

Elementi di processazione di informazione nei sistemi biologici ed artificiali

ELENA AGLIARI^A AND ADRIANO BARRA^B

^A Dipartimento di Matematica, Sapienza Università di Roma, Italy

^B Dipartimento di Matematica e Fisica Ennio De Giorgi, Università del Salento, Italy

I. INTRODUZIONE

Negli anni recenti abbiamo assistito ad importanti successi nei campi dell'Intelligenza Artificiale e delle Biotecnologie, che hanno sollevato notevole attenzione, speranze, ma anche timori da parte del grande pubblico. Nonostante le due discipline ci appaiano piuttosto distanti (cosa possono avere in comune lo sviluppo di un modulo di memoria artificiale e lo studio della riprogrammazione genica di un topino da laboratorio?), in queste note informali desideriamo proprio evidenziare le profonde analogie strutturali e fenomenologiche che in realtà esistono, solide, tra queste due branche della Scienza moderna. Certamente queste similitudini vengono rivelate meno facilmente se paragoniamo esempi complessi, ma se proviamo ad identificare alcuni componenti elementali (all'interno di ciascuna disciplina), e guardiamo il loro comportamento in risposta agli stimoli del mondo esterno, possiamo individuare molti ponti concettuali. Da qui si può poi ricostruire (con un cauto riduzionismo) un sistema più complicato, sia nell'una che nell'altra branca, assemblandone opportunamente i vari componenti.

È innanzitutto curioso notare l'analogia tra Intelligenza Artificiale e Biotecnologie da una prospettiva meramente storica: il primo prototipo concretamente funzionante di transistor (i.e., il mattone fondamentale dell'elettronica moderna) è stato realizzato nel dicembre del 1947 da due ricercatori dei laboratori Bell (Walter Brattain e John Bardeen) del gruppo di ricerca guidato da William Shockley. Questo era il transistor a contatti puntiformi (i.e., "a punte"), mentre si deve proprio a William Shockley l'ideazione, nel gennaio 1948, e la formulazione, nella primavera dell'anno successivo, della teoria del transistor a giunzione chiamato inizialmente "sandwich transistor". Nel 1956 i tre ricercatori furono insigniti del premio Nobel per la Fisica "per le ricerche sui semiconduttori e per la scoperta dell'effetto transistor".

Negli stessi anni, venivano finalmente chiariti i meccanismi attraverso i quali viene trasmessa e utilizzata l'informazione per la fabbricazione di proteine nelle nostre cellule. In particolare, nel 1953, attraverso immagini di diffrazione a raggi X realizzate da Rosalind Franklin, chimica-fisica inglese, James Watson e Francis Crick presentarono, sulla rivista *Nature*, quello che oggi accertato come il primo modello accurato della struttura dell'acido desossiribonucleico (DNA), ovvero il modello a doppia elica. Questi scienziati furono insigniti del Premio Nobel per la Medicina nel 1962, insieme a Maurice Wilkins, "per le loro scoperte riguardanti la struttura molecolare degli acidi nucleici ed il loro significato per il trasferimento di informazione negli organismi viventi".

Come già accennato, desideriamo mostrare le analogie tra semplici sistemi "a carbonio" (nel caso di sistemi biologici) e "a silicio" (nel caso di sistemi artificiali) [10] e lo faremo analizzandone le reazioni in funzione degli stimoli esterni, ovvero, in ultima istanza, analizzandone i meccanismi di processazione di informazione.

Nella ricerca di un punto di vista che possa accomunare questi sistemi, tipicamente è scongiabile persistere all'interno di una specifica disciplina per poi inferire le proprietà dell'altra; conviene piuttosto passare ad un formalismo astratto e paragonare le proprietà fondamentali di opportune stilizzazioni in ciascun ambito: questo tipo di esercizio è proprio della Fisica Teorica e della Modellistica Matematica. L'adozione di un formalismo fisico-matematico permette inoltre di sfruttare efficaci strumenti e concetti per trattare l'informazione e la sua trasmissione. Ci si riferisce in particolare alla Teoria dell'Informazione, sviluppata a partire dai contributi pionieristici di Norbert Wiener e Claude Shannon [1] alla fine degli anni '40, ma anche alla Meccanica Statistica, sviluppata originariamente da Ludwig Boltzmann, Josiah Willard Gibbs e James Clerk Maxwell per conferire coerenza logica ad un mondo microscopico reversibile dinanzi ad un mondo macroscopico irreversibile [2]. La Meccanica Statistica è stata in seguito *reinterpretata* da Edwin Thompson Jaynes che, negli anni '50, mostrava come poterne usare il postulato cardine (i.e., il Principio di Massima Entropia) per costruire un telaio statistico-inferenziale molto generale, che sarebbe divenuto in futuro uno dei metodi più usati per comprendere la complessità del mondo biologico [3].

Nel seguito, usando la Meccanica Statistica come linguaggio comune di interpretazione per la Biochimica e per l'Elettronica, cercheremo di mostrare come possa esistere un livello descrittivo basale in cui analizzare tanto i mattoni che si usano per erigere l'Intelligenza Artificiale (e.g., robotica, automazione, machine learning, reti neurali) quanto quelli di impiego nelle Biotecnologie (e.g., computer a DNA, porte bio-logiche, interruttori genetici, reti di regolazione genica) ed in cui un paragone strutturale/comportamentale risulti, oltre che possibile, del tutto naturale.

Nell'Elettronica (e.g., vedi [4]) il mattone fondamentale è costituito dai transistori al silicio, il cui elemento basilare è

l'*amplificatore operativo* (si veda la Fig.1 pannello *g*). Da questo, con modifiche relativamente minimali, è possibile ottenere uno *switch* (i.e., un interruttore, Fig.1 pannello *h*), che è alla base della costruzione di tutte le porte logiche. Inoltre, di nuovo con relativamente poca spesa sia concettuale che energetica, è possibile ottenere anche un *flip-flop* (Fig.1 pannello *i*), che costituisce il basilare elemento elettronico in grado di immagazzinare un bit di informazione (è, cioè, un dispositivo elementare con due configurazioni stabili alle quali è possibile associare i due stati logici [0,1] e [1,0]) ed è quindi alla base di qualunque sistema artificiale con capacità di memoria, sia esso un computer o una rete neurale.

In Biochimica (e.g. vedi [5]) i sistemi sono composti da (macro)molecole (e.g. proteine) che possono interagire tra loro o con opportuni *ligandi* (usualmente piccoli peptidi che veicolano segnali informativi) ed il modo in cui queste dialogano è descritto dalla *Cinetica di Reazione* (i.e. *Cinetica Chimica*). Naturalmente esiste una vasta gamma di questi costituenti chimici elementari (come, d'altronde, al giorno d'oggi esiste un gran numero di amplificatori operazionali distinti), quindi, alla ricerca di comportamenti universali, converrà porre la nostra attenzione su come questi costituenti possano dialogare nella loro generalità. È infatti in questa chiave di lettura che emergerà nitidamente il parallelo con l'elettronica, poiché i modi possibili di dialogo risulteranno essere piuttosto esigui e rispecchieranno gli stessi principi di interazione dei corrispettivi componenti elettronici.

Consideriamo, per fare un esempio concreto, il caso di una famosa proteina, l'emoglobina. Questa è responsabile del trasporto di ossigeno nel corpo e permette la *respirazione cellulare*. Tali proprietà sono conseguenze della capacità di questa proteina di legare a sé (e di disfarsene all'occorrenza) fino a 4 molecole di ossigeno, con questa caratteristica cruciale: ogni sito di legame dell'emoglobina agisce in maniera *non* indipendente dagli altri tre, nel senso che, se un sito di legame ha catturato una molecola di ossigeno, allora la probabilità che anche i rimanenti tre le catturino aumenta. Questo si traduce nel fatto che, se la proteina si trova in un ambiente ricco di ossigeno (e.g., negli alveoli polmonari), prontamente si lega a 4 molecole di ossigeno, ed -altrettanto prontamente- se ne disfa qualora attraversi un ambiente carente di ossigeno (permettendo di fatto la respirazione in quell'ambiente). Questo meccanismo è noto come *cinetica di reazione con cooperazione positiva*. Per studiarne il comportamento (la relazione caratteristica di input-output) si considera un insieme di queste proteine e si osserva come queste si comportano al variare della disponibilità di ossigeno: costruiamo un piano cartesiano, in cui sull'ascissa poniamo la concentrazione del substrato o del ligando (ossigeno in questo caso, i.e. l'input) mentre sull'ordinata abbiamo la percentuale di siti legati delle proteine (detta *funzione di saturazione*, i.e. l'output) e facciamo una serie di esperimenti nei quali diverse copie di questo insieme di proteine sono esposte a diverse concentrazioni di substrato. Ognuna di queste copie, raggiunto l'equilibrio chimico, si stabilizzerà su un proprio livello di saturazione fornendo un punto nel piano cartesiano considerato. Interpolando tra tutti i punti forniti dai vari esperimenti, quello che si otterrà sarà una curva sigmoideale, la cui pendenza, misurata mediante il cosiddetto coefficiente di Hill n_H (vide infra), fornisce una stima di quanto cooperativa sia la reazione osservata. Più precisamente, se $n_H = 1$ non c'è cooperatività e ogni sito di legame agisce indipendentemente dagli altri; se $n_H > 1$ c'è cooperatività (proprio come nel caso dell'emoglobina), si veda Fig.1 pannelli *a*, *d*); se $n_H \gg 1$ la cooperatività è così forte che la sigmoide diventa una funzione a gradino e la cinetica è detta *ultrasensibile*, Fig.1 pannelli *b*, *e*; infine, se $n_H < 1$ la cinetica è detta anti-cooperativa (come per esempio accade nei recettori insulinici o nei recettori accoppiati a proteine G), Fig.1 pannelli *c*, *f*. I meccanismi alla base di queste forme di coordinamento microscopico possono essere molteplici: per esempio, se due siti di legame contigui di una proteina possono ospitare ioni carichi, l'attrazione/repulsione tra gli ioni stessi può essere causa di una cinetica di reazione positiva/negativa; nel caso più comune i legami con il substrato modificano proprio la struttura conformazionale della proteina, influenzando possibili futuri legami in maniera allosterica.

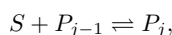
Nel seguito, a prescindere dagli specifici meccanismi sottostanti, tenteremo di evidenziare come un insieme di proteine che mostra una cinetica cooperativa condivida caratteristiche comportamentali con un amplificatore operativo (Fig.1 pannelli *g*, *l*), un insieme di proteine ultrasensibili abbia caratteristiche comportamentali comuni ad un interruttore (Fig.1 pannelli *h*, *m*) ed un sistema di proteine anticooperative si possa comportare come un flip-flop (Fig.1 pannelli *i*, *n*). Inoltre è opportuno notare che le proteine le cui reazioni sono ultrasensibili, giocando il ruolo di interruttori molecolari, aprono la strada al calcolo (stocastico) bio-logico: nelle biotecnologie infatti, trascurando la presenza di rumore (sebbene di fatto inevitabile), porte (bio)-logiche sono state già sia riscontrate in vivo, sia costruite artificialmente (si vedano per esempio i lavori di Winfree per il primo caso, ed i lavori di Katz per il secondo [6]). Una volta capiti i comportamenti di questi ingredienti cardine, lo spazio delle possibili *ricette di cucina elettronica* o il volume del *prontuario del biotecnologo* divergono velocemente componendo i vari elementi fondamentalmente in un'infinità di modi a complessità variabile. In queste note divulgative non andremo oltre gli elementi qui elencati, sia inerentemente il mondo dell'Elettronica che quello della Biochimica. Infine, nel tentativo di costruire l'equivalenza sopra accennata, utilizzeremo la Meccanica Statistica nella sua interpretazione di Inferenza Statistica. A seguire, dopo una minimale ma imprescindibile infarinatura di cinetica di reazione, (assumendo che il singolo sito di legame possa essere solo in due stati, pieno o vuoto, e quindi descrivibile da una *variabile di Boole* o *spin di Ising*) ci chiederemo come costruire un telaio inferenziale per questi siti di legame, sia che siano indipendenti (così da mimare cinetiche non-cooperative), o positivamente correlati (così da mimare cinetiche cooperative e/o ultrasensibili), o negativamente

correlati (così da mimare cinetiche anticooperative).

II. ANALOGIE COMPORTAMENTALI TRA LA BIOCHIMICA E L'ELETTRONICA

Elementi di Cinetica di Reazione

Consideriamo proteine P , la cui concentrazione è indicata con $[P]$, che possono ospitare N molecole ligandi S sulla loro struttura: queste ultime saranno il *substrato*, la cui concentrazione è indicata con α . Chiamando P_j , con $j \in [0, N]$, il complesso proteina-ligando dove j siti di legame sono occupati, le reazioni che portano all'equilibrio chimico si possono scrivere come



in maniera tale che l'evoluzione temporale della concentrazione della proteina P_0 (i.e. stato libero) sia governata da [11]

$$\frac{d[P_0]}{dt} = -K_{+1}^{(1)}[P_0]\alpha + K_{-1}^{(1)}[P_1], \quad (1)$$

dove $K_{+1}^{(1)}, K_{-1}^{(1)}$ sono le costanti di scambio (forward/backward) per lo stato $j = 1$ ed il loro rapporto definisce la *costante di associazione* $K^{(1)} \equiv K_{+1}^{(1)}/K_{-1}^{(1)}$. Se ci concentriamo sullo stato stazionario, dove le derivate temporali sono tutte nulle e l'equilibrio è raggiunto, possiamo scrivere iterativamente $K^{(j)} = [P_j]/([P_{j-1}]\alpha)$, per la costante di associazione relativa al generico stato j . Sfortunatamente, misurare puntualmente $[P_j]$ negli esperimenti (specialmente in vivo) è praticamente impossibile e conviene introdurre il numero di occupazione medio $\langle n \rangle$ definito come

$$\langle n \rangle = \frac{[P_1] + 2[P_2] + \dots + N[P_N]}{[P_0] + [P_1] + [P_2] + \dots + [P_N]}. \quad (2)$$

Il numero di occupazione medio normalizzato rispetto al numero di siti di legame disponibili per ogni proteina definisce la *funzione di saturazione* $Y = \langle n \rangle / N \in [0, 1]$: quando $Y = 0$ tutti i siti di legame sono liberi, mentre quando $Y = 1$ tutti i siti di legame sono occupati.

Per un sistema *non-cooperativo* otteniamo la seguente espressione per la funzione di saturazione

$$\langle n \rangle = \frac{NK\alpha}{1 + K\alpha} \Rightarrow Y = \frac{K\alpha}{1 + K\alpha}, \quad (3)$$

che è la famosa equazione di Michaelis-Menten [7].

Se invece, nel sistema in esame, sono presenti interazioni tra i siti di legame, la cinetica diventa meno banale e l'espressione precedente si generalizza come segue:

$$Y = \frac{K\alpha^{n_H}}{1 + \alpha^{n_H}}. \quad (4)$$

Questa è la ben nota equazione di Hill [7], dove n_H (i.e. il coefficiente di Hill) rappresenta il numero di siti di legame che sono in interazione efficace: per $n_H = 1$ il sistema torna ad essere *non cooperativo* e la legge di Michaelis-Menten è ripristinata; per $n_H > 1$ il sistema è *cooperativo*, e diventa -per $n_H \gg 1$ - *ultra sensibile*; infine, per $n_H < 1$, il sistema manifesta una cinetica di reazione *anti cooperativa*.

Da un punto di vista pratico, n_H si misura come la pendenza della curva $\log(Y/(1-Y))$ versus α , ad $Y = 1/2$.

Meccanica Statistica e Cinetica di Reazione

Uno dei modi migliori per provare ad intuire il ruolo e la potenza espressiva della Meccanica Statistica è di vederla direttamente all'opera su questo problema: il *prontuario d'utilizzo* prevede di definire, in termini delle variabili microscopiche (e.g. i siti di legame ed il substrato), una funzione costo da minimizzare (che in Fisica solitamente rappresenta l'energia interna del sistema) e di imporre che, nel processo di minimizzazione, l'entropia associata alla configurazione delle variabili stesse sia la massima possibile (si applica cioè il Principio di Massima Entropia vincolato dalla funzione costo).

Una funzione costo calzante per lo scenario sopra delineato è data dal modello di Curie-Weiss: questo modello descrive il comportamento di un insieme di N spin, il cui stato è rappresentato dalle variabili booleane $\sigma_i = \pm 1$, $i \in (1, \dots, N)$ [2], al variare dell'intensità di interazione (o accoppiamento) $J \in \mathbb{R}^+$ tra le variabili stesse e di uno stimolo esterno $h \in \mathbb{R}$ (ovvero un *campo magnetico* nella formulazione originale, o un *bias* in gergo statistico, o una concentrazione del substrato se rimaniamo in ambito biochimico): h è l'input percepito dal sistema. In questo caso, la funzione costo che si associa ad una configurazione $\{\sigma\} = \{\sigma_1, \sigma_2, \dots, \sigma_N\}$ è definita come

$$E(\{\sigma\}|J, h) = -\frac{J}{N} \sum_{i < j}^{N, N} \sigma_i \sigma_j - h \sum_{i=1}^N \sigma_i. \quad (5)$$

Un minuto di riflessione ci lascia subito capire che, grazie al segno meno davanti al membro di destra nella precedente espressione (ricordando che, per ora, ci siamo ristretti solo a valori $J \geq 0$), le configurazioni che minimizzano $E(\{\sigma\}|J, h)$ sono quelle associate a sequenze di spin paralleli tra loro e allineati al campo esterno (tutti gli spin “up” o tutti gli spin “down”). Di contro, il contributo entropico, che propende per disordinare il sistema, sarà invece massimo nel caso in cui queste variabili assumano valori casuali e quindi, per N grande, se ne abbiano metà “up” e metà “down”. Il sistema dovrà dunque “giostrarsi” nel tentativo di minimizzare la funzione costo e di massimizzare l'entropia; a seconda della scelta dei parametri J ed h prevarrà uno stato (prevalentemente) ordinato, oppure uno stato (prevalentemente) disordinato; variando i parametri si può quindi verificare un passaggio dall'uno all'altro stato, e tale passaggio è detto *transizione di fase*. In Fisica queste due fasi sono dette *paramagnetica* e *ferromagnetica*, rispettivamente.

Per descrivere a livello macroscopico la risposta (i.e. l'output) del sistema allo stimolo h (i.e. l'input) si introduce il concetto di *parametro d'ordine*, indicato con $\langle m \rangle$, definito come media aritmetica degli spin $\langle m \rangle = \sum_{i=1}^N \sigma_i / N$; tale osservabile è chiamata *magnetizzazione* in Meccanica Statistica. La magnetizzazione fornisce una descrizione macroscopica efficace del comportamento del sistema: $\langle m \rangle \sim 0$ quando il sistema è disordinato; $\langle m \rangle \rightarrow \pm 1$ quando il sistema è ordinato.

Con semplici calcoli (e.g., vedi [2]) si può mostrare che il richiedere che il sistema spontaneamente minimizzi la sua energia interna e massimizzi la sua entropia, implichi la seguente, fondamentale, equazione di auto-consistenza per il parametro d'ordine

$$\langle m \rangle = \tanh[(J\langle m \rangle + h)]. \quad (6)$$

Risolvendo l'eq. 6 si ottiene un diagramma di fase nello spazio (J, h) : a seconda dei valori di J e h fissati, se la magnetizzazione trovata è nulla sappiamo che il sistema si comporta *paramagneticamente*, se invece la magnetizzazione assume valori non nulli ci aspettiamo che si comporti *ferromagneticamente*. Nel caso in cui le variabili booleane non siano interagenti (i.e. $J = 0$), l'eq. 6 si riduce a $\langle m \rangle = \tanh(h)$, che assume la forma di un'elementare relazione di input-output sigmoideale. Quando le interazioni sono presenti (i.e. $J > 0$), la relazione di input-output diventa più complicata e la soluzione di eq. 6 dipende fortemente dal valore di J : esiste un valore critico della forza d'accoppiamento J_c tale che se $J \geq J_c$ la tipica risposta sigmoideale di $\langle m \rangle$ versus h diventa una funzione a gradino (vedi Fig. 1, pannelli *d*, *e* e Fig. 2, pannelli *a*, *b*).

Le equazioni di Michaelis-Menten e di Hill tramite la Meccanica Statistica

Cerchiamo ora di leggere mediante la Meccanica Statistica le cinetiche di reazione introdotte precedentemente. Consideriamo prima il caso più semplice di un insieme di macromolecole identiche, i cui N siti di legame (etichettati dall'indice $i = 1, 2, \dots, N$) siano tra loro *indipendenti*: ognuno di questi siti può legare una molecola del substrato a prescindere dallo stato (occupato o non occupato) degli altri siti di legame. Possiamo chiaramente associare ad ogni sito di legame i una variabile booleana σ_i tale che quando il sito è occupato risulti $\sigma_i = +1$, mentre quando il sito è libero, si abbia $\sigma_i = -1$. La configurazione totale del sistema è quindi specificata dal set $\{\sigma\}$. Nella rappresentazione di Curie-Weiss a cui vogliamo riferirci, l'input è rappresentato dal *campo esterno* h , mentre nel sistema cinetico che vogliamo descrivere l'input è rappresentato dalla concentrazione del substrato α . Analogamente, nella rappresentazione di Curie-Weiss l'output è dato dalla magnetizzazione $\langle m \rangle$, mentre nel sistema cinetico l'output è dato dalla saturazione Y . Ci servono dunque relazioni che leghino tra loro i due parametri di input h ed α e le due osservabili di output $\langle m \rangle$ ed Y .

Ragioniamo come segue: se non ci sono interazioni tra siti di legame (i.e. $J = 0$), la funzione costo (5) include solamente interazioni microscopiche sistema-substrato, cioè

$$E(\{\sigma\}, h) = -h \sum_{i=1}^N \sigma_i. \quad (7)$$

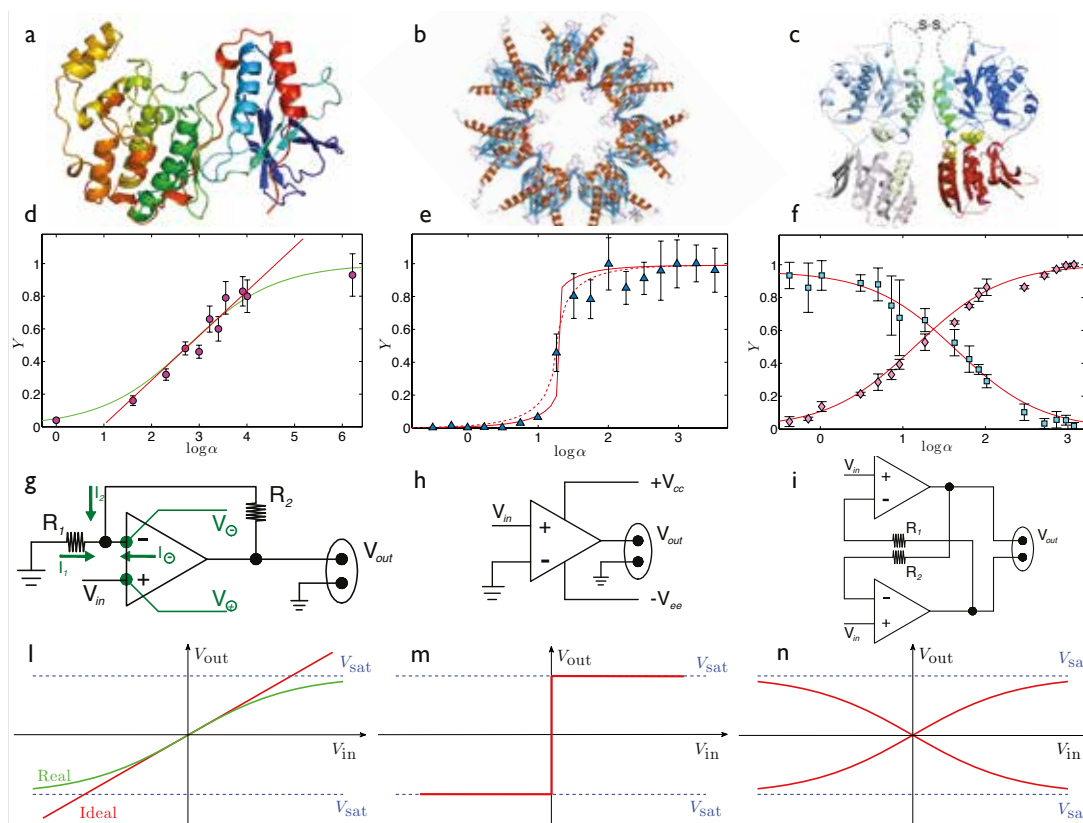


FIG. 1: Questa figura riassume tutte le analogie descritte in queste note.

Scorriamo la figura secondo le righe. Nella prima riga presentiamo immagini di tre proteine che mostrano comportamenti cooperativi: la *mitogen-activated kinase 14* (pannello a) è una proteina a cooperatività positiva, la *calmodulin-dependent kinases II* (pannello b) è una proteina a cooperatività ultrasensibile, mentre il *synaptic glutamate receptor* (pannello c) è una proteina anti-cooperativa (nella quale i due bracci legati dal ponte disolfuro S-S si inibiscono mutuamente). Le relative curve di saturazione sono riportate nella seconda riga (pannelli d, e e f, rispettivamente), dove i punti sperimentali sono interpolati con le curve teoriche della meccanica statistica (eq. 11); rimandiamo a [8] per ulteriori dettagli. Nella terza riga mostriamo gli equivalenti componenti elettronici: l'amplificatore di segnale (pannello g), l'interruttore analogico-digitale (pannello h), ed il flip-flop (pannello i), le cui curve di trasferimento sono infine mostrate nella quarta riga (rispettivamente pannelli l, m ed n). Si noti che, per l'amplificatore di segnale (pannello g) abbiamo mostrato sia il comportamento reale (curva verde) sia quello ideale (curva rossa).

Scorriamo la figura secondo le colonne. La prima colonna si occupa di relazioni di input-output a cooperatività positiva modesta: dall'alto verso il basso mostriamo una proteina con coefficiente di Hill $n_H \sim 1.5$ (pannello a), la sua funzione di risposta $Y(\alpha)$ (pannello d), un amplificatore operazionale (pannello g) e la sua funzione di risposta $V_{out}(V_{in})$ (pannello l). La seconda colonna si occupa di relazioni di input-output a cooperatività positiva forte: dall'alto verso il basso mostriamo una proteina con coefficiente di Hill $n_H \sim 3.5$ (pannello b), la sua funzione di risposta $Y(\alpha)$ (pannello e), un interruttore analogico-digitale (pannello h) e la sua funzione di risposta $V_{out}(V_{in})$ (pannello m). La terza colonna presenta l'equivalente delle sue precedenti nel caso di fenomeni anti-cooperativi: dall'alto verso il basso mostriamo una proteina con coefficiente di Hill $n_H \sim 0.4$ (pannello c), la sua funzione di risposta $Y(\alpha)$ (pannello f), un flip-flop (pannello i) e la sua funzione di risposta $V_{out}(V_{in})$ (pannello n).

Quando $h > 0$, le molecole tenderanno a legarsi per diminuire il valore della funzione costo (cioè dell'energia del sistema), mentre, quando $h < 0$, molecole legate tenderanno a dissociarsi per raggiungere lo stesso scopo: h gioca quindi il ruolo del potenziale chimico [9].

Il potenziale chimico può essere espresso come il logaritmo della concentrazione del substrato, la quale, a sua volta, è proporzionale al rapporto tra le probabilità di avere un sito di legame occupato ed un sito di legame vuoto. In

formule, questo primo ponte tra meccanica statistica e cinetica di reazione si esprime come

$$\alpha \propto \frac{P(\sigma_i = +1)}{P(\sigma_i = -1)} = \frac{e^{+h}}{e^{-h}} \Rightarrow h = \frac{1}{2} \log \alpha. \quad (8)$$

Con un ragionamento analogo, si dimostra che il numero di occupazione medio $\langle n \rangle \in [0, +1]$ in Cinetica Chimica è in relazione lineare con la magnetizzazione $\langle m \rangle \in [-1, +1]$ in Meccanica Statistica:

$$\langle n \rangle = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^N (1 + \sigma_i) \Rightarrow Y(\alpha) = \frac{1}{N} \sum_{\sigma} P(\{\sigma\}) n(\{\sigma\}) = \frac{1}{2} (1 + \langle m \rangle). \quad (9)$$

Usando l'eq. (6), abbiamo una funzione di risposta mista (l'output è di Cinetica Chimica ma l'input è ancora di Meccanica Statistica)

$$Y(\alpha) = \frac{1}{2} [1 + \tanh(h)]. \quad (10)$$

Sostituendo $2h = \log \alpha$ (si veda l'eq. 8) in (10) infine abbiamo un'espressione del comportamento del sistema nelle sole osservabili biochimiche; in particolare riotteniamo proprio l'equazione di Michaelis-Menten, in perfetta consistenza con l'assunto di assenza di interazione tra i siti di legame (i.e. $J = 0$) nell'eq. (7).

Il caso con $J > 0$ ricalca il precedente ed è solo leggermente più complicato dal punto di vista tecnico: anche per questo si riesce a scrivere un'espressione per la funzione di saturazione in una forma puramente biochimica, come

$$Y(\alpha; J) = \frac{1}{2} \left\{ 1 + \tanh \left[J(2Y - 1) + \frac{1}{2} \log \alpha \right] \right\}. \quad (11)$$

Questa relazione di input-output restituisce la frazione media di siti di legame occupati in funzione della concentrazione del substrato e della forza dell'accoppiamento J tra i siti di legame stessi. Più precisamente, quando $J > 0$ i siti di legame tendono ad *imitarsi reciprocamente* e l'eq. 11 descrive una transizione ad $\alpha = 1$; tale transizione è continua (Y è una funzione continua di α , anche se le sue derivate possono non esserlo) finché J è più piccolo del valore critico $J_c = 1$, mentre diventa discontinua (Y ha un salto in α) non appena $J > J_c$: quest'ultimo caso è particolarmente importante per catturare la fenomenologia degli *interruttori biologici* (la cinetica ultrasensibile).

D'altra parte, nel limite $J \rightarrow 0$, il termine di interazione tra i siti scompare e la cinetica di reazione dovrebbe tornare ad essere di tipo Michaelis-Menten: è infatti un esercizio banale mostrare che l'eq. (11) può essere riscritta come

$$Y(\alpha; J) = \frac{\alpha e^{2J(2Y-1)}}{1 + \alpha e^{2J(2Y-1)}}, \quad (12)$$

che, per $J = 0$, torna ad avere proprio la forma di Michaelis-Menten $Y(\alpha) = \alpha/(1 + \alpha)$; in questo caso ovviamente non possono esserci transizioni di fase, ovvero comportamenti ultrasensibili nel gergo della Biochimica.

In completa generalità, il coefficiente di Hill può essere calcolato come la pendenza di $Y(\alpha)$ nell'eq. (11) ad $Y = 1/2$, cioè

$$n_H = \frac{1}{Y(1-Y)} \frac{\partial Y}{\partial \alpha} \Big|_{Y=1/2} = \frac{1}{1-J}. \quad (13)$$

Il ruolo di J emerge ormai chiaro: valori relativamente grandi di J , i. e. $J \rightarrow 1$, implicano una forte cooperatività nel sistema; viceversa, per $J \rightarrow 0$, la cooperatività scompare.

Lo schema appena descritto può essere esteso al caso di sistemi a cooperatività negativa, semplicemente assumendo un accoppiamento negativo $J < 0$ tra gli spin di Ising [8]. Anche in questo caso si manifestano diversi comportamenti a seconda del valore dell'accoppiamento J . Per fissare le idee, pensiamo ad una proteina che possa ospitare due diversi ligandi: quando $J \sim 0$, i due siti di legame tenderanno ad essere entrambi vuoti (quando α è piccolo) o entrambi pieni (quando α è grande), ma quando $J < 0$ se un sito è occupato l'altro tenderà a rimanere libero.

Verso una Cibernetica Biologica

Una volta sanciti i ponti matematici per leggere la Cinetica di Reazione mediante la Meccanica Statistica, possiamo procedere oltre ed usare quest'ultima anche come chiave di lettura per l'Elettronica, in particolare focalizzandoci sull'amplificatore operativo e le sue applicazioni. Questo transistor è un circuito integrato a stato-solido che usa

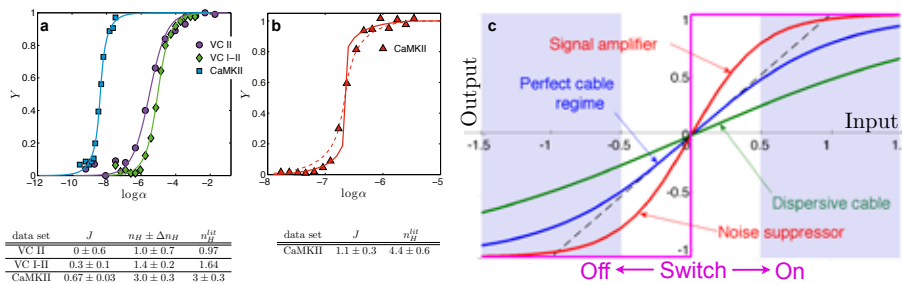


FIG. 2: Nei pannelli a e b mostriamo un confronto tra dati sperimentali (simboli) ed i “best-fit” ottenuti a partire dall’eq. 11 (curve). I dati si riferiscono a sistemi non-cooperativi e cooperativi (pannello a) e a sistemi ultra-sensibili (pannello b). Nell’ultimo caso riportiamo due interpolazioni: la linea tratteggiata è ottenuta vincolando il sistema ad essere cooperativo ma non ultra-sensibile (cioè, $J \leq 1$), mentre la linea continua è ottenuta rilassando tale vincolo. I parametri J di “best-fit” sono riportati nella tabella di pertinenza ed i relativi χ^2 , che misurano la bontà delle interpolazioni, sono rispettivamente $\chi^2_{coop} \sim 0.85$ e $\chi^2_{ultra} \sim 0.94$, confermando un comportamento ultra-sensibile, ovvero una transizione di prima specie nel linguaggio della meccanica statistica. Nelle tabelle sottostanti riportiamo anche il valore del coefficiente di Hill ottenuto dalla stima di J sfruttando l’eq. 13 e il valore del coefficiente di Hill riportato in letteratura. Per ulteriori dettagli su questi “fit” si rimanda a [8]. Nel pannello c mostriamo la funzione di trasferimento per sistemi cooperativi (i.e. cinetiche chimiche cooperative, ferromagneti, amplificatori operazionali). I diversi colori si riferiscono a diverse intensità di accoppiamento tra le unità costituenti o, in altre parole, si riferiscono a sistemi con diversi coefficienti di Hill, diverse costanti di interazione ferromagnetica, o un diverso guadagno, a seconda del sistema considerato. La linea tratteggiata evidenzia il comportamento lineare dove vale l’approssimazione di cavo ideale. Quando l’intensità dell’interazione è grande si ottiene un interruttore.

l’auto-regolazione (mediante un meccanismo di retroazione o *feedback*) per adattare il suo funzionamento a molteplici contesti. In Fig. 1 (pannello g) mostriamo la rappresentazione classica dell’amplificatore operazionale: è possibile considerare due segnali di input V_{in} (uno ricevuto positivamente (+) ed uno invertito (-)), e vi sono due sorgenti di voltaggio esterne (V_{sat} e $-V_{sat}$) per supplire al transistor l’energia necessaria per trattare opportunamente il segnale di input, ed infine vi è un output (V_{out}) da cui si propaga il segnale di uscita.

Anche in questo caso separeremo lo scenario di piccolo accoppiamento $J < J_c = 1$ (cioè quello proprio della cinetica cooperativa in Biochimica) da quello di pronunciato accoppiamento $J > J_c = 1$ (legato alla cinetica ultrasensibile), e vedremo che il transistor lontano dalla saturazione (i.e. per $J < J_c$) si comporta come un amplificatore di segnale, mentre il transistor in saturazione (i.e. per $J > J_c$) si comporta come un interruttore [4]. Il piano è comparare le curve di saturazione in Cinetica Chimica con le equazioni di auto-consistenza in Meccanica Statistica e con le funzioni di trasferimento in Elettronica (si veda Fig.1 nel complesso). Questo ci permetterà di generare un traduttore Biochimica-Elettronica molto utile per capire come le reazioni chimiche processano l’informazione cellulare negli organismi viventi (in questa analogia possiamo infatti sfruttare la relativa semplicità con cui si possono condurre esperimenti in Elettronica per inferire informazioni sui comportamenti biochimici).

In Ingegneria Elettronica l’amplificatore viene spesso considerato nella sua versione *ideale*, in cui la funzione di trasferimento sigmoideale viene approssimata ad una retta (si veda la Fig. 1, panel l), ed il voltaggio ai collettori è assunto sempre costante (V_{sat} and $-V_{sat}$). Questo permette di ottenere la funzione di trasferimento dell’amplificatore in maniera banale semplicemente applicando le leggi di Kirchhoff al nodo di ingresso (si veda la Fig. 1, pannello g), da cui si ottiene

$$V_{out} = G V_{in} = (1 + R_2)V_{in}, \tag{14}$$

dove $G = 1 + R_2$ è chiamato “guadagno” dell’amplificatore e ne quantifica la capacità di riprodurre, come segnale in uscita, il segnale in ingresso amplificato: poiché $R_2 \geq 0$ per il Secondo Principio della Termodinamica (non esistono resistenze negative), il guadagno è maggiore di uno ed il circuito può effettivamente amplificare un eventuale segnale di ingresso V_{in} .

Proviamo ora ad enfatizzare le analogie strutturali di queste relazioni di input-output che abbiamo ricavato. Notiamo innanzitutto che tutti i sistemi analizzati sono *saturabili*: in Cinetica di Reazione, una volta che tutti i siti di legame si saranno accaparrati ognuno la propria molecola di substrato, un ulteriore incremento del substrato non potrà produrre più alcuna modifica al sistema. Parimenti, in Meccanica Statistica, una volta che il campo magnetico avrà fatto allineare tutti gli spin a se stesso, un ulteriore incremento di quest’ultimo non potrà più risultare in una variazione della risposta del sistema. Alla stessa maniera, in Elettronica, una volta raggiunta la tensione di collettore V_{sat} (tensione di saturazione), un ulteriore incremento della tensione di input al transistor non potrà più implicare

un incremento nella tensione di output. In tutti questi casi limite, i nostri sistemi avranno *saturato*. In generale, nei sistemi saturabili la tipica funzione di risposta è proprio quella sigmoidale.

Passiamo ora a studiare in dettaglio le funzioni di risposta dei vari sistemi introdotti in queste tre discipline. Notiamo innanzitutto che, considerando l'equazione di auto-consistenza (6), nel caso di piccoli accoppiamenti (i.e. $J < J_c = 1$), possiamo espandere $\tanh(x) \sim x$ (che concettualmente è la stessa approssimazione che gli Ingegneri adottano per il regime lineare dell'amplificatore operazionale) e questo permette di riscrivere la stessa equazione come

$$\langle m \rangle \sim (1 + J)h. \quad (15)$$

Quindi, paragonando membro a membro le equazioni (14) e (15), vediamo come il ruolo di input sia ricoperto dal campo magnetico h e dal voltaggio di ingresso V_{in} , rispettivamente, mentre il ruolo di output sia ricoperto dalla magnetizzazione $\langle m \rangle$ e dal voltaggio di uscita V_{out} , rispettivamente. L'analogia può inoltre essere estesa al guadagno: si vede infatti come l'accoppiamento J e la resistenza R_2 giochino lo stesso ruolo. Coerentemente, se $R_2 = 0$, la retroazione viene interrotta e, analogamente, se $J = 0$ il meccanismo di mutua interazione (i.e. di *feedback*) per cui gli spin si influenzano a vicenda si perde. Infatti, sempre restringendoci al caso $J < J_c = 1$ in esame, in Cinetica di Reazione il coefficiente di Hill può essere scritto come $n_H = 1/(1 - J) \sim 1 + J$, e quindi, per $J = 0$, si ha $n_H = 1$ che è proprio il coefficiente di Hill per una reazione di Michaelis-Menten. Tutto questo ci porta a sancire la seguente uguaglianza comportamentale tra questi sistemi, ognuno all'interno della propria disciplina di pertinenza:

$$\left(n_H = \frac{1}{1 - J} \sim 1 + J \right) \Leftrightarrow \left(G = 1 + J \sim \frac{1}{1 - J} \right),$$

da cui capiamo che il coefficiente di Hill in Biochimica gioca esattamente il ruolo del guadagno in elettronica: questo permette di comparare i meccanismi di amplificazione tra circuiti biologici e circuiti elettronici (si veda la tabella riassuntiva).

Disciplina	Input	Output	Kernel
Cinetica Chimica	α , substrato	Y , funzione di saturazione	n_H , coefficiente di Hill
Meccanica Statistica	h , campo magnetico	m , magnetizzazione	J , accoppiamento tra spin
Elettronica	V_{in} , tensione d'ingresso	V_{out} , tensione d'uscita	G , guadagno

Se estendiamo l'analogia al caso $J > J_c$, l'equazione di auto-consistenza diventa una funzione a gradino (i.e. la magnetizzazione ha un salto ad $h = 0$) e, coerentemente, l'equazione ora descrive la cinetica di reazione ultrasensibile, nella quale la funzione di saturazione si comporta come un interruttore: al variare della concentrazione del substrato, il sistema biologico fa un salto netto da uno stato completamente legato ad uno completamente legato, non appena la concentrazione supera la soglia critica α_0 , corrispondente ad $h = 0$ (si veda Fig. 1, pannelli *b*, *e*).

In maniera del tutto naturale l'analogia prosegue, poiché anche l'amplificatore operazionale -quando fatto lavorare in saturazione (cioè per valori di guadagno troppo alti affinché il regime lineare sia ragionevole) si comporta esattamente come un interruttore (uno switch), il quale ha un comportamento digitale ON/OFF al variare della tensione (continua) in ingresso: un tale tipo di sistema è anche detto *convertitore analogico-digitale* poiché associa una risposta digitale (ON/OFF) ad uno stimolo analogico, si veda Fig. 1, pannelli *h*, *m* e Fig. 2 nel complesso.

Con poca ulteriore fatica si può analizzare il caso antiferromagnetico (i.e. $J < 0$), il quale ha come corrispettivo in Cinetica di Reazione il comportamento anticooperativo riportato in Fig. 1 (panelli *c*, *f*), ed in Elettronica la risposta di un flip-flop (panelli *n*, *i*). Qui accenniamo solo alla analogia comportamentale di questi sistemi (per i dettagli rimandiamo a [8]), che tuttavia appare manifesta anche "ad occhio": nella figura i punti sperimentali provengono da dati biochimici, mentre sono interpolati dalle auto-consistenze della Meccanica Statistica ed infine paragonati (due righe sotto) ai comportamenti dei loro corrispettivi elettronici.

-
- [1] C.E. Shannon, A Mathematical Theory of Communication, Bell System Technical Journal 27, 379-423 (1948). Amplifying genetic logic gates. *Science* 340, 599-603 (2013); N. Wiener, *Cybernetics; or control and communication in the animal and the machine*. Oxford, England: John Wiley, 1948.
- [2] R.S. Ellis, *Entropy, large deviations and Statistical Mechanics*, Springer Press, (2005); A. Barra, *The mean field Ising model through interpolating techniques*, J. Stat. Phys. 132(5):787-809, (2008); A. Barra, G. Genovese, F. Guerra, *Equilibrium statistical mechanics of bipartite spin systems*, J. Phys. A: Math. Theor. 44, 245002, (2011).
- [3] E.T. Jaynes, Information Theory and Statistical Mechanics, Phys. Rev. 106, 620 (1957) Bialek, S. S. W. Cooperativity, sensitivity and noise in biochemical signalling. Phys. Rev. Lett. 100, 258101 (2008).
- [4] J. Millman, A. Grabel, *Microelectronics*. (McGraw Hill, 1987).

- [5] J.T. Edsall, J. Wyman, *Biophysical Chemistry*. Academic Press, New York, 1958.
- [6] G. Seelig, D. Soloveichik, D. Zhang, E. Winfree, Enzyme-free nucleic acid logic circuits. *Science* **314**, 1585–1589 (2006); E. Katz, A. Poghossian, M.J. Schoning, Enzyme based logic gates and circuit, *Ann. Bioanal. Chem.* **409**, 81-94 (2017)
- [7] J. House, *Principles of chemical kinetics*. (Elsevier Press, 2007).
- [8] E. Agliari, A. Barra, R. Burioni, A. Di Biasio, G. Uguzzoni, *Collective behaviours: from biochemical kinetics to electronic circuits*, *Sci. Rep.* **3** : 3458 (2013); E. Agliari, M. Altavilla, A. Barra, L. Dello Schiavo, E. Katz, *Notes on stochastic (bio)-logic gates: computing with allosteric cooperativity*, *Sci. Rep.* **5** : 9415 (2015); E. Agliari, A. Barra, L. Dello Schiavo, A. Moro, *Complete integrability of information processing by biochemical reactions*, *Sci. Rep.* **6**:36314 (2016).
- [9] C.J. Thompson, *Mathematical Statistical Mechanics*. (Princeton University Press, 1972). T. Chay, C. Ho, Statistical mechanics applied to cooperative ligand binding to proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **70**, 3914–3918 (1973). J. Wyman, P. Phillipson, A probabilistic approach to cooperativity of ligand binding by a polyvalent molecule. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **71**, 3431–3434 (1974).
- [10] Vale la pena osservare che silicio e carbonio, i due elementi principali nel versante artificiale e biologico, rispettivamente, possiedono proprietà chimiche simili, prima di tutto la configurazione elettronica dello stato di valenza.
- [11] L'eq. 1 è un'equazione differenziale: il lettore completamente digiuno di Analisi Matematica può accontentarsi di capirne il concetto (mantenendone una lettura algebrica) interpretando l'intero simbolo che appare nel membro di sinistra come la quantità *variazione di concentrazione di P_0 nel tempo*.