

Biyolojik-Kimyasal Reaksiyonların Benzetimi İçin Monte Carlo Teknikleri

Proje No: 109E209

Yrd.Doç.Dr. Mustafa A. ALTINKAYA
Doç.Dr. Fikret İNAL
Doç. Dr. Yusuf BARAN

MAYIS 2012
İZMİR

ÖNSÖZ: Bu projede biyolojik-kimyasal reaksiyonların stokastik modellenmesinde Brown hareketine dayalı yöntemin Levy uçuşuna genelleştirilmesi önerilmiş, önerilen yöntemin enzimatik biyokimyasal reaksiyonlardaki başarımı diğer yöntemlerle karşılaştırılmıştır. Proje ikili işbirlikleri çerçevesinde TÜBİTAK ve İtalyan CNR kuruluşları tarafından desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	ii
İÇİNDEKİLER	iii
TABLO VE ŞEKİLLER LİSTESİ	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
BÖLÜM 1 Giriş	1
BÖLÜM 2. Kimyasal Reaksiyonların Stokastik Modellenmesi	3
2.1 Kimyasal Ana Denklem	3
2.2 Stokastik Benzetim Algoritması	4
2.3 Tau-Atlama Algoritması	4
2.4 Langevin Atlaması	5
2.5 Diğer Yöntemler	6
BÖLÜM 3 Kimyasal Langevin-Levy Denklemi	7
BÖLÜM 4 KLLD'nin Biyokimyasal Reaksiyonlarda Uygulanması	9
4.1 Michaelis-Menten sistemi	9
4.1.1 Benzetim Çalışmaları	12
4.2 β -Galaktosidazlarla Oligosakkarit Sentezi	13
4.2.1 Kinetik Model	14
4.2.2 Benzetim Çalışmaları	16
BÖLÜM 5. Sonuçlar ve Öneriler	18
REFERANSLAR	19

TABLO VE ŞEKİLLER LİSTESİ

Tablo 1. β -galaktosidazla oligosakarit oluşturmak için reaksiyon mekanizması	14
Şekil 1. RHD, SBA, KLD ve KLLD ($\alpha=1.9$) ile maltozun glukoza hidrolizinin zaman eğrilerinin modellenmesi ($V = 5 \times 10^{-18} l$).	12
Şekil 2. RHD, SBA, KLD ve KLLD ($\alpha=1.9$) ile maltozun glukoza hidrolizinin zaman eğrilerinin modellenmesi ($V = 5 \times 10^{-19} l$).	13
Şekil 3. RHD, SBA, KLD ve KLLD ($\alpha=1.9$) ile Lu'dan Fru sentezi reaksiyonunda molekül sayılarının zamanla değişimi, ($T = 333 K$, $[Lu]_0 = 0.73 M$, $V = 5 \times 10^{-20} l$).	15
Şekil 4. RHD, SBA, KLD ve KLLD ($\alpha=1.9$) ile Lu'dan Fru sentezi reaksiyonunda molekül sayılarının zamanla değişimi, ($T = 333 K$, $[Lu]_0 = 0.73 M$, $V = 5 \times 10^{-21} l$).	16

ÖZET

Kimyasal reaksiyonların stokastik modellemesi, reaksiyondaki molekül sayılarının az olduğu durumda, her bir molekülün ne zaman reaksiyona gireceğinin tam olarak belirlenememesi nedeniyle yalnızca makroskopik ölçekte doğru olan gerekirci yöntemle göre daha başarılıdır. Gillespie'nin geliştirdiği stokastik benzetim algoritması (SBA) Monte Carlo teknikleriyle sistemdeki bir sonraki reaksiyonun hangi reaksiyon olacağını ve ne zaman gerçekleşeceğini belirlemektedir. Ancak SBA'nın molekül sayıları arttıkça işlem yoğunluğu çok artmaktadır. Bu durumda, sistemdeki her reaksiyonu her molekülün mevcut konsantrasyonunu koruması koşulunu bozmayacak miktarda çok kez ateşleyerek, reaksiyon sistemindeki her molekülün miktarını τ periyodu ile güncelleyen tau-atlama algoritması işlem yoğunluğunu önemli ölçüde azaltmaktadır. Her bir reaksiyon kanalının tau aralığında ateşlenme adedini belirleyen Poisson değişken, reaksiyona girme eğilimi ile tau'nun çarpımı çok büyüdüğünde Gauss gibi davranmaya başlar. Bu durumda reaksiyondaki konsantrasyonları belirleyen stokastik türev denklemi Kimyasal Langevin Denklemi'ne (KLD) karşılık gelir. KLD'deki Gauss sürecini yerine Levy (alfa) - kararlı daha dürtün bir sürecin konması, KLD'nin tanımladığı Brown hareketini Levy uçuşuna dönüştürür. Kimyasal Langevin-Levy Denklemi (KLLD) olarak tanımlanan bu denklem az sayıdaki molekülün bulunduğu biyokimyasal reaksiyonları daha iyi modelleyebilir. Maltozdan glukoz elde edilen bir Michaelis-Menten sistemi ve daha çok reaksiyon içeren laktuloz hidrolizi sırasındaki enzimatik transgalaktosilasyon reaksiyonlarında KLLD'nin SBA ve KLD'ye kıyasla daha fazla gerekirci eğriden sapmaya neden olduğu ancak aynı ortalama davranışın takip edildiği görülmektedir. Bu çalışma biyokimyasal reaksiyon benzetiminde KLLD'ye dayalı tau-atlamanın kullanılabilirliğini göstermiştir.

Anahtar Sözcükler: Kimyasal Reaksiyon Benzetimi, Tau-Atlama Algoritması, Kimyasal Langevin Denklemi, Levy (Alfa)-Kararlı Süreçler

ABSTRACT

When the number of molecules in a reaction is small, one cannot determine the time each molecule takes part in a reaction. In those cases, stochastic modeling of chemical reactions are superior with respect to the deterministic method which is only correct in macroscopic scale. Using Monte Carlo techniques, the stochastic simulation algorithm (SSA) developed by Gillespie, determines which reaction and at what time is going to occur next. However, the computational requirement of SSA becomes prohibitive when the number of molecules becomes large. In that case, the tau-leaping algorithm which fires each reaction so many times that will not disturb the condition each molecule maintains its concentration and which updates the number of the molecules after each period of tau, decreases the computational complexity considerably. The Poisson random variable determining the number of firings for each reaction channel, behaves like a Gaussian random variable when the product of the propensity function and tau becomes very large. In that case, the stochastic differential equation determining the concentrations in the system corresponds to Chemical Langevin Equation (CLE). Replacing the Gauss process of CLE with a more impulsive Levy (alpha)-stable process makes the Brownian movement defined by the CLE transform into a Levy flight. This equation which is defined as a Chemical Langevin-Levy Equation (CLLE) might model the biochemical reactions with small number of molecules more successfully. In a Michaelis Menten system where maltose is used to produce glucose and in enzymatic transgalactosylation reactions during lactulose hydrolysis which include more reaction channels, CLLLE results in larger deviations from the deterministic curve compared to SSA and CLE but it also follows the same average path. This work shows that CLLLE-based tau-leaping can be used in simulating biochemical reactions.

Keywords: Simulation of Chemical Reactions, Tau-Leaping Algorithm, Chemical Langevin Equation, Levy (alpha)-stable Processes

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Günümüzde öne çıkan bir araştırma alanı biyoinformatiktir. Özellikle ilaç firmaları direk olarak laboratuvar deneyleri yapmak yerine problemlerin çözümünü bilgisayar modellemesi ve benzetimleriyle olanaklı kılan yöntemlere yatırım yapmaktadırlar. Biyoinformatikte en çok çalışılan konular genlerin makro özellikleriyle ilintili olan gen mikrodizi analizi, protein katlanması gibi konulardır. Bu problemlerin ve alınan sonuçların önemine karşın, genetik fonksiyonları etkileyen ve özellikleri belirleyen, atomların ve moleküllerin etkileşimini incelemek genetik verilerle ilgili daha temel bir yaklaşımdır. Biyoinformatikle ilgili ve henüz pek gelişmemiş bir alan kemo-informatiktir (BAJORATH, 2004). Kemo-informatik özellikle biyolojiyle ilgili molekül etkileşimlerini enformasyon teorisine dayalı işlemsel yöntemlerle araştırarak, deneysel olarak gerçekleşmesi zor veya gözlenmesi aşırı karmaşık kimyasal reaksiyonların bilgisayarla benzetimini ve çalışılmasını yapar.

Stokastik modelleme kimyasal süreçleri temel matematiksel bir yaklaşım olan rasgele süreçlerden yararlanarak açıklayan önemli bir çerçeve oluşturmaktadır. Kimyasal reaksiyonlarda stokastik modellerin kullanılması destekleyen başlıca üç argümandan söz edebiliriz. Bunlardan ilki bu modellerin, molekül miktarlarının ayrı karakterli olmasını ve reaksiyon gerçekleşmesinin rasgele doğasını dikkate almalarıdır. İkinci argüman bu modellerin termodinamik teorisine uyumlu olmasıdır. Son olarak ise “küçük sistemler” ve kararsız reaksiyonlar bu modeller ile betimlenebilmektedirler (TURNER, 2004). Stokastik yaklaşım mikroskopik moleküler çarpışmaların rasgele doğasını kullanmakta ve reaksiyon kinetiği için olasılıksal bir model oluşturmaktadır (QIAN, 2002). Bu yaklaşım *in vivo* (canlı üzerinde) koşullar için tipik olan küçük, heterojen ortamlarla doğal olarak uyumludur (KUTHAN, 2001).

Biyokimyada reaksiyon hızlarını belirleyen temel deneysel kanun kütle hareket kanunudur. Gerekirci (deterministik) yaklaşımın temel dayanağı olan bu kanun, homojen serbest bir ortamda gerçekleşen reaksiyonlarda reaksiyon hızının reaksiyona giren maddelerin konsantrasyonlarıyla orantılı olduğunu söyler. Laboratuvar koşullarında gerçekleşen (*in vitro*) deneylerden çıkarılan gerekirci yaklaşımın deneysel doğasıyla tezat oluşturacak şekilde, ilk kez Kramers tarafından (KRAMERS, 1940) uygulanan kimyasal reaksiyonların stokastik yaklaşımla ele alınması fiziksel olarak daha gerçekçidir. Stokastik modellemenin temel prensibi molekül reaksiyonlarının, bir hacim içinde bir sonraki reaksiyonun tam olarak ne zaman gerçekleşeceğini kesin olarak söyleyebilmenin imkansız olması nedeniyle aslında rasgele süreçler olmalarıdır. Çok sayıda etkileşen molekülün bulunduğu makroskopik sistemlerde, rasgelelilik ortalanarak toplam makroskopik durumun büyük doğrulukla öngörülür olmasını sağlar. Böyle büyük ölçekli rasgele sistemler için gerekirci yaklaşım benimsenebilir. Bununla beraber düşük miktarda tepkimeye giren madde bulunan küçük ölçekli hücrel reaksiyon ortamları gibi *in vivo* koşullarda gerekirci yaklaşım geçersiz olur.

Gillespie'nin çalışmaları öncesinde, kimyasal tepkimeye giren moleküller sisteminin zamanla değişimini hesaplamanın klasik yöntemi bu sistemin kimyasal ana denklemini (KAD) kurmak ve çözmek şeklindeydi (McQUARRIE, 1967). Böylece tüm reaksiyon sistemi, değişkenleri olasılıklar olan bir türev denklemi kümesi olarak tanımlanıyordu. Bu türev denklemlerinin çözümü genel olarak zordur. Gillespie'nin önerdiği, sistemin tüm ara reaksiyonlarının ayrı ayrı benzetiminin yapıldığı ve sonra istatistiksel yöntemle

konsantrasyonların bulunduğu stokastik benzetim algoritması (SBA) önemli bir kolaylık getirmiştir (GILLESPIE, 1976). Böylece stokastik benzetimin amacı, sistemdeki her bir maddenin molekül sayılarından oluşan durum vektörü $\mathbf{X}(t)$ 'nin başlangıç durumu $\mathbf{X}(0)$ 'dan sonraki değişimini tanımlamak olarak belirlenir.

SBA Monte Carlo teknikleri ile sistemdeki maddelerin hangi reaksiyonu ve ne kadar süre sonra yapacağını belirlemek üzere ortak dağılımlarına göre bir (τ, j) çifti belirlemektedir. Burada, τ önceki reaksiyondan şimdiki reaksiyona kadar geçen süreyi, j ise hangi reaksiyonun gerçekleştiğini göstermektedir. Daha sonra, SBA zamanı τ kadar ilerletir ve durum vektörünü günceller. Son olarak her bir reaksiyon kanalının ateşlenme olasılığını veren eğilim fonksiyonları hesaplanır. Böylece gerçekleşen $\mathbf{X}(t)$ sürecinde bir döngü tamamlanmış olur.

Sistemdeki molekül sayısı çoksa veya eğilim fonksiyonları büyükse SBA'nın işlem yoğunluğu çok artar. Bu durumda sistemin zaman eksenini birbirini izleyen aralıklara bölerek yalnızca her bir zaman aralığında her bir reaksiyon kanalının kaç kez ateşlendiğini belirleyen τ -atlama yöntemi (GILLESPIE, 2001) işlem miktarını önemli ölçüde azaltmaktadır. Atlama aralığı, τ , sistemdeki herhangi iki molekülün reaksiyona girme eğilimini farkedilir ölçüde (makroskopik olarak ihmal edilebilirden yüksek düzeyde) değiştirmeyecek şekilde seçilir. Böylece her bir reaksiyon kanalının tepkimeye girme eğilimi sabit kalır ve kanallar bu zaman aralığı içinde diğer kanallardan bağımsız olarak ateşlenir. Her bir reaksiyon kanalının bu zaman aralığında ateşlenme adedi bir Poisson değişkendir. Bu Poisson değişken reaksiyona girme eğilimi ile τ 'nin çarpımı çok büyüdüğünde yaklaşık olarak Gauss bir değişken gibi davranmaya başlar. Başka bir deyişle Poisson yerine Gauss dağılımlı değişkenler üretilebilir. SBA'yı tanımlayan ayrık Markov sürece, sürekli bir Markov süreç ile yaklaşılan bu işlem Kimyasal Langevin Denklemi'ne (KLD) karşılık gelir. Bu yüzden Gauss dağılımlı rasgele değişkenlerle gerçekleştirilen atlama *Langevin atlaması* yöntemi olarak anılır ve Brown hareketine dönüşür.

Bu çalışmada Langevin atlaması Gauss dağılımlı bir gürültü terimi yerine Levy (alfa)-kararlı bir gürültü terimiyle yapılmaya geliştirilmektedir. Raporun 2. bölümünde kimyasal reaksiyonların stokastik modellemesi için genel kabul görmüş yöntemler anlatılmaktadır. 3. bölümde Brown hareketini Newton'un hareket yasası ile açıklayan KLD anlatılmakta ve bu denklem Kimyasal Langevin Levy Denklemine (KLLD) genelleştirilmektedir, 4. bölümde ise KLLD enzimatik biyokimyasal reaksiyonlara uygulanmaktadır. Önce az sayıda farklı reaksiyon içeren maltozdan glukoz hidrolizi ele alınmakta, daha sonra laktuloz hidrolizi sırasındaki enzimatik transgalaktosilasyon reaksiyonlarının benzetimi yapılmaktadır. Son bölümde bu çalışmanın sonuçları anlatılmakta ve gelecek çalışmalar için öneriler yapılmaktadır.

BÖLÜM 2

KİMYASAL REAKSİYONLARIN STOKASTİK MODELLENMESİ

2.1 Kimyasal Ana Denklem

Gillespie'nin türettiği stokastik model Newton'un temel fizik ve termodinamik kuramlarını kullanarak eğilim (*İng.* propensity) fonksiyonu olarak adlandırdığı ifadeye ulaşır (GILLESPIE, 1992). Eğilim fonksiyonu, $(t, t + dt)$ zaman aralığında j reaksiyonunun gerçekleşme olasılığı a_j 'yi

$$a_j dt = h_j c_j dt \quad (1)$$

olarak vermektedir. Burada M adet reaksiyona gelişigüzel seçilen bir sıra numarası j ($1 \leq j \leq M$) verilmekte ve j reaksiyonuna giren maddelerin olası kombinasyonu h_j ile gösterilmektedir. Örneğin S_i maddesinin molekül adedi X_i ile gösteriliyorsa ve k reaksiyonunda S_1 ve S_2 maddeleri tepkimeye giriyorsa, $h_k = X_1 X_2$ olur. Reaksiyon hız sabiti, c_j , reaksiyondaki moleküllerin yarıçaplarına ve bunların ortalama görelî hızlarına bağımlıdır. Böylelikle sistemin sıcaklığının ve moleküllerin kütlelerinin direk bir fonksiyonudur (GILLESPIE, 1977). Bu nicelikler ya iyi bilinmektedir ya da kolaylıkla ölçülebilir. Kısacası verilen bir kimyasal sistem için eğilim fonksiyonları, a_j , kolaylıkla bulunabilir. Aslında bunlar ya direk karıştırma yoluyla ya da reaksiyonla sonuçlanmayan molekül çarpışmalarının reaksiyonla sonuçlananlardan çok çok fazla olması sayesinde "iyi karışmış" durumdaki kimyasal sistemler için geçerli olan, kimyasal kinetiğin stokastik olarak ifade edilmesinin temel hipotezini oluştururlar (GILLESPIE, 1976).

Kimyasal reaksiyonları modellemek üzere öncelikle, $\mathbf{X} \equiv (X_1, X_2, \dots, X_N)$ maddelerin molekül sayılarını gösteren vektör olarak tanımlandığında, t anında V hacminde S_i maddesinden X_i adet ($1 \leq i \leq N$) molekül olması olasılığını, büyük olasılık fonksiyonu, $P(\mathbf{X}; t)$, olarak tanımlarız.

Ayrık zamanda sonsuz küçük zaman aralığı, $(t, t + dt)$ süresince 0 ya da 1 adet reaksiyon gerçekleşebileceğini düşünürsek $t + dt$ anında \mathbf{X} durumunda olunmasına olanak veren yalnızca $M + 1$ adet farklı t anı durumu vardır. Bu durumda $t + dt$ anındaki büyük olasılık fonksiyonunu şu şekilde yazabiliriz:

$$P(\mathbf{X}; t + dt) = P(\mathbf{X}; t) P(dt \text{ süresince durum değişikliği olmaması}) \quad (2)$$

$$+ \sum_{j=1}^M P(\mathbf{X} - \mathbf{v}_j; t) P(dt \text{ süresince } \mathbf{X}'\text{te durum değişikliği olması}).$$

Burada \mathbf{v}_j vektörü, S_i maddelerinin ($1 \leq i \leq N$) molekül adedinde j reaksiyonu ile oluşan \mathbf{X} durum vektöründeki değişimi göstermektedir. Başka deyişle j reaksiyonu sonrasında $\mathbf{X} \rightarrow \mathbf{X} + \mathbf{v}_j$ olur. Limitte, $\lim dt \rightarrow 0$, sistemin stokastik dinamiğini betimleyen kimyasal ana denkleme (KAD)

$$\frac{\partial P(\mathbf{X}; t)}{\partial t} = \sum_{j=1}^M a_j(\mathbf{X} - \mathbf{v}_j) P(\mathbf{X} - \mathbf{v}_j; t) - a_j(\mathbf{X}) P(\mathbf{X}; t) \quad (3)$$

ulaşılır. KAD analitik ya da nümerik olarak ender durumlarda çözülebilmektedir.

2.2 Stokastik Benzetim Algoritması

Diğer bir kesin stokastik fonksiyon sonraki reaksiyonun olasılık yoğunluk fonksiyonu $P(\tau, j | \mathbf{X})$ 'dir. $P(\tau, j | \mathbf{X})d\tau$, t anındaki durum değişkeni \mathbf{X} iken ilgili hacimdeki sonraki reaksiyonun $(t + \tau, t + \tau + d\tau)$ zaman aralığında gerçekleşmesi ve R_j reaksiyonu olması olasılığı olarak tanımlanır.

Gillespie tarafından geliştirilen SBA (GILLESPIE, 1977) t_0 anında başlangıç durumunda sistemi başlatır ve rasgele olarak bir sonraki reaksiyonun hangi reaksiyon olacağını ve gerçekleşmesinin ne kadar süre sonra olacağını bu zaman ve reaksiyon sayısının ortak dağılımı, $P(\tau, j | \mathbf{X}(t_0))$ 'ya göre belirler. Daha sonra R_j reaksiyonu gerçekleşmesine göre tüm sistemin durumunu günceller ve tüm bu işlemleri tekrarlar. Bu sefer sonraki reaksiyona kadar geçen süre ve bunun hangi reaksiyon olacağını yeni güncellenmiş durumdan türetilen $P(\tau, j | \mathbf{X}(t_1))$ dağılımından çeker. Bu durum $(t, t + \tau)$ zaman aralığında reaksiyon gerçekleşmemesi olasılığı, $P_0(\tau | \mathbf{X})$, ile $(t + \tau, t + \tau + d\tau)$ zaman aralığında R_j reaksiyonunun gerçekleşmesi olasılığı, yani $a_j d\tau$ 'nin çarpımına eşittir:

$$P(\tau, j | \mathbf{X}) = P_0(\tau, \mathbf{X})a_j d\tau = P_0(\tau, \mathbf{X})h_j c_j d\tau . \quad (4)$$

Sonunda $P_0(\tau | \mathbf{X})$ ise

$$P_0(\tau | \mathbf{X}) = \exp\left(-\sum_{j=1}^M a_j \tau\right) \quad (5)$$

şeklinde olur (Gillespie, 1977). Buradan ise

$$P(\tau, j | \mathbf{X}) = \begin{cases} a_j \exp(-a_0 \tau) & 0 \leq \tau < \infty \text{ ve } j = 1, \dots, M \\ 0 & \text{diğer durumlar,} \end{cases} \quad (6)$$

sonucu çıkar. Bu eşitlikte $a_j = h_j c_j$ ve $a_0 = \sum_{j=1}^M a_j$ olarak verilmektedir. Bu denklemler SBA'nın temelini oluşturmaktadır.

SBA kesin Monte Carlo teknikleri kullanarak (τ, j) çiftini ortak dağılımdan çeker, daha sonra zaman t 'yi τ kadar ve sistem durumu \mathbf{x} 'i \mathbf{v}_j kadar ilerletir ve sonunda eğilim fonksiyonlarını gerekli oldukça tekrar hesaplayarak gereken kadar uzun süre benzetim yapılmasını sağlamak üzere bu adımları tekrarlar. Molekül adetlerinin benzetim süresinceki değişimi $\mathbf{X}(t)$ sürecinin yansız bir gerçekleşimidir.

2.3 Tau-Atlama Algoritması

Molekül sayısı çok veya eğilim fonksiyonları büyükse, SBA işlem yoğun hale gelecektir. Bu durumlarda sistemin zaman eksenini birbirini takip eden aralıklara bölüp, her bir zaman aralığında her bir reaksiyonun kaç kere ateşlendiğiyle ilgilenmek işlem yükünü önemli oranda azaltabilir. Bu yöntem "tau-atlama" denir (GILLESPIE, 2001). Yöntemi açıklamak için öncelikle $[t, t + \tau)$ zaman aralığında $\mathbf{X}(t) = \mathbf{x}$ olarak verildiğinde $j = 1, \dots, M$ olmak üzere R_j ile gösterilen her bir reaksiyon kanalının tam olarak k_j kadar ateşlenmiş olması olasılığını $Q(k_1, \dots, k_M | \tau; \mathbf{x}, t)$ olarak tanımlayalım. Burada Q 'nun M adet tamsayı rasgele değişkenin birleşik olasılık yoğunluk fonksiyonu olduğu açıktır. Yine $[t, t + \tau)$ zaman aralığında $\mathbf{X}(t) = \mathbf{x}$ olarak verildiğinde $j = 1, \dots, M$ olmak üzere R_j ile gösterilen her bir reaksiyon kanalının kaç

kez ateşlenmiş olacağını $K_j(\tau; \mathbf{x}, t)$ rasgele değişkeni gösterebilir. Gelişigüzel bir $\tau > 0$ değeri için $Q(k_1, \dots, k_M | \tau; \mathbf{x}, t)$ 'nin bulunması, gelişigüzel bir $t \geq t_0$ değeri için $P(\mathbf{x}, t | \mathbf{x}_0, t_0)$ 'yi bulmak üzere KAD'nin çözülmesine benzer zorlukta bir işlemdir. Fakat t için aşağıda vereceğimiz koşulun sağlandığı durumlarda $Q(k_1, \dots, k_M | \tau; \mathbf{x}, t)$ için kolay bir yaklaşık çözüm bulunabilir.

Atlama Koşulu: τ öyle küçük olsun ki, $[t, t + \tau)$ süresince hiç bir eğilim fonksiyonu kayda değer miktarda (makroskopik olarak sonsuz küçük olmayan) değişmesin. Bu koşul sağlandığında belirtilen zaman aralığında her bir reaksiyon kanalı R_j 'nin eğilim fonksiyonunun $a_j(x)$ değerinde sabit olduğu kabul edilebilir. Bu ise diğer kanallarda ne olduğundan bağımsız olarak, $a_j(x)dt$ ifadesinin yine o kanalın $[t, t + \tau)$ içindeki herhangi bir sonsuz küçük dt uzunluğundaki aralıkta ateşlenme olasılığını vereceği anlamını taşır. Bu durumda $K_j(\tau; \mathbf{x}, t)$, Poisson rasgele değişken $\mathcal{P}(a_j(\mathbf{x}), \tau)$ 'ye eşit olur. Burada $\mathcal{P}(\mu, t)$ ifadesi μt ortalamalı, μt varyanslı ve k olma olasılığı

$$P(\mathcal{P}(\mu, t)=k) = \frac{e^{-\mu t} (\mu t)^k}{k!} \quad (7)$$

şeklinde verilen bir stokastik Poisson süreci göstermektedir. Bu M adet rasgele değişkenin birbirlerinden bağımsız olmaları nedeniyle birleşik olasılık yoğunluk fonksiyonu

$$Q(k_1, \dots, k_M | \tau; \mathbf{x}, t) = \prod_{j=1}^M \mathcal{P}(k_j; a_j(\mathbf{x}, \tau)). \quad (8)$$

olur. İşlem, durum değişikliği λ her bir kanal R_j için eğilim fonksiyonlarındaki değişim, $|a_j(\mathbf{x} + \lambda) - a_j(\mathbf{x})|$, sonsuz küçük olacak şekilde bir zamanda atlama değeri τ seçilerek başlar. Sonra $j = 1, \dots, M$ için birer k_j , Poisson bir rasgele dağılım, $\mathcal{P}(a_j(\mathbf{x}), \tau)$ 'den çekilir ve durum değişikliği

$$\lambda = \sum_{j=1}^M k_j \mathbf{v}_j \quad (9)$$

şeklinde hesaplanır. Son olarak, atlamamın bir adımı t 'yi $t + \tau$ ile, \mathbf{x} 'i ise $\mathbf{x} + \lambda$ ile güncelleyerek tamamlanır.

2.4 Langevin Atlaması

Zamanda τ kadarlık bir atlama yaparak her bir reaksiyon kanalının atlama koşulunu bozmadan çok büyük sayıda ateşlendiğini varsayalım. Bu durumda Poisson rasgele değişken $\mathcal{P}(a_j(\mathbf{x}), \tau)$ 'nin ortalaması $a_j(\mathbf{x})\tau \gg 1$ olur. O zaman Poisson rasgele değişken Gauss bir rasgele değişkene yakınsar:

$$\begin{aligned} K_j(\tau; \mathbf{x}, t) &= \mathcal{P}(a_j(\mathbf{x}), \tau) \\ &\approx \mathcal{N}_j(a_j(\mathbf{x})\tau, a_j(\mathbf{x})\tau) = a_j(\mathbf{x})\tau + \sqrt{a_j(\mathbf{x})\tau} \mathcal{N}_j(0, 1) \quad (j = 1, \dots, M) \end{aligned} \quad (10)$$

Böylece Poisson rasgele değişkenler yerine Gauss rasgele değişkenler üretilebilir. Bir sonraki bölümde daha ayrıntılı anlatacağımız gibi bu yaklaşıklık Kimyasal Langevin Denkleminin (KLD) karşılık gelmektedir. O ise SBA'yı betimleyen ayrık Markov sürece sürekli bir Markov süreç yaklaşıklığıdır. Bu yüzden Gauss rasgele değişkenler ile yapılan atlama, "Langevin-atlaması" olarak anılır.

2.5 Diğer Yöntemler

Kimyasal reaksiyonların stokastik modellenmesinde diğer bir yaklaşım kütle hareket kanununa göre bulunan gerekirci türev denklemindeki değişkenlerin rasgeleleştirilmesidir. Stokastik türev denklemlerini elde etmek için rasgelelik gerekirci kütle hareket kanunu türev denklemindeki konsantrasyonlara , reaksiyon hızlarına veya hız sabitlerine pertürbasyon uygulayarak modele kazandırılmaktadır (MANNINEN, 2006). Bu durumda ortaya çıkan Itô Stokastik türev denklemlerinin bazılarında her ne kadar negatif konsantrasyonların ortaya çıkmadığı belirtilse de bu yaklaşım KAD gibi kesin doğru bir teoriden yola çıkmadığı için, bu araştırmada bu doğrultuda bir çalışma yapılmamıştır.

BÖLÜM 3

KİMYASAL LANGEVİN-LEVY DENKLEMİ

İyi karışmış ve M adet reaksiyon yoluyla etkileşen N adet molekülün dinamik stokastik davranışlarını KAD belirler. Daniel Gillespie 2000’de yayınlanan makalesinde (GILLESPIE, 2000) belirli dinamik koşullar altında KAD’nin Langevin denkleminin bir şekli olan ve kendisinin KLD olarak adlandırdığı şekle dönüştüğünü göstermiştir. Bu algoritma kimyasal fizik çevrelerinde çoklukla kullanılmakta olup kimyasal süreçlerin benzetiminde en güncel yöntem olarak kabul görmektedir.

Langevin denklemi temelinde 1827’de botanikçi R. Brown tarafından keşfedilen küçük polen parçacıklarının daha sonra Einstein tarafından açıklanan (EINSTEIN, 1905) suyun içindeki hareketlerinin kendi deyimiyle “sonsuz daha kolay” şekilde açıklanmasıdır (LANGEVIN, 1908). Büyük bir parçacık olarak düşünülen Brown parçacığının kendisinden daha küçük parçacıklardan oluşan bir sıvıya daldırıldığını düşünelim ve bu parçacığa çevresindeki sıvının moleküler bombardımanından başka kuvvetin etki etmediği “serbest” Brown hareketini ele alalım. Kütle m , hızı ise v olan bu parçacık üzerinde sıvının moleküllerinin çarpması, parçacığın hızıyla doğru orantılı ortalama bir sürtünme kuvveti olan viskoz kuvvet (Stoke kanunu) ile bu ortalama çevresinde salınan bir rasgele kuvvet, $f(t)$, oluşturacaktır. Bu fiziksel koşullarda Newton’un hareket denklemi, Langevin denklemine:

$$m \frac{dv}{dt} = -m\zeta v + f(t) \quad (11)$$

dönüşür. Burada ζ bir sürtünme katsayısıdır. İçerdiği stokastik terim nedeniyle bu denklem stokastik hareket denklemi olarak anılır. İlinti süresi, τ_c , rasgele kuvvetin salınımlarının ilintili olduğu süreyi göstermektedir. Rasgele kuvvet, $f(t)$ ’nin Gauss dağılımlı olup, ayrıca ortalama ve ilinti fonksiyonunun

$$\begin{aligned} E[f(t)] &= 0, \\ E[f(t_1)f(t_2)] &= \phi(t_1 - t_2). \end{aligned} \quad (12)$$

olduğu kabul edilmiştir. Burada $\phi(\tau)$ yalnızca $\tau < \tau_c$ olduğunda belirgin şekilde sıfırdan farklıdır. Biz Brown parçacığının τ_c ’den çok daha uzun zaman aralıklarındaki ilintisiyle ilgilendiğimiz için, bu ilintiyi yaklaşık olarak bir delta fonksiyonu,

$$\phi(\tau) = \lambda \delta(\tau) \quad (13)$$

şeklinde kabul edebiliriz. Katsayı λ , stokastik kuvvet $f(t)$ ’nin varyansı ile ilgilidir. Sürtünme kuvveti moleküllerin çarpışma şiddetiyle orantılı olduğundan λ ile sürtünme katsayısı ζ arasında bir bağlantı olmalıdır. (11)’de verilen Langevin denklemi çözülerek bu ilinti

$$\lambda = 2 \zeta m k_B T \quad (14)$$

olarak bulunur (SCHWABL, 2006). Burada k_B Boltzman sabitini, T ise sıcaklığı göstermektedir. Brown hareketi salınan nesnenin gerçek bir parçacık olmadığı, bunun yerine makroskopik bir sistemin kollektif bir özelliği olduğu duruma geliştirilebilir. Bu sözgelimi termal denge yakınındaki bir kimyasal reaksiyon sisteminde her bir maddenin konsantrasyonu olabilir.

Brown hareketi çeşitli doğal olaylarda karşılaşılan temel bir rasgele süreçtir. Fakat Brown hareketi ile betimlenemeyecek kadar dürtün (*İng.* impulsive) karakter taşıyan başka doğal olaylar da vardır. Bu süreçlerden biri Brown hareketinin bir genellemesi olan “Levy uçuşu” olarak adlandırılan süreçtir. Brown hareketinden farklı olarak Levy sürecinde artış süreci Gauss yerine Levy (α)-kararlı bir süreçtir (NIKIAS, 1995).

Levy hareketi teknik yazında pek çok kez çalışılmış ve çeşitli sinyal tiplerini modellemek için benimsenmiştir. Bu yüzden Levy hareketini modellemek üzere Langevin türü denklemleri geliştirmek doğal bir araştırma yönü olmuştur (JESPERSEN, 1999).

Çok ilginçtir ki, Gillespie'nin vardığı sonuca τ -atlama yönteminden yola çıkılarak (Gillespie tarafından da ortaya atıldığı üzere (GILLESPIE, 2003)) ve KLD'ye ulaşılan merkezi limit teoreminin uygulanması ile de ulaşılabilir (LI, 2009). Eğer onun yerine Paul Levy'nin geliştirdiği genellenmiş merkezi limit teoremi (NIKIAS, 1995) kullanılırsa, bu kez Levy (α)-kararlı dağılıma ulaşılır. Bu da bizi klasik Langevin denklemi yerine Langevin-Levy denklemine götürür. Yukardaki denklem üzerinden ifade edersek, $f(t)$ Levy uçuşunu modelleyen Levy-kararlı bir dağılıma sahip olur. Brown hareketinin Levy uçuşuna dönüştüğü KLD, Kimyasal Langevin-Levy Denklemi (KLLD) olarak tanımlanabilir.

Kimyasal reaksiyonların modellenmesinde anlattığımız Levy-kararlı dağılım kullanımı çok daha fazla esneklik getirecektir.

BÖLÜM 4

KLLD'NİN BİYOKİMYASAL REAKSİYONLARDA UYGULANMASI

Gillespie'nin çalışmalarının inorganik reaksiyon sistemlerini modellemekte başarılı olmakla birlikte birçok biyokimyasal reaksiyona, özellikle tek veya az sayıda moleküllü enzimatik reaksiyonlara uygulanamayacağına dair görüşler bulunmaktadır. İnorganik sistemlerde Gillespie'nin her bir molekülün serbestçe hareket edebildiği, iyi karışmış sistem yaklaşımı kabul edilebilir. Halbuki biyokimyasal sistemler tepkiyen moleküllerin serbestçe hareket edememeleri yüzünden farklı koşullar altındadır. Tek moleküllü enzimatik reaksiyonların bu kategoride oldukları söylenebilir (XIE, 2001, ENGLISH, 2006). Bu biyokimyasal reaksiyonlarda aynı zamanda alt-reaksiyonlar olarak adlandırabileceğimiz ara reaksiyon aşamaları bulunmaktadır. Böyle bir katalitik enzimatik reaksiyonda bir sonuç ürünü oluştuğunu kabul edecek olursak, Tablo 1'de verilen reaksiyon sistemindeki gibi ve çok sayıda molekülün gerçekleştirdiği reaksiyonlardaki ortalama parametrelerin kullanılması yerine deneyde tek molekülün enzimatik reaksiyonundaki tekrarlı reaksiyonların stokastik zaman adımları kaydedilmiş olacaktır. Bu reaksiyon adımlarının bilgisi o reaksiyonun gerçekleşmesi için gerekli bekleme süresinin olasılık yoğunluk fonksiyonunu verecektir.

Kimyasal reaksiyonların stokastik modellenmesi yaklaşımını ve bizim bunu başarılı bir şekilde tek veya az sayıda moleküllü enzimatik reaksiyonları da kapsayacak şekilde geliştirme amacımızı özetlemek için Gillespie yaklaşımıyla kimyasal reaksiyonların stokastik benzetimine şöyle bir açıdan bakalım. Bu modeller ilk olarak bir reaksiyonun gerçekleşmesini bir Bernoulli denemesi olarak ele alırlar. Bu denemede başarı tepkiyen(ler)in reaksiyona uğraması ve ürünün veya ürünlerin oluşması durumuna karşı gelmektedir. İyi karıştırılmış ve tepkiyenlerin konsantrasyonları benzeri koşulları sabit kalan bir sistemde, birçok Bernoulli denemesinden oluşan Binom süreci büyük bir doğrulukla bir Poisson süreci olarak gösterilebilir ve birbirini izleyen reaksiyonlar arasındaki bekleme süreleri de üstel dağılımlı olur. Son olarak, argümanı büyük olan bir Poisson rasgele değişken yaklaşık olarak Gauss dağılımlı bir rasgele değişken olur ve bu da KLD'ye ve τ -atlamalı Gillespie türevi stokastik yönteme bizi ulaştırır. Genel olarak Brown hareketiyle modellenebilen molekül sayılarının değişiminin, bazı moleküllerin az sayıda olmaları nedeniyle Levy uçuşu ile modellenmesi akılcı olacaktır. Bu çalışmada KLLD ile biyokimyasal reaksiyonların modellenmesini, ele aldığımız bir Michaelis-Menten sistemi (BAŞ, 2007) ve daha çok sayıda alt reaksiyon içeren β -galaktosidazlar kullanımıyla yeni oligosakkaritlerin sentezini enzimatik reaksiyonuyla (RODRIGUEZ-FERNANDEZ, 2011) gösteriyoruz. Öncelikle MM enzimatik reaksiyonunu ele alacağız.

4.1 Michaelis-Menten sistemi

Kimyasal Levy-Langevin Denklemi algoritması ilk olarak, nispeten kolay modellenebilecek bir biyokimyasal süreç olan ve çoğunlukla Michaelis-Menten (MM) kinetiği ile modellenen, enzim kinetiği üzerinde sınınmıştır. MM sistemi tepkiyen sayısının az olduğu durumlarda oldukça basit olmakla birlikte çok önemli bir mekanizmadır ve bu yüzden de üzerinde çok çalışılmıştır. Özellikle, burada da MM denklemi tek yönlü olarak gerçekleşen enzimatik reaksiyonlarda, reaksiyona giren ajan konsantrasyonuyla ilişkilendirerek reaksiyon hızlarını belirlemektedir (SHULER, 2011).

MM kinetiği ile belirlenen kimyasal denge için kalıcı rejim çözümü Goldbeter-Koshland denklemi ile elde edilir. MM denklemi

$$v_0 = \frac{v_{\max}[S]}{K_M + [S]} \quad (15)$$

şeklinde gösterilir. Burada v_0 anlık reaksiyon hızı, k_2 bağlanan reaksiyona giren ajanın ürüne dönüşüm hızı ve $[ES]$ anlık reaksiyona giren ajanı bağlayan enzimin konsantrasyonu olmak üzere, $v_0 = k_2[ES]$ dir; v_{\max} en büyük reaksiyon hızı, k_2 yine bağlanan reaksiyona giren ajanın ürüne dönüşüm hızı ve $[E_0]$ bütün enzim reaksiyona giren ajana bağlandığındaki reaksiyona giren ajanı bağlayan enzimin konsantrasyonu olmak üzere, $v_{\max} = k_2[E_0]$ dir; Michaelis sabiti K_m reaktif ajanın enzime karşı olan ilgisinin tersi, bağlanan enzimin reaktif ajandan ayrılmasının hızı k_{-1} şeklinde yalnızca ayrılma olarak veya k_2 şeklinde ürüne dönüşerek, k_1 enzimin reaktif ajanı bağlama hızı olmak üzere, $K_m = [k_{-1} + k_2]/k_1$ dir; $[S]$ reaktif ajan konsantrasyonudur.

Aşağıdaki türetimin geçerliliği (16) nolu eşitlikte verilen reaksiyon şemasına ve iki temel koşula dayanmaktadır; bu koşullar tüm enzim ve ara ürünlerin konsantrasyonlarının zamanla değişmemesidir. MM eşitliğinin Briggs ve Haldane tarafından verilen en basit türetimini göstereceğiz. (Genellikle deneysel hız, k_{cat} , verilmekle birlikte, bu basit örnekte bu kinetik hız parametresi k_2 'ye eşittir) Enzimatik reaksiyonun tek yönlü olduğu ve ürünün enzime bağlanmadığı kabul edilmiştir:



Bu türetimdeki ilk temel kabul yaklaşık veya sözde kalıcı durum kabulüdür. Bunun anlamı reaktif ajan-bağlanan enzim ($[ES]$) konsantrasyonunun ürün, $[P]$, ve reaktif ajanından, $[S]$, çok daha yavaş değişmekte olmasıdır. Bu bizim $[ES]$ 'nin değişim hızını sıfır olarak almamıza ve ürün oluşum hızını şu şekilde yazmamıza olanak verir:

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_1[E][S] - [ES](k_{-1} + k_2) = 0 \quad (17)$$

$$\frac{d[P]}{dt} = k_2[ES] \quad (18)$$

İkinci temel kabul, tüm enzim konsantrasyonu, $[E]_0$, 'ın zamanla değişmeyeceğidir. Böylelikle tüm enzim konsantrasyonu, $[E]_0$, çözültideki serbest enzim, $[E]$, ve reaktif ajana bağlı enzim, $[ES]$ 'nin, toplamı olarak verilebilecektir:

$$[E]_0 = [E] + [ES] = \text{sabit} \quad (19)$$

Bu sonucu (17)'de kullanırsak $[ES]$ için bir ifade elde ederiz, bunu da (18)'de kullanırsak ürün oluşum hızı için bir ifade elde ederiz:

$$\begin{aligned} 0 &= k_1[S]([E]_0 - [ES]) - [ES](k_{-1} + k_2), \\ k_1[S][E]_0 &= k_1[S][ES] + [ES](k_{-1} + k_2), \\ [S][E]_0 &= [S][ES] + [ES] \underbrace{\frac{(k_{-1} + k_2)}{k_1}}_{K_M}, \end{aligned} \quad (20)$$

$$[S][E]_0 = (K_M + [S])[ES],$$

$$[ES] = \frac{[S][E]_0}{K_M + [S]}.$$

Ayrıca

$$\frac{d[P]}{dt} = v_0 = k_2[ES] = \underbrace{k_2[E]_0}_{v_{\max}} \frac{[S]}{K_M + [S]}, \quad (21)$$

şeklinde (15) elde edilir. Bu eşitlik

$$\frac{1}{v_0} = \frac{K_M}{v_{\max}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{v_{\max}}. \quad (22)$$

şeklinde v_0 'ın ve $[S]$ 'nin tersi kullanılarak da yazılabilir. Michaelis sabiti K_M , nümerik olarak reaktif ajan konsantrasyonunun dönüşüm hızı v_{\max} 'ın yarısı olan değerine eşdeğerdir. Küçük bir K_M değeri reaktif ajanın enzime karşı olan ilgisinin az olduğunun belirtisi olup, bu durumda reaktif ajan v_{\max} 'a daha çabuk ulaşır. v_{\max} 'a ulaşmak için çok yüksek $[S]$ değerleri gereklidir, bu ise $[S]$ 'nin enzimi doyuma ulaştırarak kadar yüksek olması anlamına gelir.

Reaktif ajan konsantrasyonu reaksiyon gerçekleştikçe değiştiği için, başlangıçtaki reaksiyon hızı v_0 , başlangıçtaki reaktif ajan konsantrasyonu $[S]$ olarak alınarak, analizi kolaylaştırmak için kullanılır. Reaksiyon hızı için yazılan denklem (21), denklem (22)'deki gibi v_0 'ın ve $[S]$ 'nin tersi kullanılarak da yazılabilir. Bu ise hesaplamalarda gerekli sabitlerin ölçülen deneysel veriden elde edilmesini kolaylaştırır (bir Lineweaver-Burk çizimi veya bir Hanes-Woolf çizimine ulaşılan bir prosedür).

MM kinetiğine dayalı olarak incelenmek üzere Baş ve arkadaşları tarafından deneysel olarak incelenen maltoz hidrolizi (BAŞ, 2007) enzimatik reaksiyonu ele alınmıştır. Bu enzimatik reaksiyon

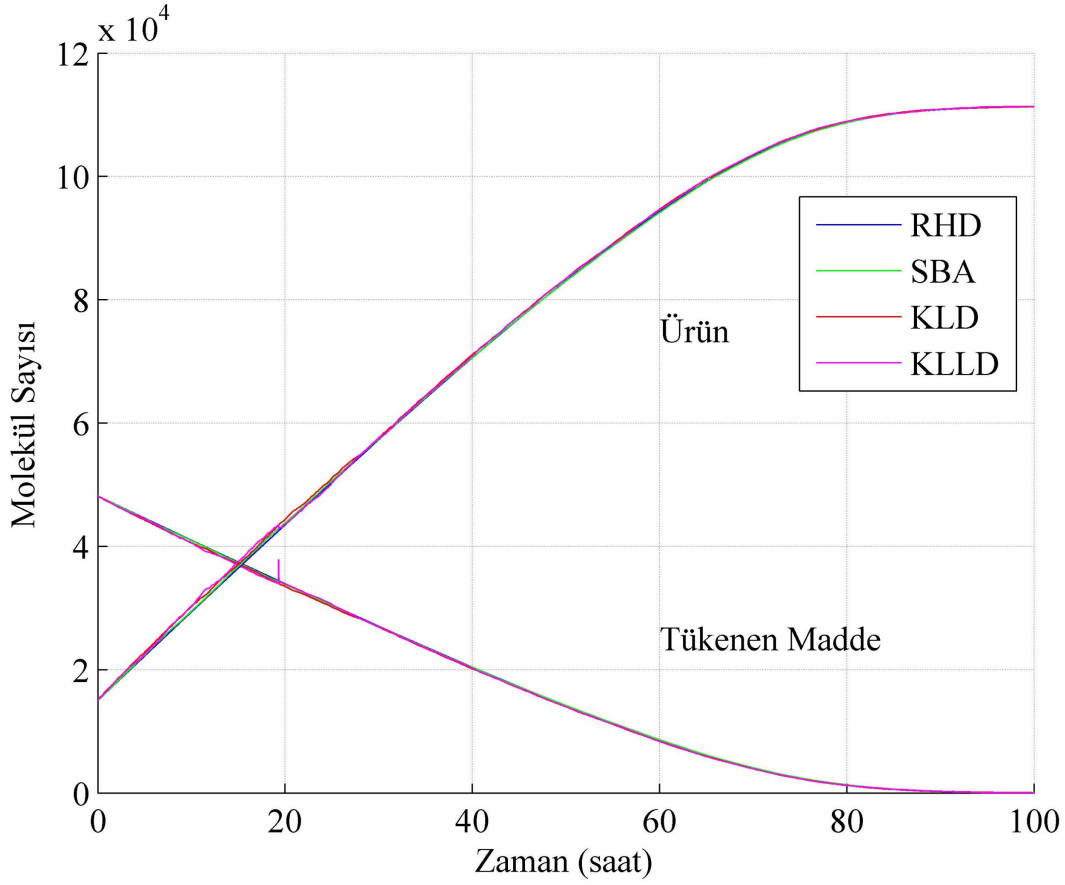


ile gösterilir. Burada maltoz reaktif ajan, amiloglukosidaz enzim, glukoz ise üründür. MM sistemindeki parametreler

$$\begin{aligned} v_{\max} &= 0.272 \text{ mM/dak} \\ K_m &= 1.51 \text{ mM} \\ E_0 &= 0.2/97 \text{ mM} \end{aligned} \quad (24)$$

olarak verilmiştir.

KLLD'nin başarımını incelemek amacıyla maltoz hidrolizi enzimatik reaksiyonu stokastik ve gerekirci reaksiyon benzetimi yollarıyla yürütülmüştür. KLD ve KLLD yöntemlerini tanımlayan (10)'da molekül sayılarının güncellenmesinde gerekirci terimin eğilim fonksiyonu ile stokastik terimin ise bunun kareköküyle orantılı olması nedeniyle eğilim fonksiyonu arttıkça stokastik terimin güncellemeye katkı oranı azalmakta ve belli bir eşik aşıldığında ihmal edilebilir düzeye inmektedir.



Şekil 1. RHD, SBA, KLD ve KLLD ($\alpha = 1.9$) ile maltozun glukozu hidrolizinin zaman eğrilerinin modellenmesi ($V = 5 \times 10^{-18} l$).

4.1.1 Benzetim Çalışmaları

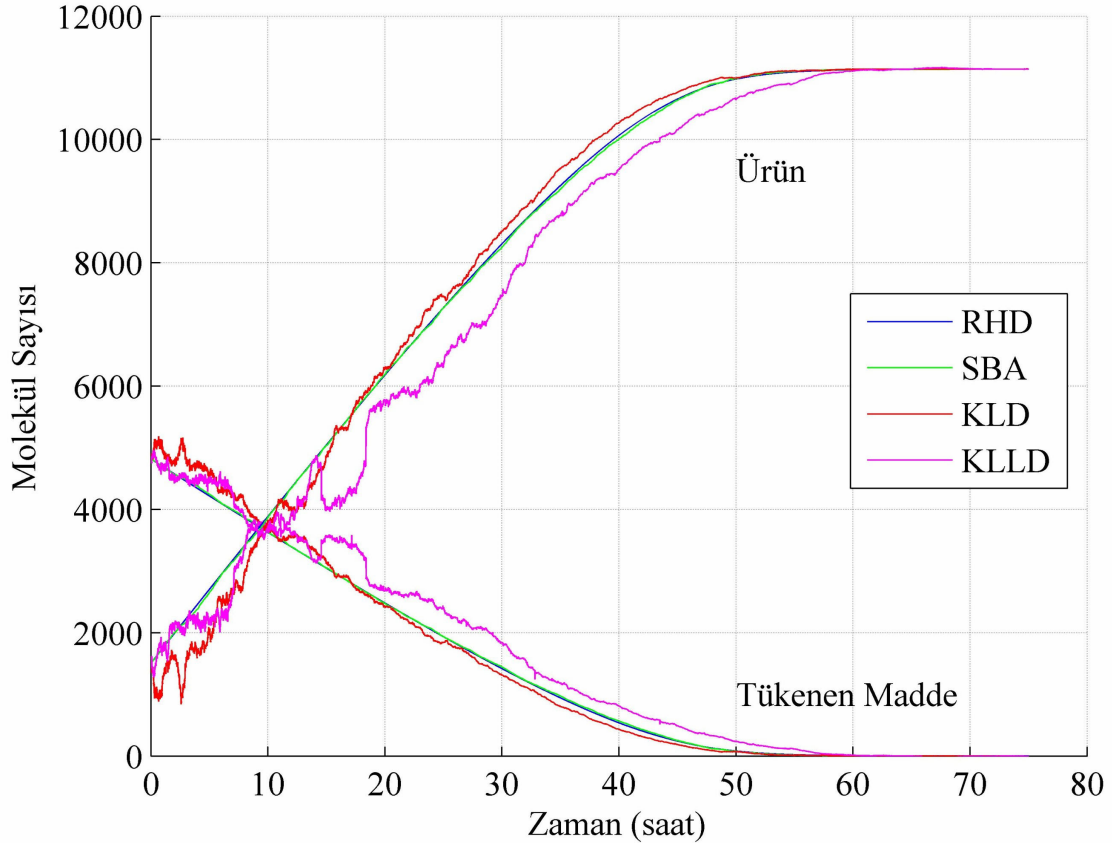
Benzetimler eğilim fonksiyonunun stokastik ifadeyi ihmal edilebilir veya etkili yaptığı iki farklı değer için yapılmıştır. Şekillerde dört farklı benzetim algoritması için reaktif ajan veya başka deyişle tüketen madde maltoz ile ürün glukozun zamanla değişimi gösterilmektedir. Bu dört algoritma reaksiyon hız denklemleri (RHD), SBA, KLD ve KLLD algoritmalarıdır. RHD (10)'daki stokastik ifadenin sıfırlanması ile elde edilmektedir. SBA, stokastik modelin en temel gösterimidir ve yaklaşıklık içermemektedir. KLD ve KLLD ise yaklaşıklık içeren yöntemlerdir.

Şekil 1'de hacim $V = 5 \times 10^{-18} l$ iken benzetimi yapılan MM sisteminde ürün glukoz ve tüketen madde maltozun zamanla değişimi çizdirilmiştir. (23)'e göre 16 mM (M : molar ya da mol/l) maltoz ve 5 mM glukoz ile başlatılan reaksiyonun tüm maltoz tükeneince $5 + 2 \times 16 = 37$ mM konsantrasyonunda glukoz elde edilecektir. Molekül sayısı

$$\text{Molekül sayısı} = n_A \times V [l] \times \text{molarite} [\text{mol} / l] \quad (25)$$

eşitliğiyle hesaplanır. Avogadro sayısı, $n_A = 6.023 \times 10^{23}$ 'tür. Verilen hacimde başlangıçta yaklaşık olarak 1.5×10^4 glukoz ve 4.8×10^4 maltoz molekülü vardır ve reaksiyon sonunda şekilde görüldüğü üzere maltoz tükemiş, glukoz molekülleri sayısı ise 1.11×10^5 'e yükselmiştir. Bununla uyumlu olan Şekil 1'deki grafiklerde her dört benzetim algoritması ile yaklaşık olarak aynı zaman eğrilerinin elde edildiği görülmektedir. Gerekirci algoritma

RHD’de hiç bir salınım olmayan düzgün bir davranış görülürken, SBA, KLD, KLLD algoritmalarında az da olsa stokastik salınımlar görülmektedir. Karakteristik üsteli, $\alpha = 1.9$ olan Levy-kararlı bir stokastik terimin bulunduğu KLLD algoritmasında $t = 20$ saat civarında tükenen madde molekül sayısında dürtün bir sapma görülmektedir. Şekil 2’de hacim $V = 5 \times 10^{-19} l$ yapıldığında aynı reaksiyon yürütümünün sonuçları çizdirilmiştir. Bu kez 1500 civarında glukoz molekülü ile reaksiyon başlatılmakta ve sonunda 11100 civarında moleküle ulaşılmaktadır. SBA bu molekül sayılarıyla da RHD’ye yakın sonuçlar üretirken KLD ve KLLD’nin daha farklı değerler ürettiği görülmektedir.



Şekil 2. RHD, SBA, KLD ve KLLD ($\alpha = 1.9$) ile maltozun glukozla hidrolizinin zaman eğrilerinin modellenmesi ($V = 5 \times 10^{-19} l$).

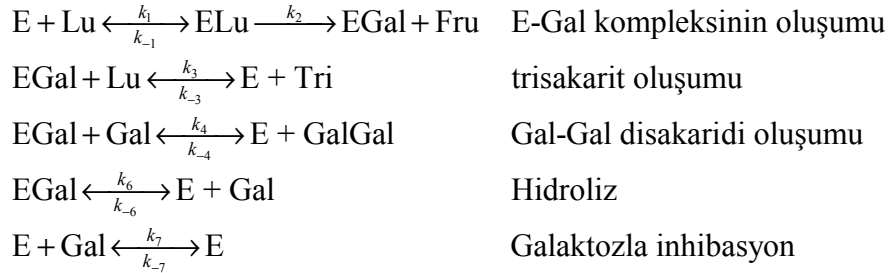
4.2 β -Galaktosidazlarla Oligosakkarit Sentezi

Bu bölümde MM sisteminden daha çok sayıda alt reaksiyon içeren bir enzimatik reaksiyon olan çeşitli β -galaktosidazlar kullanarak yeni oligosakkaritlerin sentezi (RODRIGUEZ-FERNANDEZ, 2011) ele alınmaktadır. (RODRIGUEZ-FERNANDEZ, 2011)’te laktozdan prebiyotik galaktooligosakkaritlerin (GOS) üretiminin çok çalışılmış bir konu olmasıyla birlikte, laktuloz (Lu) ile sağlanan gibi üstün özelliklere sahip yeni prebiyotik oligosakkaritlerin sentezine ilginin artmakta olduğu söylenmektedir. Bu yüzden Lu’dan enzimatik oligosakkarit sentezi mekanizmasının anlaşılmasının hem ürün kalitesini artıracığı hem de çalışma koşullarının eniyilenmesi ile üretim verimliliğini artıracığı belirtilmektedir. Ayrıca Lu hidrolizinde enzimatik transgalaktosilasyon reaksiyonu için detaylı bir kinetik model verilen makalede, geliştirilen modelin iki farklı β -galaktosidazın çeşitli sıcaklıklarda ve çeşitli reaktif ajan konsantrasyonlarında deneysel verilerle karşılaştırması bulunmaktadır.

(RODRIGUEZ-FERNANDEZ, 2011)'te verilen deneysel verilerin bu projede geliştirilen yazılımların sonuçlarıyla karşılaştırılması, KLD'nin Levy dağılımlı stokastik bileşenli sürümü olan önerilen KLLD'nin çok reaksiyonlu reaksiyon sistemlerindeki başarımının anlaşılmasına katkı sağlamıştır.

4.2.1 Kinetik Model

Oligosakaritlerin Lu'dan elde edilme mekanizmasının GOS'ların laktozdan sentezine benzer olduğu hipotezi (RODRIGUEZ-FERNANDEZ, 2011)'te oluşturulan kinetik model için başlangıç noktası olarak belirtilmektedir. Böylece oluşturulan modelde Lu'nun hem reaktif ajan hem de konsantrasyon yüksek olduğunda trisakarit (Tri) oluşturan başlıca alıcı olması nedeniyle glikosil alıcı olarak davrandığı kabul edilmektedir. Galaktoz (Gal) galaktosil-enzim kompleksi (EGal) oluşturmak üzere serbest enzime bağlanacak, EGal ise yine Gal veya fruktozun (Fru) alıcı olduğu transgalaktosilasyon reaksiyonlarıyla galaktosil-Gal disakariti (GalGal) ve galaktosil-Fru disakariti (GalFru) oluşturacaktır. Disakarit ve Tri sentezinin geridönülür olduğu kabul edilmiştir. Modelde parametre sayısını düşük tutmak üzere daha üst dereceli sakaritlerin oluşumunun gözardı edildiği de belirtilmektedir. Ayrıca Pectinex Ultra SP-L'den edinilen β -galaktosidazla yapılan deneylerden yapılan çıkarımla disakarit olarak yalnızca GalGal oluşumunun dikkate alındığı ifade edilmektedir. Bütün bu teorik değerlendirmeler sonucunda Pectinex Ultra SP-L'den edinilen β -galaktosidazla yapılan reaksiyonlar için reaksiyon mekanizması Tablo 1'de verildiği şekilde oluşturulmuştur. Burada reaksiyonlar sırasıyla EGal kompleksinin, Tri'nin ve GalGal disakaritinin oluşumunu, hidrolizi ve Gal ile inhibasyonu göstermektedir.



Tablo 1. β -galaktosidazla oligosakarit oluşturmak için reaksiyon mekanizması

Enzimatik reaksiyonlar tanımlandıktan sonra deneysel veriler şeker kalıntı dengesi gözetilerek kontrol edilmiş ve her bir deneyde Gal ve Fru kısımlarının % 10'dan daha az bir hata ile korunduğu belirtilmiştir. Böylece reaksiyonlar için aşağıdaki türev denklemleri oluşturulmuştur (RODRIGUEZ-FERNANDEZ, 2011):

$$\frac{d[Lu]}{dt} = -k_1[Lu][E] + k_{-1}[ELu] - k_3[EGal][Lu] + k_{-3}[Tri][E] \quad (26)$$

$$\begin{aligned} \frac{d[Gal]}{dt} = & -k_4[EGal][Gal] + k_{-4}[GalGal][E] + k_6[EGal] \\ & - k_{-6}[Gal][E] - k_7[Gal][E] + k_{-7}[E] \end{aligned} \quad (27)$$

$$\frac{d[Fru]}{dt} = k_2[ELu] \quad (28)$$

$$\frac{d[\text{Tri}]}{dt} = k_3 [\text{EGal}][\text{Lu}] - k_{-3} [\text{Tri}][\text{E}] \quad (29)$$

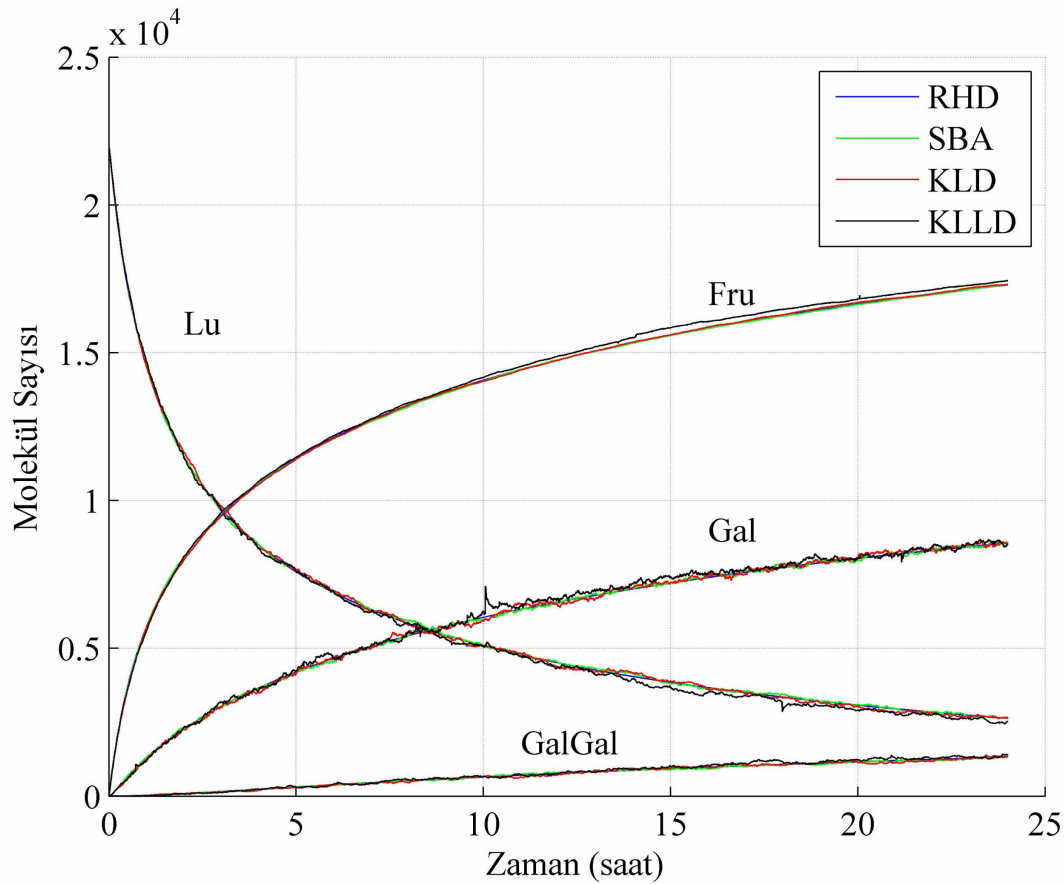
$$\frac{d[\text{GalGal}]}{dt} = k_4 [\text{EGal}][\text{Gal}] - k_{-4} [\text{GalGal}][\text{E}] \quad (30)$$

$$\begin{aligned} \frac{d[\text{E}]}{dt} = & -k_1 [\text{Lu}][\text{E}] + k_{-1} [\text{ELu}] + k_3 [\text{EGal}][\text{Lu}] - k_{-3} [\text{Tri}][\text{E}] - k_4 [\text{EGal}][\text{Gal}] \\ & + k_{-4} [\text{GalGal}][\text{E}] + k_6 [\text{EGal}] - k_{-6} [\text{Gal}][\text{E}] + k_7 [\text{Gal}][\text{E}] - k_{-7} [\text{EI}] \end{aligned} \quad (31)$$

$$\frac{d[\text{ELu}]}{dt} = k_1 [\text{Lu}][\text{E}] - k_{-1} [\text{ELu}] - k_2 [\text{ELu}] \quad (32)$$

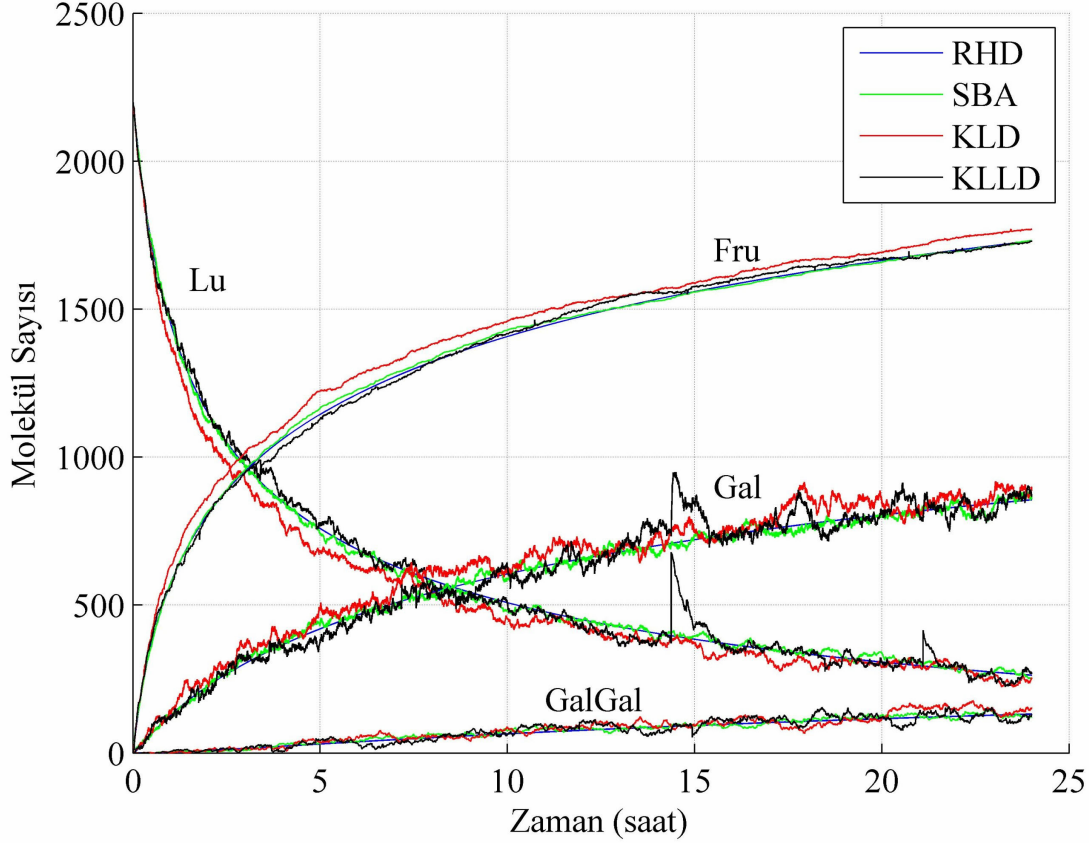
$$\begin{aligned} \frac{d[\text{EGal}]}{dt} = & +k_2 [\text{ELu}] - k_3 [\text{EGal}][\text{Lu}] + k_{-3} [\text{Tri}][\text{E}] - k_4 [\text{EGal}][\text{Gal}] \\ & + k_{-4} [\text{GalGal}][\text{E}] - k_6 [\text{EGal}] + k_{-6} [\text{Gal}][\text{E}] \end{aligned} \quad (33)$$

$$\frac{d[\text{EI}]}{dt} = k_7 [\text{Gal}][\text{E}] - k_{-7} [\text{EI}] \quad (34)$$



Şekil 3. RHD, SBA, KLD ve KLLD ($\alpha=1.9$) ile Lu'dan Fru sentezi reaksiyonunda molekül sayılarının zamanla değişimi, ($T = 333 \text{ K}$, $[\text{Lu}]_0 = 0.73 \text{ M}$, $V = 5 \times 10^{-20} \text{ l}$).

Bu reaksiyonlarda enzim-Lu (ELu) kompleksinin EGal kompleksine oranla reaksiyon karışımında minimal miktarda oluştuğunun gözlemlendiği belirtilmektedir. Bu yüzden ELu neredeyse reaksiyonda hiç etkili olmadığı için ters yönde reaksiyon hız sabiti, k_{-1} , modelden çıkarılmıştır (RODRIGUEZ-FERNANDEZ, 2011).



Şekil 4. RHD, SBA, KLD ve KLLD ($\alpha=1.9$) ile Lu'dan Fru sentezi reaksiyonunda molekül sayılarının zamanla değişimi, ($T = 333$ K, $[Lu]_0 = 0.73$ M, $V = 5 \times 10^{-21}$ l).

4.2.2 Benzetim Çalışmaları

β -galaktosidaz kullanarak oligosakkarit sentezi reaksiyonunda ilk önce (RODRIGUEZ-FERNANDEZ, 2011)'te verilen deneysel veriler ile uyumlu sonuçların alınmasını sınamak üzere KLLD algoritmasıyla benzetimler yapılmıştır. (RODRIGUEZ-FERNANDEZ, 2011)'te verilmeyen ve hızlarının sıcaklığa bağlı değişimini

$$k_2(t) = K_{02} e^{-E_{a2}/Rt}$$

eşitliğine göre belirlemekte kullanılan aktivasyon enerjisi E_{a2} deneysel verilerle benzetim sonuçlarının karşılaştırılması yoluyla bulunmuştur. Bu eşitlikte R gaz sabiti, K_{02} ise 2 numaralı reaksiyonla ilgili sabittir. β -galaktosidazlar kullanarak oligosakkarit sentezinin KLLD ile stokastik benzetimini gösteren bu çalışma, (ALTINKAYA, 2011), 20. Sinyal İşleme ve İletişim Uygulamaları Kurultayı'nda sunulmuştur. KLLD ile yapılan benzetimlerin diğer yöntemlerle karşılaştırılması ise burada ele alınmaktadır. Yine bundan önceki MM sistemi reaksiyonunda olduğu gibi stokastik ifadeyi ihmal edilir veya etkili kılacak eğilim

fonksiyonu değerleri için benzetim çalışmaları yürütülmüştür. Maltozdan glukoz sentezinde dört adet maddenin zamanla değişimi takip edilirken bu reaksiyonda sekiz maddeninki takip edilmektedir. Şekillerde dört farklı benzetim algoritması, RHD, SBA, KLD ve KLLD algoritmaları için bu takip edilen maddelerden, karmaşıklık yaratmaması amacıyla en önemli olan dört adedinin: Lu, Fru, Gal ve GalGal'ın zamanla değişimleri gösterilmektedir. Başlangıçta Lu'nun konsantrasyonu 0.73 M, β -galaktosidaz yani enzimin konsantrasyonu ise 0.15 M'dir.

Şekil 3'te hacim $V = 5 \times 10^{-20}$ l iken Lu'dan oligosakarit elde edilmesi reaksiyonunda Lu, Fru, Gal ve GalGal'ın zamanla değişimi çizdirilmiştir. Gerekirci algoritma RHD'de hiç bir salınım olmayan düzgün bir davranış görülürken, SBA'da az miktarda, KLD ve KLLD algoritmalarında ise daha fazla stokastik salınımlar görülmektedir. Hacim $V = 5 \times 10^{-21}$ l yapıldığında ise bütün stokastik algoritmalarda salınımlar artmakta, Gal ve GalGal eğrilerinde KLD ve özellikle KLLD algoritmaları ile elde edilen eğrilerde daha fazla salınım görülmektedir.

BÖLÜM 5

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Kimyasal reaksiyonların stokastik olarak modellenmelerinin daha gerçekçi olduğundan yola çıkılarak, bu stokastik modelleri geliştirebilmek amaçlanmıştır. Bu nedenle, SBA'nın molekül sayılarının artmasıyla işlem yoğunluğunun arttığı durumlarda işlem yoğunluğunu azaltan tau-atlama algoritmasının Brown hareketine dönüşmüş hali olan Langevin atlaması ele alınmıştır. Brown hareketindeki Gauss sürecin yerine Levy-kararlı süreçler kullanılmasıyla KLD yerine KLLD önerilmiş ve bunun başarımı önce dört farklı molekülün reaksiyona girdiği maltozdan glukoz elde edilen bir enzimatik Michaelis-Menten sisteminde araştırılmıştır. KLD'ye kıyasla KLLD'ye dayalı tau-atlamada gerekirci RHD algoritmasıyla elde edilen molekül sayılarının zamanla değişimi eğrilerinden beklendiği gibi daha büyük sapmalar gözlenmiştir. Daha çok reaksiyon içeren laktuloz hidrolizi sırasındaki enzimatik transgalaktosilasyon reaksiyonlarında da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Böylece biyokimyasal reaksiyon benzetiminde KLLD'ye dayalı tau-atlamının kullanılabilceği gösterilmiştir.

Bundan sonra KLLD'nin deneysel verilerle karşılaştırılması ilginç bir araştırma yönü olabilir. Ayrıca, özellikle çok küçük konsantrasyon değerlerinde KLD ve KLLD'nin negatif molekül sayılarına yol açmasını önlemek için bunlarda kullanılan Gauss ve Levy-kararlı dağılımların negatif molekül sayısı üretmeyecek şekilde sınırlandırılmaları düşünülebilir. Bu durumda önerilen dağılımların simetrik olmaları dikkat edilmesi gereken önemli bir koşuldur.

REFERANSLAR

- ALTINKAYA, M. A., Kuruoğlu, E. E., Enzimatik reaksiyonların Kimyasal Langevin-Levy Denklemiyle Modellenmesi, IEEE 20. Sinyal İşleme ve İletişim Uygulamaları Kurultayı, Fethiye, (2012).
- BAJORATH, J., *Chemoinformatics : Concepts, Methods, and Tools for Drug Discovery*, Humana Press, (2004), pp: 524.
- BAŞ, D., Dudak, F.C., Boyacı, İ.H., Modelling and Optimization III: Reaction rate estimation using artificial neural network (ANN) without a kinetic model, *Journal of Food Engineering*, 79, pp: 622-628, (2007).
- EINSTEIN A., Über die von der molekularkinetischen Theorie der Waerme geforderte Bewegung von in ruhenden Flüssigkeiten suspendierten Teilchen, *Annalen der Physik*, 17, pp: 549-560, (1905).
- ENGLISH, B. P., W. Min, A. M. van Oijen, K. T. Lee, G. Luo, H. Sun, B. J. Cherayil, S. C. Kou and X. S. Xie, Ever-fluctuating single enzyme molecules: Michaelis-Menten equation revisited, *Nature Chemical Biology*, 2, 2, pp: 87-94, (2006).
- GILLESPIE, D. T., A general method for numerically simulating the stochastic time evolution of coupled chemical reactions, *Journal of Computational Physics*, 22, pp: 403–434, (1976).
- GILLESPIE, D. T., Exact stochastic simulation of coupled chemical reactions, *The Journal of Physical Chemistry*, 81, 25, pp: 2340–2361, (1977).
- GILLESPIE, D. T., A rigorous derivation of the chemical master equation. *Physica A*, 188, pp: 404–425, (1992).
- GILLESPIE, D. T., The Chemical Langevin Equation, *Journal of Chemical Physics*, 113, 1, pp: 297-306, (2000).
- GILLESPIE, D. T., Approximate accelerated stochastic simulation of chemically reacting systems, *Journal of Chemical Physics*, 115, 4, pp: 1716-1733, (2001).
- GILLESPIE, D. T., Petzold, L. R., Improved Leap-Size Selection for Accelerated Stochastic Simulation, *J. Chem. Phys.*, 119, pp: 8229-8234, (2003).
- JESPERSEN, S., Metzler, R., Fogedby, H.C., Levy flights in external force fields: Langevin and fractional Fokker-Planck equations and their solutions, *Physics Review E*, 59, 3, pp: 2736-2745, (1999).
- KRAMERS, H.A., Brownian motion in a field of force and the diffusion model of chemical reactions, *Physica* 7, pp: 284–304, (1940).
- KUTHAN, H., Self-organisation and orderly processes by individual protein complexes in the bacterial cell, *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, 75, pp: 1–17, (2001).
- LANGEVIN, P., On the Theory of Brownian Motion, *C. R. Acad. Sci. (Paris)*, 146, pp: 530–533, (1908).
- LI, T.J., Analysis of tau-leaping methods for simulating chemical kinetic systems, Ecole des Ponts - Peking University joint workshop, Jan. 5-9th, (2009).

- MANNINEN, T., Linne M-L., Ruohonen, K., Developing Itô stochastic differential equation models for neuronal signal transduction pathways, *Computational Biology and Chemistry*, 30, pp: 280-291, (2006).
- McQUARRIE, D. A., Stochastic Approach to Chemical Kinetics, *Journal of Applied Probability*, 4, 3, pp: 413-478, (1967).
- NIKIAS, C. L., M. Shao, *Signal Processing with Alpha-Stable Distributions and Applications*, Wiley, New York, (1995).
- QIAN, H., Elson, E.L., Single-molecule enzymology: stochastic Michaelis–Menten kinetics. *Biophys. Chem.*, 101–102, pp: 565–576, (2002).
- RODRIGUEZ-FERNANDEZ, M., Cardelle-Cobas, A., Villamiel, M., Banga, J. R., Detailed kinetic model describing new oligosaccharides synthesis using different galactosidases, *Journal of Biotechnology*, 153, pp: 116-124, (2011).
- SCHWABL, F., Brownian Motion, Equations of Motion, and the Fokker-Planck Equations, *Statistical Mechanics*, Springer Berlin Heidelberg, (2006), pp: 409-436.
- SHULER, M. L., Kargi, F., *Bioprocess Engineering: Basic Concepts (2nd Edition)*, Prentice Hall, New Jersey, (2011).
- TURNER, T.E., Schnell, S., Burrage, K., Stochastic approaches for modelling in vivo reactions, *Computational Biology and Chemistry*, 28, pp: 165-178, (2004).
- XIE, S., Single-Molecule Approach to Enzymology, *Single Molecules*, 2, 4, pp: 229-236, (2001).

TÜBİTAK
PROJE ÖZET BİLGİ FORMU

Proje No: 109E209
Proje Başlığı: Biyolojik-Kimyasal Reaksiyonların Benzetimi İçin Monte Carlo Teknikleri
Proje Yürütücüsü ve Araştırmacılar: Yrd.Doç.Dr. Mustafa A. ALTINKAYA Doç.Dr. Fikret İNAL Doç. Dr. Yusuf BARAN
Projenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi: İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü - Urla İzmir, 35430
Destekleyen Kuruluş(ların) Adı ve Adresi: TÜBİTAK Atatürk Bulvarı No:221 06100 Kavaklıdere/ANKARA National Research Council of Italy (CNR)
Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri: 01.03.2010 – 01.03.2012
Öz (en çok 70 kelime) <p>Bu projede biyolojik-kimyasal reaksiyonların stokastik modellenmesinde Brown hareketine dayalı Kimyasal Langevin Denklemi Levy uçuşuna genelleştirilerek Kimyasal Langevin-Levy Denklemi önerilmiştir. Önerilen yöntemin enzimatik biyokimyasal reaksiyonlardaki başarımı maltozdan glukoz elde edilen bir Michaelis-Menten sistemi ve daha çok reaksiyon içeren laktuloz hidrolizi sırasındaki enzimatik transgalaktosilasyon reaksiyonlarında gerekirci ve diğer stokastik yöntemlerle karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar reaksiyon modellemesindeki Gauss dağılımlı stokastik terimin Levy (alfa)-kararlı daha dürtün yapıdaki bir terimle değiştirilebilmesini destekler niteliktedir.</p>
Anahtar Kelimeler: Kimyasal Reaksiyon Benzetimi, Tau-Atlama Algoritması, Kimyasal Langevin Denklemi, Levy (Alfa)-Kararlı Süreçler
Fikri Ürün Bildirim Formu Sunuldu mu? Evet <input type="checkbox"/> Gerekli Değil <input checked="" type="checkbox"/> <small>Fikri Ürün Bildirim Formu'nun tesliminden sonra 3 ay içerisinde patent başvurusu yapılmalıdır.</small>
Projeden Yapılan Yayınlar: ALTINKAYA, M. A., Kuruoğlu, E. E., Enzimatik Reaksiyonların Kimyasal Langevin-Levy Denklemiyle Modellenmesi, IEEE 20. Sinyal İşleme ve İletişim Uygulamaları Kurultayı, Fethiye, (2012).
Ekte Bulunan "ARDEB Başarı Öyküsü Formu", "Kazanımlar" Bölümünde Belirtilen Kriterlere Göre Proje Çıktılarınızın Başarı Öyküsü Niteliği Taşındığını Düşünüyorsanız "ARDEB Başarı Öyküsü Formu"nu doldurunuz.