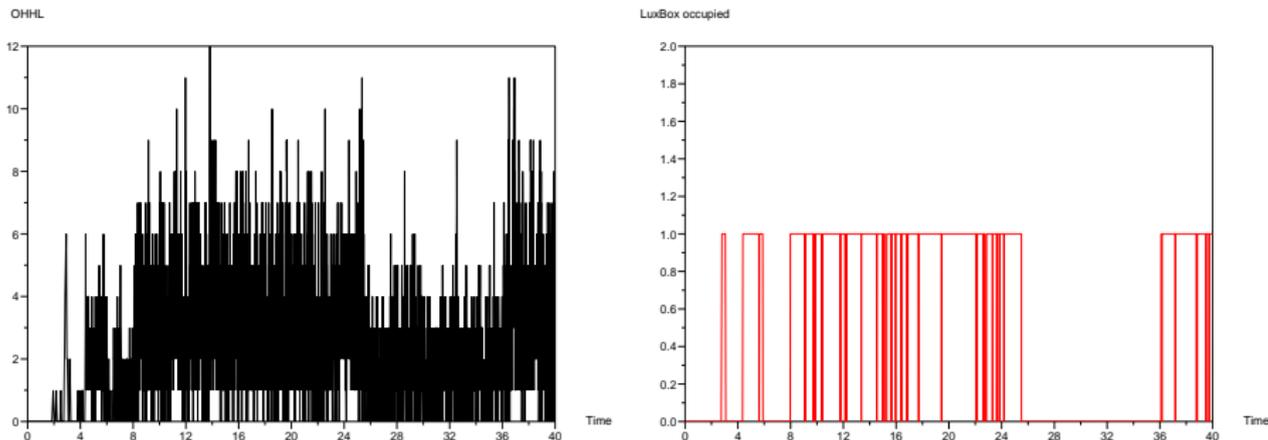
En primer lugar, hemos considerado una población de **100 bacterias**.

Evolución en el tiempo del número de bacterias excitadas y el número de señales OHLH en el entorno:



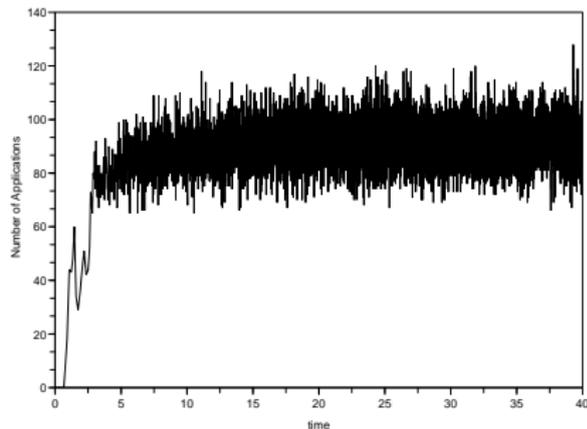
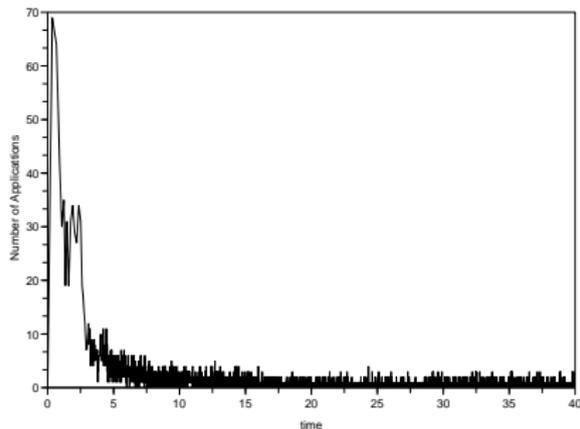
Número de bacterias excitadas (izquierda) y señales en el entorno (derecha)

Correlación entre el número de señales en el interior de **una** bacteria (izquierda) y la ocupación del LuxBox por el complejo (derecha):

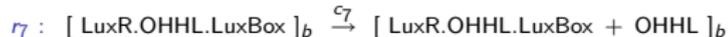
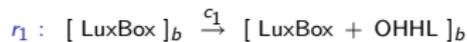


Número de señales y ocupación del LuxBox en **una** bacteria

Evolución del número de aplicaciones de la regla que representa la producción basal (izquierda) y la regla que representa la producción masiva de señales (derecha)

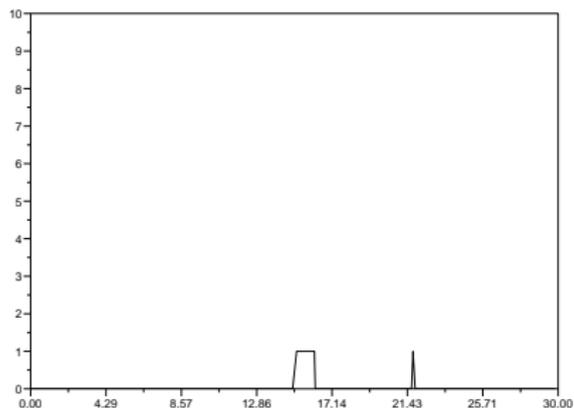


Número de aplicaciones de las reglas r_1 y r_7 en una población de 300 bacterias

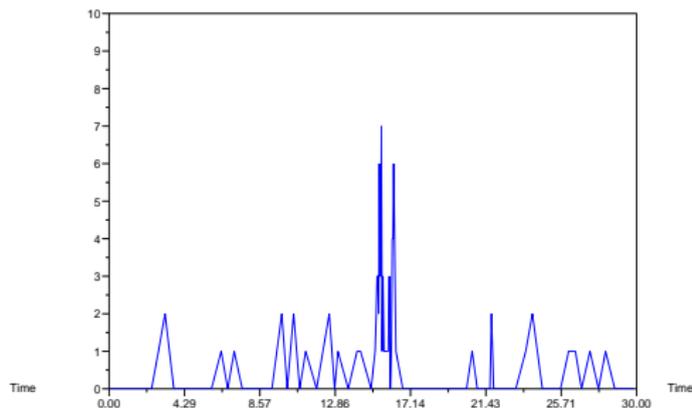


Se analiza cómo las bacterias perciben el número de individuos de la colonia, examinando el comportamiento de una población de **10 bacterias**.

Quorated Bacteria



OrHL



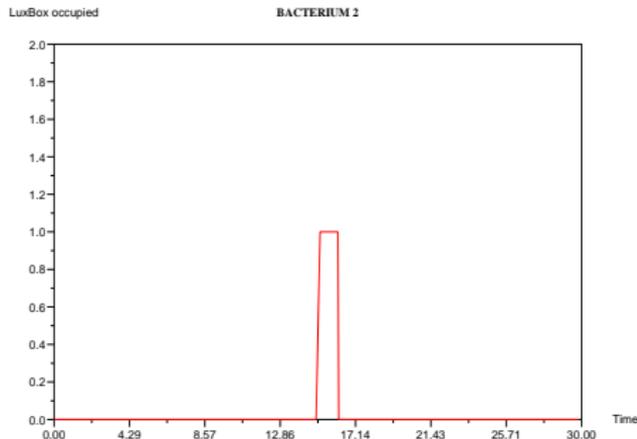
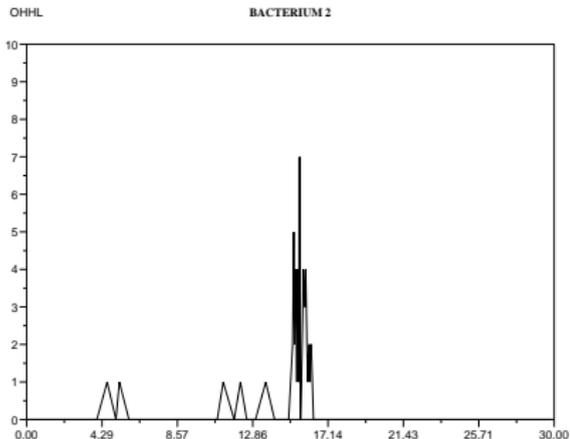
Bacterias excitadas y señales en el entorno en una población **10 bacterias**

En este caso, la señal no se acumula en el entorno. Sólo una bacteria es excitada conjeturando mal el tamaño de la colonia.

Se analiza el comportamiento de la bacteria que fue excitada.

La producción masiva de señales pasaban al entorno por difusión, en donde no habían suficientes bacterias para percibirlas.

Cuando la bacteria percibe que la señal no se acumula en el entorno, entonces modifica su comportamiento y pasa a baja-regulación.

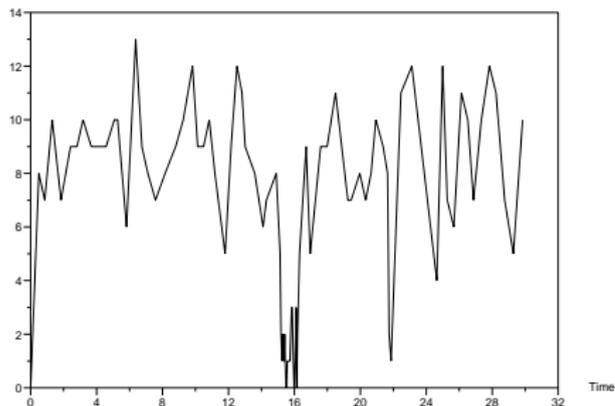


Comportamiento de la bacteria en una población de 10 bacterias

Finalmente, se observa que la población de 10 bacterias permanece en un estado de baja regulación.

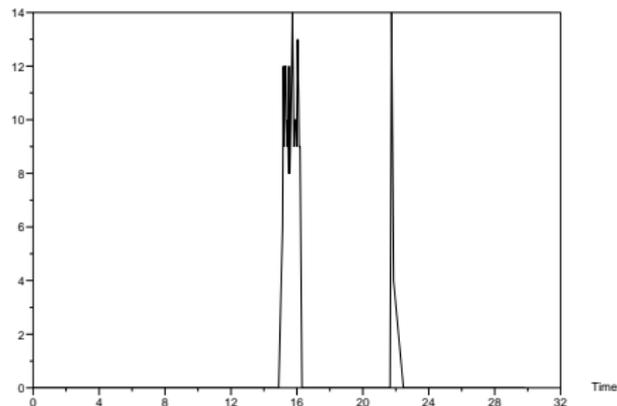
Number of Applications

[LuxBox]b \rightarrow [LuxBox , OHHL]b



Number of Applications

[LuxBox-LuxR-OHHL]b \rightarrow [LuxBox-LuxR-OHHL , OHHL]b



Número de aplicaciones de las reglas r_1 y r_7 en una población de 10 bacterias

- ▶ Los resultados que se deducen de nuestro modelo están de acuerdo con los resultados que se han obtenido experimentalmente en el laboratorio ³⁰.
- ▶ Nuestra aproximación,
 - usando sistemas P multientorno con semántica derivada de una extensión del algoritmo de Gillespie,confirma la habilidad del sistema computacional para detectar conductas emergentes.

³⁰E.P. Greenberg, H.B. Kaplan, H.B. Overproduction and purification of the luxR gene product: Transcriptional activator of the vibrio fischeri luminescence system. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, **84** (1997), 6639–6643.