

Universidade de São Paulo
Pró-Reitoria de Graduação
Curso de Ciências Moleculares

Relatório de Iniciação Científica
Iniciação à Pesquisa I - CCM0318
2º semestre de 2011

**Métodos Matemáticos para a Dinâmica de
Populações de Bactérias**

Francisco Quevedo Camargo
chico@cecm.usp.br
Turma 19

Orientador: Roberto André Kraenkel
kraenkel@ift.unesp.br
3393-7821
Instituto de Física Teórica - UNESP

1 Resumo do Plano Inicial

O projeto tem como objetivo estudar fenômenos populacionais emergentes em bactérias, utilizando-se para isso de equações diferenciais, e comparar as previsões teóricas com dados experimentais. De início, o assunto abordado foi a dinâmica de populações estruturadas: após uma revisão da literatura relacionada, o aluno dedicou-se a um problema a princípio simples - os efeitos da taxa de crescimento individual das bactérias no número na estrutura de tamanhos da população.

Dado que há evidências [1] suportando tanto o crescimento linear com o tempo (taxa de crescimento constante) quanto o crescimento exponencial (taxa de crescimento proporcional ao tamanho da célula), esses dois regimes de crescimento foram comparados - assim como as previsões feitas por eles.

Paralelamente a isso, o aluno se familiarizou com a técnica necessária à obtenção dos dados experimentais a serem analisados e comparados com a teoria - mais precisamente, fotos e filmes de microscopia.

2 Progressos Realizados - na Teoria

2.1 Divisão Celular Bacteriana

Quando uma célula bacteriana já replicou e segregou seus cromossomos, para ela se reproduzir só falta a divisão - esse processo consiste na formação de um septo: uma "parede" que é construída separando o que virão a ser cada uma das células filhas. A construção desse septo envolve a formação de uma estrutura em forma de anel - "o anel Z" - no centro da célula em divisão. Esse anel é composto por uma proteína homóloga às tubulinas eucarióticas, a FtsZ. Ao se formar, o anel Z atrai uma série de outras proteínas, compondo assim um complexo macromolecular chamado de divisomo. A formação do septo termina na separação total das bactérias.

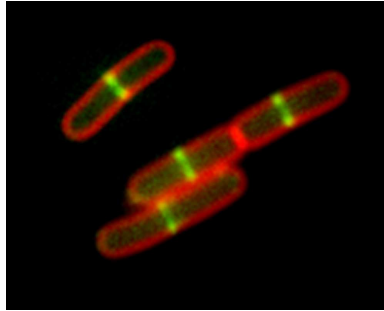


Figura 1 Em vermelho, a membrana celular. Em verde, o anel Z.
Cortesia do professor Frederico Gueiros, do IQ-USP,
sob cuja tutela onde o aluno tem aprendido técnicas de microscopia.

No modelo mais aceito [2], a formação do divisomo ocorre quando - e onde - é possível: aparentemente, a regulação do início da formação do septo é feita através de inibição. Nas extremidades da célula, proteínas da família Min bloqueiam a formação do anel, enquanto outro inibidor - a proteína Noc - se associa ao cromossomo bacteriano, inibindo ali a divisão.

O resultado é que, quando a célula é muito pequena, não há espaço livre de inibidor, e o septo não se forma. Somente quando ela cresce, surge espaço para a divisão, quer ela tenha replicado, quer não tenha: na linhagem selvagem, quando os cromossomos já estão duplicados, e a célula atinge um tamanho suficiente para haver espaço sem inibidor, o septo se forma na única região possível - entre os cromossomos, o que corresponde ao centro da célula. No entanto, linhagens nas quais não ocorre a replicação do cromossomo apresentam [3] divisão assimétrica, o que é compreensível à luz desse modelo - o espaço livre de inibidor passa a ser aquele entre o cromossomo e o pólo celular mais distante.

Uma informação simples porém necessária à formulação de um modelo que descreva a divisão celular é a dependência da probabilidade de divisão - quais são os parâmetros determinantes de uma chance maior ou menor de divisão. Tamanho (comprimento, no caso de *Bacillus* e *E. coli*) e idade seriam os candidatos mais óbvios - embora a princípio não haja motivo para desassociar um do outro.

Em um meio de cultura pobre, é notável que as células levam mais tempo tanto para crescer quanto para dividir. Todavia, elas nascem menores também. A princípio, esse terceiro fato não seria compatível com uma divisão dependente só do tamanho: se fosse esse o único determinante, a célula em meio

pobre demoraria mais, mas se dividiria no mesmo tamanho da célula em meio rico.

Uma explicação para isso reside no fato de que o anel e FtsZ forma-se relativamente rápido (em cerca de um ou dois minutos) [4][5] enquanto a formação do septo demora mais (cerca de 20 minutos). Dessa forma, enquanto o septo se montasse, a bactéria seguiria crescendo, tal que aquelas em meio mais rico atingiriam um tamanho maior antes de se dividirem. Essa informação sugere uma dependência entre o tamanho da célula ao se dividir e a velocidade de crescimento. Neste momento, no entanto, vamos tratar de um único meio, adiando um pouco essa distinção de pobre ou rico.

2.2 Modelos Matemáticos

No estudo da dinâmica de populações, os modelos mais simples, que muitas vezes servem de ponto de partida, são o crescimento exponencial e o logístico. O primeiro consiste numa taxa de crescimento por indivíduo constante, conforme apresentado a seguir:

$$\frac{1}{N} \frac{dN}{dt} = c \Rightarrow N(t) = N_0 e^{ct} \quad (1)$$

O modelo exponencial, como o nome sugere, descreve uma população em crescimento ou decaimento exponencial. Já o modelo logístico, descrito pela Equação de Verhulst [6], utiliza uma taxa de crescimento per capita decrescente com o tamanho da população - ou seja, presume uma saturação do ambiente:

$$\frac{1}{N} \frac{dN}{dt} = r \left(1 - \frac{N}{K} \right) \Rightarrow N(t) = \frac{KN_0}{N_0 + (K - N_0)e^{-rt}} \quad (2)$$

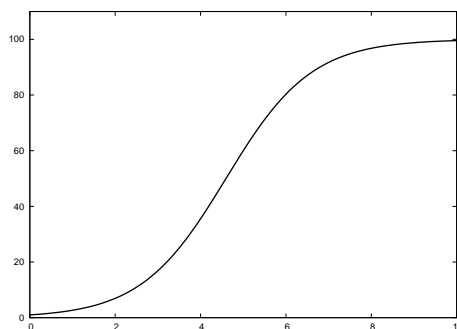


Figura 2 Crescimento logístico

Como visto, ambos os modelos possuem solução analítica - sendo N_0 o valor da população quando $t = 0$. Em geral, não é possível encontrar a solução, e outros métodos são utilizados para se obter informações a respeito do comportamento de $N(t)$.

As equações anteriores descrevem populações nas quais todos os membros são idênticos - todas as dependências residem no número de indivíduos. O modelo de McKendrick-Von Foerster descreve uma população com uma função de duas variáveis: idade(a) e tempo(t). A equação obtida para $n(a, t)$ é a seguinte:

$$\frac{\partial n}{\partial a} + \frac{\partial n}{\partial t} = -\mu(a, t)n \quad (3)$$

A função $\mu(a, t)$ representa a taxa de mortalidade da população, e em geral não depende de t . A esse modelo são associadas duas condições e contorno, representando o nascimento - o surgimento de indivíduos com idade zero - e as condições iniciais ($t = 0$) da população:

$$n(0, t) = \int_0^{\infty} b(a)n(t, a)da \text{ e } n(a, 0) = f(a) \quad (4)$$

Acima, $b(a)$ é a contribuição que cada idade dá para o número de indivíduos que estão a nascer. Contudo, ao tratar-se de bactérias, é necessário modificar a equação para depender de tempo e tamanho - conforme discutido - e levar em consideração sua forma de reprodução: somente bactérias que atingem determinado tamanho se reproduzem, de forma que a condição (4) de renovação da população seria expressa de forma diferente.

Numa derivação simples, obtém-se a equação devidamente modificada, sendo $u(x, t)$ a densidade de indivíduos com tamanho x no tempo t :

$$\frac{du}{dt} = \frac{\partial u}{\partial t} + \frac{\partial u}{\partial x} \frac{\partial x}{\partial t} = f(x, t) \quad (5)$$

Com a equação na forma acima, $\partial x/\partial t$ é a taxa de crescimento individual das bactérias e $f(x, t)$ é a taxa de crescimento da população. Se utilizarmos as ideias dos dois modelos anteriores, teremos

$$\frac{du}{dt} = au \text{ ou } \frac{du}{dt} = au - bu^2 \quad (6)$$

As equações acima descrevem a taxa de crescimento da população em qualquer

tempo ou idade. Entretanto, só há aumento da população para um x fixo - seja esse x_1 - o tamanho das bactérias ao nascerem. Sendo assim, se a taxa de mortalidade for considerada desprezível, $f(x, t)$ passa a ser nula, sendo necessária então uma condição de contorno que contemple a divisão celular. Resta-nos, portanto:

$$\frac{\partial u}{\partial t} + \frac{\partial u}{\partial x} \frac{\partial x}{\partial t} = 0 \text{ e } u(x_1, t) = 2u(x_2, t) \quad (7)$$

onde x_2 é o tamanho da célula ao dividir. A equação diferencial parcial acima é a conhecida equação de advecção - ela descreve a propagação de uma onda em determinada direção, sendo $\partial x / \partial t$ a velocidade de propagação. Para $\partial x / \partial t$ constante igual a c , a onda se propaga sem modificar sua forma:

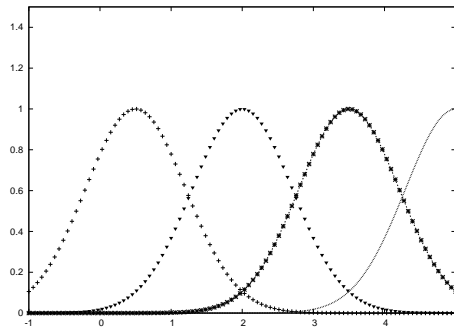


Figura 3 Equação de advecção a velocidade constante

Por outro lado, se o aumento de tamanho da bactéria for proporcional ao próprio tamanho ($\partial x / \partial t = cx$) as bactérias maiores crescem mais rápido, e a largura da aumenta enquanto ela se propaga:

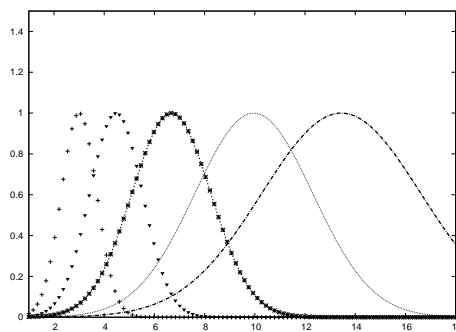


Figura 4 Equação de advecção a velocidade $\partial x / \partial t = cx$

2.3 Linear versus Exponencial

Ambas as situações descritas acima - crescimento (em tamanho) linear e exponencial - ainda permitem solução analítica da equação de advecção. Nesta seção, são derivados resultados comparando as duas possibilidades para a taxa de crescimento.

2.3.1 Separação de Variáveis

Em ambos os casos, o método de separação de variáveis leva a uma família de soluções. Respectivamente,

$$u(x, t) = \begin{cases} u_0 e^{-k(x-ct)} & \text{para o crescimento linear,} \\ u_0 e^{kt} x^{-k/c} & \text{para o crescimento exponencial.} \end{cases}$$

As soluções obtidas são de uma única família, mas $u(x, 0)$ pode assumir qualquer forma. Fica então evidente que esse método, por não cobrir todas as soluções possíveis, não resolve o problema. Mesmo sabendo disso, foi possível aplicar as condições de contorno e derivar uma série de valores possíveis de serem medidos:

Crescimento Linear De $u = u_0 e^{-k(x-ct)}$ e $u(x_1, t) = 2u(x_2, t)$, temos

$$k = \frac{\ln 2}{\Delta x}, \text{ onde } \Delta x = x_2 - x_1$$

Ou seja,

$$u(x, t) = u_0 2^{(x-ct)/\Delta x} \quad (8)$$

Dessa expressão, podemos extrair a população total num tempo t ,

$$u_T(t) = u_0 2^{ct/\Delta x} \int_{x_1}^{x_2} 2^{-x/\Delta x} dx = u_0 2^{ct/\Delta x} \left(\frac{\ln 2}{\Delta x} \right) 2^{-x} \quad (9)$$

De posse dessas fórmulas, pode-se encontrar a constante u_0 , c , e mesmo a população total $u_T(t_1)$ em algum tempo t_1 determinado.

$$\begin{aligned} u_T(t_2) &= u_T(t_1) 2^{c(t_2-t_1)/\Delta x} \\ u_T(t_2) - u_T(t_1) &= u_0 \left(2^{ct_2/\Delta x} - 2^{ct_1/\Delta x} \right) \left(\frac{\ln 2}{\Delta x} \right) 2^{-x} \end{aligned} \quad (10)$$

Crescimento Exponencial Aqui, de $u(x_1, t) = 2u(x_2, t)$, tira-se

$$k = \frac{c \ln 2}{\ln(x_2/x_1)} \text{ com } u(x, t) = u_0 e^{kt} x^{-k/c} \quad (11)$$

Vale notar que, se $x_2 = 2x_1$, $u(x, t) = u_0 e^{ct} \ln 2$. Obtém-se também a população total, e maneiras de se obter c , $u_T(t_1)$ e $u + 0$. No caso geral,

$$\begin{aligned} u_T(t_2) &= u_T(t_1) 2^{c(t_2-t_1)/\Delta x} \\ u_T(t_2) - u_T(t_1) &= u_0 \left(2^{ct_2/\Delta x} - 2^{ct_1/\Delta x} \right) \left(\frac{\ln 2}{\Delta x} \right) 2^{-x} \end{aligned} \quad (12)$$

Quando $x_2 = 2x_1$,

$$\begin{aligned} u_T(t_2) &= u_T(t_1) e^{c(t_2-t_1)} \\ \frac{u(x, t)}{u_T(t)} &= \frac{1}{x \ln 2} \\ x - x_0 &= u_0 e^{ct_0} \left(\frac{1}{u(x, t_0)} - \frac{1}{u(x_0, t_0)} \right) \end{aligned} \quad (13)$$

Os valores obtidos no trabalho experimental permitirão obter esses parâmetros, e comparar as duas formas de crescimento. A separação de variáveis aponta um detalhe interessante: se $u(x, t) = X(x)T(t)$, ambas as equações já descrevem crescimento exponencial. Parece razoável!

2.3.2 Método das Características

Sem a aplicação de condições de contorno, ao se aplicar o método das características, encontram-se duas soluções, uma para cada caso:

$$\begin{aligned} u_t + cu_x = 0 &\Rightarrow u(x, t) = F(x - ct) \\ u_t + cxu_x = 0 &\Rightarrow u(x, t) = F(xe^{-ct}) \\ \text{onde } F(x) &= u(x, 0) \end{aligned}$$

Resta aplicar as condições de contorno e tentar encontrar $u(x, t)$ e $u_T(t)$ nos dois casos.

Crescimento Linear Partindo de $u(x, t) = F(x - ct)$, temos que

$$u(x, t) = u(x + \alpha c, t + \alpha) \quad (14)$$

e podemos definir $\Delta x = x_2 - x_1$, $\Delta t = \Delta x/c$ e $\chi = x - x_1$ tais que

$$u(x_1, t) = u\left(x_1 + \Delta x, \frac{\Delta x}{c}\right) = u(x_2, t + \Delta t) \quad (15)$$

Analogamente, $u(x_2, t) = u(x_1, t - \Delta t)$. Além disso, as condições de contorno fornecem $u(x_1, t) = 2u(x_2, t)$.

Com essas relações, vamos provar que $u(x_1, n\Delta t + \delta) = 2^{n+1}F(x_2 - c\delta)$:

$$\begin{aligned} u(x_1, n\Delta t + \delta) &= 2u(x_2, n\Delta t + \delta) = 2u(x_1, (n-1)\Delta t + \delta) \\ &= 2^2u(x_1, (n-2)\Delta t + \delta) = 2^k u(x_1, (n-k)\Delta t + \delta) = 2^n u(x_1, \delta) \\ &= 2^{n+1}u(x_2, \delta) = 2^{n+1}u(x_2 - c\delta) = \mathbf{2^{n+1}F(x_2 - c\delta)} \end{aligned} \quad (16)$$

Tendo isso, seja $t = n\Delta t + \tau$, n natural. É mais fácil analisar primeiro $u(x, t)$ para $x - c\tau > x_1$, conforme indica a figura, e depois $x - c\tau < x_1$. Em ambos os casos obtém-se:

$$u(x, t) = u\left(x_1, t - \frac{x}{c}\right) \quad (17)$$

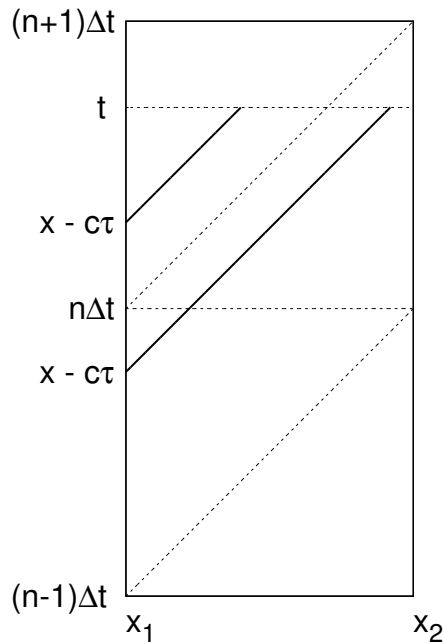


Figura 5 Gráfico do crescimento bacteriano. As linhas diagonais representam o caminho no espaço de fase de um grupo de células nascidas ao mesmo tempo: nessas linhas, $x - ct$ é constante.

No primeiro caso ($x - c\tau > x_1$), o tempo $t - \chi/c$ é menor do que $n\Delta t$, e no segundo $t - \chi/c > n\Delta t$. Dessa forma, pode-se utilizar δ_+ e δ_- , ambos entre 0 e Δt e escrever:

$$u\left(x, t - \frac{\chi}{c}\right) = \begin{cases} u\left(x_1, (n-1)\Delta t + \delta_+\right) = 2^n F(x_2 - c\delta_+), & \text{se } x - c\tau > x_1 \\ u\left(x_1, n\Delta t + \delta_-\right) = 2^{n+1} F(x_2 - c\delta_-), & \text{se } x - c\tau < x_1 \end{cases}$$

Sendo assim, basta substituir δ_+ , δ_- e τ para obter $u(x, t)$:

$$u(x, t) = \begin{cases} 2^n F(x - ct + n\Delta x), & \text{se } x - c\tau > x_1 \\ 2^{n+1} F(x - ct + (n+1)\Delta x), & \text{se } x - c\tau < x_1 \end{cases}$$

Essa expressão para $u(x, t)$ resolve o problema, com as condições de contorno. Novamente, pode-se encontrar $u_T(t)$, e valores a serem medidos para comparação:

$$u_T(t) = \int_{x_1}^{x_2} u(x, t) dx = \int_{x_1}^{x_1+c\tau} 2^{n+1} F(x - ct + (n+1)\Delta x) dx + \int_{x_1+c\tau}^{x_2} 2^n F(x - ct + n\Delta x) dx$$

Com a mudança de variáveis $y_1 = x - ct + (n+1)\Delta x$ na primeira integral, e $y_2 = x - ct + n\Delta x$ na segunda, e definindo $\alpha(t) = x_1 - ct + (n+1)\Delta x = x_2 - ct + n\Delta x$, o resultado é uma fórmula simples para a $u_T(T)$:

$$u_T(t) = 2^n \int_{x_1}^{\alpha(t)} F(y) dy + 2^{n+1} \int_{\alpha(t)}^{x_2} F(y) dy \quad (18)$$

Dado que tanto a expressão para a população total quanto para a densidade de indivíduos num determinado ponto ($u(x, t)$) são dadas em função da distribuição inicial $F(x)$, as expressões que relacionam as medições com os parâmetros do modelo ficam mais difíceis de serem obtidas. Ainda assim, conhecendo $F(x)$, podem-se extrair os resultados desejados. Por exemplo, para uma distribuição inicial de bactérias constante - aproximadamente o mesmo número de indivíduos de cada tamanho - temos $F(x) = F_0$. Então,

$$u(x, t) = \begin{cases} 2^n F_0, & \text{se } x - c\tau > x_1 \\ 2^{n+1} F_0, & \text{se } x - c\tau < x_1 \end{cases}$$

Dessa forma, é fácil encontrar

$$u_T(t) = 2^n (ct - (n-1)\Delta x) F_0 \quad (19)$$

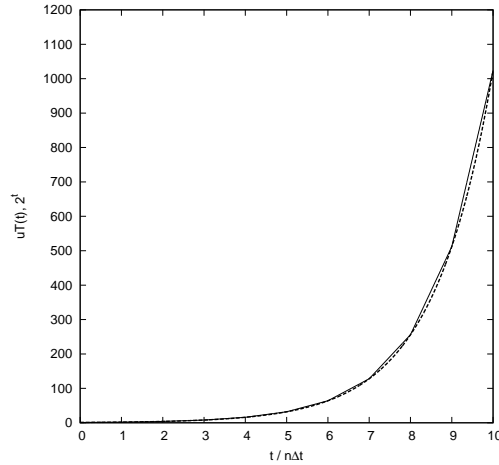


Figura 6 $u_T(t)$ comparado com 2^t

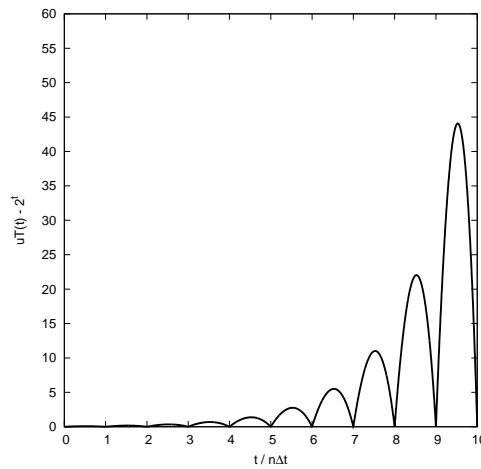


Figura 7 Gráfico da diferença entre $u_T(t)$ e 2^t

Esse exemplo, apesar de trivial, indica como se deve proceder para estudar e obter os parâmetros - c , Δt , e até x_1 e x_2 - e já permite observar alguns fenômenos interessantes, como, no caso, a proximidade de $u_T(t)$ com a função 2^t .

Crescimento Exponencial Numa analogia com o caso do crescimento linear, é conveniente primeiro extrair certas relações. Ainda valem $u(x_1, t) = 2u(x_2, t)$, $u(x_1, t) = u(x_2, t + \Delta t)$ e $\Delta x = x_2 - x_1$, mas

$$u(x, t) = u(xe^{c\alpha}, t + \alpha) \text{ e } \Delta t = \frac{1}{c} \ln\left(\frac{x_2}{x_1}\right) \quad (20)$$

Emitindo aqui uma derivação completamente análoga (e realizada pelo aluno), tem-se também $u(x_1, n\Delta t + \delta) = 2^{n+1}F(x_2e^{c\delta})$. Dessa maneira, tomando-se $t = n\Delta t + \tau$, n natural, e analisando $u(x, t)$ separadamente para $xe^{-c\tau} > x_1$, e para $xe^{-c\tau} < x_1$, com base na figura a seguir, temos:

$$u(x, t) = u\left(x_1, t - \frac{1}{c} \ln\left(\frac{x}{x_1}\right)\right) \quad (21)$$

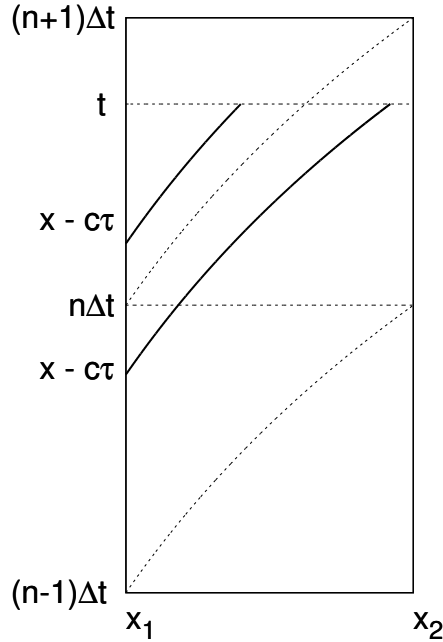


Figura 8 Gráfico do crescimento bacteriano. As linhas diagonais representam o caminho no espaço de fase de um grupo de células nascidas ao mesmo tempo: nessas linhas, xe^{-ct} é constante.

Aqui também, o valor de u separado em dois casos, acima e abaixo de um valor de $xe^{-c\tau}$. Definindo δ_+ e δ_- , ambos entre 0 e Δt , temos:

$$u\left(x, t - \frac{1}{c} \ln\left(\frac{x}{x_1}\right)\right) = \begin{cases} u(x_1, (n-1)\Delta t + \delta_+) = 2^n F(x_2e^{-c\delta_+}), & \text{se } xe^{-c\tau} > x_1 \\ u(x_1, n\Delta t + \delta_-) = 2^{n+1} F(x_2e^{-c\delta_-}), & \text{se } xe^{-c\tau} < x_1 \end{cases}$$

Substituindo δ_+ , δ_- e τ temos outra vez $u(x, t)$:

$$u(x, t) = \begin{cases} 2^n F\left(x \exp[-ct + nc\Delta t]\right), & \text{se } xe^{-c\tau} > x_1 \\ 2^{n+1} F\left(x \exp[-ct + (n+1)c\Delta t]\right), & \text{se } xe^{-c\tau} < x_1 \end{cases}$$

E essa é a solução para o problema. O passo seguinte é encontrar $u_T(t)$:

$$u_T(t) = \int_{x_1}^{x_2} u(x, t) dx = \int_{x_1}^{x_1+c\tau} 2^{n+1} F\left(x \exp[-ct + (n+1)c\Delta t]\right) dx + \int_{x_1+c\tau}^{x_2} 2^n F\left(x \exp[-ct + nc\Delta t]\right) dx$$

Para calcular a integral, basta uma mudança apropriada de variáveis:

$$y_1 = \left(\frac{x_2}{x_1}\right)^{n+1} xe^{-ct} \text{ e } y_2 = \left(\frac{x_2}{x_1}\right)^n xe^{-ct}$$

Definindo então

$$\beta(t) = x_2 \left(\frac{x_2}{x_1}\right)^n e^{-ct} = x_1 \left(\frac{x_2}{x_1}\right)^{n+1} e^{-ct}$$

finalmente chega-se a uma forma simples para $u_T(t)$:

$$u_T(t) = \left[\int_{x_1}^{\beta(t)} F(y) dy + 2 \frac{x_1}{x_2} \int_{\beta(t)}^{x_2} F(y) dy \right] 2^n \left(\frac{x_1}{x_2}\right) e^{ct} \quad (22)$$

Como era de se esperar, no caso do crescimento exponencial as funções $u(x, t)$ e $u_T(t)$ dependem de $F(x)$, e não há como obter uma fórmula geral para os parâmetros do modelo. Verifiquemos então como se comporta a mesma distribuição de tamanhos observada em crescimento linear: $F(x) = F_0$:

$$u(x, t) = \begin{cases} 2^n F_0, & \text{se } xe^{-c\tau} > x_1 \\ 2^{n+1} F_0, & \text{se } xe^{-c\tau} < x_1 \end{cases}$$

O fato da função $u(x, t)$ obtida é facilmente compreensível ao se levar em conta o gráfico da equação de advecção com $\partial x / \partial t = cx$ (**figura 4**). Com a condição inicial constante, é como se a onda nem se propagasse, ou propagasse com velocidade constante, como no crescimento linear.

$$u_T(t) = 2^n F_0 \left(x_2 - 2x_1 + x_1 \left(\frac{x_1}{x_2}\right) e^{ct} \right) \quad (23)$$

No caso $x_2 = 2x_1$, a expressão fica ainda mais simples: $u_T(t) = F_0 x_1 e^{ct}$. Essa dependência direta do tamanho da população no tamanho mínimo da célula bacteriana é esperada, dado que a taxa de crescimento inicialmente foi considerada proporcional ao tamanho individual. Isso poderia explicar por que células num meio mais rico não só crescem mais, como também mais rápido.

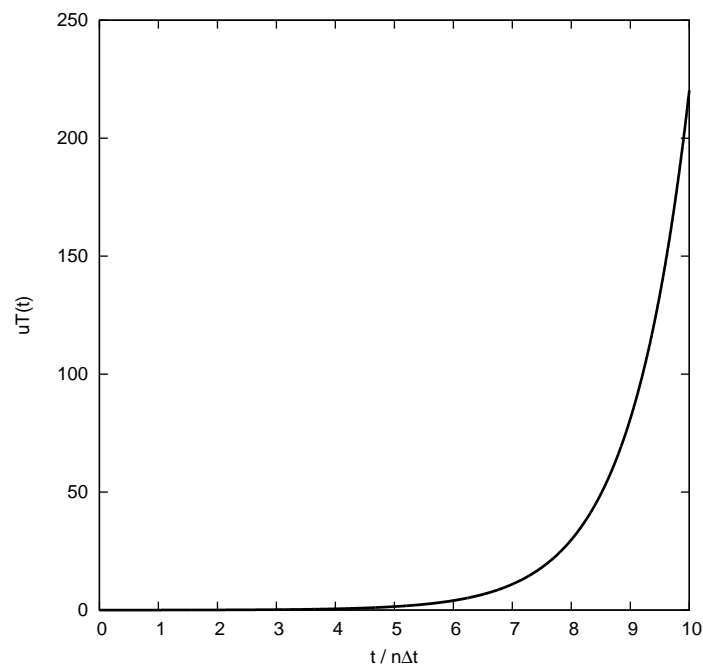


Figura 9 $u_T(t)$ em função de $t/n\Delta t$

Com esse exemplo simples, nota-se como são imediatas as dependências que o modelo implica. Nesse caso, seria bastante fácil encontrar c e x_1 - essa seria uma maneira simples de validar as previsões do modelo.

3 Progressos Realizados - no Laboratório

Conforme mencionado acima, o aluno empenhou-se, durante este semestre, em adquirir técnica suficiente para realizar fotos e filmes de microscopia, de forma que possa extrair os dados necessários ao teste e validação dos modelos formulados - tamanhos mínimo e máximo das bactérias, taxa de crescimento individual e da população, tempo de duplicação médio. No momento, ele está reunindo material, para em seguida realizar uma análise detalhada dos dados obtidos, e poder aprimorar os modelos matemáticos desenvolvidos.

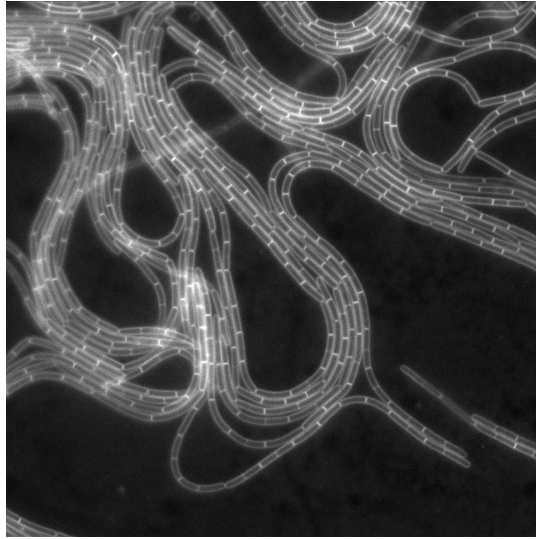


Figura 10 Foto de uma das microscopias realizadas.

3.1 Materiais e métodos

- **Linhagem celular utilizada:** PY79 - cepa selvagem de *Bacillus subtilis*
- **Microscopia de Fluorescência em Câmara:** o tamanho e a forma das células foram examinados em um microscópio de fluorescência (Nikon TE 300), com o corante de membrana FM6-64, numa concentração final de 1:1000. As células foram cultivadas em meio LB até a fase exponencial, e postas em câmaras contendo lâminas cobertas com o mesmo meio, solidificado com agarose. As imagens foram obtidas com filtros para RFP, e transferidas para o computador com o programa NIS Elements.

(Fotos do filme)

4 Conclusões e Perspectivas

Apesar de não terem passado ainda pela validação via experientio, os modelos desenvolvidos já chegaram a conclusões a respeito dos processos que regem a dinâmica das populações bacterianas, como o crescimento exponencial e a dependência da população no tamanho mínimo individual. Conforme já foi dito, o próximo passo é testar cada parte dos modelos, para poder afiná-los melhor, de forma explicar fenômenos

que eles ainda não deixam claro.

Exemplos de possíveis dependências ignoradas pelos modelos:

- **A relação entre x_1 e x_2 :** como foi comentado na seção 2.1, depende do meio em que a cultura se encontra; o modelo poderia incorporar também essa dependência;
- **Dispersão/dessincronização:** é possível sincronizar uma colônia - ou seja, separar os indivíduos que tenham acabado de nascer, e que supostamente dividiriam mais ou menos ao mesmo tempo, de acordo com os modelos aqui apresentados. Na realidade, essa sincronização dura poucas gerações, e em pouco tempo duas células com uma origem comum já não se dividem em tempos próximos. É de se esperar que um modelo com equações diferenciais parciais como este não exiba essa desordem - mas seria interessante poder consertar essa falha;
- **“Inflação” da colônia:** uma onda que se propaga com velocidade $\partial x/\partial t = cx$ aumenta de volume exponencialmente com o tempo. Basta olhar o gráfico (**figura 4**) apresentado. Todavia, no crescimento bacteriano, também não é o que acontece - o número de células continua sendo o mesmo, com ou sem condições de contorno - e seria importante que um modelo refletisse isso.

Até o final deste semestre, o plano é preparar mais microscopias, com o objetivo de juntar uma boa coleção de dados para comparar com a teoria - e poder escolher dentre os modelos o mais apropriado. Além da linhagem selvagem, o aluno começará a fazer microscopias de FG 665, um duplo mutante de *minD* e *noc* - genes que transcrevem proteínas ligadas à inibição da formação do septo de divisão, respectivamente nos pólos e no nucleóide. Por não possuir nenhuma região “proibida” ou “preferencial” à formação do septo, as proteínas que compõem o divisôma não chegam a se acumular em lugar algum, ao menos não em quantidade suficiente para montar o anel. O resultado é que a bactéria cresce somente, sem se dividir[8]. A escolha dessa linhagem foi feita pensando em observar melhor a taxa de crescimento em função do tempo, uma vez que, sem se dividir, as células crescerão por mais tempo (e conseqüentemente ficarão maiores, também).

Além disso, o aluno deverá voltar sua atenção para outro fenômeno dentro do enfoque de seu projeto: a existência, em determinadas linhagens bacterianas, de “minicélulas” - células diminutas, sem material

genético - e que portanto não possuem metabolismo, resultantes da formação de septos de divisão nos pólos da bactéria, em mutantes do gene *minC* [8]. Uma divisão polar, além de cada minicélula, resulta numa célula maior do que o normal. Ao longo das gerações, surgem células com vários cromossomos - e o tamanho de vários indivíduos selvagens - juntamente das minicélulas. Há perguntas a respeito do comportamento dessas linhagens: da equiprobabilidade (ou não) entre septos, da relação entre comprimento e número de cromossomos, e da divisão de forma geral. Abordando esse fenômeno, espera-se que algumas dessas perguntas sejam respondidas.

5 Demais Atividades Curriculares

O aluno teve um bom aproveitamento das disciplinas do semestre - sendo elas Física Matemática I, Microbiologia Básica, Mecânica Estatística (pós) e Eletromagnetismo I. As notas finais das disciplinas ainda não foram divulgadas. Nas *férias de verão* (de janeiro a fevereiro de 2012), o aluno deverá estudar o conteúdo coberto pela disciplina Mecânica I, tal que possa acompanhar a disciplina Mecânica II, a ser cursada. A referência utilizada será [9]. As disciplinas a serem cursadas no primeiro semestre de 2012 serão:

- MAP0316 - Equações Diferenciais II
- 4300306 - Mecânica II
- 4300307 - Física Matemática II
- 4300304 - Eletromagnetismo II
- 4300324 - Mecânica dos Fluidos [?]
- BIF0215 - Respiração, Circulação e Energética [?]

6 Referências

fotos filme

- 1 Bell GI, Anderson EC (1967), *Cell growth and division i*. Biophysical J 7:329-351

- 2 Wu LJ, Errington J (2004), *Coordination of Cell Division and Chromosome Segregation by a Nucleoid Occlusion Protein in Bacillus subtilis*. Cell 117, 915-925
- 3 Harry, E.J. et al., (1999) Co-ordinating DNA replication with cell division in bacteria: a link between the early stages of a round of replication and mid-cell Z ring assembly. Mol. Microbiol 33:33-40
- 4 Addinall et al (1997), *Temperature shift experiments with an ftsZ84(Ts) strain reveal rapid dynamics of the FtsZ localization and indicate that the Z ring is required throughout and cannot reoccupy division sites once constriction has been initiated*. J. Bacteriol. 17, 4277-4284
- 5 Sun, Q., and Margolin, W. (1998), *FtsZ dynamics during the division cycle of live Escherichia coli cells*. J. Bacteriol. 180, 2050-2056
- 6 Verhulst, P.F. (1838), *Notice sur la loi que la population suit dans son accroissement*, Corr. Math. et. Phys., 10:113-121
- 7 Verhulst, P.F. (1845), *Recherches mathématiques sur la loi d'accroissement de la population*, Mém Acad Roy, Brussels, 18:1-38
- 8 Donachie WD, Begg K J (1996), *Division potential in escherichia coli*. J. Bacteriology 20:5971-5976
- 9 Goldstein H, *Classical Mechanics*, 3rd Edition, Pearson Addison-Wesley
- 10 Brauer F, Castillo-Chávez C, *Mathematical Models in Population Biology and Epidemiology*, Springer-Verlag.