

A MICHAELIS–MENTEN-KINETIKA DETERMINISZTIKUS ÉS SZTOCHASZTIKUS MODELLJEI

LENTE GÁBOR

Tóth János 70. születésnapja tiszteletére.

Ez a rövid összefoglaló közlemény a kémiai reakciókra enzimek által gyakorolt gyorsító hatás matematikai modelljeit mutatja be. Az erre a célra legelterjedtebben használt Michaelis–Menten-kinetika értelmezésében az enzim és szubsztrátja közötti megfordítható adduktumképződést követően egy irreverzibilis, termékképződéshez vezető reakció szerepel. A kémiai séma több különböző matematikai modellt generál. A determinisztikus megközelítésben a négy részt vevő anyag koncentrációjának időbeli változását közönséges, nemlineáris differenciálegyenlet-rendszerrel írjuk le. A cikk ismerteti ennek az analitikus megoldására tett kísérleteket, illetve széles körben használt, zárt formájú közelítő megoldásait. A sztochasztikus megközelítés nagy számú, de lineáris közönséges differenciálegyenletet használ. Ennek analitikus megoldása viszonylag könnyen megadható arra az esetre, amikor csak egyetlen enzimmolekula van jelen a rendszerben. Az ennél általánosabb esetekre közelítő megoldási módszerek ismeretesek.

1. Bevezetés

Az enzimek rendkívül fontos szerepet töltenek be biológiai rendszerekben. Hatásuk révén a szervezetben nélkülözhetetlen kémiai reakciók gyorsulnak fel, amelyek másként csak mérhetetlenül lassan mennének végbe. Az is előfordul, hogy egy enzim két reakció csatolása révén olyan folyamat megvalósulását teszi lehetővé, amelyek ezen csatolás nélkül a termodinamika törvényei alapján tiltottak lennének.

Az enzimek folyamatokat gyorsító hatásának kvantitatív leírása már egy évszázada alapvető kérdésnek számít a biokémiában. Leonor Michaelis és Maud Menten 1913-ban publikáltak egy azóta klasszikusnak számító cikket [24], amelynek lényege egy, az enzimek kinetikai hatását viszonylag nagy általánossággal leíró egyenlet felfedezése volt. Egy bő évtizeddel később George Edward Briggs és John

Burdon Sanderson Haldane az egyenletet molekuláris alapokon értelmezték, vagyis kémiai magyarázatot adtak rá részecskék szabályszerű kölcsönhatását feltételezve [5]. Érdekes módon ezen tény ellenére manapság a tankönyvek és a színvonalas kémiai szakirodalom gyakran Michaelis–Menten-mechanizmusként említi a magyarázatot is.

Ebben a magyarázatban négy anyagfajta szerepel: az enzim eredeti formája (E), az átalakítandó molekula vagy szubsztrát (S), az enzim szubsztráttal kölcsönhatásban lévő formája (ES) és a termékmolekula (P). A sémában összesen három reakció szerepel a következők szerint:



Ez a jelölésmód a kémia reakciókat nyilakkal reprezentálja, a kiindulási anyagok a bal oldalon, a termékek pedig a jobb oldalon találhatók. Egy kis gyakorlattal egy ilyen sémából az általa generált matematikai modellek könnyedén felírhatók.

Az itt bemutatott sémában három folyamat szerepel. Az első az enzim és a szubsztrát közötti asszociáció, amelynek terméke az ES-sel jelölt enzim-szubsztrát adduktum. A második ennek a lépésnek a pontos megfordítása, vagyis ES disszociációja az öt alkotó részecskékre. A harmadik lépés a lényegi termékképződés: ebben a folyamatban keletkezik a végtermék és visszamarad az enzim eredeti alakja, amely aztán új szubsztrátot köthet meg. Vegyük észre, hogy az enzim két formájára nézve a teljes séma zárt, igen kevés enzim is nagy mennyiségű termék keletkezését okozhatja. Ezért kémiai értelemben a folyamatban az enzim a katalizátor szerepét játssza.

Ez a cikk a Michaelis–Menten-kinetika két típusú matematikai modelljeit mutatja be: a reakciókinetikában szokásos determinisztikus és a jóval ritkább, de valójában ebben az esetben szintén nagyon fontos sztochasztikus megközelítésűeket.

2. Determinisztikus megközelítés

A reakciókinetika hagyományos, determinisztikus megközelítésében az egyedi anyagfajta koncentrációját írják le az idő függvényében [12, 18]. A koncentrációt az idő folytonos függvényének tekintik, ezeket közönséges differenciálegyenletekből lehet meghatározni. Az (1) séma által generált differenciálegyenlet-rendszer alakja a következő:

$$\begin{aligned}
 \frac{d[S]}{dt} &= -k_1[E][S] + k_1[ES] \\
 \frac{d[E]}{dt} &= -k_1[E][S] + k_1[ES] + k_2[ES] \\
 \frac{d[ES]}{dt} &= k_1[E][S] - k_1[ES] - k_2[ES] \\
 \frac{d[P]}{dt} &= k_2[ES].
 \end{aligned}
 \tag{2}$$

Ezt az egyenletet sebességi egyenletnek hívják. A reakciókinetikában a deriváltak jelölésére a d/dt formalizmus használata szinte kizárólagos, talán azért, mert a független változók cseréje gyakran hasznos eljárás az egyenlet megoldása során. Az ismeretlen függvények ([E], [S], [ES] és [P]) nem egyszerűen nemnegatív valós számok, hanem fizikai mennyiségek, amelyeknek dimenziójuk van. A koncentráció esetében a fizikai dimenzió az anyagmennyiség és a térfogat hányadosa. Két fizikai mennyiség összeadását és kivonását csak akkor lehet értelmezni, ha dimenziójuk azonos. A dimenziók egyezésének analízise a fizikai mennyiségeket tartalmazó egyenletek helytállóságának fontos tesztje.

A (2) egyenletrendszerből első ránézésre nem magától értetődő, hogy hét paramétere van. A sebességi állandók (k_1 , k_{-1} , k_2) nyilvánvalóan paraméterek, ezeket maga az egyenlet is feltünteti. Ezekkel kapcsolatban két megjegyzést is érdemes tenni. Az első az, hogy k_1 és k_{-1} egymástól függetlenek annak ellenére, hogy olyan kémiai reakciók sebességi állandói, amelyek egymás pontos megfordításai. A másik észrevétel az, hogy ezen paraméterek dimenziója nem azonos: k_{-1} -é és k_2 -é az idő dimenziójának reciproka (elsőrendű sebességi állandó), míg k_1 -é a koncentráció és az idő szorzatának reciproka (másodrendű sebességi állandó). Maga a feladat lényegében kezdetiérték-probléma, így a négy kezdeti koncentráció ($[S]_0$, $[E]_0$, $[ES]_0$ és $[P]_0$) is a paraméterek közé tartozik. Az enzimkatalízis tipikus eseteiben $[ES]_0 = [P]_0 = 0$, $[S]_0 \gg [E]_0$, $k_{-1} \gg k_2$ és $k_1[S]_0 \gg k_2$ is teljesülnek; ezeket a tulajdonságokat a gyakorlatban a megoldások keresésénél időnként fel is használják.

Itt kell még megemlíteni, hogy a (2) egyenletrendszer a sebességi egyenletek abba a nagy jelentőségű csoportjába tartozik, amelyeket tömeghatás típusúnak neveznek. Ezek lényege, hogy minden előforduló reakció sebessége egyenesen arányos a benne szereplő anyagok koncentrációjával, s az arányossági tényező a sebességi állandó, ez független minden koncentrációtól.

Vegyük észre, hogy a (2) egyenletrendszerben a tagok két független lineáris kombinációja is nullát ad:

$$\begin{aligned}\frac{d[S]}{dt} + \frac{d[ES]}{dt} + \frac{d[P]}{dt} &= 0 \\ \frac{d[E]}{dt} + \frac{d[ES]}{dt} &= 0\end{aligned}$$

Ezen egyenletek integrális alakjában a tényleges koncentrációk szerepelnek a deriváltak helyett, s szerepeltethetők bennük a kiindulási koncentrációk. Ezt az alakot mérlegegyenleteknek szokás nevezni, mert a kémiai tömegmaradás törvényével vannak szoros kapcsolatban, s abból a differenciálegyenletek ismerete nélkül, pusztán a különböző részecskék összetételéből levezethetők:

$$\begin{aligned}[S] + [ES] + [P] &= [S]_0 + [ES]_0 + [P]_0 = \Omega \\ [E] + [ES] &= [E]_0 + [ES]_0 = \Phi.\end{aligned}\tag{3}$$

A mérlegegyenletek általában lényegesen egyszerűsítik a sebességi egyenlet megoldását, mert segítségükkel néhány koncentráció lineáris kapcsolatba hozható a többivel, így a differenciálegyenlet-rendszerben szereplő egyenletek száma csökkenthető.

Szintén a megoldás könnyítését szolgáló eljárás a dimenziómentes alakra való transzformálás. Ennek lényege az, hogy a paraméterekkel való szorzással vagy osztással olyan új független és függő változókat hozunk létre, amelyeknek már nincs fizikai dimenziója. Ezt az eljárást skálázásnak is lehet nevezni [18], mert lényegében a koncentrációnak, illetve az időnek keresünk olyan skálát, amely a paraméterértékekkel van összefüggésben. A (2) egyenletrendszer dimenziómentesítéséhez célszerű új mennyiségek a következők:

$$f = \frac{[ES]}{\Omega}, \quad g = \frac{[P]}{\Omega}, \quad \tau = tk_2, \quad \alpha = \frac{k_1\Omega}{k_2}, \quad \beta = \frac{k_{-1}}{k_2}, \quad \phi = \frac{\Phi}{\Omega}.$$

Ezekkel a dimenziómentes változókkal és állandókkal a mérlegegyenleteket is felhasználva a (2) egyenletrendszer a következő alakra hozható:

$$\begin{aligned}\frac{df}{d\tau} &= \alpha(\phi - f)(1 - f - g) - (\beta + 1)f \\ \frac{dg}{d\tau} &= f.\end{aligned}\tag{4}$$

Így az eredeti sebességi egyenletet lényegi információvesztés nélkül olyan alakra transzformáltuk, amelyben az ismeretlen függő változók száma kettőre (f és g), a paraméterek száma pedig ötre csökkent (α, β, ϕ , valamint f és g kezdeti értéke). Valójában a két csökkenés független egymástól: az egyenletek száma a mérlegegyenletek révén csökkent (ezekből kettő van), a paraméterek száma pedig a skálázás miatt (idő- és koncentrációs skálát vezetünk be). A dimenziómentes koncentrációfüggvényekre a skálázás miatt mindig teljesül, hogy $0 \leq f \leq \phi$ és $0 \leq g \leq 1$.

Itt kell megjegyezni, hogy a szakirodalomban nagyon ritkán használják éppen ezt az alakot, különösen a g függvény definíciója és használata nem szokásos, mert a (2) egyenletrendszer jobb oldalain a [P] koncentráció sehol nem jelenik meg. Ennek ellenére a jelen szerző szerint ez nagyon is logikus választás, két okból is: egyrészt a kísérleti technikák túlnyomó többsége általában éppen a P anyag koncentrációváltozására érzékeny, másrészt erről a függvényről eleve biztos, hogy monoton növekvő, s ez a tény segítheti a megoldási eljárásokat.

A (4) differenciálegyenletnek jelenleg nem ismert a teljes megoldása,¹ noha a paraméterek ismert értékeire numerikus módszerekkel rutinszerűen, kellő pontossággal megoldható. Mivel g monoton függvény, az idő kiküszöbölésével az f és g függvények közötti kapcsolat is kereshető a következő differenciálegyenlettel:

$$\frac{df}{dg} = \frac{\alpha}{f}(\phi - f)(1 - f - g) - (\beta + 1). \quad (5)$$

Ezen differenciálegyenlet megoldása sem ismert, viszont lehetővé teszi a megoldások kvalitatív, a két változó fázisterében történő tanulmányozását [6].

Egy modell kvalitatív ismeretéhez általában hozzátartozik a szélsőérték-kialakulás lehetőségeinek tisztázása is. Az f függvény τ szerinti második deriváltja a következőképp számolható ki:

$$\frac{d^2f}{d\tau^2} = \frac{df}{d\tau}(2\alpha f + \alpha g - \alpha\phi - \alpha - \beta - 1) - \alpha(\phi - f)f.$$

Az f és $\phi - f$ a korábban megállapítottak szerint nem lehetnek negatívak. Így ha f -nek τ szerinti első deriváltja nulla, akkor ugyanazon a helyen a második deriváltja nem lehet pozitív. Ez azt bizonyítja, hogy ha f -nek van szélsőértéke, akkor az maximum, amiből azonnal következik, hogy f -nek nem lehet egynél több szélsőértéke. A többi függvény szélsőértékeiről a következő megállapításokat lehet tenni: [P] növekvő függvénye az időnek, [ES] időfüggésében legfeljebb egy maximum lehet, [E] időfüggésében legfeljebb egy minimum lehet, [S] időfüggésében pedig legfeljebb egy maximum lehet (a tipikus $[ES]_0 = 0$ esetben [S] szigorúan monoton csökkenő függvény).

Gyakorlati szempontból hasznos a (4) egyenlet közelítő megoldásait is keresni, amelyeknek az a jellemzője, hogy különbségük a tényleges megoldásnál általában kisebb, mint a rendszer tanulmányozásához használt kísérleti módszerek jellemző hibája. Az első közelítő összefüggést az teszi lehetővé, hogy a tipikus kezdeti feltételek között szerepel az S és E anyagok kezdeti koncentrációja közötti nagy különbség, amely biztosítja, hogy $1 \gg f$ mindig teljesül. Így a (4) és (5) egyenletekben is szereplő $(1 - f - g)$ tagban az összeadandók száma csökkenthető:

$$(1 - f - g) \approx (1 - g).$$

¹Ha a szöveg azt írja, hogy egy egyenlet megoldása nem ismert, ez nem pusztán annyit jelent, hogy a szerző nem találta leírt megoldásnak nyomát a szakirodalomban, hanem egyúttal azt is, hogy sem a saját erőfeszítések, sem a Mathematica program nem találtak ilyet.

A (4) és (5) egyenletekből ezen egyszerűsítés után létrejövő differenciálegyenleteknek sincs ismert megoldása.

A következő egyszerűsítési lehetőséget *steady-state* közelítésnek (vagy Bodenstein-elvnek) nevezzük, s alkalmazási lehetőségeinek kiterjedt szakirodalma van [4, 12, 18, 21, 23, 35]. A módszer lényege, hogy a paraméterek bizonyos megfelelő tartományában a (4) egyenletben az első derivált értékét nullának tekintjük:

$$0 = \alpha(\phi - f)(1 - g) - (\beta + 1)f.$$

Így a két függő változót közvetlen kapcsolatba hoztuk egymással, ebben az esetben f kifejezhető úgy, hogy csak g függvénye legyen:

$$f = \frac{\alpha\phi(1 - g)}{\alpha + \beta + 1 - \alpha g}.$$

Ezt nevezzük az f függvény *steady-state* közelítésének, ezt a tényt néha az f_{ss} jelölés használatával emelik ki. Ennek segítségével a (4) differenciálegyenletrendszer egyetlen, szeparálható, közönséges differenciálegyenletre vezethető vissza:

$$\frac{dg}{d\tau} = \frac{\alpha\phi(1 - g)}{\alpha + \beta + 1 - \alpha g}. \quad (6)$$

Ez az egyenlet ekvivalens a klasszikus Michaelis–Menten-egyenlettel [24], amelynek legerjedtebb, dimenziómentesített nem tartalmazó felírási formája a következő:

$$\frac{d[\text{P}]}{dt} = \frac{k_2[\text{E}]_0[\text{S}]}{\frac{k_{-1} + k_2}{k_1} + [\text{S}]}. \quad (7)$$

Szokásos még bevezetni a v_{\max} maximális reakciósebesség és K_M Michaelis-állandó nevű paramétereket a következők szerint:

$$v_{\max} = k_2[\text{E}]_0, \quad K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}. \quad (8)$$

Mindez azért célszerű eljárás, mert a paraméterek közül a kezdeti koncentrációkat a kísérletező lényegében szabadon állíthatja be (tehát értéküket ismeri), a maradék három sebességi állandót viszont a kísérleti adatokból kell meghatározni. Olyan esetekben, amikor a *steady-state* közelítés használható, nincs remény mind a három sebességi állandó külön meghatározására, csak a (8) egyenletben bemutatott két paraméterkombináció férhető hozzá.

A (6) egyenlet analitikus megoldása viszonylag egyszerűen megadható zárt alakban a Lambert W -függvény felhasználásával [29]:

$$g = 1 - \frac{\beta + 1}{\alpha} W \left(\frac{\alpha(1 - g_0)}{\beta + 1} e^{\alpha(1 - g_0 - \phi\tau)/(\beta + 1)} \right).$$

Itt a g_0 jelölés a g függvény kezdeti (vagyis $\tau = 0$ helyen felvett) értékét jelenti. Ennek az egyenletnek az S részecske koncentrációjára írt alakja a következő [18]:

$$[S] = K_M W \left(\frac{[S]_0}{K_M} e^{([S]_0 - v_{\max} t)/K_M} \right). \quad (9)$$

A (2) sebességi egyenlet megoldásának Taylor-sorát viszonylag könnyű előállítani, mert egymást követő deriválásokkal a magasabb rendű differenciálhányadosok $t = 0$ -ban felvett értékei elérhetőek [18] az összefüggés fokozatos deriválásával. Az ilyen sorba fejtés különösen egyszerű, ha a kezdeti koncentrációk némelyike nulla, s ez éppen a tipikus helyzet a Michaelis-Menten-kinetika esetében. Így például [ES] Taylor-sorának első néhány tagja a tipikus $[ES]_0 = [P]_0 = 0$ kezdeti feltételek mellett a következőképpen adható meg:

$$\begin{aligned} [ES] &= k_1[E]_0[S]_0 t - \frac{k_1}{2}[E]_0[S]_0(k_1[E]_0 + k_1[S]_0 + k_{-1} + k_2)t^2 + \\ &+ \frac{k_1}{6}[E]_0[S]_0(2k_1^2[E]_0[S]_0 + (k_1[E]_0 + k_1[S]_0 + k_{-1} + k_2)^2)t^3 + \dots \end{aligned}$$

A P anyag koncentrációjára vonatkozó sorfejtésben az elsőfokú tag nulla:

$$[P] = \frac{k_1 k_2}{2}[E]_0[S]_0 t^2 - \frac{k_1 k_2}{6}[E]_0[S]_0(k_1[E]_0 + k_1[S]_0 + k_{-1} + k_2)t^3 + \dots$$

Így bizonyos esetekben, különösen kicsi reakcióidőknél, a Taylor-sorok első néhány tagjának polinomként való használata is a megoldás elfogadható közelítését adhatja a gyakorlat számára.

3. Sztochasztikus megközelítés

Ez a közlemény több lehetőség közül választva a folytonos időt és diszkrét állapotokat felhasználó sztochasztikus megközelítési módot használja, mert ez áll legközelebb a széles körben elfogadott részecskealapú kémiai anyagszemlélethez. Ennek matematikáját Érdi Péter és Tóth János [12], majd később Érdi Péter és a jelen szerző [13] könyvei nagy részletességgel ismertették. Meg kell említeni, hogy a témakörnek elsősorban Tóth János és Érdi Péter munkájának köszönhetően jelentős magyar nyelvű eredeti szakirodalma is van [10, 11, 27, 32, 33, 34, 16].

A szokásos, determinisztikus kinetikai megközelítésben az egyes részecskék koncentrációját adjuk meg az idő függvényeként. A koncentrációkat folytonosnak feltételezzük, noha az atomelméletből világos, hogy ez az anyag részecsketermészete miatt nem kifogástalan leírásmód [20]. Ennek ellenére a folytonos közelítés a problémák nagy részére mégis megfelel, mert a kémia többnyire olyan nagy

részecskeszámokkal dolgozik, amelyeknél az ebből a feltételezésből származó eltérések sokkal kisebbek, mint a kísérleti módszerekben rejlő, elkerülhetetlen hibák. A CDS-megközelítés a koncentrációk helyett állapotokról nyilatkozik, amelyeket az egyes molekulaszámok megadásával azonosítunk. A következőkben s a szubsztrát (S), e az enzim (E), es az enzim-szubsztrát adduktum (ES), p pedig a termék (P) molekuláinak számát jelenti majd. Ezen a ponton feltétlenül ki kell emelni, hogy s, e, es és p csupán természetes számok és nem függvények.

Az egyszerűség kedvéért a további gondolatmeneteket azokra a már említett tipikus kezdeti feltételekre írjuk fel, amikor kezdetben sem ES, sem P nincs jelen ($es_0 = 0$ és $p_0 = 0$). Így a (3)-ban megadott determinisztikus mérlegegyenlettel analóg sztochasztikus összefüggések a következők:

$$es = e_0 - e, \quad p = s_0 - s - e_0 + e. \quad (10)$$

A CDS-megközelítésben a mérlegegyenletek az állapottér méretét korlátozzák. A lehetséges állapotok száma (M), a (10) diofantoszi egyenletrendszer megoldásainak száma. Elemi kombinatorikai gondolatmenettel M értékére a következő képlet vezethető le [7]:

$$M = \left(s_0 - \frac{e_0}{2} + 1 \right) \times (e_0 + 1).$$

A képlet a $s_0 \geq e_0$ esetben használható, ez a tipikus kezdeti feltételeknél teljesül. Ha $s_0 < e_0$, akkor egy teljesen analóg képletet lehet megadni s_0 és e_0 felcserélésével.

A sztochasztikus kinetikában a determinisztikus sebességi egyenlet szerepét az alapegyenlet (vagy vezéregyenlet) veszi át. Vegyük észre, hogy egy állapot azonosításához a (10) mérlegegyenletek miatt elegendő az s és e molekulaszámokat megadni, ha az s_0 és e_0 paraméterek értéke ismert. Így egy adott állapot valószínűségét megadó időfüggvényt jelölhetjük $P_{e,s}$ -vel. Az alapegyenlet alakja a Michaelis–Menten-kinetika esetében a következőképpen adható meg [1, 2, 3, 7, 8, 9, 14, 15, 17, 19, 23, 25, 26, 28, 30, 31, 36, 37]:

$$\begin{aligned} \frac{dP_{e,s}}{dt} = & - [\kappa_1 es + (\kappa_{-1} + \kappa_2)(e_0 - e)] P_{e,s} + \\ & + \kappa_1(e + 1)(s + 1)P_{e+1,s+1} + \kappa_{-1}(e_0 - e + 1)P_{e-1,s-1} + \\ & + \kappa_2(e_0 - e + 1)P_{e-1,s}. \end{aligned} \quad (11)$$

Az egyenletben szereplő sztochasztikus sebességparaméterek a determinisztikusakból a következő módon határozhatók meg:

$$\kappa_1 = k_1 N_A / V, \quad \kappa_{-1} = k_{-1}, \quad \kappa_2 = k_2.$$

A (11) differenciálegyenlet-rendszer tömören mátrixformalizmussal is felírható. Ehhez először egy $\chi(e, s)$ rendezőfüggvényre van szükség, amely minden állapothoz egy egyedi pozitív egész számot, vagyis sorszámot rendel kihagyások nélkül. Ennek egy lehetséges alakja:

$$\chi(e, s) = \begin{cases} (s_0 - s - e_0 + e + 1)(e_0 + 1) - e, & \text{ha } e \leq s \\ (s_0 - s - e_0 + e + 1)(e_0 + 1) - \frac{(e-s-1)(e-s)}{2} - e, & \text{ha } e > s. \end{cases}$$

Így a (11) differenciálegyenlet-rendszerben szereplő tagok sorba rendezhetők egyetlen \mathbf{P} vektor elemeiként, s az alapegyenlet ezzel a következő formába írható át:

$$\frac{d\mathbf{P}}{dt} = \Theta\mathbf{P}. \quad (12)$$

A (12) képlet az alapegyenlet igen tömör felírás módja, a benne szereplő Θ mátrix elemeit átmeneti valószínűségeknél is szokás nevezni. Mivel az egyenlet lineáris, a megoldását is fel lehet írni a mátrixokon értelmezett exponenciális függvény használatával a következő alakban:

$$\mathbf{P} = \exp(\Theta t)\mathbf{P}_0.$$

Ezen megoldás használata a jelenleg szokásos számítástechnikai háttérrel M néhány ezret nem meghaladó értékeire megvalósítható, mi több, numerikus számításokban egyenesen kívánatos is. Vegyük észre, hogy a CDS-megközelítésű sztochasztikus alapegyenlet mindig lineáris differenciálegyenlet-rendszer, tehát elvileg akár analitikusan is megoldható, s ilyen szempontból kedvezőbb sajátságú a determinisztikus kinetika gyakran nem lineáris differenciálegyenlet-rendszereinél. Az állapotok és így az egyenletek száma azonban nagyon nagy, a CDS-modellekben ez a nehézségek fő forrása.

Ha ez enzimmolekulák kezdeti száma 1 ($e_0 = 1$), az alapegyenletet Arányi és Tóth által publikált módszerével [1], generátorfüggvények használatával meg lehet oldani. A generátorfüggvény alakja a következő:

$$G_e(z, t) = \sum_{s=0}^{s_0-1+e} z^s P_{e,s}(t).$$

A képletben z segédváltozó, értéke komplex szám is lehet. Az alapegyenletet a generátorfüggvénnyel a következő parciális differenciálegyenletbe lehet transzformálni:

$$\begin{aligned} \frac{\partial G_e(z, t)}{\partial t} &= \kappa_1(e+1) \frac{\partial G_{e+1}(z, t)}{\partial z} - \kappa_1 e z \frac{\partial G_e(z, t)}{\partial z} - \\ &- (\kappa_{-1} + \kappa_2)(1-e)G_e(z, t) + (\kappa_{-1} + \kappa_2)z(2-e)G_{e-1}(z, t). \end{aligned} \quad (13)$$

Ezzel a módszerrel a (11) képletben bemutatott $2s_0 + 1$ (ez M értéke akkor, ha $e_0 = 1$) közöséges differenciálegyenletet két parciális differenciálegyenletre alakítottuk, hiszen e csak a 0 és 1 értékeket veheti fel. A (13) egyenletrendszer megoldása viszonylag könnyen megtalálható [1]:

$$\begin{aligned}
 G_0(z, t) &= \Gamma e^{-\kappa_{-1}(z-1)/\kappa_1} e^{-\kappa_2 t} + \overline{\Gamma} \frac{\kappa_{-1} + \kappa_2}{\kappa_{-1}z + \kappa_2} e^{(\kappa_1 + \kappa_2)t} + \\
 &\quad + \sum_{i=1}^2 \sum_{n=0}^{\infty} \Gamma_i^{(n)} \left[\frac{\kappa_2 - (\kappa_2 + \lambda_i^{(n)})z}{-\lambda_i^{(n)}} \right]^{q_n} e^{\lambda_i^{(n)}t} \\
 G_1(z, t) &= \Gamma^{(-1)} - \overline{\Gamma} e^{-\kappa_{-1}(z-1)/\kappa_1} e^{-\kappa_2 t} - \overline{\Gamma} e^{-(\kappa_1 + \kappa_2)t} - \\
 &\quad - \sum_{i=1}^2 \sum_{n=0}^{\infty} \Gamma_i^{(n)} \left[\frac{\kappa_2 - (\kappa_2 + \lambda_i^{(n)})z}{-\lambda_i^{(n)}} \right]^{q_n+1} e^{\lambda_i^{(n)}t}.
 \end{aligned} \tag{14}$$

A q_n mennyiség definíciója a következő:

$$q_n = \frac{\lambda_i^{(n)} \lambda_i^{(n)} + (\kappa_1 + \kappa_{-1} + \kappa_2) \lambda_i^{(n)} + \kappa_1 \kappa_2}{\kappa_1 (\kappa_2 + \lambda_i^{(n)})}.$$

A λ_i állandók értékeit egy következő másodfokú egyenlet gyökeiként lehet kiszámolni, s alakjuk a következő:

$$\begin{aligned}
 \lambda_1^{(n)} &= \frac{-\kappa_1(n+1) - \kappa_{-1} - \kappa_2}{2} - \frac{\sqrt{[\kappa_1(n+1) + \kappa_{-1} + \kappa_2]^2 - 4\kappa_1\kappa_2(n+1)}}{2} \\
 \lambda_1^{(n)} &= \frac{-\kappa_1(n+1) - \kappa_{-1} - \kappa_2}{2} + \frac{\sqrt{[\kappa_1(n+1) + \kappa_{-1} + \kappa_2]^2 - 4\kappa_1\kappa_2(n+1)}}{2}.
 \end{aligned}$$

Érdekes (de persze nem véletlen) egybeesés, hogy ezek a λ_i állandók éppen a (12) egyenletben szereplő Θ mátrix sajátértékei. A (14) egyenletben szintén szereplő Γ állandókat a kezdeti értékekből lehet kiszámolni:

$$\begin{aligned}
 G_0(1, t) + G_1(1, t) &= 1 \\
 G_0(z, 0) &\equiv 0 \\
 G_1(z, 0) &\equiv z^{s_0}.
 \end{aligned}$$

Végül az egyedi $P_{e,s}$ állapotvalószínűségi függvényeket a következőképp lehet megadni a generátorfüggvényből:

$$P_{e,s} = \frac{1}{s!} \frac{\partial^s G_e(z, t)}{\partial z^s}.$$

Meglehetősen sok további munka foglalkozik az $e_0 = 1$ speciális esettel, ezt a szakirodalom néha egyenzimmolekulás kinetika néven is említi [8, 9, 15, 19, 25, 31, 36, 37]. A tipikus kezdeti körülmények ilyen rendszerekben olyanok, hogy csak az átalakulatlan szubsztrátmolekulák és az enzim alapalakja van jelen, vagyis

$P_{1,s_0}(0) = 1$, és $P_{e,s}(0) = 0$ minden más állapotra. Ezen feltételek mellett a P_{1,s_0} és P_{0,s_0-1} függvényeket különösen könnyű zárt formában megadni:

$$P_{1,s_0} = -\frac{\lambda_2^{(s_0-1)} + \kappa_1 s_0}{\lambda_1^{(s_0-1)} - \lambda_2^{(s_0-1)}} e^{\lambda_1^{(s_0-1)} t} + \frac{\lambda_1^{(s_0-1)} + \kappa_1 s_0}{\lambda_1^{(s_0-1)} - \lambda_2^{(s_0-1)}} e^{\lambda_2^{(s_0-1)} t}$$

$$P_{0,s_0-1} = -\frac{(\lambda_2^{(s_0-1)} + \kappa_1 s_0)(\lambda_1^{(s_0-1)} + \kappa_1 s_0)}{(\lambda_1^{(s_0-1)} - \lambda_2^{(s_0-1)})\kappa_{-1}} e^{\lambda_1^{(s_0-1)} t} +$$

$$+ \frac{(\lambda_2^{(s_0-1)} + \kappa_1 s_0)(\lambda_1^{(s_0-1)} + \kappa_1 s_0)}{(\lambda_1^{s_0-1} - \lambda_2^{(s_0-1)})\kappa_{-1}} e^{\lambda_2^{(s_0-1)} t}.$$

Kísérleti eredményekkel való összehasonlításra sokat használják az első termék-molekula keletkezéséhez szükséges várakozási időt (τ_w) [15]. Ennek várható értékét a következő képlet adja meg:

$$\langle \tau_w \rangle = \int_0^\infty t \left(-\frac{dP_{1,s_0}(t)}{dt} - \frac{dP_{0,s_0-1}(t)}{dt} \right) dt = \frac{\kappa_1 s_0 + \kappa_{-1} + \kappa_2}{\kappa_1 \kappa_2 s_0}.$$

Ez az egyenlet a korábban, a determinisztikus megközelítésnél már definiált K_M Michaelis-állandó és $[S]$ szubsztrátkoncentráció felhasználásával érdekes új alakra írható át:

$$\frac{1}{\langle \tau_w \rangle} = \frac{k_2 [S]}{K_M + [S]}. \quad (15)$$

A (15) összefüggést a szakirodalom időnként egyenzimmolekulás Michaelis-Menten-egyenletként említi [15], ezzel is felhívva a figyelmet a (7) determinisztikus Michaelis-Menten-egyenlettel való analógiára. Ez az analógia azonban ebben az esetben pusztán véletlen egybeesésnek tartható. A determinisztikus kinetikában a (7) egyenlet csak a *steady-state* kezelésmód bevezetése után jön létre, vagyis érvényessége a sebességi állandók lehetséges kombinációinak kis részére korlátozódik. Ezzel szemben a sztochasztikus (15) egyenlet a sebességi állandók értékére vonatkozó semmiféle megkötést nem feltételez. A (15) egyenletet nézve akár még kísértést is érezhetünk arra, hogy a számlálóban e_0 -val való szorzással kiterjesszük egynél több enzimmolekulát tartalmazó rendszerekre, azonban az általánosítás valójában így nem lehetséges, ebben az esetben az összefüggések már sokkal bonyolultabbá válnak [7].

A sztochasztikus modellekben is lehetséges a determinisztikus *steady-state* közelítésnek megfelelő módszert használni [7, 21, 26, 28]. Ennek egy előnyös módszere annak feltételezése, hogy a $P_{e,s}$ előállítható egy csak a termék-molekulák számától ($p = s_0 - s + e - e_0$) és az időtől függő R_p függvény, illetve egy csak az állapot-ra jellemző $S_{e,s,p}$ mennyiség szorzataként (itt e_s az enzim-szubsztrát adduktumok molekuláinak száma, $e_s = e_0 - e$):

$$P_{e,s} = R_p S_{e,s,p}.$$

Ezzel az új mennyiséggel a (11) alapegyenletet a következő formába alakítjuk át:

$$\frac{dR_p}{dt} = k_2 a_{p-1} R_{p-1} - k_2 a_p R_p.$$

Az egyenletben szerepel az a_p új mennyiség, amely az ES molekulák számának várható értéke akkor, ha éppen $p (= s_0 - s - e_0 + e)$ termék molekula (P) van jelen a rendszerben. Az R_p függvényről könnyen belátható, hogy azon $P_{e,s}$ valószínűségek összege, amelyekhez azonos p molekulaszám tartozik:

$$R_p = \sum_{i=0}^{\min(e_0, s_0 - p)} P_{i, s_0 + e - p - e_0}.$$

Az a_p -vel jelölt várható értéket S -ből kiindulva lehet meghatározni:

$$a_p = \sum_{i=0}^{\min(e_0, s_0 - p)} i S_{i,p}.$$

Az ilyen közelítést használó munkák eltérő képleteket használnak S és a_p számolására. A legegyszerűbb megközelítéseknél S használata nem is feltétlenül szükséges, ekkor a_p (nem kifogástalan) számolási módszere a determinisztikus Michaelis–Menten-egyenleten alapul [26, 21]:

$$a_p = \frac{e_0 (s_0 - p)}{s_0 - p + \frac{\kappa_{-1} + \kappa_2}{\kappa_1}}.$$

Az eddig publikáltak közül talán az a legmegalapozottabb gondolatmenet, amelyben S értékeit feltételes egyensúlyi valószínűségeként adjuk meg a statisztikus termodinamika eszköztárával, állapotösszegeken keresztül [7]:

$$S_{i,p} = \frac{\binom{e_0}{i} \frac{(s_0 - p)!}{(s_0 - p - i)!} \left(\frac{\kappa_{-1} + \kappa_2}{\kappa_1} \right)^{-i}}{\sum_{i=0}^{\min(e_0, s_0 - p)} \binom{e_0}{i} \frac{(s_0 - p)!}{(s_0 - p - i)!} \left(\frac{\kappa_{-1} + \kappa_2}{\kappa_1} \right)^{-i}}.$$

Az a_p mennyiség számolására alkalmas képlet így a következő alakot ölti:

$$\begin{aligned} a_p &= \frac{\sum_{i=1}^{\min(e_0, s_0 - p)} i \binom{e_0}{i} \frac{(s_0 - p)!}{(s_0 - p - i)!} \left(\frac{\kappa_{-1} + \kappa_2}{\kappa_1} \right)^{-i}}{\sum_{i=0}^{\min(e_0, s_0 - p)} \binom{e_0}{i} \frac{(s_0 - p)!}{(s_0 - p - i)!} \left(\frac{\kappa_{-1} + \kappa_2}{\kappa_1} \right)^{-i}} = \\ &= \min(e_0, s_0 - p) \frac{{}_1F_1 \left(-\min(e_0, s_0 - p) + 1, |e_0 - s_0 + p| + 1, -\frac{\kappa_{-1} + \kappa_2}{\kappa_1} \right)}{{}_1F_1 \left(-\min(e_0, s_0 - p), |e_0 - s_0 + p| + 1, -\frac{\kappa_{-1} + \kappa_2}{\kappa_1} \right)}. \end{aligned}$$

Az ${}_1F_1$ jelölés a konfluens hipergeometrikus függvényt jelenti. Maga a képlet egyébként független forrásból, a másodrendű reakciók sztochasztikus leírásából is ismeretes [22]. Az a_p mennyiség szórása a következőképp adható meg:

$$\sigma_{a_p} = \sqrt{\frac{a_p K_M}{V N_A} - (e_0 - a_p)(s_0 - p - a_p)}.$$

Az enzim-szubsztrát adduktumok (ES) és termékek (P) molekulaszámának várható értéke és szórása (természetesen ezek az idő függvényei) is egyszerűen kiszámolhatók:

$$\begin{aligned} \langle es \rangle &= \sum_{i=0}^{s_0} a_i R_i \\ \sigma_{es} &= \sqrt{\sum_{i=0}^{s_0} [(\sigma_{a_i}^2 + [a_i]^2) R_i] - [\langle es \rangle]^2} \\ \langle p \rangle &= \sum_{i=0}^{s_0} i R_i \\ \sigma_p(t) &= \sqrt{\sum_{i=0}^{s_0} i^2 R_i - \left(\sum_{i=0}^{s_0} i R_i \right)^2}. \end{aligned}$$

Az első termék molekula keletkezéséig eltelő várakozási idő (τ_w) várható értéke is megadható ezzel a közelítéssel, s ez jóval összetettebb, mint a (15) egyenlet egyszerű szorzása e_0 -lal:

$$\langle \tau_w \rangle = \frac{1}{\kappa_2 a_0}.$$

A (11) alapegyenlet másféle közelítő megoldása adható meg a binomiális közelítés segítségével [17]. Ennek lényege, hogy a különböző részecskék eloszlását mindig binomiálisnak tekintjük:

$$\begin{aligned} P_{e,s}^{approx} &= \binom{w}{e_0 - e} (1 - \epsilon)^{w+e-e_0} \epsilon^{e_0-e} \\ &\binom{s_0}{s + e_0 - e} \pi^{s+e_0-e} (1 - \pi)^{s_0-s-e_0+e}. \end{aligned} \quad (16)$$

Ebben a képletben két új időfüggvény szerepel, π és ϵ . Az előbbi definíciója:

$$\pi = \frac{\kappa_{-1} + \kappa_2}{s_0 \kappa_1} W \left(\frac{s_0 \kappa_1}{\kappa_{-1} + \kappa_2} \exp \left(\frac{\kappa_1 (s_0 - e_0 \kappa_2 t)}{\kappa_{-1} + \kappa_2} \right) \right).$$

A W jel a (9) képlethez hasonlóan a Lambert W -függvényt jelenti. Az ϵ függvényt csak több egymást követő egyenlettel lehet viszonylag tömören leírni, ezekben megadjuk a (16) egyenletben szereplő w mennyiség definícióját is:

$$w = \min(e_0, e_0 + s - e)$$

$$\epsilon = \frac{\lambda_1}{e_0} \frac{1 - e^{(\lambda_2 - \lambda_1)\kappa_1 t}}{\lambda_2/\lambda_1 - e^{(\lambda_2 - \lambda_1)\kappa_1 t}}$$

$$\lambda_1 = \frac{e_0 + \pi s_0}{2} + \frac{\kappa_{-1} + \kappa_2}{2\kappa_1} + \frac{\sqrt{(e_0 + \pi s_0 + \kappa_{-1} + \kappa_2)^2 - 4e_0\pi s_0}}{2}$$

$$\lambda_2 = \frac{e_0 + \pi s_0}{2} + \frac{\kappa_{-1} + \kappa_2}{2\kappa_1} - \frac{\sqrt{(e_0 + \pi s_0 + \kappa_{-1} + \kappa_2)^2 - 4e_0\pi s_0}}{2}.$$

Az eredeti közleményben [17] szereplő részletes analízis szerint ezek a közelítő képletek minden, a gyakorlat számára fontos paraméterérték mellett a tényleges megoldás elfogadható közelítését adják.

Hivatkozások

- [1] ARÁNYI, P., TÓTH, J.: *A full stochastic description of the Michaelis-Menten reaction for small systems*. Acta Biochim. Bioph. Acad. Sci. Hung. **12**, 375–388 (1977)
- [2] BARTHOLOMAY, A. F.: *A stochastic approach to statistical kinetics with application to enzyme kinetics*. Biochem. **1**, 223–230 (1962)
- [3] BARTHOLOMAY, A. F.: *Enzymatic reaction-rate theory: a stochastic approach*. Ann. New York Acad. Sci. **96**, 897–912 (1962)
- [4] BODENSTEIN, M.: *Die Zersetzung des jodwasserstoffgases im licht*. Z. Phys. Chem. **22**, 23–33 (1897)
- [5] BRIGGS, G. E., HALDANE, J. B. S.: *A note on the kinematics of enzyme action*. Biochem. J. **19**, 338–339 (1925)
- [6] CALDER, M. S., SIEGEL, D.: *Properties of the Michaelis–Menten mechanism in phase space*. J. Math. Anal. Appl. **339**, 1044–1064 (2008)
- [7] DÓKA, É., LENTE, G.: *Stochastic mapping of the Michaelis–Menten mechanism*. J. Chem. Phys. **136**, 054111 (2012)
- [8] EDMAN, L., FÖLDES-PAPP, Z., WENNMALM, S., RIGLER, R.: *The fluctuating enzyme: a single molecule approach*. Chem. Phys. **247**, 11–22 (1999)
- [9] ENGLISH, B. P., MIN, W., VAN OIJEN, A. M., LEE, K. T., LUO, G., SUN, H., CHERAYIL, B., KOU, S. C., XIE, X. S.: *Ever-fluctuating single enzyme molecules: Michaelis–Menten equation revisited*. Nat. Chem. Biol. **2**, 87–94 (2006)

- [10] ÉRDI, P., TÓTH, J.: *A kémiai reakciókinetika fluktuáció-disszipáció tételéről, II.* Magyar Kémiai Folyóirat 1977, **83**, 50–51 (1977)
- [11] ÉRDI, P., ROPOLYI, L.: *A kémiai reakciókinetika fluktuáció-disszipáció tételéről, III.* Magyar Kémiai Folyóirat **84**, 272–274 (1978)
- [12] ÉRDI P., TÓTH, J.: *Mathematical models of chemical reactions. Theory and applications of deterministic and stochastic models.* Manchester University Press (1989)
- [13] ÉRDI, P., LENTE, G.: *Stochastic Chemical Kinetics – Theory and (Mostly) Systems Biological Applications.* Springer (2014)
- [14] JACHIMOWSKI, C. J., MCQUARRIE, D. A., RUSSELL, M. S.: *A stochastic approach to enzyme-substrate reaction.* Biochemistry. **3**, 1732–1736 (1964)
- [15] KOU, S. C., CHERAYIL, B. J., MIN, W., ENGLISH, B. P., XIE, S. X.: *Single-molecule Michaelis-Menten equations.* J. Phys. Chem. B **109**, 19068–19081 (2005)
- [16] LENTE, G.: *Abszolút aszimmetrikus reakciók értelmezése.* Magyar Kémikusok Lapja **66**, 41–42 (2011)
- [17] LENTE, G.: *A binomial stochastic kinetic approach to the Michaelis-Menten mechanism.* Chem. Phys. Lett. **568-569**, 167–169 (2013)
- [18] LENTE, G.: *Deterministic Kinetics in Chemistry and Systems Biology.* Springer (2015)
- [19] LU, H. P., XUN, L., XIE, X. S.: *Single-molecule enzymatic dynamics.* Science **282**, 1877–1882 (1998)
- [20] MAIOLI, M., VÁRADI, G., KURDI, R., LUCIANO, L., PÁLYI, G.: *Limits of the Classical Concept of Concentration.* J. Phys. Chem. B **120**, 7438–7445 (2016)
- [21] MASTNY, E. A., HASELTINE, E. L., RAWLINGS J. B.: *Two classes of quasi-steady-state model reductions for stochastic kinetics.* J. Chem. Phys. **127**, 094106 (2007)
- [22] MCQUARRIE, D. A.: *Stochastic Approach to Chemical Kinetics.* J. Appl. Prob. **4**, 413–478 (19677)
- [23] MICHEL, D., RUELLE, P.: *Seven competing ways to recover the Michaelis–Menten equation reveal the alternative approaches to steady state modeling.* J. Math. Chem. **51**, 2271–2284 (2013)
- [24] MICHAELIS, L., MENTEN, M. L.: *Kinetics of invertase action.* Biochem. Z. **49**, 333–369 (1913)
- [25] QIAN, H., ELSON, E. L.: *Single-molecule enzymology: stochastic Michaelis–Menten kinetics.* Biophys. Chem. **101-102**, 565–576 (2002)
- [26] RAO, C. V., ARKIN, A. P.: *Stochastic chemical kinetics and the quasi-steady-state assumption: Application to the Gillespie algorithm.* J. Chem. Phys. **118**, 4999–5010 (2003)
- [27] RÉNYI, A.: *Kémiai reakciók tárgyalása a sztochasztikus folyamatok elmélete segítségével.* MTA Alkalmazott Matematikai Intézet Közleményei **2**, 83–101 (1953)
- [28] SANFT, K. R., GILLESPIE, D. T., PETZOLD, L. R.: *Legitimacy of the stochastic Michaelis-Menten approximation.* IET. Syst. Biol. **5**, 58–69 (2011)

- [29] SCHNELL, S., MENDOZA, C.: *A closed form solution for time-dependent enzyme kinetics*. J. Theor. Biol. **187**, 207–212 (1997)
- [30] STAFF, P. J.: *A stochastic development of the reversible Michaelis-Menten mechanism*, J. Theor. Biol. **27**, 221–232 (1970)
- [31] SVOBODA, K., MITRA, P. P., BLOCK, S. M.: *Fluctuation analysis of motor protein movement and single enzyme kinetics*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **91**, 11782–11786 (1994)
- [32] TÓTH, J., ÉRDI, P.: *A kémiai reakciókinetika fluktuáció-disszipáció tételéről, I*. Magyar Kémiai Folyóirat **83**, 47–49 (1977)
- [33] TÓTH, J., ÉRDI, P.: *A formális reakciókinetika modelljei, problémái és alkalmazásai*. A kémia újabb eredményei **41**, 226–352, Akadémiai Kiadó (1978)
- [34] TÓTH, J., ÉRDI, P., TÖRÖK, L. T.: *A Poisson-eloszlás jelentősége összetett kémiai reakciók sztochasztikus modelljében*. Alkalmazott Matematikai Lapok **9**, 175–195 (1983)
- [35] TURÁNYI, T.; TÓTH, J.: *Comments to an article of Frank-Kamenetskii on the Quasi-Steady-State Approximation*. Acta Chim. Hung. Mod. Chem. **129**, 903–914 (1992)
- [36] TURNER, T. E., SCHNELL, S., BURRAGE, K.: *Stochastic approaches for modelling in vivo reactions*. Comput. Biol. Chem. **28**, 165–178 (2004)
- [37] YI, M., LIU, Q.: *Michaelis–Menten mechanism for single-enzyme and multi-enzyme system under stochastic noise and spatial diffusion*. Physica A **389**, 3791–3803 (2010)

LENTE GÁBOR

Debreceni Egyetem

Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék

4032 Debrecen, Egyetem tér 1.

lente@science.unideb.hu

DETERMINISTIC AND STOCHASTIC MODELS OF MICHAELIS–MENTEN KINETICS

GÁBOR LENTE

This short review article gives a summary of the mathematical models used to describe the enzymatic acceleration effects on certain chemical reactions. Michaelis–Menten kinetics is usually interpreted by a reversible adduct formation reaction between the enzyme and its substrate, followed by the irreversible formation of the product. This chemical scheme gives rise to different quantitative mathematical models. In the deterministic approach, simultaneous non-linear ordinary differential equations are used to characterize the concentrations of the four participating species. The possibilities of obtaining exact analytical or approximate, but explicit solutions are discussed. The stochastic approach defines a huge set of linear ordinary differential equations for the probabilities of possible states. A full symbolic solution is given for the case when there is only a single enzyme molecule present in the system, and a number of approximation methods are discussed for more complicated initial conditions.