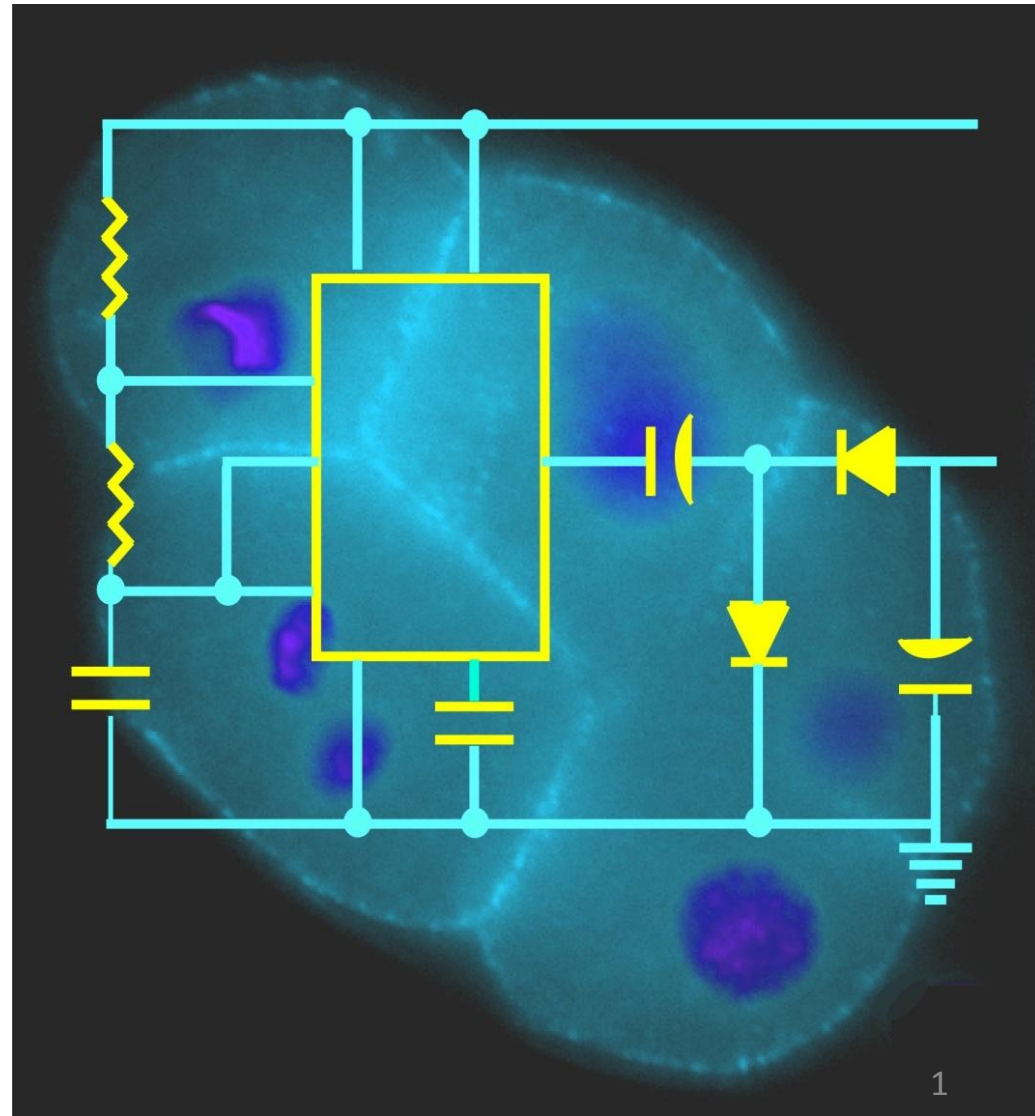


Введение в системную биологию

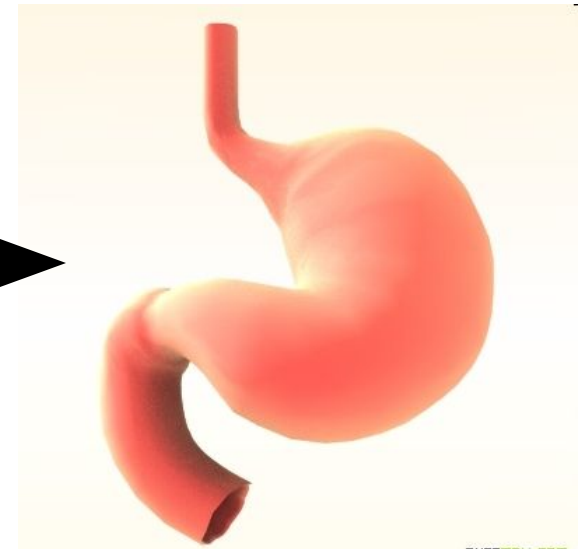
Лекция 7: Примеры базовых моделей

- Ферментативная кинетика Михаэлиса-Ментен
- Уравнение Моно
- Исследование моделей на устойчивость



Сила катализа

Увеличивает скорость реакции до 10^{14} раз



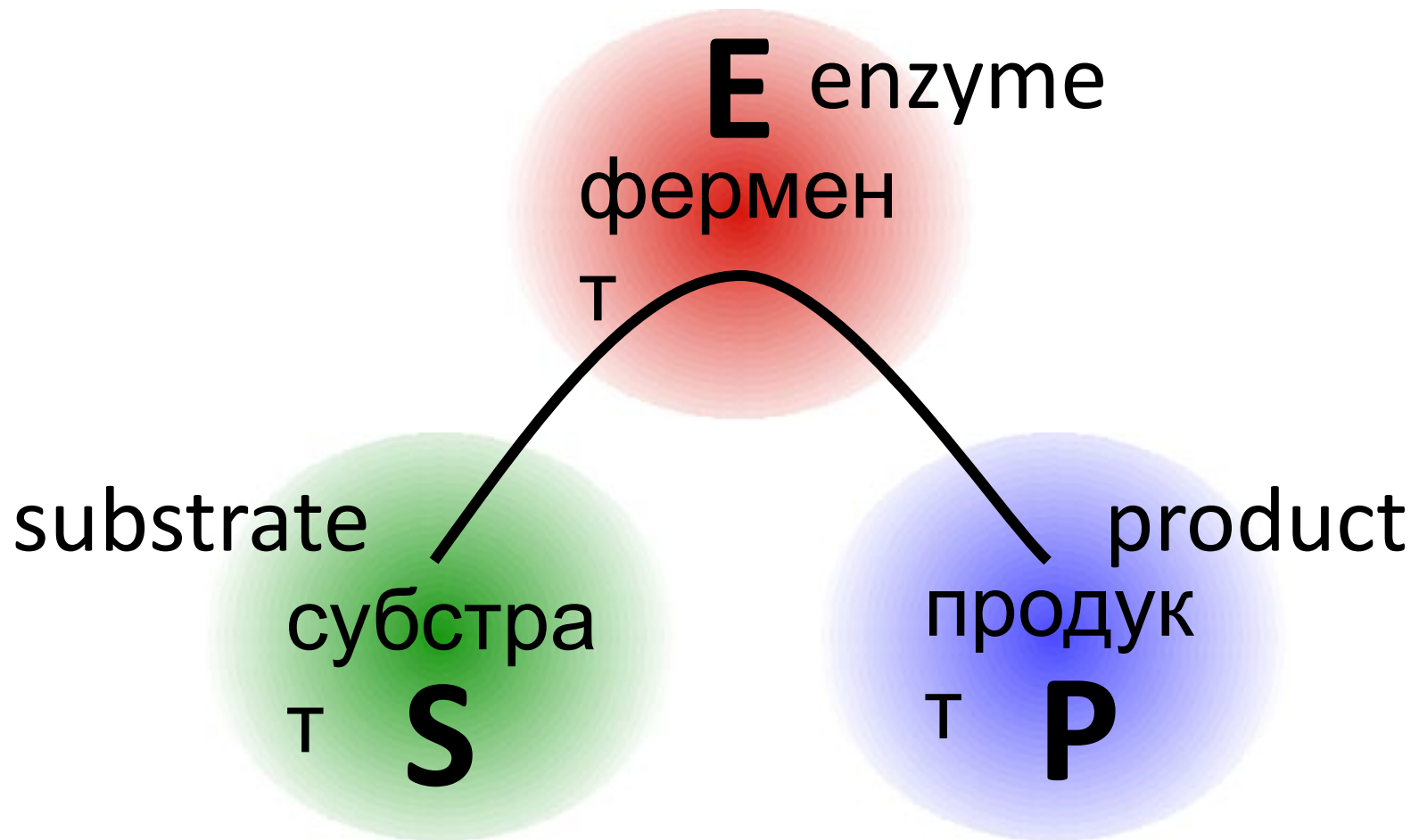
PYCOMALL.COM

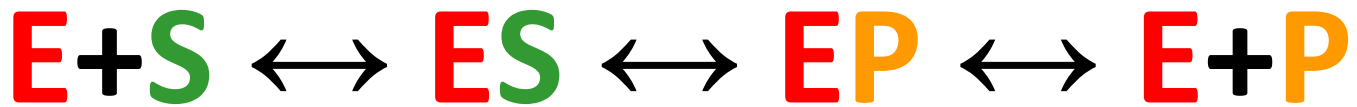
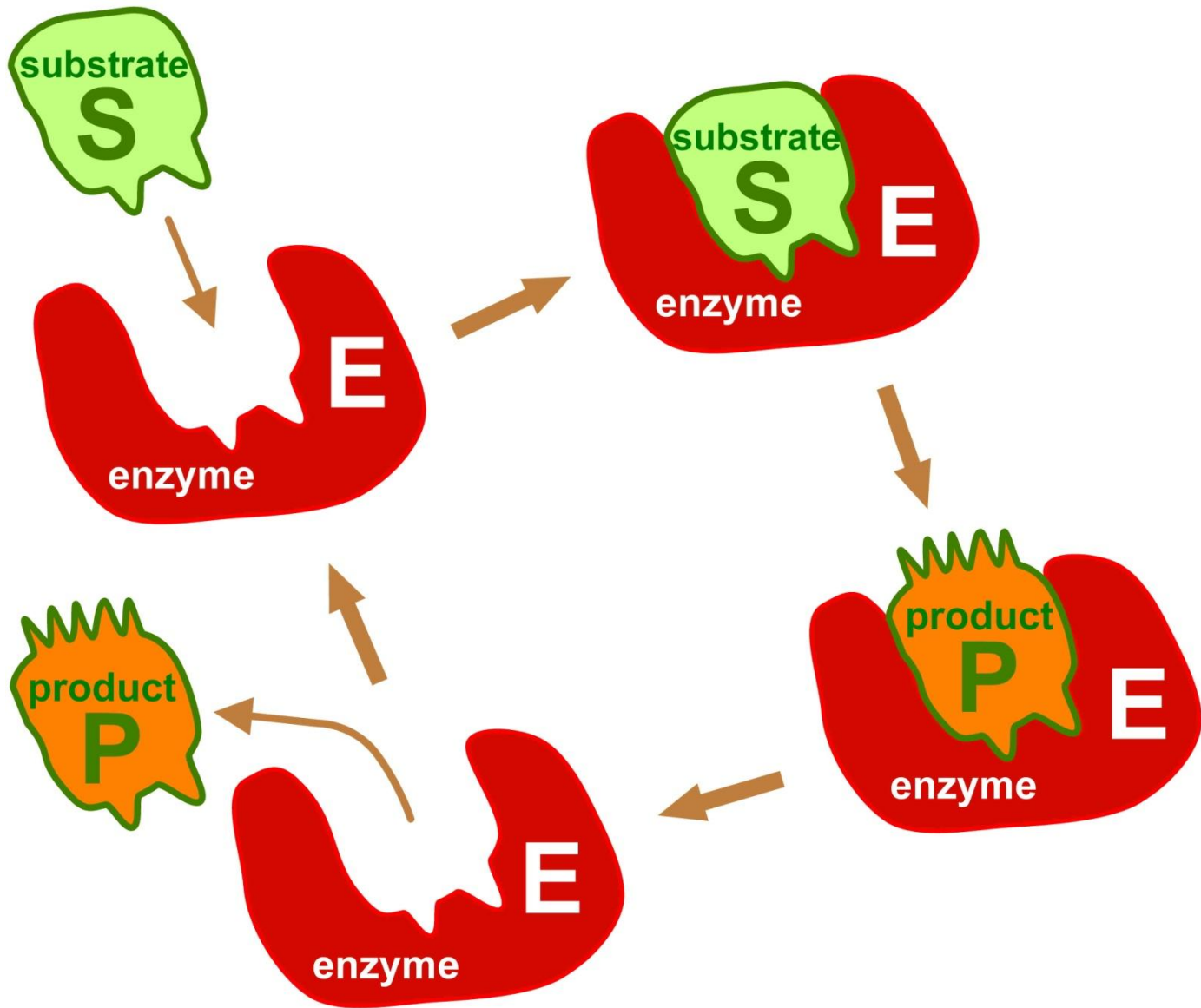
$=\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{G}$ (энергия)

> 100.000 лет, если без ферментов

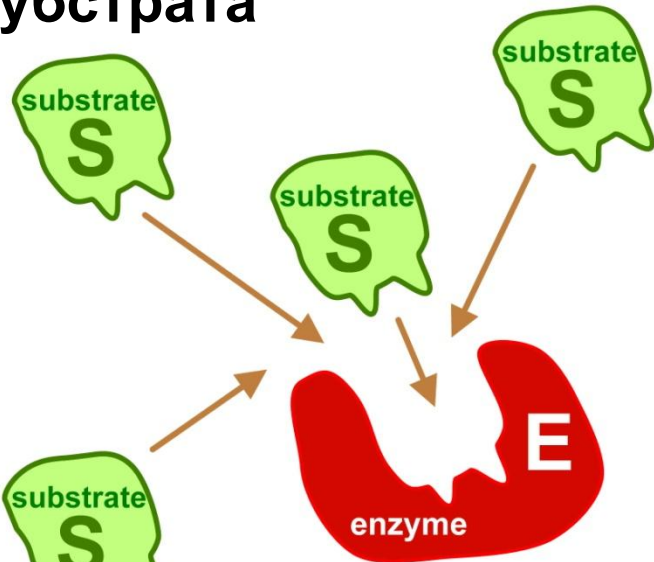
Несколько часов, если с участием ферментов

Моделирование ферментативной кинетики

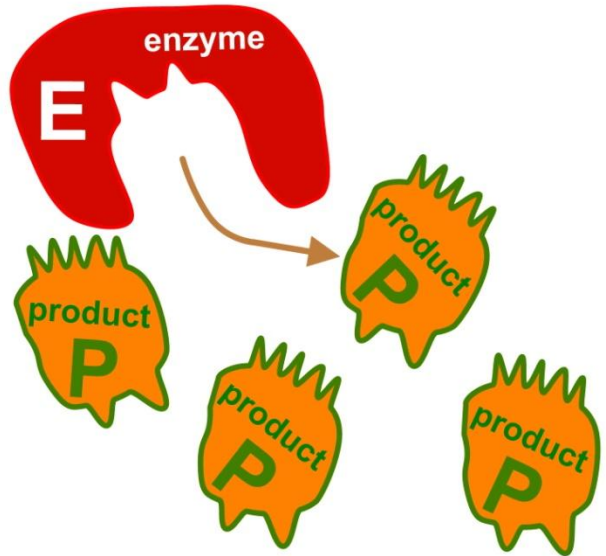




Скорость реакции зависит от концентрации (активности) субстрата

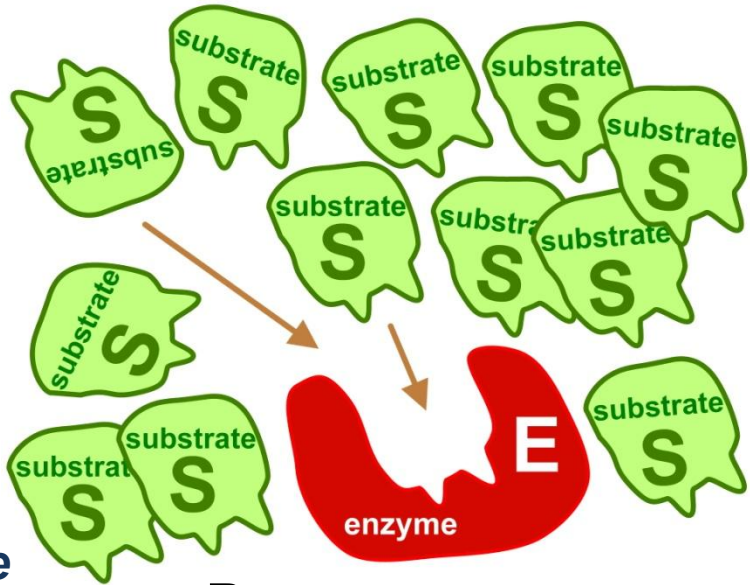


Низкая скорость:



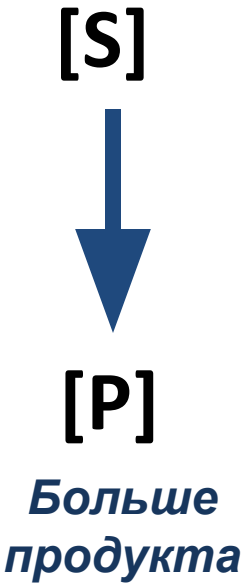
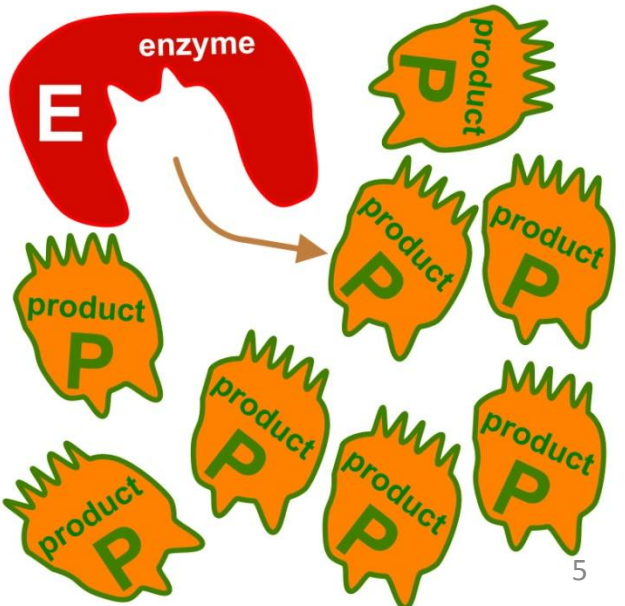
Больше субстрата – быстрее связывание

При более высоких концентрациях субстрат связывается с активным центром быстрее. Что отражается в ускорении реакции.



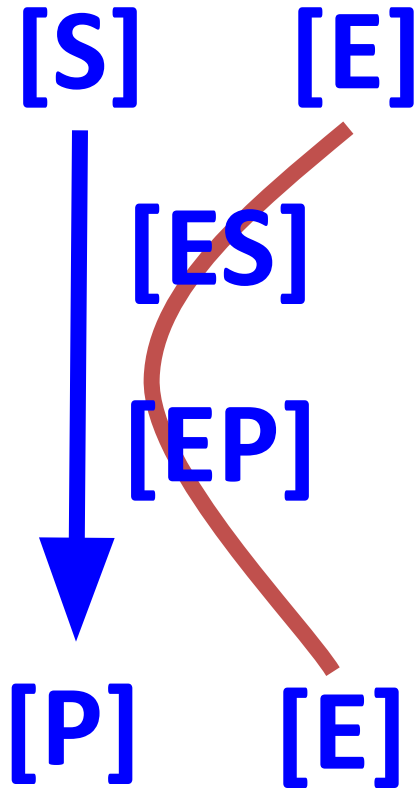
Больше субстрата

Высокая скорость:

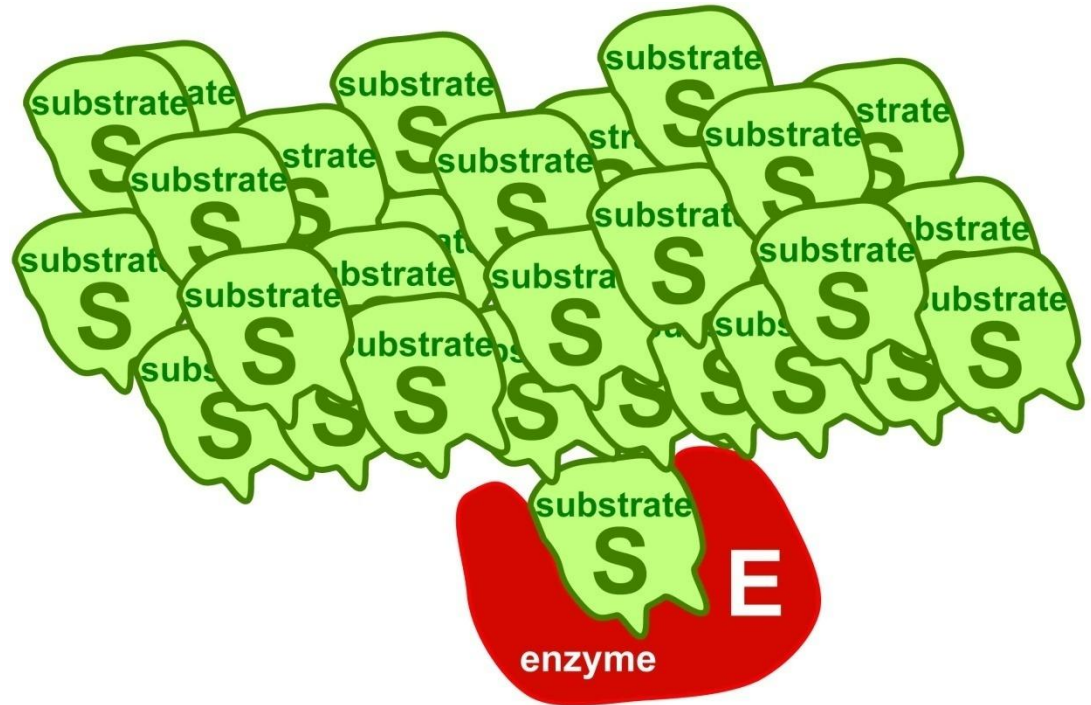


Насыщение происходит при какой-то высокой концентрации субстрата [S], когда дальнейшее повышение его уровня уже не приводит к увеличению скорости реакции, т.е. росту концентрации продукта [P]

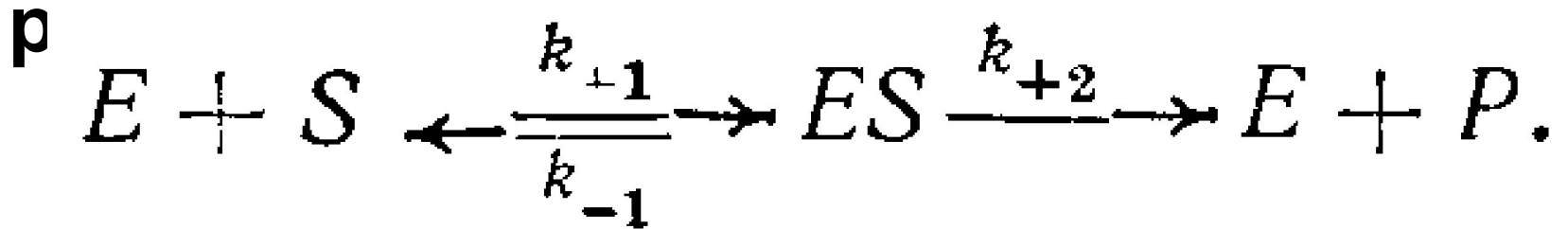
больше
субстрата



скорость
та же

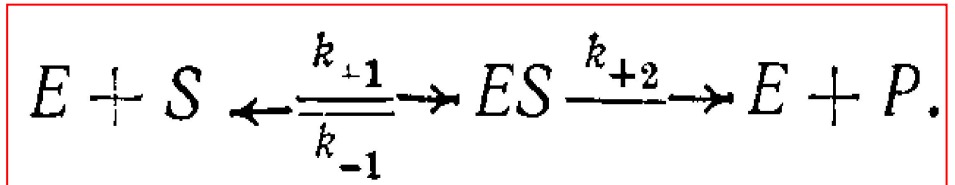


Наиболее простая ферментативная



- E – фермент
- S – субстрат
- P – продукт
- ES – фермент-субстратный комплекс
- k_{+1} - константа образования комплекса
- k_{-1} - константа распада комплекса обратно на фермент и субстрат
- k_{+2} – константа распада комплекса на продукт и фермент

Система дифференциальных уравнений, отвечающая схеме реакции



$$\frac{d[S]}{dt} = -k_{+1}[S][E] + k_{-1}[ES],$$

$$\frac{d[E]}{dt} = -k_{+1}[S][E] + k_{-1}[ES] + k_{+2}[ES],$$

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_{+1}[S][E] - k_{-1}[ES] - k_{+2}[ES],$$

$$\frac{d[P]}{dt} = k_{+2}[ES].$$

Сложив второе и третье уравнения системы получим

$$\frac{d}{dt} ([E] + [ES]) = 0$$

или

$$[E] + [ES] = E_0 = \text{const},$$

То есть общее количество фермента в замкнутой системе неизменно, также как и сумма масс субстрата и продукта:

$$[S] + [P] = \text{const}$$

Уравнение для скорости изменения фермент-субстратного комплекса, с использованием условия сохранения числа молекул фермента

Исходя из третьего уравнения системы

$$\begin{aligned}\frac{d[ES]}{dt} &= k_{+1}[S][E] - k_{-1}[ES] - k_{+2}[ES] = \\ &k_{+1}[S]([E_0] - [ES]) - k_{-1}[ES] - k_{+2}[ES] = \\ &k_{+1}[E_0][S] - [ES](k_{-1} + k_{+2} - k_{+1}[S]) = 0\end{aligned}$$

Концентрация комплекса постоянна во времени – это основное предположение

Из последнего равенства получим

$$[ES] = \frac{k_{+1}[E_0][S]}{k_{-1} + k_{+2} + k_{+1}[S]} \quad \text{перепишем}$$

$$[ES] = \frac{[E_0][S]}{K_m + [S]} \quad \text{где} \quad K_m = \frac{k_{-1} + k_{+2}}{k_{+1}}$$

Величина, K_m называемая *константой Михаэлиса*, по физическому смыслу и численному значению представляет собой концентрацию субстрата, при которой половина молекул фермента состоит в комплексе с субстратом

Из первого уравнения системы можно найти скорости убыли субстрата

$$\frac{d[S]}{dt} = -k_{+1}[S][E] + k_{-1}[ES]$$

Когда концентрация фермент-субстратного комплекса не меняется во времени:

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_{+1}[S][E] - k_{-1}[ES] - k_{+2}[ES] = 0$$

откуда $-k_{+1}[S][E] + k_{-1}[ES] = -k_{+2}[ES]$

После подстановки ES

$$\frac{d[S]}{dt} = -k_{+2}[ES] = -\frac{k_{+2}[E_0][S]}{K_m + [S]}$$

Из четвертого уравнения системы можно найти скорость образования продукта

$$\frac{d[P]}{dt} = k_{+2}[ES]$$

Когда концентрация фермент-субстратного комплекса остается постоянной,

$$[ES] = \frac{[E_0][S]}{K_m + [S]}$$

Подставляем и получим

$$\frac{d[P]}{dt} = k_{+2}[ES] = \frac{k_{+2}[E_0][S]}{K_m + [S]}$$

Это и есть основное уравнение ферментативной кинетики. Оно носит название уравнения Михаэлиса — Ментен

Что дает уравнение Михаэлиса-Ментен

Скорость простейшей ферментативной реакции линейно зависит от начальной концентрации фермента

Когда концентрация субстрата невысока

$$S < K_m$$

$$\frac{d[P]}{dt} = v = \frac{k_{+2}[E_0][S]}{K_m + [S]} \approx \frac{k_{+2}[E_0][S]}{K_m}$$

Скорость образования продукта линейно возрастает с S

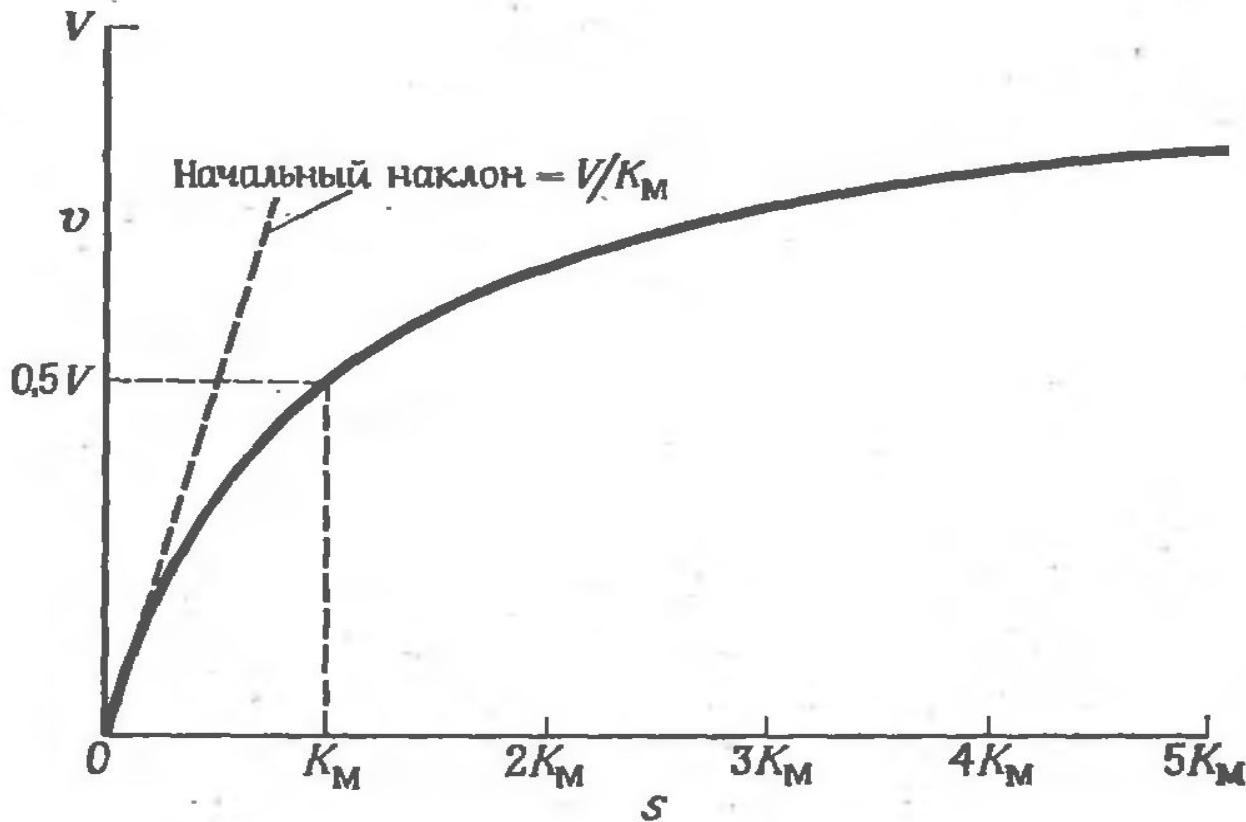
Концентрация субстрата велика, $S \gg K_m$

Стационарная скорость ферментативной реакции как функция концентрации субстрата обладает свойством насыщения

$$\frac{d[P]}{dt} = \frac{k_{+2}[E_0][S]}{K_m + [S]} \quad V = k_{+2}[E_0],$$

Эта величина V носит название **максимальной скорости** ферментативной реакции

График зависимости скорости реакции (образования продукта) от концентрации субстрата



Для практических целей – определения параметров V_{\max} и K_m этот график неудобен

Скорость v очень медленно приближается к V_{\max} , трудно определить это значение и, соответственно, K_m

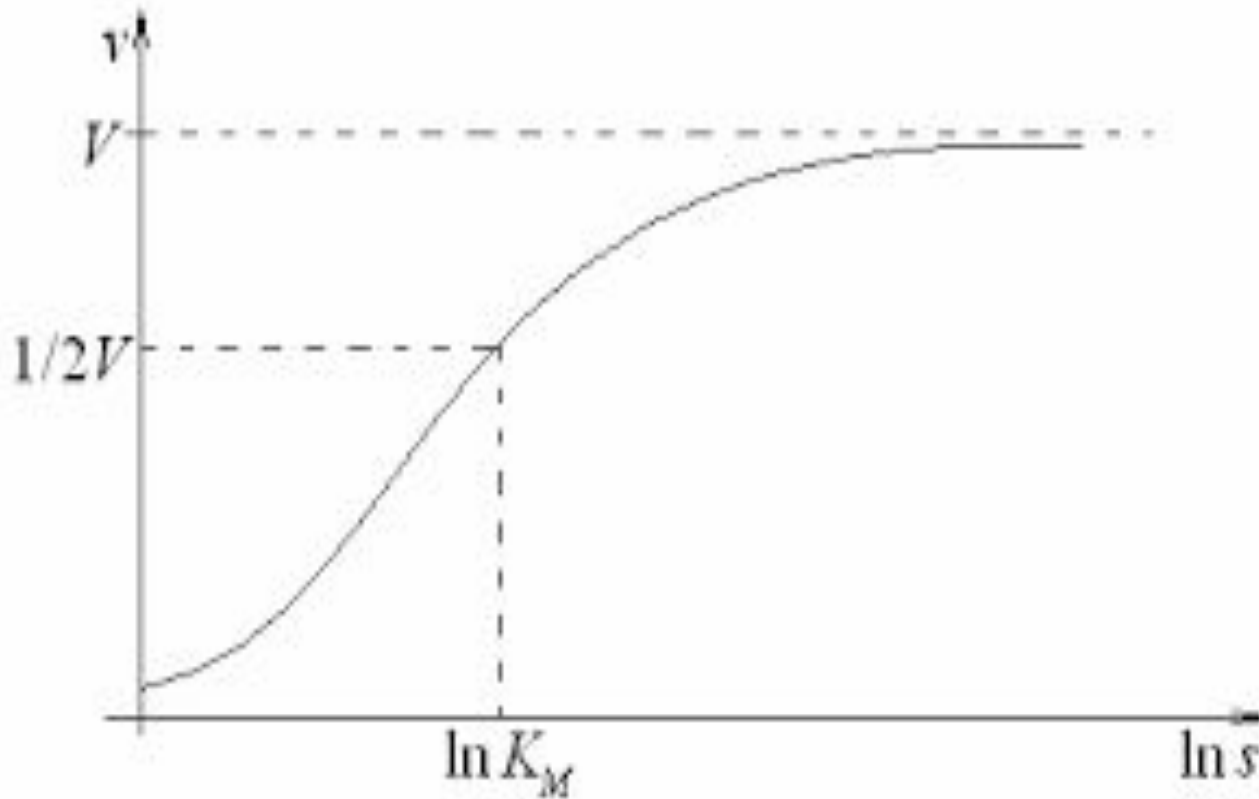
Концентрация субстрата велика, $S \gg K_m$

Стационарная скорость ферментативной реакции как функция концентрации субстрата обладает свойством насыщения

$$V = k_{+2} [E_0],$$

Эта величина V носит название **максимальной скорости** ферментативной реакции

График в координатах (v ; $\ln s$).



Варианты линеаризации зависимости скорости реакции от концентрации субстрата

$$v = \frac{k_{+2}[E_0][S]}{K_m + [S]}$$

или

$$v = \frac{V_s}{K_m + s}$$

Метод Лайнуивера-Берка

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V} + \frac{K_m}{V} \frac{1}{s}$$

Метод Хайнса-Вульфа

$$\frac{s}{v} = \frac{K_m}{V} + \frac{s}{V}$$

Метод Иди-Хофсти.

$$v = V_{max} - K_m \frac{v}{s}$$

Метод Эйзенталя и
Корниш-Бодена.

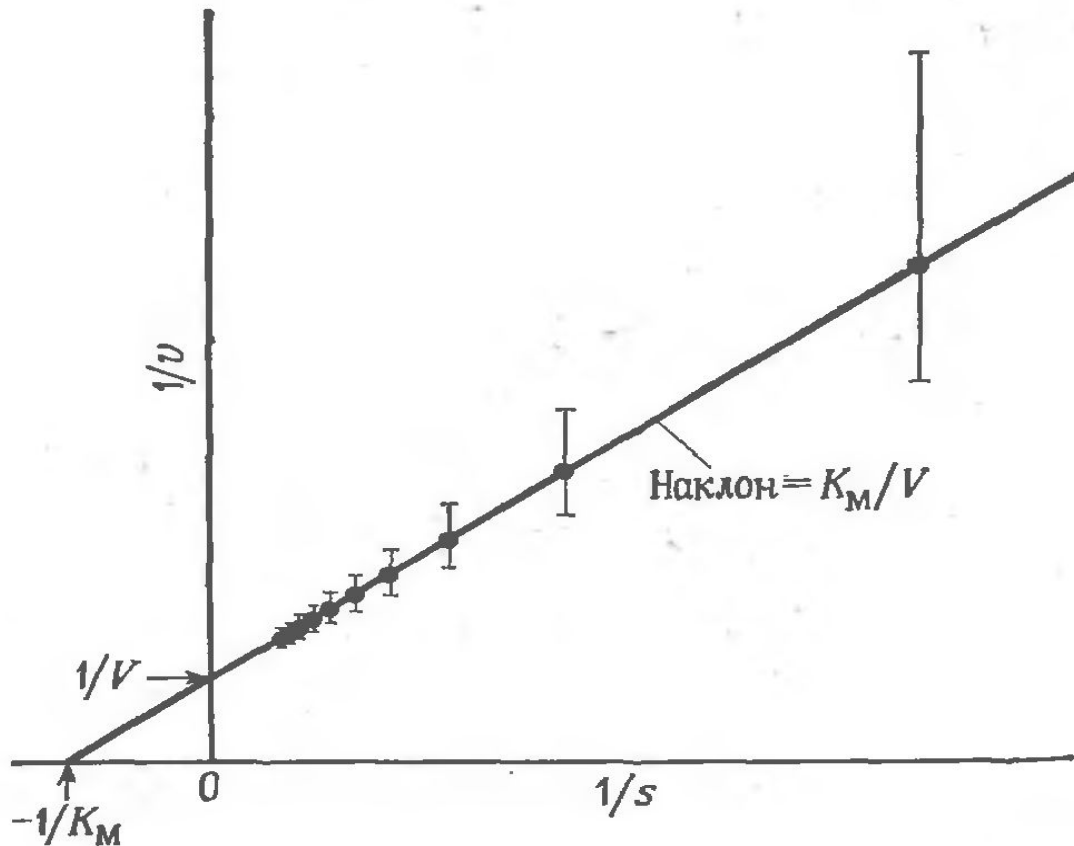
$$V_{max} = v + \frac{v}{s} K_m$$

Метод Лайнуивера-Берка

$$v = \frac{V s}{K_m + s}$$

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m + s}{V s}$$

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V} + \frac{K_m}{V} \frac{1}{s}$$

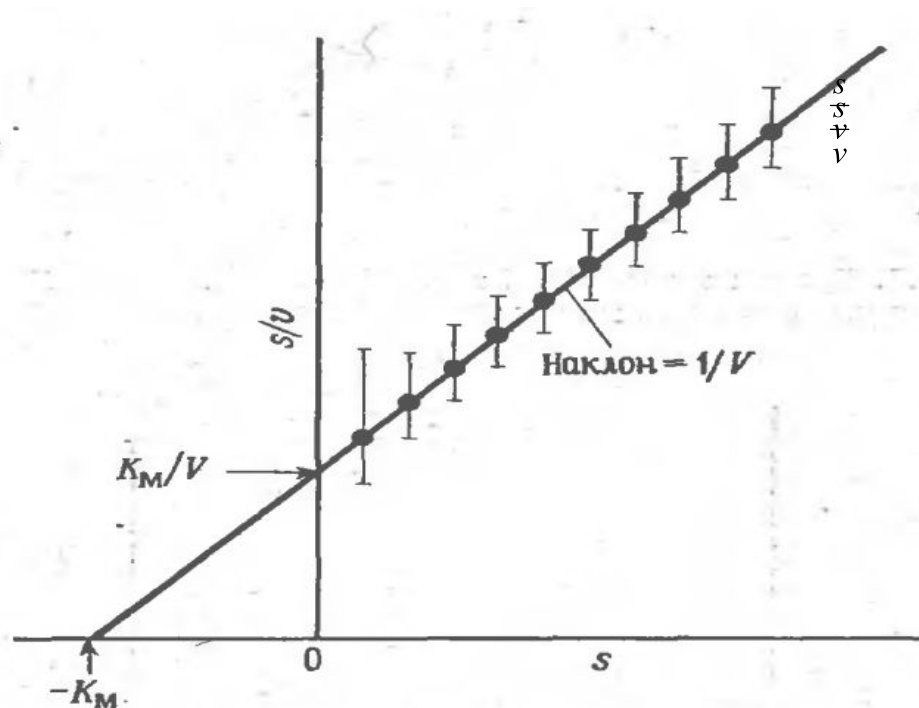


Недостаток –
наклон прямой
определяется в
области малых
значений
переменных,
что значительно
снижает
точность
определения
параметров.

Метод Хайнса-Вульфа

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V} + \frac{K_m}{V} \frac{1}{s}$$

$$\frac{s}{v} = \frac{K_m}{V} + \frac{s}{V}$$

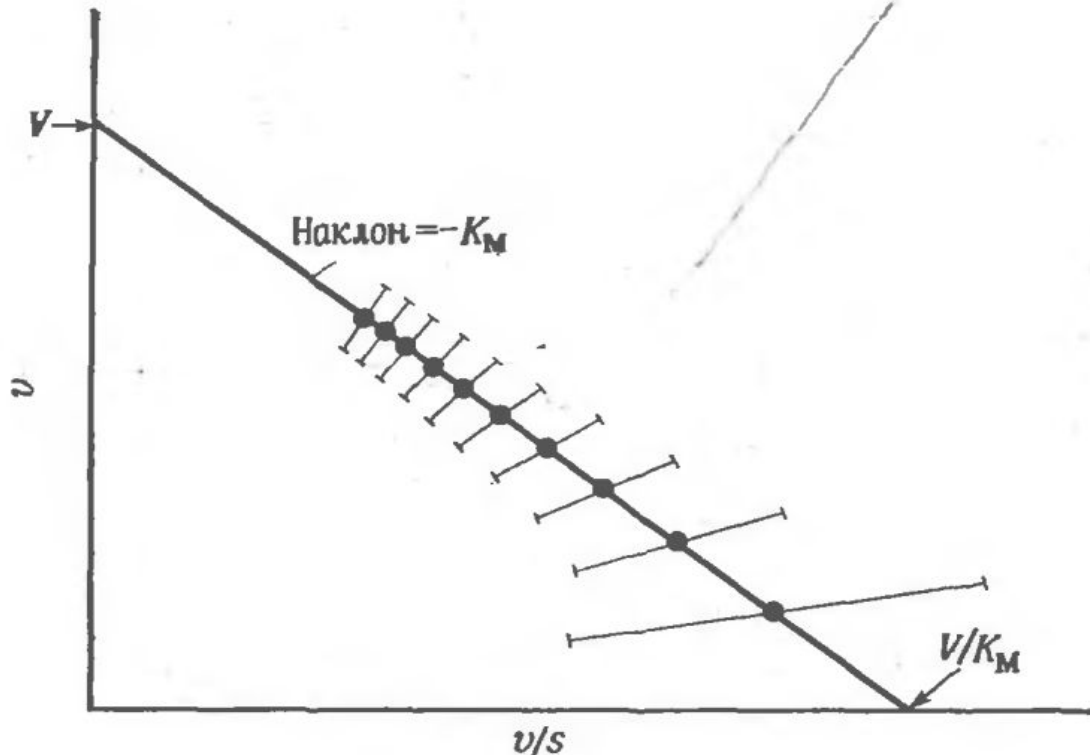


Недостаток – определение параметров в области малых значений s , что сильно снижает точности их определения.

Метод Иди-Хофсти

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m + s}{V_{max}} \quad V_{max}s = v(K_m + s)$$

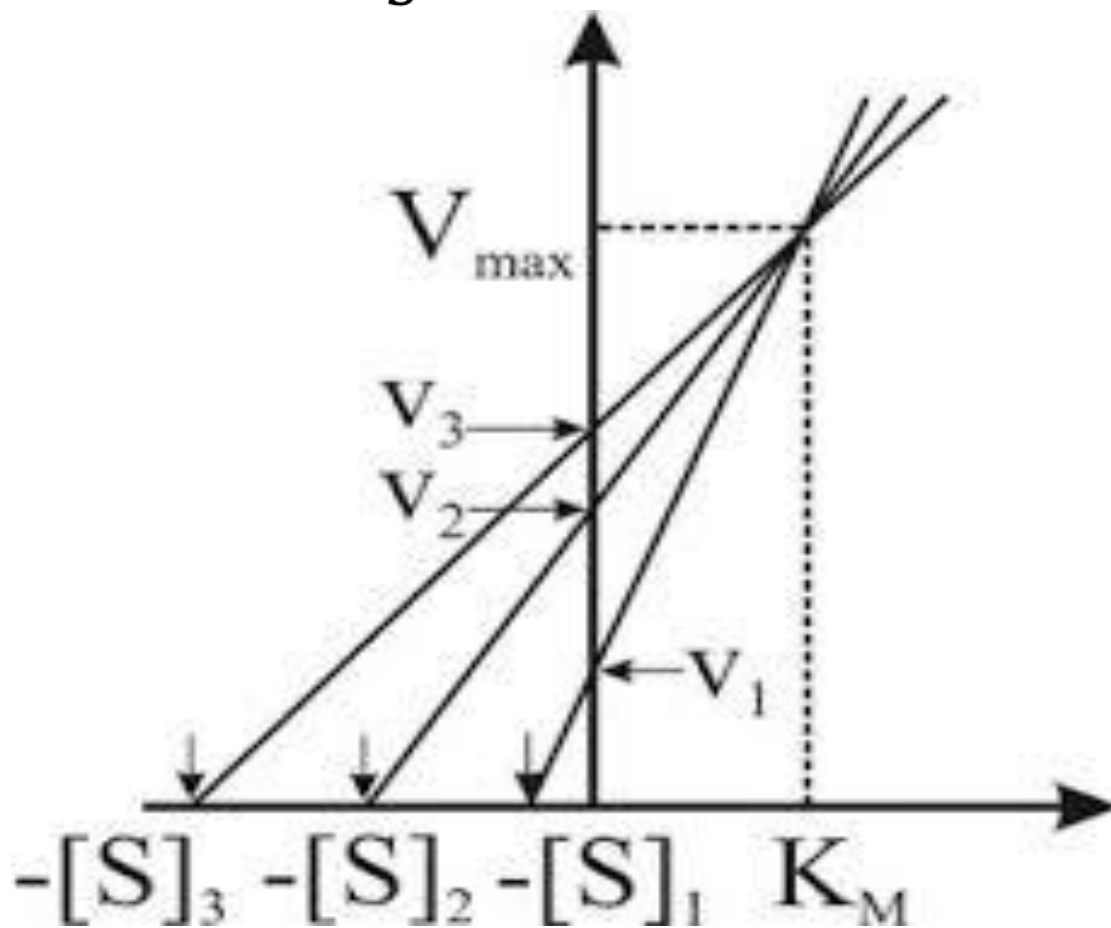
$$v = V_{max} - K_m \frac{v}{s}$$



Недостаток –
зависимая
переменная v
входит в обе
координаты и это
сильно снижает
точность
определения K_m и V

Варианты линеаризации зависимости скорости реакции от концентрации субстрата

$$V = v + \frac{v}{S} K_m \quad \text{Эйзенталя и Корниш-Боудена}$$



Строятся прямые по парным значениям s и v на осях. Точка их пересечения дает значения параметров. Наиболее подходящий для определения параметров способ.

Ингибирование

- Необратимое
- Обратимое:
 - конкурентное
 - неконкурентное
 - бесконкурентное
 - смешанное

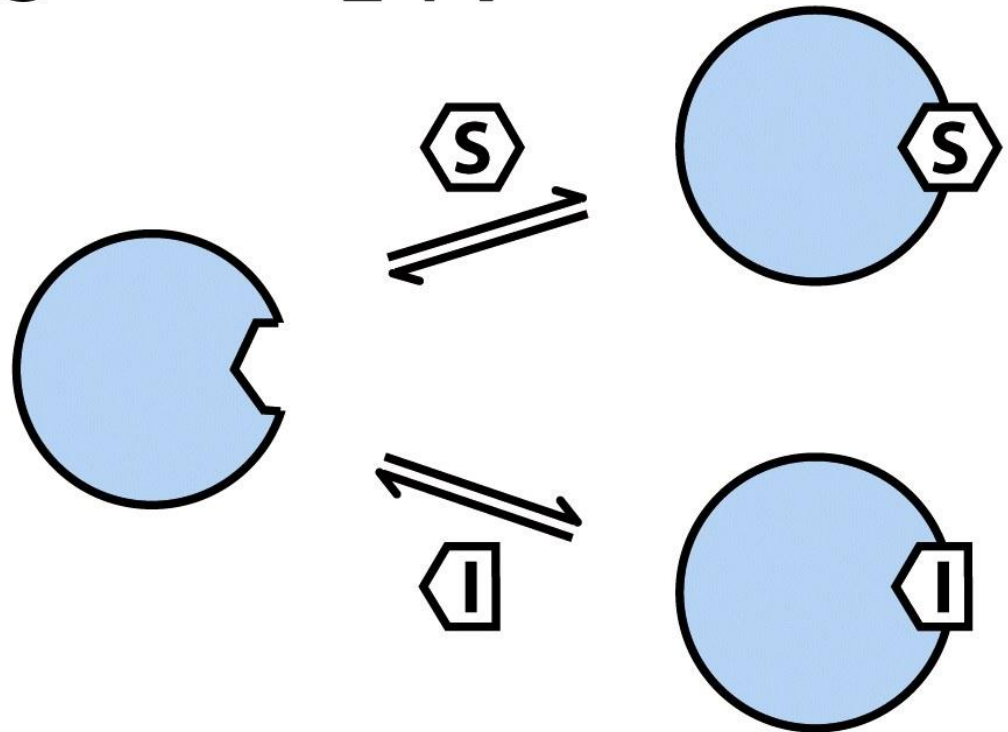
Конкурентное ингибирование



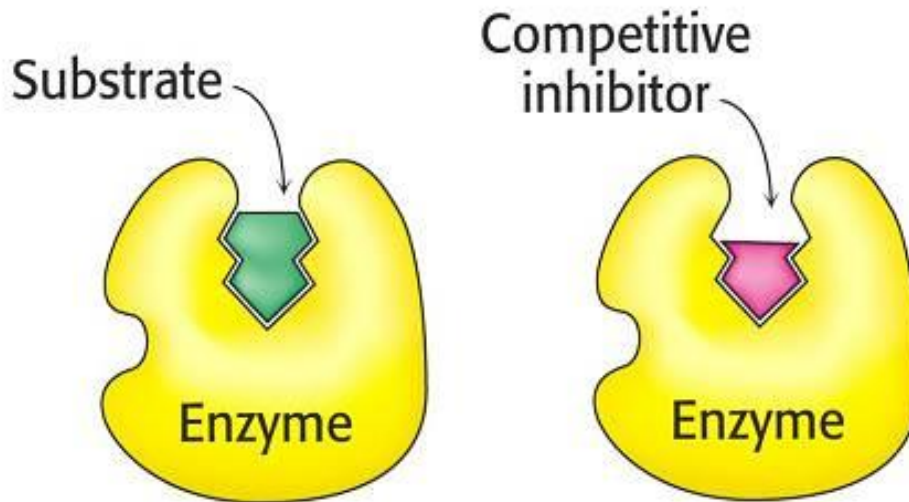
+
I



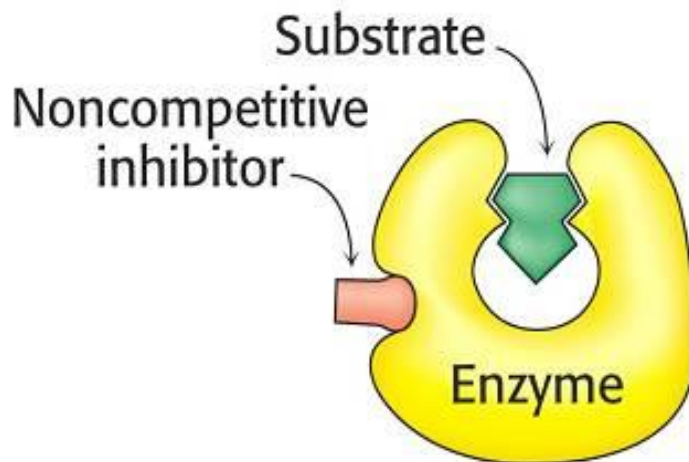
EI



Сравнение конкурентного и неконкурентного ингибитора

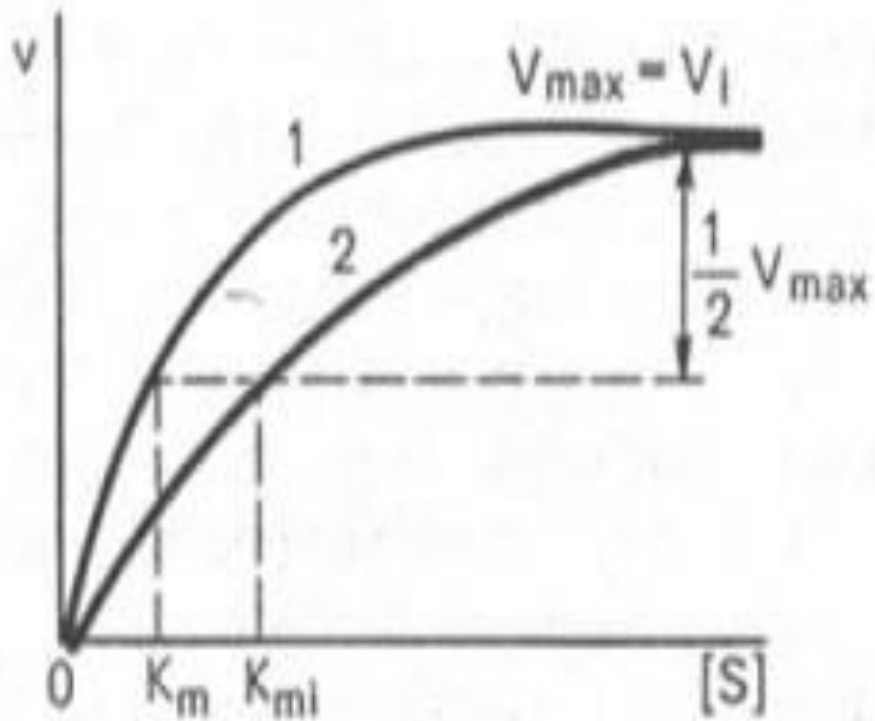


конкурентный



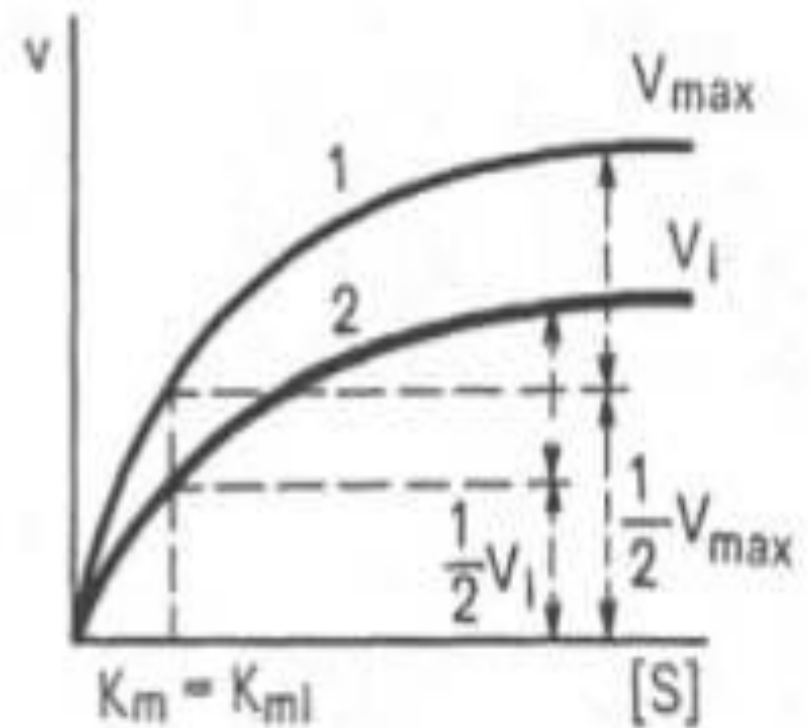
неконкурентный

Конкурентное ингибирование



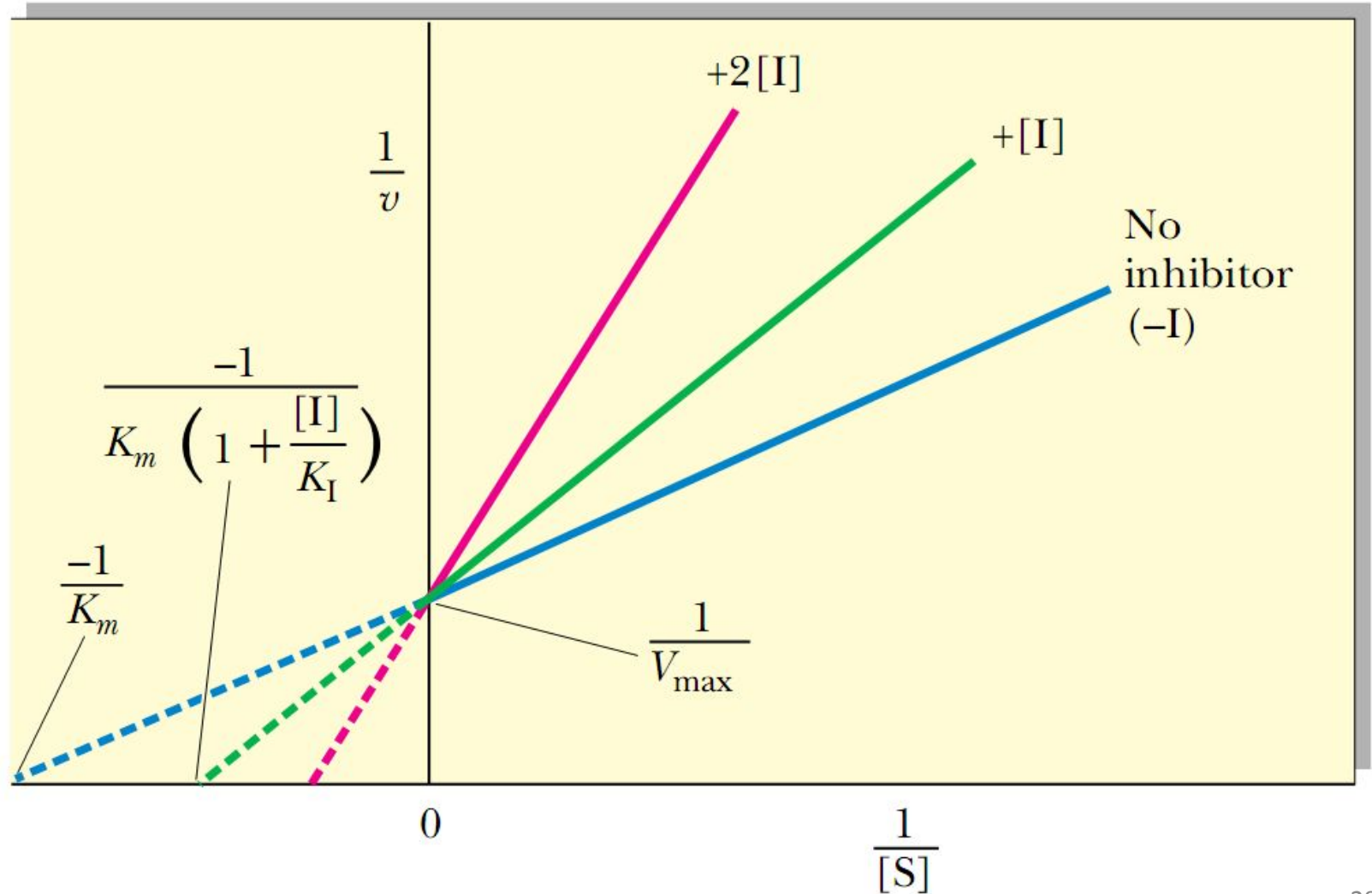
a

Неконкурентное ингибирование

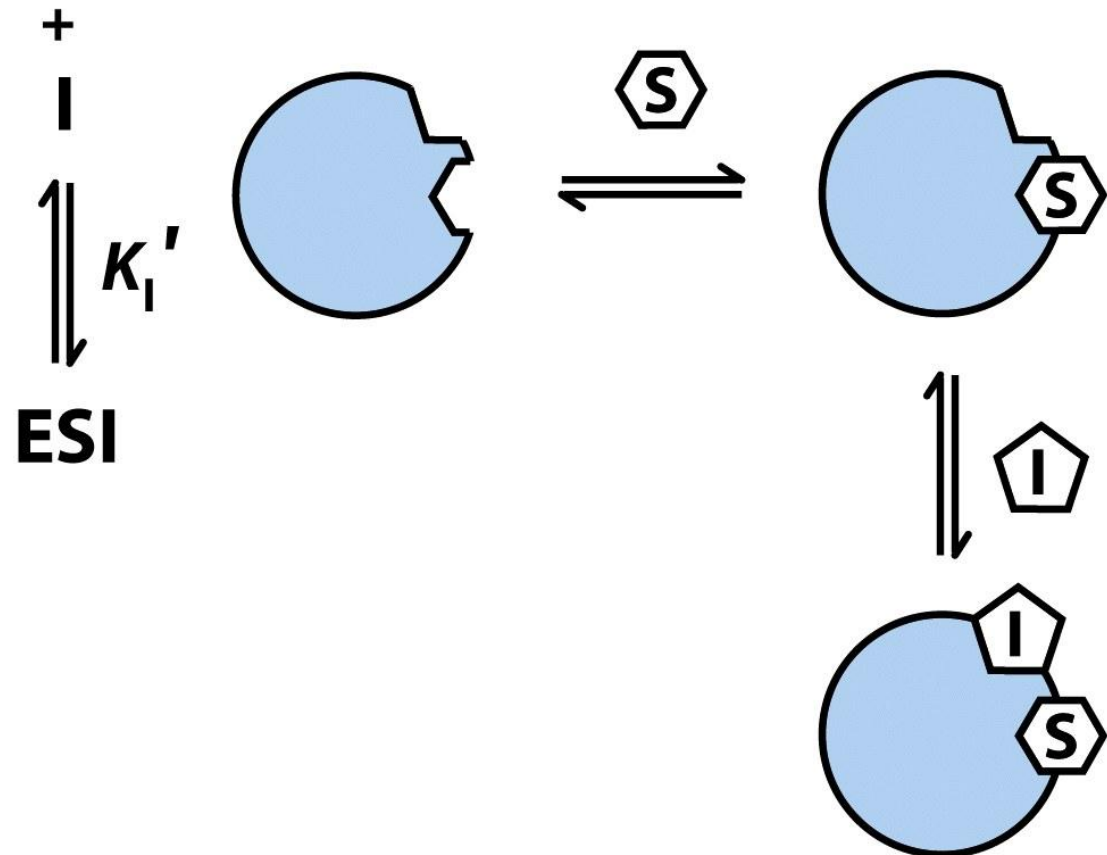


a

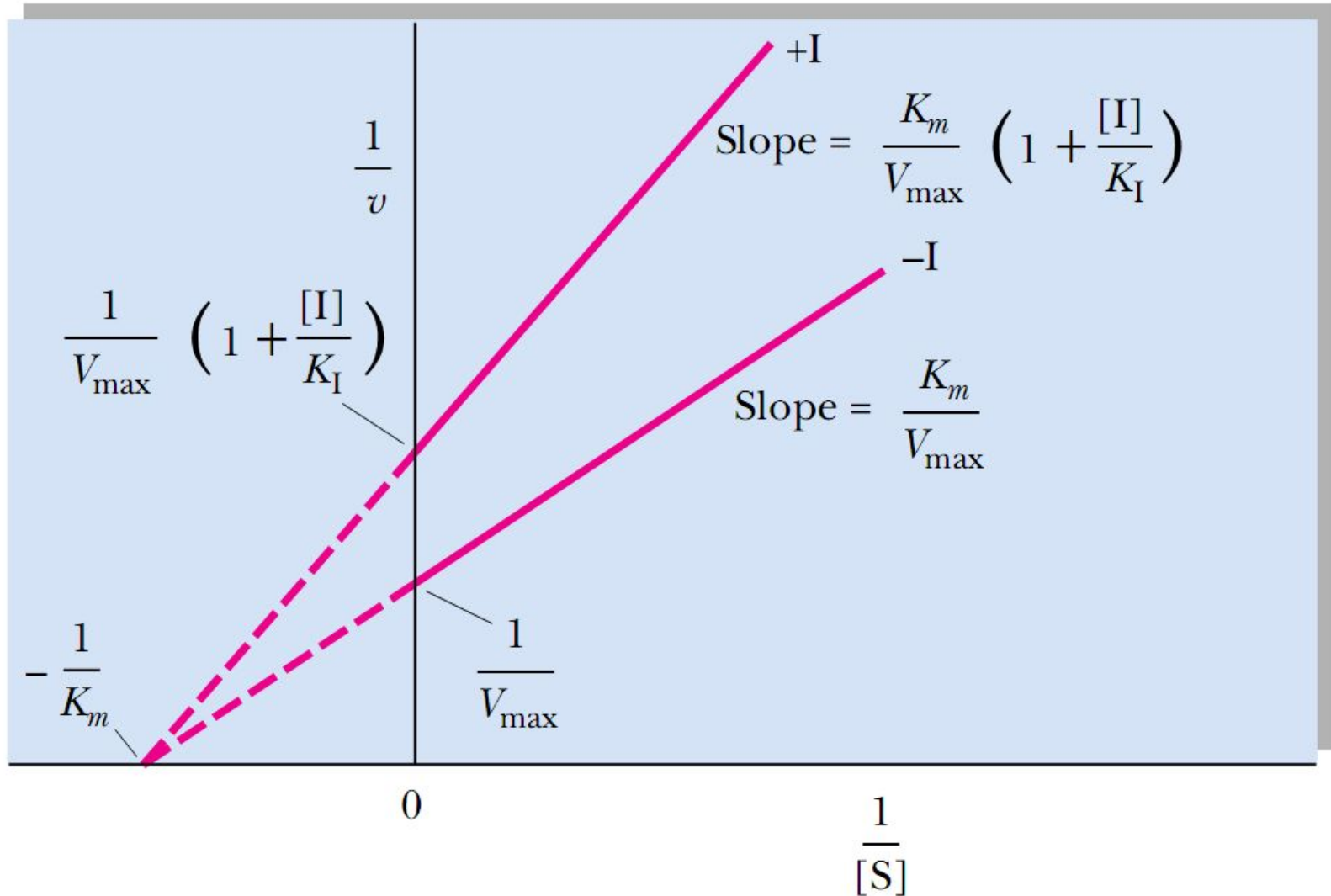
Конкурентное ингибирование



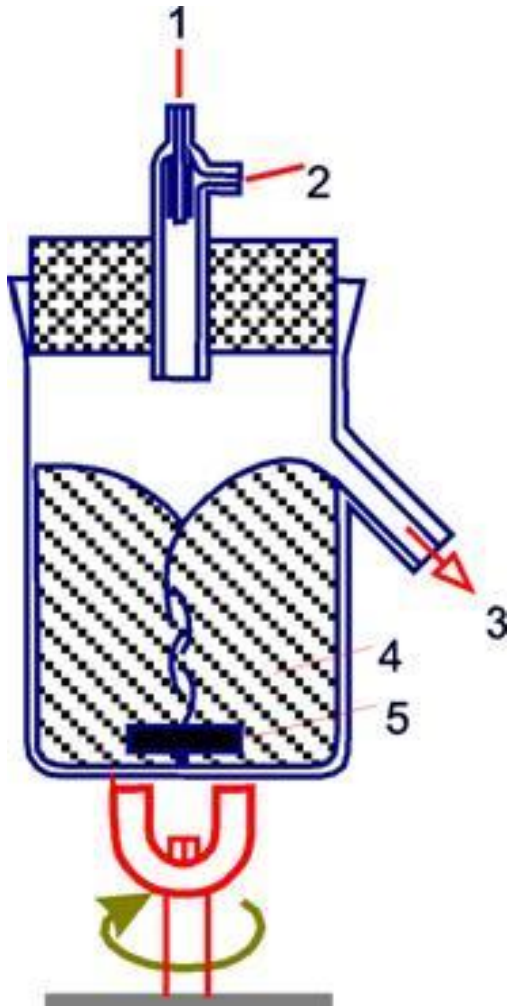
Неконкурентное ингибирование



Неконкурентное ингибирование



Уравнение Михаэлиса-Ментен подходит не только для большинства ферментов, но и для моделирования поведения популяций культур микроорганизмов и других культур



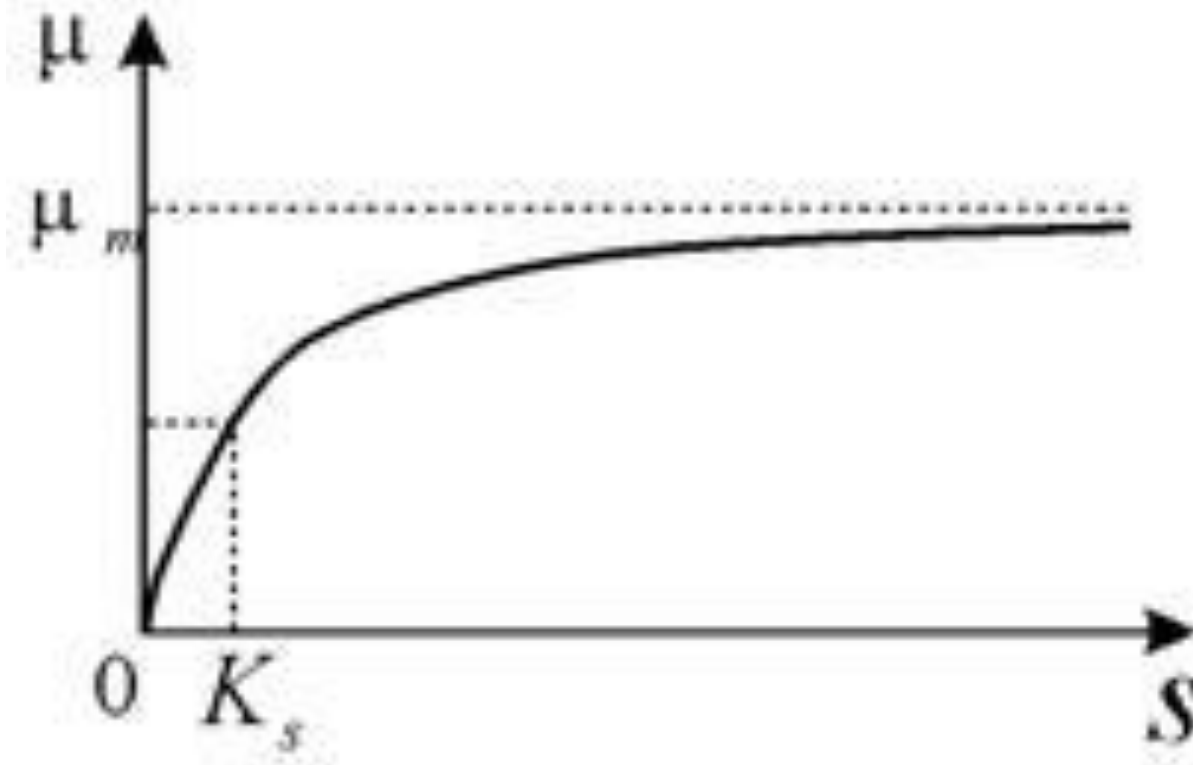
- 1 – регулятор
- 2 – поступление субстрата,
- 3 – отток (вымывание) смеси субстрата и биомассы,
- 4 – культура внутри культиватора,
- 5 – мешалка

Для микробиологических систем обычно величина, лимитирующая рост, это - концентрация субстрата.

Наиболее распространенная форма записи, учитывающая насыщение скорости роста культуры по питательному субстрату, предложена Моно:

$$\frac{dx}{dt} = \frac{\mu_m S}{K_s + S} x$$

Здесь μ_m - максимальная скорость роста микроорганизмов при данных условиях;
 K_s - константа, численно равная концентрации субстрата, при которой скорость роста культуры равна половине максимальной.



Графическое выражение зависимости скорости роста от концентрации субстрата в соответствии с формулой Моно.

При перемешивании можно считать весь объем культиватора однородно заполненным, концентрации субстрата и клеток в каждой точке культиватора одинаковыми, и описывать поведение этих концентраций во времени с помощью системы обыкновенных дифференциальных уравнений Моно:

$$\frac{dx}{dt} = \mu(S)x - D(x),$$

$$\frac{dS}{dt} = DS_0 - \alpha\mu(S)x - DS,$$

$$\mu(S) = \frac{\mu_m S}{K_m + S}$$

S - концентрация субстрата

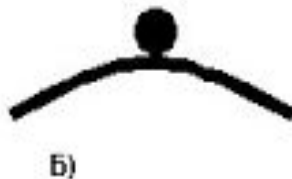
x - концентрация клеток в культиваторе

S_0 - концентрация субстрата, поступившего в культиватор

D_{-1} - скорость потока (разбавления) культуры

α - “экономический” коэффициент, показывающий, какая часть поглощенного субстрата идет на приращение биомассы.

Устойчивость состояния равновесия (стационарного состояния)

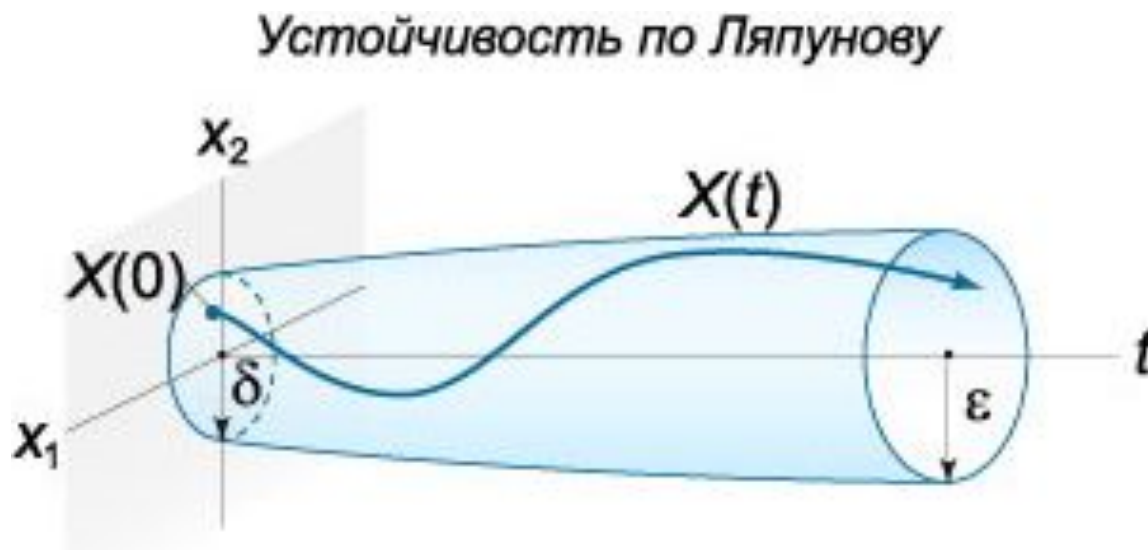


Варианты равновесия:
устойчивое и
неустойчивое

Стационарное состояние называется *устойчивым*, если малые отклонения не выводят систему слишком далеко из окрестности этого стационарного состояния.

Строгое математическое определение устойчивости состояния равновесия для уравнения $dx/dt = f(x)$:

для *устойчивого* состояния равновесия справедливо утверждение: если в момент времени t_0 отклонение от равновесия мало $|x(t_0) - x| < \delta$, то в любой последующий момент времени $t > t_0$ отклонение решения системы от состояния равновесия будет также мало: $|x(t) - x| < \varepsilon$



Математический метод **Ляпунова** определения устойчивости состоит в прямом использовании определения устойчивости

Пусть x_0 стационарное решение уравнения $\frac{dx}{dt} = f(x)$

Перейдем к переменной ξ – малое отклонение:

$$\frac{d(x_0 + \xi)}{dt} = f(x_0 + \xi)$$

Преобразуя, получим

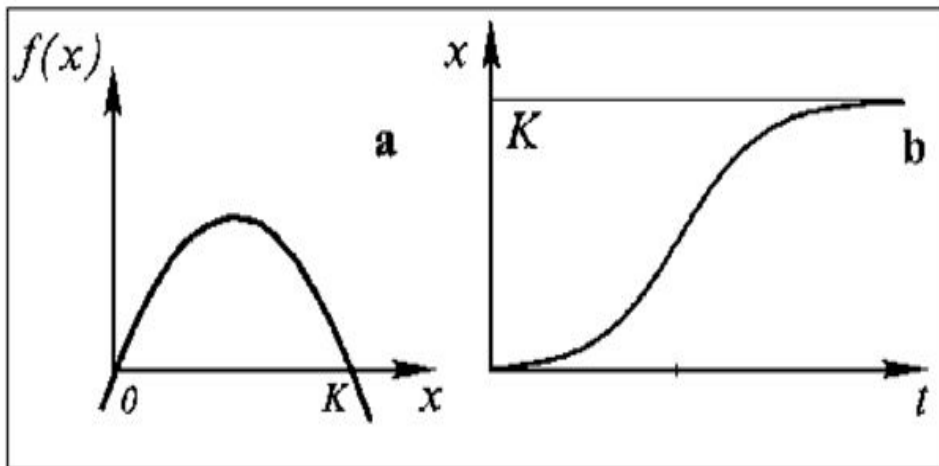
$\xi(t) = c \exp(\lambda t)$, т.е. в зависимости от знака λ (производная от $f(x)$) отклонение может убывать (устойчивость) или возрастать (неустойчивость)

Исследование на устойчивость логистического уравнения

$$\frac{dx}{dt} = rx \left(1 - \frac{x}{K} \right)$$

$$\frac{dx}{dt} = rx - \delta x^2$$

Уравнение стационарных состояний $f(x) = 0$ в данном случае имеет два корня: $X_1 = 0$, $X_2 = K$.



Видно, что в точке $X_1 = 0$ производная положительна, т. е. отклонение возрастает. В точке $X_2 = K$ наоборот – состояние устойчиво.