

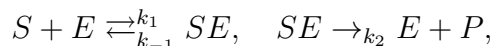


KMA/MM
Semestrální práce

Jakub Janoušek
A13N0005P
e-mail: jjanouse@students.zcu.cz

Model Michaelis - Mentenové pro biochemickou reakci

Biochemická reakce, při níž reaguje substrát S s enzymem E za vzniku komplexu SE , jenž se dále rozpadá na produkt P , byla popsána již v roce 1913 německým biochemikem Leonorem Michaelisem a kanadskou lékařkou a biochemičkou Maud Mentenovou. Většinu informací o jimi vytvořeném modelu jsem čerpal ze skript [1]. Tuto reakci lze schematicky zapsat



kde k_i jsou konstanty charakterizující rychlost reakce.

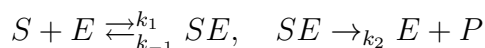
Poznamenejme, že toto schéma (i model z něj odvozený) lze aplikovat na poměrně široké spektrum problémů - kupříkladu můžeme popisovat

- výživu bakterií glukózou [1]
- očišťování plicních sklípků [2]
- odhady biodiverzity v dané oblasti [3]
- vstřebávání alkoholu v krvi [4]

K odvození diferenciálních vztahů popisujících systém Michaelis-Mentenové využijeme jeden z důležitých přírodních zákonů, tzv. Zákon akce hmoty (*Law of mass action*)

“Rychlost chemické reakce je přímo úměrná součinu koncentrací reaktantů.”

Zavedeme tedy funkce popisující závislost koncentrací látek účastnících se reakce na čase a pomocí zákona akce hmoty odvodíme matematický model. Pro připomenutí si znovu uvedme schéma reakce.



$$\begin{aligned}\frac{ds}{dt} &= -k_1se + k_{-1}c \\ \frac{de}{dt} &= -k_1es + (k_{-1} + k_2)c \\ \frac{dc}{dt} &= k_1es - (k_{-1} + k_2)c \\ \frac{dp}{dt} &= k_2c\end{aligned}$$

kde s, e, c, p jsou koncentrace substrátu, enzymu, komplexu a produktu.

Přímo z těchto rovností můžeme vypočítat několik vlastností modelu:

- koncentraci produktu vypočteme pouhou integrací (při znalosti koncentrace komplexu)
- $\frac{de}{dt} + \frac{dc}{dt} = 0$
- zákon zachování enzymu: $e(t) + c(t) = e_0$

- pro řešení počáteční úlohy je nutné volit počáteční podmínky přirozeně ($s(0) = s_0, e(0) = e_0, c(0) = p(0) = 0$), neboť na počátku reakce ještě nepředpokládáme existenci komplexu ani produktu

Enzym tedy do reakce pouze vstoupí, stane se součástí komplexu, ale po rozpadu komplexu se opět uvolní - je tedy katalyzátorem reakce. V praxi se jedná o velké molekuly (jednoduché, či složité bílkoviny). Důležité je, že enzymu stačí pro průběh reakce jen velmi malé množství - proto budeme volit e_0 velmi malé.

Model složený ze čtyř diferenciálních rovností tedy můžeme díky předchozímu pozorování redukovat na pouhé dvě (pro koncentraci substrátu a komplexu). Zavedením následující substituce získáme bezrozměrný tvar modelu, můžeme si všimnout, že nový zavedený čas τ je zrychleným časem proti původnímu t , neboť e_0 volíme malé (menší než 1).

- $\tau = k_1 e_0 t, u(\tau) = \frac{s(t)}{s_0}, v(\tau) = \frac{c(t)}{e_0}$
- $\lambda = \frac{k_2}{k_1 s_0}, K = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1 s_0}, \varepsilon = \frac{e_0}{s_0}$

Platí (podle pravidel derivování složené funkce):

$$\frac{ds}{dt} = s_0 \frac{du}{d\tau} \frac{d\tau}{dt} = s_0 k_1 e_0 \frac{du}{d\tau}$$

$$\frac{dc}{dt} = e_0 \frac{dv}{d\tau} \frac{d\tau}{dt} = e_0^2 k_1 \frac{dv}{d\tau}$$

Po dosazení do původních rovností a několika úpravách dostáváme:

$$\frac{du}{d\tau} = -u + (u + K - \lambda)v$$

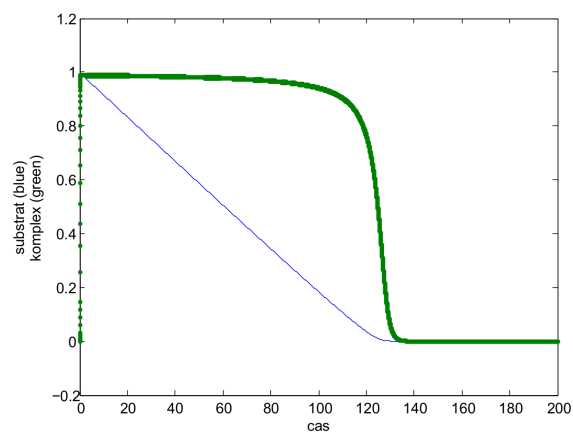
$$\varepsilon \frac{dv}{d\tau} = u - (u + K)v$$

a (numericky) řešíme úlohu s počátečními podmínkami $u(0) = 1, v(0) = 0$. Další parametry modelu volíme “rozumně”, počáteční koncentrace enzymu se předpokládá výrazně nižší než počáteční koncentrace substrátu (ta je v bezrozměrném tvaru vždy rovna 1).

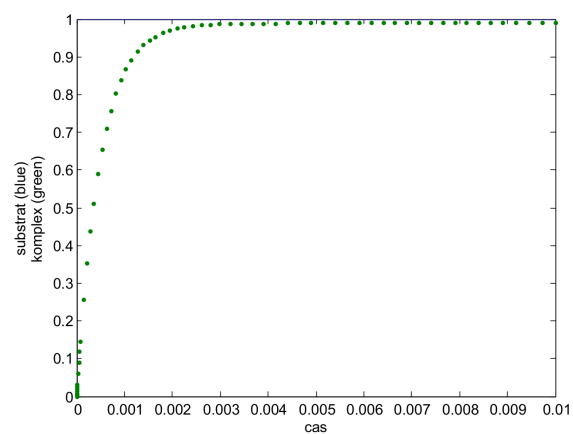
Poznámka: konstanty rychlosti reakce jsem volil poměrně nízké, neboť se nepředpokládá, že by reakce měla probíhat bouřlivě. Vstupními parametry modelu v MATLABu a v Mathematice byly původní parametry modelu k_i, s_0, e_0 , které byly následně přepočteny podle substitucí uvedených výše. Nebude-li uvedeno jinak, platí tyto hodnoty:

- $k_1 = 3, k_{-1} = 2, k_2 = 5, s_0 = 200, e_0 = 0.1$

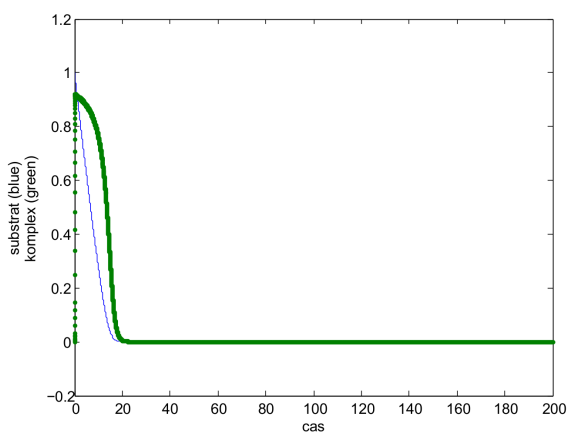
Cílem následujících obrázků je ukázat chování modelu reakce při různých situacích (tedy co se stane, pokud některá z dílčích reakcí probíhá výrazně rychleji než ostatní). Začneme jakýmsi referenčním “normálním stavem”.



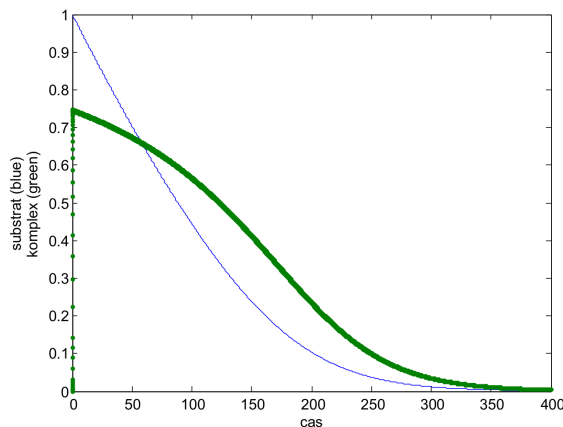
Obrázek 1: Koncentrace substrátu a komplexu v závislosti na čase τ (MATLAB)



Obrázek 2: Chování modelu v okolí počátku (MATLAB)



Obrázek 3: Chování modelu při vysoké rychlosti tvorby produktu ($k_2 = 50$) (MATLAB)



Obrázek 4: Chování modelu při vysoké rychlosti zpětného rozkladu komplexu ($k_{-1} = 200$) (MATLAB)

Pseudostacionární stav komplexu

Pozorováním chování modelu lze přijít s hypotézou Michaelis-Mentenové: kromě krátkého období kolem počátku reakce platí (nezapomínejme na fakt, že náš bezrozměrný model uvažuje zrychlený čas τ):

$$\frac{dc}{dt} = \varepsilon^2 \frac{dv}{d\tau} \approx 0$$

Získáme tak soustavu

$$\begin{aligned} \frac{du}{d\tau} &= -u + (u + K - \lambda)v \\ 0 &= u - (u + K)v \end{aligned}$$

Můžeme vyjádřit v pomocí u

$$v = \frac{u}{u + K}$$

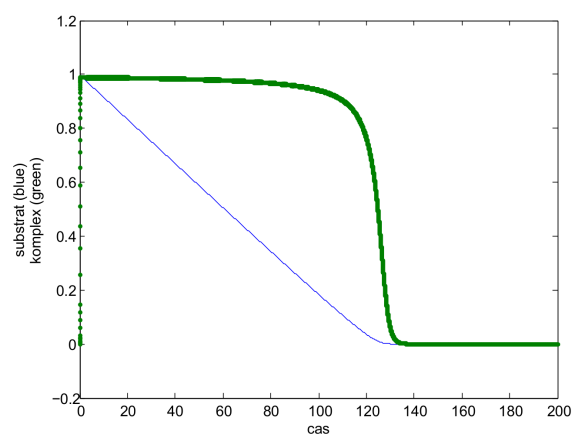
Po dosazení do první rovnice získáváme:

$$\frac{du}{d\tau} = -\lambda \frac{u}{u + K}.$$

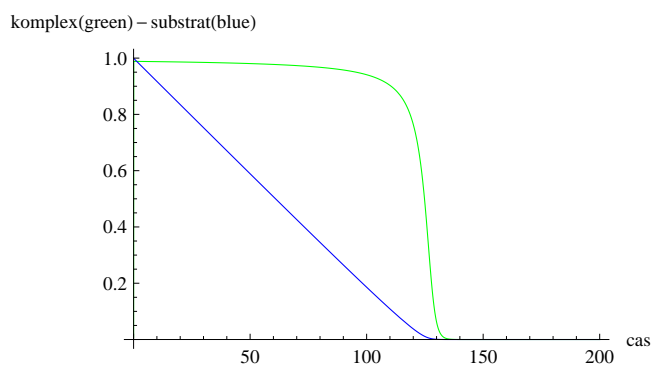
Separací proměnných, integrací a užitím počáteční podmínky $u(0) = 1$ (druhá počáteční podmínka nelze zadat, máme už jen jednu diferenciální rovnici) dostáváme (tzv. vnější řešení (v implicitním tvaru)

$$u + K \ln u = 1 - \lambda\tau.$$

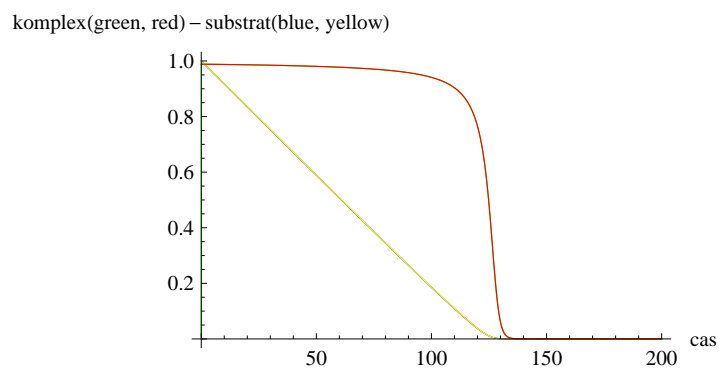
Tuto rovnici můžeme vyřešit buď numericky, nebo symbolicky a v vyjádříme pomocí u . Lze předpokládat, že toto řešení nebude dostatečně přesně popisovat chování reakce v okolí počátku, neboť tam hypotéza Michaelis-Mentenové neplatí. To se po vykreslení řešení v Mathematice potvrzuje. První dva obrázky jen pro ilustraci porovnávají numerické řešení původní soustavy dvou diferenciálních rovnic v MATLABu a v Mathematice (jde o jakési ověření konzistence dvou výpočetních prostředí).



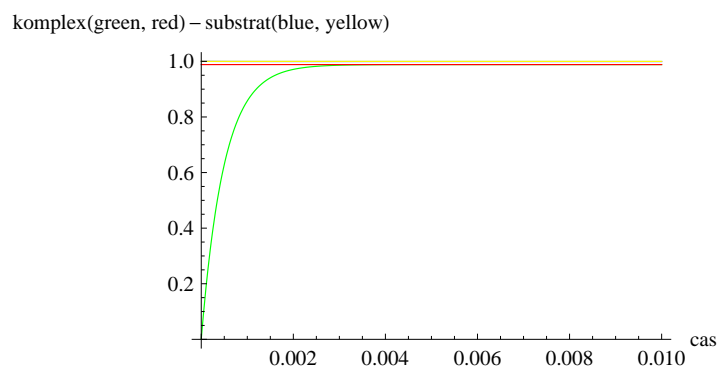
Obrázek 5: Koncentrace substrátu a komplexu v závislosti na čase τ (MATLAB)



Obrázek 6: Koncentrace substrátu a komplexu v závislosti na čase τ (Mathematica, NDSolve)



Obrázek 7: Porovnání chování vnějšího (nesingulárního) a "přesného" numerického řešení



Obrázek 8: Nevyhovující chování vnějšího řešení (červeně) v okolí počátku (rozhodně pro komplex neplatí, že $v(0) = 1$!)

Singulární řešení

Pro vyšetření chování systému blízko počátku (v oblasti tzv. hraniční vrstvy, která v reálu probíhá velmi rychle) zavedeme ‘zpomalený čas’:

$$\sigma = \frac{\tau}{\varepsilon}$$

Po úpravách (zavedení nových funkcí pro koncentrace substrátu $U(\sigma)$, komplexu $V(\sigma)$ a dalším použitím pravidla pro derivování složené funkce (viz výše)) získáme soustavu

$$\begin{aligned} \frac{dU}{d\sigma} &= \varepsilon(-U + (U + K - \lambda)V) \\ \frac{dV}{d\sigma} &= U - (U + K)V, \end{aligned}$$

v níž položíme $\varepsilon = 0$ - tedy $\frac{dU}{d\sigma} = 0$.

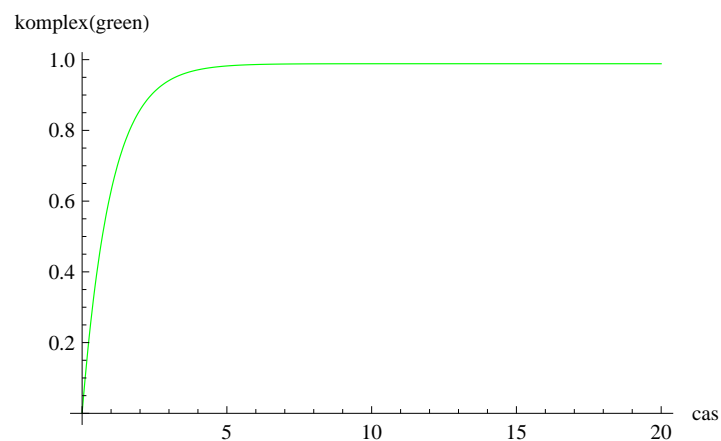
Vzhledem k počáteční podmínce $U(0) = 1$ platí $\forall \sigma > 0 : U(\sigma) = 1$:

$$\frac{dV}{d\sigma} = 1 - (1 + K)V$$

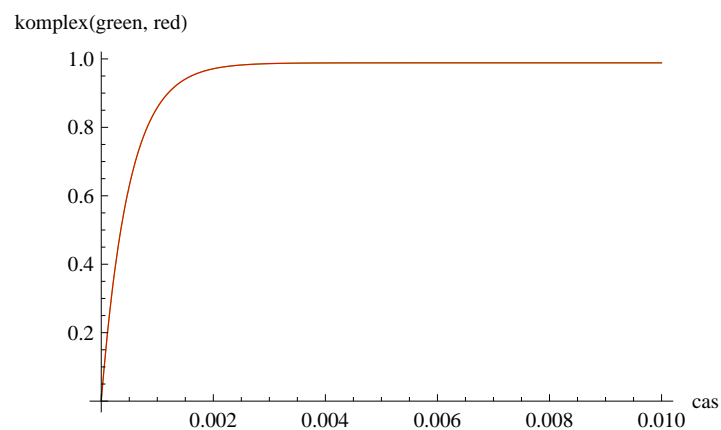
Separací proměnných a integrací získáme řešení

$$V(\sigma) = \frac{1}{1 + K}(1 - e^{-(1+K)\sigma}).$$

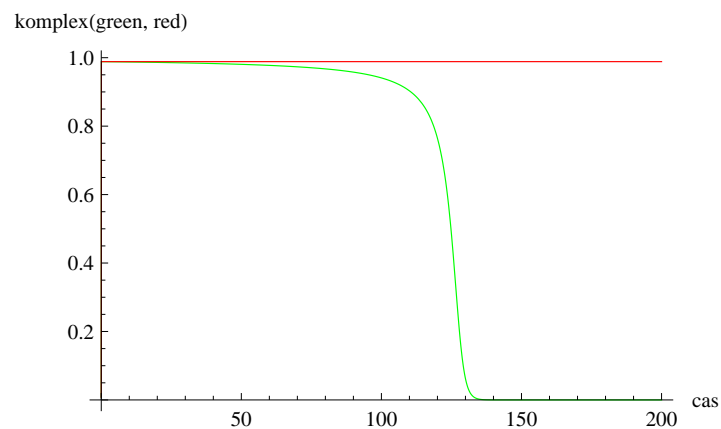
Toto řešení nemůže uspokojivě aproximovat skutečné řešení v oblasti mimo hraniční vrstvu (už jen proto, že předpokládáme $\forall \sigma > 0 : U(\sigma) = 1$), ale ukazuje se, že velmi přesně aproximuje skutečné řešení uvnitř oblasti hraniční vrstvy, viz obrázky.



Obrázek 9: Tvar singulárního řešení (křivka růstu koncentrace komplexu) napovídá, že půjde o dobrou aproximaci v okolí počátku



Obrázek 10: Porovnání chování singulárního a "přesného" numerického řešení uvnitř hraniční vrstvy



Obrázek 11: Porovnání chování singulárního (červeně) a "přesného" numerického řešení celkově, mimo hraniční vrstvu aproximace koncentrace komplexu zřetelně selhává

Závěr

Cílem práce bylo ověřit a na obrázcích ukázat poznatky a hypotézy týkající se velmi zajímavého matematického modelu biochemické reakce (Leonor Michaelis - Maud Menten). Numerické řešení počáteční úlohy soustavy dvou diferenciálních rovnic ukázalo odlišné chování modelu uvnitř a vně tzv. hraniční vrstvy reakce. Zároveň poskytlo důvody pro uvažování tzv. hypotézy pseudostacionárního stavu komplexu. Ta je základem pro odvození aproximace skutečného řešení, která ovšem funguje pouze mimo onu kritickou hraniční vrstvu reakce. Zavedením nového, pomalejšího času lze ovšem odvodit vnitřní (singulární) řešení, které je velmi dobrou aproximací skutečného řešení uvnitř hraniční vrstvy, což bylo ověřeno v softwarových výpočetních nástrojích a ukázáno obrázkem.

Reference

- [1] KUČERA, M. *Diferenciální rovnice v biologii*.
- [2] YU, R. C. - RAPPAPORT, S. M. *A lung retention model based on Michaelis-Menten-like kinetics*. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1469867/>
- [3] KEATING, K. A. *Estimating species richness: the Michaelis-Menten model revisited*. Dostupné z: <http://www.jstor.org/discover/10.2307/3547060?uid=3739192&uid=2&uid=4&sid=21103379892117>
- [4] JONES, A. W. *Evidence-based survey of the elimination rates of ethanol from blood with applications in forensic casework*. Dostupné z: <http://www.fsijournal.org/article/S0379-0738>