

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích Přírodovědecká
fakulta

**MODEL VAZBY TRANSKRIPČNÍHO FAKTORU
NA GENOVÝ PROMOTOR**

Bakalářská práce

Barbora Janáková

Školitel: Mgr. Jan Eisner, Dr.

České Budějovice 2024

Janáková, B., Model vazby transkripčního faktoru na genový promotor [A model of transcription factor binding to a gene promoter. Bc. Thesis, in Czech.] - 50 p., Fakulty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Anotace

Tato bakalářská práce studuje model vazby transkripčního faktoru na genový promotor. Nejprve analyzujeme jednoduchý model chemické vazby enzymu na substrát. Následně model rozšíříme, aby popisoval afinitu transkripčních faktorů na vazebná místa promotoru. Ukážeme, že tento model popsaný systémem obyčejných diferenciálních rovnic vykazuje existenci jediného kladného ekvilibría, které je navíc stabilní.

Annotation

This bachelor thesis studies a model of transcription factor binding to a gene promoter. First, we analyze a simple model of chemical binding of the enzyme to the substrate. Then we extend this model to describe the affinity of transcription factors for promoter binding sites. We show that the extended model, described by a system of ordinary differential equations, exhibits the existence of a single positive equilibrium, which is moreover stable.

Prohlašuji, že jsem autorem této kvalifikační práce a že jsem ji vypracovala pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu použitých zdrojů.

V Českých Budějovicích dne 9.4. 2024

.....

Ráda bych poděkovala svému vedoucímu bakalářské práce Mgr. Janu Eisnerovi, Dr., za odborné vedení, rady, ochotu a trpělivost. Vážím si toho. Také bych chtěla poděkovat své rodině a přátelům za podporu.

Obsah

Úvod	5
1 Molekulová genetika	7
1.1 Exprese genu	7
1.1.1 Transkripce	8
1.2 Transkripční faktory	9
2 Chemická kinetika	10
2.1 Rychlost reakce	10
2.1.1 Faktory ovlivňující rychlost chemické reakce	11
2.2 Enzymatická kinetika	13
2.2.1 Kinetika Michaelise-Mentenové	16
3 Matematický model jednoduché chemické reakce	19
3.1 Definice některých použitých pojmů	19
3.2 Analýza modelu vazby enzymu na substrát	21
3.2.1 Alternativní vyjádření pevných bodů	29
4 Model vazby transkripčního faktoru na promotor	32
4.1 Chemický pohled na biologické vazby	32
4.2 Pevné body zkoumaného modelu	33
4.3 Analytické vyjádření pevných bodů systému	40
4.4 Ilustrace numerické simulace	40
5 Závěr	44
A Přílohy	45
A.1 Vyjádření kořenů kubické rovnice	45

Úvod

Práce se věnuje zkoumání vazby transkripčních faktorů na vazebná místa v oblasti promotoru na DNA a klade si za cíl vytvořit model, který analogicky odpovídá chemické vazbě mezi dvěma reaktanty v jejich komplexu. Model, který je studován z matematické stránky, je popsán pomocí systému obyčejných diferenciálních rovnic, jeho stacionární stav (když je ve stavu tzv. dynamické rovnováhy) pomocí termodynamických algebraických rovnic. Zaměřujeme se na hledání kladného (tedy fyzikálně smysluplného) ekvilibria a zkoumáme jeho stabilitu. Dokážeme, nejprve pro jednoduchý model chemické vazby enzymu na substrát a následně i pro model afinity transkripčních faktorů na promotor, že oba modely vykazují existenci jediného (ve všech složkách) kladného ekvilibria, o kterém navíc ukážeme, že je lokálně stabilní.

Práce je rozdělena do čtyř kapitol. V kapitole Molekulová genetika vysvětlíme expresi genu, podrobněji popíšeme proces transkripce a s tím související pojmy transkripční faktor a promotor.

V druhé kapitole se budeme věnovat rychlosti chemické reakce a popíšeme některé faktory, které tuto rychlost ovlivňují. Dále se budeme věnovat enzymatické kinetice, konkrétně mechanismu modelu Michealise a Mentenové, který popíšeme systémem obyčejných diferenciálních rovnic, a odvodíme rovnici rychlosti.

V následující kapitole na úvod zavedeme používané matematické pojmy, následně budeme analyzovat jednoduchý model vazby enzymu na substrát za vzniku komplexu enzym-substrát. Dynamiku reakce popíšeme systémem obyčejných diferenciálních rovnic. Díky ekvivalenci tohoto systému s jednou diferenciální rovnicí nalezneme jeho ekvilibria a určíme jejich stabilitu. Na konec odvodíme explicitní tvar řešení tohoto systému.

Ve čtvrté kapitole bude studován model vazby transkripčního faktoru na promotor. Vazba bude modelována obdobně jako v předešlé kapitole, tedy jako vazba chemická. Bude opět popsána systémem obyčejných diferenciálních rovnic, budou nalezena ekvilib-

ria tohoto systému a bude ukázáno, že existuje právě jedno kladné ekvilibrium, které je navíc stabilní.

Motivace této bakalářské práce je snaha částečně ověřit některé výsledky uvedené v článku [6], kde autoři sestavili model vazeb transkripčních faktorů na promotor v buňčných jádrech analogický chemickým vazbám. Zatímco v [6] autoři pracovali se stacionárním modelem, autorka práce sestavila odpovídající model dynamický, aby mohla zkoumat navíc stabilitu pevných bodů.

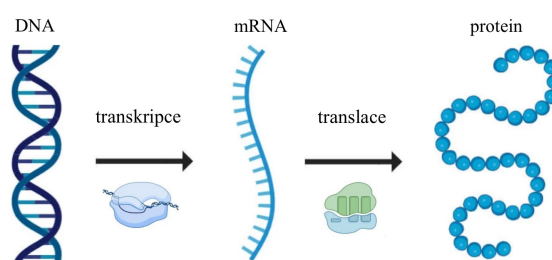
1 Molekulová genetika

Molekulová genetika má za úkol popsat a vysvětlit složitost chování živých organismů, spojeného s vývojem a dědičností, pomocí procesů na bázi struktury a interakcí molekul. Objevitelé molekulární struktury deoxyribonukleové kyseliny (DNA), Watson a Crick, vytvořili centrální dogma molekulové biologie (DNA → ribonukleová kyselina (RNA) → bílkovina), které stanovuje procesy, díky nimž můžeme na molekulární úrovni popsat podstatu dědičnosti. Mezi tyto procesy patří:

1. Replikace DNA (zachování a přenos informace),
2. Transkripce DNA (přepis),
3. Translace DNA (překlad) [18].

1.1 Exprese genu

Exprese genu neboli genová exprese je komplexní a komplikovaný proces, ke kterému dochází v každé buňce. Na základě centrálního dogmatu molekulární biologie je exprese (funkční úloha genu) dvojstupňový proces na molekulární úrovni skládající se z transkripce a translace, viz Obrázek 1. Nejprve je genetická informace přepsána do mediátorové (messenger) RNA (mRNA) a následně převedena na aminokyseliny v molekule bílkovin [5, 12, 18].



Obrázek 1: Exprese genu (převzato a upraveno z [1])

1.1.1 Transkripce

Transkripce je prvním stupněm exprese genů. Jedná se tedy o proces, kdy dochází k přenosu genetické informace z DNA na mRNA. Probíhá především v buněčném jádru nebo u semiautonómních organel v mitochondriích či plastidech. Tato reakce je katalyzována působením oligomerního (tvořeného z více podjednotek) enzymu nazývaném RNA-polymerasa. Ke správné funkci enzymu je nutná přítomnost hořčnatých Mg^{2+} a manganatých Mn^{2+} iontů. Při transkripci dvouvláknové DNA je přepsán pouze jeden řetězec, který nese plnohodnotnou informaci. Díky tomu bývá transkripce označována jako asymetrický proces. U mechanismu transkripce rozlišujeme tři fáze: iniciace, elongace a terminace.

V prvním kroku dochází k rozepnutí dvoušroubovice DNA, jeden řetězec DNA se stává matricí pro vytvoření RNA. Místo v oblasti promotoru (úsek DNA v blízkosti genu) je rozpoznáno σ -podjednotkou enzymu RNA-polymerázy. Následně se na specifická vazebná místa promotoru naváže RNA-polymerasa, a tím je zahájena transkripce genu.

Cílem iniciace je syntéza RNA, které probíhá ve směru od 5' konce nové RNA, což představuje zbytek kyseliny fosforečné neboli fosfátovou skupinou, která je vázaná na 5. uhlíku, do 3' konce, kde je hydroxylová skupina vázaná na třetím uhlíkovém atomu pentózy. Aby mohla syntéza RNA nastat, je vazba RNA-polymerasy na promotor ovládána navázanými regulačními bílkovinami, též nazývanými transkripční faktory. Ty buď start syntézy podpoří nebo naopak jí v tom zabrání.

Při elongaci nebo-li prodlužování dochází k uvolnění RNA-polymerázy od promotoru. Následně se RNA-polymerása začne posouvat po DNA, navazuje nukleotidové zbytky, molekula DNA se rozvíjí a vzniká nově syntetizované vlákno RNA.

Poslední fází je terminace - ukončení biosyntézy molekuly RNA [5, 16, 18].

1.2 Transkripční faktory

Jak už bylo výše zmíněno, pojmem transkripční faktory (TF) rozumíme bílkoviny, které jsou schopné spouštět a regulovat iniciaci transkripce molekuly DNA. Struktura TF je tvořena z:

- DNA vazebné domény (DNA-binding domain) zodpovědné z navázání se na specifické sekvence DNA (na promotor),
- trans-aktivační domény (trans-activating domain), která navazuje další proteiny a aktivuje transkripci.

Vazba TF na promotor je umožněna pomocí vazebných interakcí jako jsou například vodíkové můstky či hydrofobní interakce. Rozlišujeme tři typy TF: bazální, obecné a regulační. První dva typy TF jsou proteiny, které působí na promotor a jsou nutné pro transkripci. Třetím typem, jak už z jejich názvu vyplývá, jsou hlavní regulační mechanismy, které aktivují iniciaci transkripce [5, 8, 14, 17].

2 Chemická kinetika

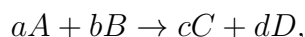
Chemická kinetika je obor fyzikální chemie zabývající se studiem rychlosti chemických reakcí, zejména měřením a interpretací reakční rychlosti. Díky reakčním rychlostem můžeme lépe pochopit mechanismy chemických reakcí i jejich rozklad na elementární kroky [18].

Rozlišujeme elementární reakce a reakční mechanismus. Elementární reakce jsou reakce, ke kterým dochází v jednom kroku obvykle interakcí dvou reaktantů (částic). Sekvence elementárních reakcí, která vede k celkové chemické změně vyjádřené jednou chemickou rovnicí se nazývá reakční mechanismus.

Cílem chemické kinetiky na makroskopické úrovni je definovat a určit rychlost reakce, řád reakce a závislost rychlosti na koncentracích výchozích látek. Na mikroskopické (molekulární) úrovni je cílem chemické kinetiky rozpoznat reakční mechanismus z experimentů.[3]

2.1 Rychlost reakce

Rychlost reakce je definována jako časový úbytek molární koncentrace některého z reaktantů nebo přírůstek molární koncentrace libovolného produktu dělený jeho stechiometrickým koeficientem ([3, str. 120]). Budeme uvažovat chemickou rovnici, znázorněnou následujícím způsobem



kde vzájemně reagují látka A a látka B (reaktanty, výchozí látky) a tím vzniká látka C a látka D (produkty). Šipka \rightarrow je označení pro přímou reakci, kde na začátku reakce jsou v reakční směsi přítomny pouze molekuly výchozích látek a jejich interakce vede k přeměně na produkty.

Rychlost takto popsané reakce je definována vztahy

$$v = -\frac{1}{a} \frac{dn_A}{dt} = -\frac{1}{b} \frac{dn_B}{dt} = +\frac{1}{c} \frac{dn_C}{dt} = +\frac{1}{d} \frac{dn_D}{dt},$$

kde a, b, c, d jsou stechiometrické faktory, které jsou rovny počtu molů látky v dané reakci, dn_A, dn_B, dn_C, dn_D odpovídá nekonečně malé změně molárního množství látek A, B, C, D za nekonečně malý časový okamžik dt , znaménko mínus reprezentuje úbytek výchozí látky a znaménko plus přírůstek produktu reakce.

Pokud se objem reakční směsi během reakce nemění, můžeme do výše uvedené rovnice místo molárních množství dosadit koncentrace jednotlivých látek a dostaneme rychlost reakce vyjádřenou jako

$$v = -\frac{1}{a} \frac{d[A]}{dt} = -\frac{1}{b} \frac{d[B]}{dt} = +\frac{1}{c} \frac{d[C]}{dt} = +\frac{1}{d} \frac{d[D]}{dt},$$

viz [3, 10, 11].

2.1.1 Faktory ovlivňující rychlost chemické reakce

Mějme reakci



kde A a B jsou výchozí látky, C a D jsou produkty, a, b, c, d jsou stechiometrické faktory, k, \overleftarrow{k} , jsou rychlostní konstanty reakce a šipka \rightleftharpoons značí zvrtnou (reverzibilní) reakci.

Rychlost chemické reakce (1) může být ovlivněna mnoha faktory např. tlakem, teplotou, přítomností katalyzátoru. Některé z těchto faktorů můžeme ovlivňovat, a tak vhodnou volbou podmínek rychlost reakce optimalizovat [3]. Mezi hlavní faktory ovlivňující rychlost chemické reakce patří:

a) Koncentrace reaktantů

Závislost rychlosti dopředné reakce (1) na okamžitých koncentracích výchozích látek (rate law, rychlostní zákon) je popsána kinetickou rovnicí

$$v = k[A]^a[B]^b,$$

pro zpětnou reakci (1) máme

$$\overleftarrow{v} = \overleftarrow{k}[C]^c[D]^d.$$

Reakce (1), je tzv. zvratná, tj. probíhá zleva doprava i zprava doleva. Při dopředné reakci zleva doprava dochází k úbytku reaktantů, v důsledku čehož rychlost reakce v klesá, při zpětné reakci zprava doleva ubývají produkty a rychlost reakce \overleftarrow{v} roste. Reakce přitom směřuje k ustálení chemické rovnováhy [3, 11]. Jedná se o stav tzv. dynamické rovnováhy (probíhá neustále oběma směry, přitom se koncentrace zúčastněných látek nemění), což je způsobeno tím, že se rychlosti přímé a zpětné reakce rovnají [3, 11]. Proto můžeme psát

$$k[A]^a[B]^b = \overleftarrow{k}[C]^c[D]^d.$$

Odkud plyne následující vztah

$$\frac{k}{\overleftarrow{k}} = \frac{[C]^c[D]^d}{[A]^a[B]^b} = K,$$

kde K je tzv. rovnovážná konstanta reakce. Tento vztah se nazývá Guldberg-Waageův zákon, který nám říká, že rychlost reakce je funkcí okamžitých koncentrací reaktantů. Tento zákon lze ještě popsat následujícím způsobem: podíl součinu rovnovážných koncentrací produktů umocněných na příslušné stechiometrické koeficienty a součinu koncentrací výchozích látek umocněných na příslušné stechiometrické koeficienty, je konstantní a rovná se rovnovážné konstantě reakce. Tato konstanta slouží k určení složení rovnovážné směsi určité konkrétní reakce. Pokud je $K < 1$, v rovnovážné směsi převažují výchozí látky, pro $K = 1$ směs tvoří stejné množství výchozích látek a produktů, a jestliže $K > 1$, pak v rovnovážné směsi převládají produkty [11].

b) Katalyzátor

Katalyzátory jsou látky, které vstupují do chemické reakce, ovlivní ji a vystupují v nezměněné podobě. Reakci ovlivňují tím, že snižují aktivační energii (to je minimální energie, kterou musí mít částice, aby jejich srážka byla účinná). Tím dochází ke zkrácení potřebného času k ustanovení chemické rovnováhy [11].

c) Teplota

U teploty se uplatňuje tzv. Van't Hoffovo pravidlo, které nám říká, že zvýšíme-li teplotu výchozích látek o 10°C, tak rychlost reakce vzroste dvakrát až čtyřikrát. Jedná se tedy o exponenciální závislost. Závislost rychlosti reakce na teplotě vyjadřuje Arrheinova rovnice

$$k = Ae^{-E_a/RT},$$

kde k je rychlostní konstanta, A je frekvenční faktor a E_a je aktivační energie, R je univerzální plynová konstanta a T je teplota v Kelvinech (viz [3, 11]).

d) Tlak

Zvýšením tlaku dojde ke zvýšení koncentrace a díky tomu vzroste i rychlost reakce.

e) Dalšími faktory jsou např. skupenství reaktantů nebo rozpouštědlo.

2.2 Enzymatická kinetika

Enzymatická kinetika studuje faktory, které ovlivňují rychlost reakce katalyzované enzymem. Mezi tyto faktory řadíme např. typ a koncentrace enzymu, reaktantů a produktů, dále pH a teplotu. Při studiu enzymatické kinetiky byly pozorovány následující rysy reakcí:

- koncentrace enzymu je úměrná rychlosti reakce,
- při nízkých koncentracích substrátu je rychlost reakce úměrná koncentraci substrátu,
- při vysokých koncentracích substrátu je rychlost reakce nezávislá na jeho koncentraci ([3, str. 833]).

Enzymy se řadí mezi vysoce selektivní biokatalyzátory zodpovědné za chemické přeměny potřebné k životu. Obsahují aktivní místo, které váže substráty (výchozí látky)

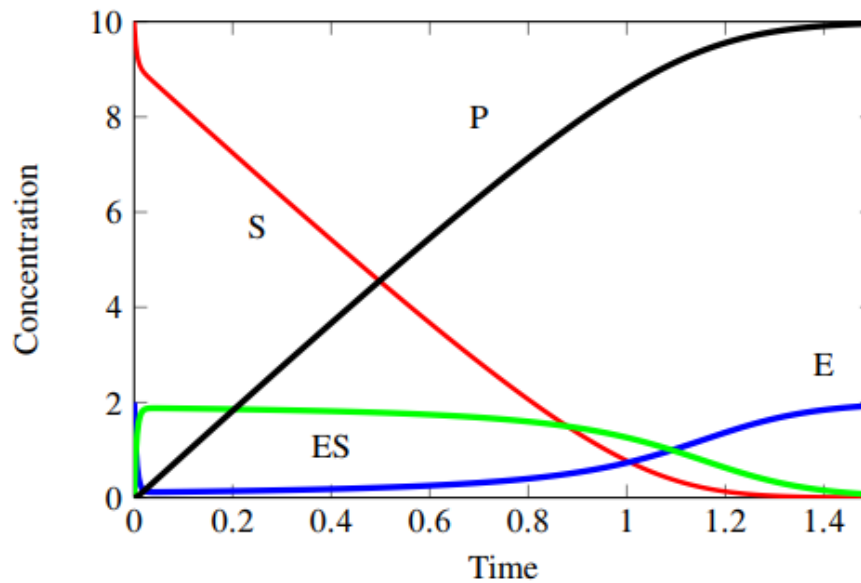
a přeměňuje je na produkty. Po odloučení produktu se aktivní centrum enzymu (biokatalyzátoru) vrací do původního stavu ([3, str. 832]). Enzymy využívají energii vazby substrátu na aktivní místo enzymu ke tvorbě komplexu enzym-substrát. Model působení enzymů vytvořili Michaelis a Mentenová a jeho mechanismus je popsán chemickou rovnicí



kde k_1 , k_2 a k_3 jsou kladné rychlostní konstanty, E je enzym, S je substrát, P je produkt a ES je označení pro komplex enzym-substrát. Připomínáme, že symbol \rightleftharpoons značí zvrtnou reakci a symbol \rightarrow přímou reakci [2, 3, 15].

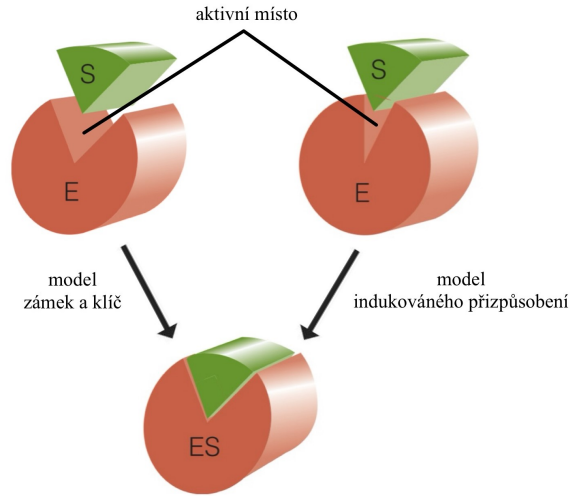
Typický průběh časové závislosti koncentrací jednotlivých látek účastnících se reakce (2) za předpokladu, že na počátku reakce jsou koncentrace enzymu a substrátu na maximech a produkt není přítomen (jeho koncentrace je nulová), je znázorněn na Obrázku 2.

Poznámka 1. *V rámci celé práce uvažujeme pouze kladné rychlostní konstanty reakcí. Rychlostní konstanty zpětných reakcí budou v matematických rovnicích opatřeny znaménkem mínus.*



Obrázek 2: Křivky zobrazující typický průběh reakce (2). Červená křivka popisuje průběh koncentrace substrátu $[S]$, modrá křivka průběh koncentrace enzymu $[E]$, zelená křivka průběh koncentrace komplexu enzym-substrát $[ES]$ a černá křivka popisuje průběh koncentrace produktu $[P]$ (převzato z [15]).

Existují dva způsoby navázání substrátu na aktivní místo enzymu, a to lock-and-key (zámek a klíč) model a induced fit model (model indukovaného přizpůsobení). První zmíněný model představuje přesné zapadnutí substrátu na aktivní místo enzymu bez narušení uspořádání atomů, u druhého modelu nejprve dochází ke konformační změně aktivního centra a až poté následuje spojení enzymu a substrátu, viz Obrázek 3 [2, 3, 15].



Obrázek 3: Model zámek a klíč a model indukovaného přizpůsobení (převzato a upraveno z [2]).

2.2.1 Kinetika Michaelise-Mentenové

V této sekci navážeme na sekce předešlé. Uvažujme systém (2), kde enzym E interaguje se substrátem S za vzniku komplexu enzym-substrát ES . Vzniká produkt P a uvolní se opět enzym E . Takovou dynamiku reakcí popíšeme pomocí systému obyčejných diferenciálních rovnic následovně

$$\begin{aligned}
 \frac{d[S]}{dt} &= -k_1[E][S] + k_2[ES], \\
 \frac{d[ES]}{dt} &= k_1[E][S] - (k_2 + k_3)[ES], \\
 \frac{d[E]}{dt} &= -k_1[E][S] + (k_2 + k_3)[ES], \\
 \frac{d[P]}{dt} &= k_3[ES],
 \end{aligned} \tag{3}$$

kde proměnné v hranatých závorkách značí koncentrace jednotlivých látek a k_1, k_2, k_3 jsou kladné rychlostní konstanty.

Ve stavu dynamické rovnováhy druhou rovnicí systému (3)

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_1[E][S] - k_2[ES] - k_3[ES] = 0$$

můžeme přepsat jako

$$k_1[E][S] = k_2[ES] + k_3[ES]. \quad (4)$$

Označíme-li $[cE]$ celkovou koncentraci enzymu, vidíme, že odpovídá množství volného enzymu a enzymu vázaného v komplexu enzym-substrát $[cE] = [E] + [ES]$. Koncentraci volného enzymu můžeme tedy vyjádřit jako rozdíl celkové koncentrace enzymu a množství enzymu vázaného v komplexu $[E] = [cE] - [ES]$. Dosazením do (4) máme

$$k_1([cE] - [ES])[S] = k_2[ES] + k_3[ES], \quad (5)$$

což upravíme na tvar

$$\frac{([cE] - [ES])[S]}{[ES]} = \frac{k_2 + k_3}{k_1}, \quad (6)$$

kde $\frac{k_2+k_3}{k_1} = K_M$ je konstanta Michealise a Mentenové, která charakterizuje katalytické vlastnosti enzymu, jeho interakci mezi enzymem a substrátem, a není závislá na koncentraci enzymu, ale pouze na prostředí.

Poměr $K_d = \frac{k_2}{k_1}$ rychlostní konstanty zpětné reakce k_2 a rychlostní konstanty dopředné reakce k_1 udává hodnotu tzv. disociační konstanty K_d komplexu ES . Pokud je disociace komplexu enzym-substrát výrazně rychlejší než tvorba produktu ($k_2 \gg k_3$), pak platí $K_M \approx K_d$ [7].

Budeme-li pokračovat v úpravách rovnice (6), vyjádřením $[ES]$ získáme vztah

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

Ten dosadíme do rovnice rychlosti tvorby produktu (3) a získáme rovnici Michealise a Mentenové pro rychlost

$$v = \frac{d[P]}{dt} = k_3[ES] = k_3 \frac{[cE][S]}{K_M + [S]} = k_3 \frac{[cE]}{\frac{K_M}{[S]} + 1}. \quad (7)$$

Označíme-li $V_m = k_3[cE]$, lze (7) psát ve tvaru

$$v = \frac{V_m}{\frac{K_M}{[S]} + 1}.$$

Pokud je koncentrace substrátu mnohem větší než konstanta K_M ($[S] \gg K_M$), je $\frac{K_M}{[S]} \approx 0$, díky tomu je $v \approx V_m$ a V_m lze tak chápat jako maximální/limitní rychlost chemické reakce vzniku produktu [3, 4, 7, 10, 13, 15].

3 Matematický model jednoduché chemické reakce

3.1 Definice některých použitých pojmů

V této sekci zavedeme několik matematických pojmů, které budeme déle používat.

Pojmem *diferenciální rovnice* rozumíme rovnice, ve kterých se jako neznámé vyskytují funkce a jejich derivace. Diferenciální rovnice s derivací neznámé funkce jedné reálné proměnné se nazývají obyčejné diferenciální rovnice (ODR). V této práci budeme používat obyčejné diferenciální rovnice prvního řádu, kde nezávislou veličinou bude čas, závislými proměnnými koncentrace látek účastnících se modelované chemické reakce.

Definice 2. *Nechť n je přirozené číslo, $I \subset \mathbb{R}$ a $G \subset \mathbb{R}^n$ a nechť $f_i : I \times G \rightarrow \mathbb{R}$ pro $i = 1, 2, \dots, n$. Soustava rovnic*

$$\begin{aligned} \frac{dx_1(t)}{dt} &= f_1(t, x_1(t), \dots, x_n(t)) \\ &\vdots \\ \frac{dx_n(t)}{dt} &= f_n(t, x_1(t), \dots, x_n(t)) \end{aligned} \tag{8}$$

se nazývá systém (soustava) obyčejných diferenciálních rovnic.

Definice 3. *Řešením diferenciální rovnice (8) nazýváme vektorovou funkci $x(t) : I \subset \mathbb{R} \rightarrow \mathbb{R}^n$, která má v intervalu I derivaci a splňuje pro všechna $t \in I$ diferenciální rovnici (8).*

Definice 4. *Nechť $[t_0, x_0]$ je libovolný bod v $I \times G \subset \mathbb{R} \times \mathbb{R}^n$. Úloha nalézt řešení rovnice (8) splňující počáteční podmínku $x(t_0) = x_0$ se nazývá Cauchyho počáteční úloha.*

Proces hledání řešení diferenciální rovnice znamená, že hledáme množinu všech řešení dané úlohy. Typické bývá řešit Cauchyho počáteční úlohu, která z této množiny všech tzv. obecných řešení vybere jedno konkrétní řešení splňující danou počáteční podmínku, to jest prochází vybraným specifikovaným bodem.

Definice 5. Autonomní diferenciální rovnici (systém), nazýváme rovnici

$$\frac{dx}{dt} = f(x(t)),$$

kde funkce $f : \mathbb{R}^n \rightarrow \mathbb{R}^n$ nezávisí explicitně na proměnné t .

Poznámka 6. V této práci pracujeme pouze s autonomními diferenciálními rovnicemi.

Definice 7. Bod $x^* \in G \subset \mathbb{R}^n$, který splňuje $f_i(x^*) = 0, i = 1, \dots, n$, se nazývá pevným bodem (ekvilibriem, stacionárním bodem) diferenciální rovnice (8).

Definice 8. Necht' $x^* \in \mathbb{R}^n$ je pevný bod soustavy diferenciálních rovnic $\frac{dx}{dt} = f(x)$, $x \in \mathbb{R}^n$, $f : \mathbb{R}^n \rightarrow \mathbb{R}^n$, tj. $f(x^*) = 0$.

1. Pevný bod x^* se nazývá (lokálně) stabilní pokud platí, že pro každé $\varepsilon > 0$ existuje $\delta > 0$ takové, že pro každé řešení $x(t)$ diferenciální rovnice s počáteční hodnotou $x(t_0)$ splňující $\|x(t_0) - x^*\| < \delta$ platí $\|x(t) - x^*\| < \varepsilon$ pro všechna $t > t_0$.
2. Platí-li navíc, že pro takováto řešení $x(t)$ je $\lim_{t \rightarrow \infty} x(t) = x^*$, pak říkáme, že pevný bod je lokálně asymptoticky stabilní.

Definice 9. Necht' existují parciální derivace všech složek f_1, \dots, f_n vektorové funkce $f : \mathbb{R}^n \rightarrow \mathbb{R}^n, n > 1$, podle všech proměnných v bodě $x \in D(f)$. Matici

$$J(x) = \begin{pmatrix} \frac{\partial f_1}{\partial x_1}(x) & \dots & \frac{\partial f_1}{\partial x_n}(x) \\ \vdots & & \vdots \\ \frac{\partial f_n}{\partial x_1}(x) & \dots & \frac{\partial f_n}{\partial x_n}(x) \end{pmatrix}$$

nazýváme Jakobiho maticí funkce f v bodě x .

Dále si uvedeme ještě tvrzení, která nám pomůžou rozhodnout o stabilitě pevných bodů diferenciálních rovnic, viz též [9, Appendix 5.1 a 5.2 a Remark 5.3.4].

Věta 10 (Routh-Hurwitzova). *Nechť J je Jakobiho matice funkce $f : \mathbb{R}^2 \rightarrow \mathbb{R}^2$,*

$$J = \begin{pmatrix} a & b \\ c & d \end{pmatrix}.$$

Pak reálné části vlastních čísel matice jsou záporné právě když stopa matice

$$\text{Tr}(J) = a + d$$

je záporná a determinant

$$\det(J) = ad - bc$$

je kladný.

Věta 11 (Věta o stabilitě). *Nechť má Jakobiho matice funkce f v pevném bodě $x^* \in D(f)$ všechna vlastní čísla záporná, pak je tento pevný bod stabilní i lokálně asymptoticky stabilní.*

3.2 Analýza modelu vazby enzymu na substrát

Vezmeme si nejjednodušší modelovou situaci, a to reakci enzymu E se substrátem S za vzniku komplexu enzym-substrát ES , tedy reakci



přičemž k_1 je rychlostní konstanta dopředné reakce a k_2 je rychlostní konstanta zpětné reakce. Obě rychlostní konstanty k_1, k_2 předpokládáme kladné. Dynamika reakce (9) je popsána systémem tří obyčejných diferenciálních rovnic pro koncentrace tří reaktantů

$$\begin{aligned} \frac{d[E]}{dt} &= -k_1[E][S] + k_2[ES], \\ \frac{d[S]}{dt} &= -k_1[E][S] + k_2[ES], \\ \frac{d[ES]}{dt} &= k_1[E][S] - k_2[ES]. \end{aligned} \quad (10)$$

Označme $[cE]$ a $[cS]$ celkové koncentrace enzymu a substrátu a předpokládáme $[cE] > 0$ a $[cS] > 0$.

Věta 12. *Stacionární řešení systému (10) jsou body tvaru $[0, S, 0]$ a $[E, 0, 0]$ s libovolnými $S \in \mathbb{R}$ a $E \in \mathbb{R}$, a dvě netriviální ekvilibria $[E_1, S_1, ES_1]$, $[E_2, S_2, ES_2]$, kde $E_1, S_1, ES_1 > 0$ a $E_2 < 0, S_2 < 0, ES_2 > 0$. Dále platí, že $[E_1, S_1, ES_1]$ je stabilní a $[E_2, S_2, ES_2]$ nestabilní pevný bod.*

Poznámka 13. *Dosazením do rovnic (10) je vidět, že body tvaru $[E, 0, 0]$ a $[0, S, 0]$ pro každé $E \in \mathbb{R}$ a $S \in \mathbb{R}$ jsou ekvilibria, neboť pravé strany rovnic jsou nulové, pokud $[ES]$ je nula a zároveň alespoň jedno z $[E]$ nebo $[S]$ je nula. Dále je zřejmé, že jestliže $[E]$ a $[S]$ jsou v ekvilibriu obě nenulové, pak i $[ES]$ musí být nenulové. To platí i naopak: jakmile $[ES]$ je nenulové, pak obě $[E]$ a $[S]$ musejí být nenulové. Z toho plyne, že jiná ekvilibria než uvedených tvarů $[E, 0, 0]$ a $[0, S, 0]$ jsou takové trojice, které mají všechny tři složky nenulové.*

V nadcházející části práce se zaměříme na hledání netriviálních ekvilibríí systému (10).

Z reakce (9) víme, že celková koncentrace enzymu $[cE]$ je součtem koncentrace volného enzymu $[E]$ a enzymu vázaného v komplexu enzym-substrát $[ES]$. Jelikož koncentrace enzymu vázaného v komplexu ES je stejná jako koncentrace substrátu v tomto komplexu, platí analogie i pro substrát, nebo-li

$$\begin{aligned} [cE] &= [E] + [ES], \\ [cS] &= [S] + [ES]. \end{aligned} \tag{11}$$

Odtud vyjádřením koncentrace komplexu enzym-substrát získáme vztahy

$$[ES] = [cE] - [E] = [cS] - [S] \tag{12}$$

a následně také

$$[S] = [cS] - [cE] + [E]. \tag{13}$$

Tím jsme vyjádřili koncentraci $[S]$ a $[ES]$ pomocí $[E]$ a známých celkových koncentrací. Dosazením (12) a (13) do první rovnice z (10) dostáváme následující tvrzení.

Tvrzení 14. *Za předpokladu rovností (11) je systém (10) ekvivalentní s jednou obyčejnou diferenciální rovnicí*

$$\frac{d[E]}{dt} = -k_1[E]([cS] - [cE] + [E]) + k_2([cE] - [E]) \quad (14)$$

a vztahy (12) a (13) pro složky $[S]$ a $[ES]$.

V dalším textu určíme netriviální pevné body rovnice (14), a tím díky vztahům (12) a (13) i pevné body systému (10). Nalezneme tak *ekvilibriální* koncentrace jednotlivých reaktantů. Pomocí rychlostních konstant k_1, k_2 definujeme disociační konstantu K_d obdobným způsobem, jako jsme v předchozí kapitole definovali konstantu Michealise a Mentenové

$$K_d = \frac{k_2}{k_1} = \frac{[E][S]}{[ES]}. \quad (15)$$

Koncentrace komplexu enzym-substrát v *ekvilibriu* tak vyjádříme pomocí K_d jako

$$[ES] = \frac{[E][S]}{K_d}. \quad (16)$$

Čím větší bude hodnota disociační konstanty K_d , tím slabší bude vazba enzymu na substrát a naopak.

Poznámka 15. *Vztah (16) pro koncentrace všech reaktantů platí pouze v ekvilibriu. Pro dynamiku systému (10) ho nelze použít.*

Tvrzení 16. *Rovnice (14) má dvě ekvilibria, obě jsou netriviální a to tvaru*

$$E_{1,2} = \frac{-(K_d + [cS] - [cE]) \pm \sqrt{(K_d + [cS] - [cE])^2 + 4[cE]K_d}}{2}, \quad (17)$$

přičemž platí $E_1 > 0 > E_2$. Navíc E_1 je stabilní a E_2 je nestabilní. Zde K_d značí disociační konstantu z (15).

Důkaz. Najít ekvilibria rovnice (14) znamená najít kořeny rovnice

$$-k_1[E]([cS] - [cE] + [E]) + k_2([cE] - [E]) = 0.$$

Vydělením k_1 dostaneme tvar s konstantou K_d místo rychlostí k_1 a k_2

$$-[E]([cS] - [cE] + [E]) + K_d([cE] - [E]) = 0$$

a po úpravě získáme obecný tvar kvadratické rovnice v proměnné $[E]$

$$-[E]^2 - (K_d + [cS] - [cE])[E] + [cE]K_d = 0. \quad (18)$$

Nyní již snadno určíme kořeny

$$E_{1,2} = \frac{-(K_d + [cS] - [cE]) \pm \sqrt{(K_d + [cS] - [cE])^2 + 4[cE]K_d}}{2},$$

což je výraz (17). Pro členy v tomto vztahu platí

$$4[cE]K_d > 0, \quad \sqrt{(K_d + [cS] - [cE])^2 + 4[cE]K_d} > |-(K_d + [cS] - [cE])|$$

a proto ze (17) plyne

$$E_2 < 0 < E_1, \quad \text{kde } E_1 = \frac{-(K_d + [cS] - [cE]) + \sqrt{(K_d + [cS] - [cE])^2 + 4[cE]K_d}}{2}.$$

Dále je z ekvivalentních úprav výše a z tvaru (18) zřejmé, že pravá strana rovnice (14) je vzhledem k proměnné $[E]$ konkávní parabola. Proto její derivace je v levém kořeni kladná, v pravém kořeni záporná. Tudíž levý kořen E_2 je nestabilní ekvilibrium a pravý kořen E_1 je stabilní ekvilibrium rovnice (14). \square

Nyní výše uvedené úvahy a poznatky o rovnici (14) převedeme na systém (10).

Tvrzení 17. *Bod $[E_1, S_1, ES_1]$ je stabilní a $[E_2, S_2, ES_2]$ je nestabilní netriviální ekvilibrium systému (10). Zde E_1 a E_2 jsou dány vztahem (17) a*

$$\begin{aligned} S_1 &= [cS] - [cE] + \frac{-(K_d + [cS] - [cE]) + \sqrt{(K_d + [cS] - [cE])^2 + 4[cE]K_d}}{2}, \\ ES_1 &= [cE] - \frac{-(K_d + [cS] - [cE]) + \sqrt{(K_d + [cS] - [cE])^2 + 4[cE]K_d}}{2}, \\ S_2 &= [cS] - [cE] + \frac{-(K_d + [cS] - [cE]) - \sqrt{(K_d + [cS] - [cE])^2 + 4[cE]K_d}}{2}, \\ ES_2 &= [cE] - \frac{-(K_d + [cS] - [cE]) - \sqrt{(K_d + [cS] - [cE])^2 + 4[cE]K_d}}{2}. \end{aligned}$$

Dále platí $E_1 > 0, S_1 > 0, ES_1 > 0$ a $E_2 < 0, S_2 < 0, ES_2 > 0$.

Důkaz. Zaměříme se nejprve na znaménka jednotlivých složek netriviálních ekvilibrií $[E_1, S_1, ES_1]$ a $[E_2, S_2, ES_2]$ systému (10). Z výrazu (15) lze vidět, že disociační konstanta K_d je kladná, protože jsme globálně předpokládali, že rychlostní konstanty k_1, k_2 jsou kladné, viz Poznámka 1.

Z Tvrzení 16 víme, že $E_2 < 0$, pak ze vztahu (12) plyne $ES_2 > 0$. Dále z (16) plyne vztah pro znaménka reaktantů

$$\text{sign}[ES] = \text{sign}([E] \cdot [S]) = \text{sign}[E] \cdot \text{sign}[S], \quad (19)$$

ze kterých pro $E_2 < 0$ a $ES_2 > 0$ vyplývá také $S_2 < 0$.

Dosazením (16) do druhé rovnice z (11) získáme rovnost

$$[cS] = [S] + \frac{[E][S]}{K_d}, \quad (20)$$

kterou upravíme na tvar

$$[cS] = \left(1 + \frac{[E]}{K_d}\right) [S]. \quad (21)$$

Opět z Tvrzení 16 víme, že $E_1 > 0$, poté z (21) a z kladnosti $K_d > 0$ a $[cS] > 0$ plyne, že $S_1 > 0$. Následně ze vztahu (19) plyne, že i $ES_1 > 0$. Znaménka obou netriviálních ekvilibrií systému (10) proto jsou $[E_1, S_1, ES_1] = [+ , + , +]$ a $[E_2, S_2, ES_2] = [- , - , +]$.

Stabilita a nestabilita ekvilibrií $[E_1, S_1, ES_1]$, $[E_2, S_2, ES_2]$ plyne z ekvivalence úloh (10) a (14) a stability a nestability pevných bodů E_1 a E_2 pro (14). \square

Tvrzení 17 spolu s Poznámkou 13 nyní dokazují platnost Věty 12.

Věta 18. *Obecné řešení rovnice (14) je*

$$E(t) = \frac{E_1 - CE_2 e^{-k_1(E_1 - E_2)t}}{1 - C e^{-k_1(E_1 - E_2)t}}, \quad t \in \mathbb{R}, C \in \mathbb{R}, \quad (22)$$

a Cauchyova úloha pro počáteční podmínku $E(0) = [cE]$ má řešení tvaru

$$E(t) = \frac{E_1 - \frac{E_1 - [cE]}{E_2 - [cE]} E_2 e^{-k_1(E_1 - E_2)t}}{1 - \frac{E_1 - [cE]}{E_2 - [cE]} e^{-k_1(E_1 - E_2)t}}, \quad t \in \mathbb{R}. \quad (23)$$

kde E_1 s E_2 jsou ekvilibriální body z Tvrzení 16.

Důkaz. Rovnici (14) můžeme přepsat do tvaru

$$\frac{d[E]}{dt} = -k_1([E] - E_1)([E] - E_2)$$

a pomineme-li obě konstantní řešení $[E] \equiv E_1$ a $[E] \equiv E_2$, dostaneme rovnici

$$\frac{d[E]}{dt} \frac{1}{([E] - E_1)([E] - E_2)} = -k_1$$

kterou budeme řešit metodou separace proměnných. Integrací získáme vztah

$$\int \frac{d[E]}{([E] - E_1)([E] - E_2)} = \int -k_1 dt.$$

Integrál na levé straně rovnice řešíme pomocí parciálních zlomků

$$\frac{1}{E_1 - E_2} \int \frac{1}{[E] - E_1} - \frac{1}{[E] - E_2} dE = -k_1 t + C,$$

kde $C \in \mathbb{R}$ je libovolné. Odtud postupnými úpravami dostáváme

$$\ln \left| \frac{[E] - E_1}{[E] - E_2} \right| = -k_1(E_1 - E_2)t + C, \quad C \in \mathbb{R},$$

$$\left| \frac{[E] - E_1}{[E] - E_2} \right| = C e^{-k_1(E_1 - E_2)t}, \quad C > 0,$$

$$\frac{[E] - E_1}{[E] - E_2} = \pm C e^{-k_1(E_1 - E_2)t}, \quad C \neq 0.$$

Uvědomíme-li si, že $[E] \equiv [E_1]$ a $[E] \equiv [E_2]$ jsou obě stacionárními řešeními, máme odtud

$$[E] - E_1 = C e^{-k_1(E_1 - E_2)t} [E] - C e^{-k_1(E_1 - E_2)t} E_2, \quad C \in \mathbb{R},$$

což lze upravit na tvar

$$[E] (1 - C e^{-k_1(E_1 - E_2)t}) = E_1 - C e^{-k_1(E_1 - E_2)t} E_2, \quad C \in \mathbb{R}.$$

Tím jsme získali obecné řešení rovnice (14)

$$E(t) = \frac{E_1 - C E_2 e^{-k_1(E_1 - E_2)t}}{1 - C e^{-k_1(E_1 - E_2)t}}, \quad t \in \mathbb{R},$$

kde $C \in \mathbb{R}$ je libovolné.

Nyní určíme řešení Cauchyovy úlohy pro počáteční podmínku $E(0) = [cE]$. Dosazením obecného řešení do počáteční podmínky získáme

$$[cE] = \frac{E_1 - CE_2}{1 - C},$$

odkud postupnými úpravami vyjádříme integrační konstantu

$$C = \frac{E_1 - [cE]}{E_2 - [cE]}.$$

Dosazením tohoto vztahu do (22) dostaneme řešení Cauchyovy úlohy

$$E(t) = \frac{E_1 - \frac{E_1 - [cE]}{E_2 - [cE]} E_2 e^{-k_1(E_1 - E_2)t}}{1 - \frac{E_1 - [cE]}{E_2 - [cE]} e^{-k_1(E_1 - E_2)t}}, \quad t \in \mathbb{R}.$$

□

Funkce $E(t)$ tvaru (22) je řešením rovnice (14) a díky ekvivalenci úloh (14) a (10) je zároveň první složkou řešení tohoto systému. Dosazením (22) do (12) a (13) dostáváme všechny složky řešení systému (10)

$$\begin{aligned} E(t) &= \frac{E_1 - CE_2 e^{-k_1(E_1 - E_2)t}}{1 - C e^{-k_1(E_1 - E_2)t}}, \\ S(t) &= [cS] - [cE] + E(t) = [cS] - [cE] + \frac{E_1 - CE_2 e^{-k_1(E_1 - E_2)t}}{1 - C e^{-k_1(E_1 - E_2)t}}, \\ ES(t) &= [cE] - E(t) = [cE] - \frac{E_1 - CE_2 e^{-k_1(E_1 - E_2)t}}{1 - C e^{-k_1(E_1 - E_2)t}}, \quad t \in \mathbb{R}. \end{aligned} \tag{24}$$

Řešení systému (10), které navíc splňuje počáteční podmínky

$$\begin{aligned} E(0) &= [cE], \\ S(0) &= [cS], \\ ES(0) &= 0, \end{aligned} \tag{25}$$

má potom tvar

$$\begin{aligned}
E(t) &= \frac{E_1 - \frac{E_1 - [cE]}{E_2 - [cE]} E_2 e^{-k_1(E_1 - E_2)t}}{1 - \frac{E_1 - [cE]}{E_2 - [cE]} e^{-k_1(E_1 - E_2)t}}, \\
S(t) &= [cS] - [cE] + E(t) = [cS] - [cE] + \frac{E_1 - \frac{E_1 - [cE]}{E_2 - [cE]} E_2 e^{-k_1(E_1 - E_2)t}}{1 - \frac{E_1 - [cE]}{E_2 - [cE]} e^{-k_1(E_1 - E_2)t}}, \\
ES(t) &= [cE] - E(t) = [cE] - \frac{E_1 - \frac{E_1 - [cE]}{E_2 - [cE]} E_2 e^{-k_1(E_1 - E_2)t}}{1 - \frac{E_1 - [cE]}{E_2 - [cE]} e^{-k_1(E_1 - E_2)t}}, \quad t \in \mathbb{R}.
\end{aligned}$$

Úvahy výše můžeme shrnout do následujícího tvrzení.

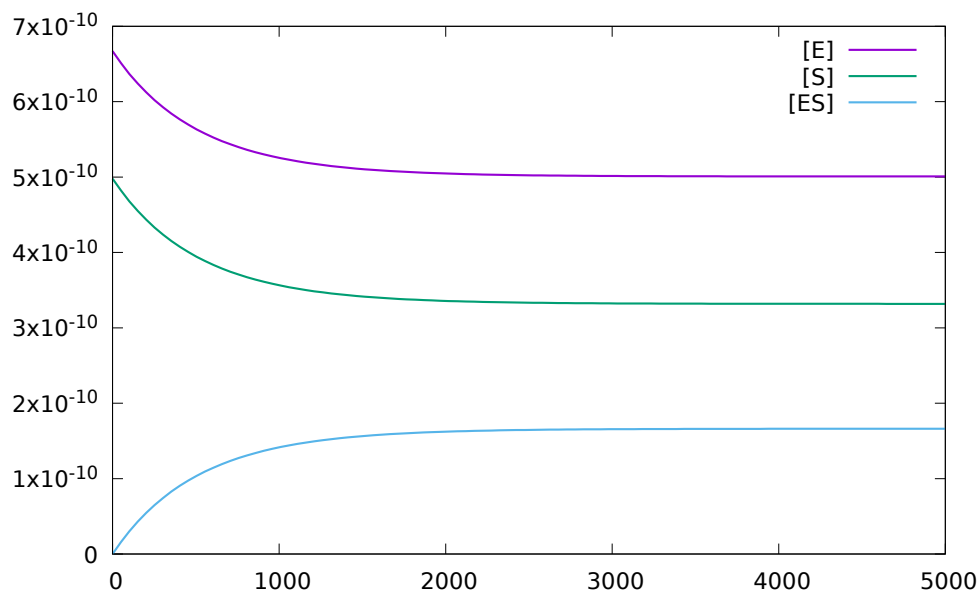
Věta 19. *Existuje právě jedno řešení Cauchyovy úlohy pro systém (10) a počáteční podmínky (25). Toto řešení je dané trojicí funkcí*

$$\begin{aligned}
E(t) &= \frac{E_1 - \frac{E_1 - [cE]}{E_2 - [cE]} E_2 e^{-k_1(E_1 - E_2)t}}{1 - \frac{E_1 - [cE]}{E_2 - [cE]} e^{-k_1(E_1 - E_2)t}}, \\
S(t) &= [cS] - [cE] + \frac{E_1 - \frac{E_1 - [cE]}{E_2 - [cE]} E_2 e^{-k_1(E_1 - E_2)t}}{1 - \frac{E_1 - [cE]}{E_2 - [cE]} e^{-k_1(E_1 - E_2)t}}, \\
ES(t) &= [cE] - \frac{E_1 - \frac{E_1 - [cE]}{E_2 - [cE]} E_2 e^{-k_1(E_1 - E_2)t}}{1 - \frac{E_1 - [cE]}{E_2 - [cE]} e^{-k_1(E_1 - E_2)t}}, \quad t \in \mathbb{R},
\end{aligned} \tag{26}$$

kde E_1, E_2 jsou dány vztahem (17).

Poznámka 20. *Parametry k_2 ani K_d nejsou v řešení (26) přímo vidět, nicméně jsou tam implicitně schované prostřednictvím stacionárních bodů E_1 a E_2 .*

Typický průběh výše uvedeného řešení (26) pro vybrané hodnoty parametrů k_1, k_2 a počáteční koncentrace $[cE]$ a $[cS]$ na časovém intervalu $[0, 5000]$ je zobrazen na Obrázku 4.



Obrázek 4: Ilustrace průběhu řešení (26) systému (10) pro vybrané hodnoty parametrů. Fialová křivka popisuje průběh koncentrace enzymu $[E]$, zelená křivka průběh koncentrace substrátu $[S]$ a modrá křivka průběh komplexu enzym-substrát $[ES]$.

3.2.1 Alternativní vyjádření pevných bodů

V této sekci alternativně vyjádříme ekvilibria rovnice (14) (a tedy i netriviální ekvilibria systému (10)) jako kořeny hyperbolické rovnice. Pro reakci (9) a odpovídající systém (10) resp. rovnici (14) se jedná pouze o jiný pohled na výše uvedenou věc, ale tato alternativa bude důležitá v následující kapitole, ve které bude studován složitější systém a kde si již s kvadratickou rovnicí nevystačíme (viz Poznámka 25 a Sekce 4.3).

Po dosazení vztahu (16) do rovnic (11) získáme dvě nelineární rovnice, (20) a

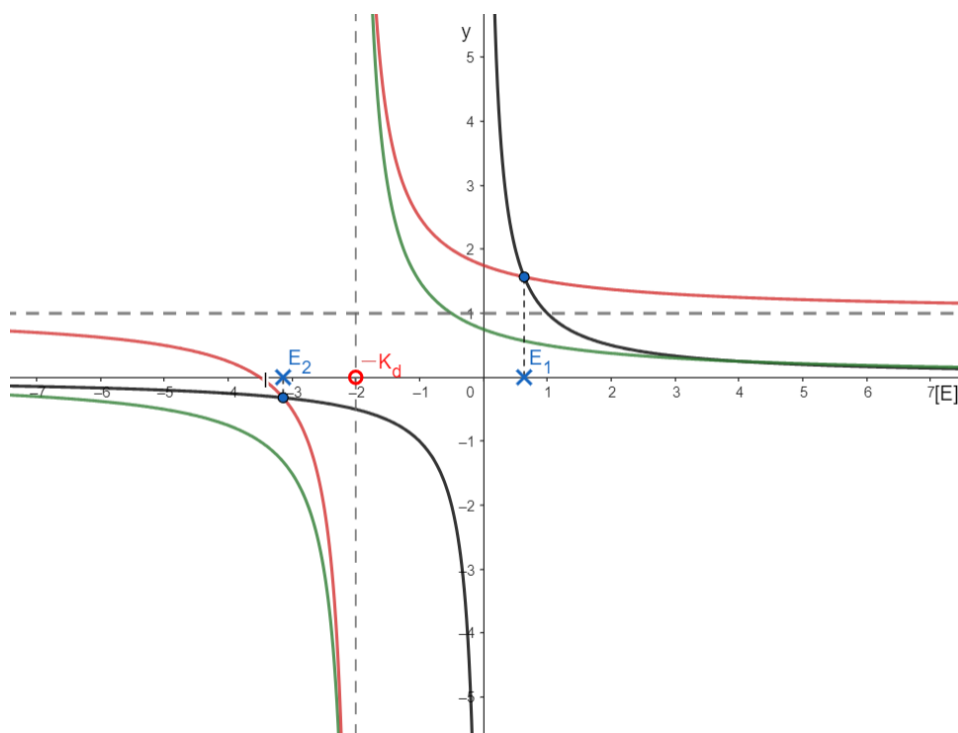
$$[cE] = [E] + \frac{[E][S]}{K_d}. \quad (27)$$

Z předpokladu kladnosti $[cE]$ a $[cS]$ plyne, že $[E]$ i $[S]$ jsou různé od nuly. Vydělením rovnice (27) koncentrací volného enzymu $[E]$ obdržíme hyperbolickou rovnici v proměnné

$[E]$ tvaru

$$\frac{[cE]}{[E]} = 1 + \frac{[cS]}{K_d + [E]}. \quad (28)$$

Poznámka 21. *Ekvilibria E_1 a E_2 ze (17) jsou kořeny hyperbolické rovnice (28). To vyplývá z (28) vynásobené faktorem $-[E](K_d + [E])$, což je kvadratická rovnice (18).*



Obrázek 5: Ilustrační obrázek existence ekvibríí rovnice (14) plynoucí z hyperbolické rovnice (28). Černá hyperbola odpovídá levé straně rovnice (28), zelená hyperbola zlomku na pravé straně rovnice (28) a červená hyperbola celé pravé straně rovnice (28). Průniky černé a červené hyperboly jsou ekvilibria E_1, E_2 ze (17).

Poznámka 22. *Z kvadratické formy (18) víme, že rovnice (14) má nejvýše dvě různá ekvilibria. Tento fakt plyne i ze tvaru hyperbol na Obrázku 5 přesněji z polohy svislých a vodorovných asymptot černé a červené hyperboly. Navíc je zřejmé, že jedno ekvilibrium je kladné a druhé záporné. Zde v Sekci 3 je tato úvaha o hyperbolickém tvaru rovnice pro*

ekvilibria pro pochopení vlastností systému (10) nadbytečná, ale je to příprava pro úvahy v sekci následující.

4 Model vazby transkripčního faktoru na promotor

V této kapitole budeme studovat model vazby transkripčního faktoru na promotor. Budeme předpokládat, že v buňce máme jeden typ transkripčních faktorů a dva typy vazebných míst na promotoru, specifická a nespecifická. Dále budeme předpokládat, že vazba na specifická vazebná místa je silnější než na nespecifická místa. Tento předpoklad bude realizován tak, že disociační konstanta vazby na specifická místa bude mnohem menší než disociační konstanta vazby na nespecifická místa.

4.1 Chemický pohled na biologické vazby

Transkripční faktory TF se vážou na specifická S a nespecifická místa N na promotoru za tvorby „komplexů“ TF_S a TF_N . Budeme předpokládat, že obě tyto vazby můžeme popsat jako vazby chemické a tedy chemickými rovnicemi



přičemž k_1 a k_3 jsou rychlostní konstanty dopředných reakcí, k_2 a k_4 jsou rychlostní konstanty zpětných reakcí. Všechny tyto čtyři rychlostní konstanty předpokládáme kladné.

Označme po řadě $[TF]$, $[S]$, $[N]$, $[TF_S]$ a $[TF_N]$ koncentrace volných transkripčních faktorů, volných (neobsazených) specifických míst, volných (neobsazených) nespecifických míst a koncentrace transkripčních faktorů navázaných na specifická a na nespecifická vazebná místa.

Předpokládejme, že dynamiku reakce (29) můžeme analogicky předchozí kapitole po-

psat systémem pěti obyčejných diferenciálních rovnic

$$\frac{d[TF]}{dt} = -k_1[TF][S] + k_2[TF_S] - k_3[TF][N] + k_4[TF_N], \quad (30a)$$

$$\frac{d[S]}{dt} = -k_1[TF][S] + k_2[TF_S], \quad (30b)$$

$$\frac{d[N]}{dt} = -k_3[TF][N] + k_4[TF_N], \quad (30c)$$

$$\frac{d[TF_S]}{dt} = k_1[TF][S] - k_2[TF_S], \quad (30d)$$

$$\frac{d[TF_N]}{dt} = k_3[TF][N] - k_4[TF_N]. \quad (30e)$$

Jak lze vidět, pravé strany rovnic (30d) a (30e) jsou lineárně závislé na pravých stranách rovnic (30b) a (30c), a pravá strana rovnice (30a) je součtem pravých stran rovnic (30b) a (30c).

4.2 Pevné body zkoumaného modelu

Označme $[cTF]$, $[cS]$ a $[cN]$ celkové koncentrace transkripčního faktoru a specifických a nespecifických vazebných míst a předpokládejme $[cTF] > 0$, $[cS] > 0$ a $[cN] > 0$.

Věta 23. *Stacionární řešení systému (30) jsou body tvaru $[TF, 0, 0, 0, 0]$ a $[0, S, N, 0, 0]$ s libovolnými $TF, S, N \in \mathbb{R}$ a $[TF, S, 0, TF_S, 0]$ a $[TF, 0, N, 0, TF_N]$, kde jsou složky TF , S a TF_S a TF , N a TF_N nenulové, a tři netriviální ekvilibria $[TF_1, S_1, N_1, TF_S_1, TF_N_1]$, $[TF_2, S_2, N_2, TF_S_2, TF_N_2]$, $[TF_3, S_3, N_3, TF_S_3, TF_N_3]$.*

Poznámka 24. *Dosazením do rovnic (30) je vidět, že body tvaru $[TF, 0, 0, 0, 0]$ a $[0, S, N, 0, 0]$ jsou pro každé $TF, S, N \in \mathbb{R}$ ekvilibria. Pravé strany rovnic jsou nulové, pokud $[TF_S] = 0$ a alespoň jedno z $[TF]$ a $[S]$ je nulové, a zároveň $[TF_N] = 0$ a alespoň jedno z $[TF]$ a $[N]$ je nula, čili $[TF_S] = [TF_N] = 0$ a k tomu $[TF] = 0$ a nebo $[S] = [N] = 0$. Další možná ekvilibria jsou tvaru $[TF, S, 0, TF_S, 0]$ a $[TF, 0, N, 0, TF_N]$, kde jsou příslušné TF , S a TF_S a TF , N a TF_N nenulové.*

Jestliže $[S]$, $[N]$ a $[TF]$ jsou v ekvilibriu všechny tři nenulové, pak i $[TF_S]$ a $[TF_N]$ musí být nenulové. To platí i naopak: jakmile $[TF_S]$ a $[TF_N]$ jsou obě nenulové, pak $[S]$, $[N]$ a $[TF]$ musejí být všechny nenulové. Z toho plyne, že jediná další ekvilibria jsou takové pětice, které mají všechny složky nenulové.

Právě taková netriviální ekvilibria budeme hledat v následující části práce.

Z reakce (29) víme, že celková koncentrace transkripčních faktorů $[cTF]$ je součtem koncentrace volného transkripčního faktoru $[TF]$, koncentrace transkripčního faktoru vázaného na specifická vazebná místa $[TF_S]$ a koncentrace transkripčního faktoru vázaného na nespecifická vazebná místa promotoru $[TF_N]$. Jelikož koncentrace TF navázaných na specifická vazebná místa je stejná jako koncentrace obsazených specifických vazebných míst (obě jsou rovny $[TF_S]$) je celková koncentrace specifických vazebných míst $[cS]$ součtem koncentrace volných specifických míst $[S]$ a koncentrace transkripčního faktoru vázaného na specifická vazebná místa promotoru $[TF_S]$. Podobným způsobem vyjádříme i celkovou koncentraci nespecifických vazebných míst $[cN]$, nebo-li

$$\begin{aligned} [cTF] &= [TF] + [TF_S] + [TF_N], \\ [cS] &= [S] + [TF_S], \\ [cN] &= [N] + [TF_N]. \end{aligned} \tag{31}$$

Na základě těchto úvah určíme netriviální ekvilibria rovnice (30). Pomocí rychlostních konstant k_1, k_2, k_3, k_4 definujeme dvě disociační konstanty K_S a K_N pro specifická a nespecifická vazebná místa obdobně jako v předchozích kapitolách.

V ekvilibriu můžeme rovnici (30b) přepsat jako

$$k_1[TF][S] = k_2[TF_S],$$

odkud získáme disociační konstantu

$$K_S = \frac{k_2}{k_1} = \frac{[TF][S]}{[TF_S]}. \tag{32}$$

Pomocí K_S tak můžeme vyjádřit koncentraci v ekvilibriu komplexu transkripčního faktoru navázaného na specifická vazebná místa jako

$$[TF_S] = \frac{[TF][S]}{K_S}. \quad (33)$$

Obdobně vyjádříme i koncentraci v ekvilibriu komplexu transkripčního faktoru navázaného na nesespecifická vazebná místa. Rovnici (30c) přepíšeme jako

$$k_3[TF][N] = k_4[TF_N],$$

získáme druhou disociační konstantu

$$K_N = \frac{k_4}{k_3} = \frac{[TF][N]}{[TF_N]} \quad (34)$$

a vyjádříme koncentraci komplexu

$$[TF_N] = \frac{[TF][N]}{K_N}. \quad (35)$$

Čím větší je hodnota disociačních konstant K_S a K_N , tím slabší je vazba transkripčního faktoru na specifická resp. nesespecifická vazebná místa. Z (32), (34) a předpokladu kladnosti k_1, k_2, k_3, k_4 je vidět, že obě disociační konstanty jsou kladné.

Dosazením vztahů (33) a (35) do rovnic (31) získáme systém tří nelineárních rovnic

$$[cTF] = [TF] + \frac{[TF][S]}{K_S} + \frac{[TF][N]}{K_N}, \quad (36a)$$

$$[cS] = [S] + \frac{[TF][S]}{K_S}, \quad (36b)$$

$$[cN] = [N] + \frac{[TF][N]}{K_N} \quad (36c)$$

pro $[TF]$, $[S]$ a $[N]$. Vyjádřením koncentrace $[S]$ volných (neobsazených) specifických vazebných míst z rovnice (36b) získáme vztah

$$[S] = \frac{[cS]K_S}{K_S + [TF]}. \quad (37)$$

Podobně pro koncentraci volných nescifických míst $[N]$ z rovnice (36c) získáme vztah

$$[N] = \frac{[cN]K_N}{K_N + [TF]}. \quad (38)$$

Vztahy (37) a (38) dosadíme do (36a) a po úpravě získáme rovnici pro koncentraci volných (nenavázaných) transkripčních faktorů $[TF]$

$$[cTF] = [TF] \left(1 + \frac{[cS]}{K_S + [TF]} + \frac{[cN]}{K_N + [TF]} \right).$$

Vzhledem ke kladnosti $[cTF]$ musí být $[TF] \neq 0$ a vydělením členem $[TF]$ vznikne rovnice

$$\frac{[cTF]}{[TF]} = 1 + \frac{[cS]}{K_S + [TF]} + \frac{[cN]}{K_N + [TF]}. \quad (39)$$

Složky $[TF]$ netriviálních pevných bodů systému (30) jsou právě kořeny této hyperbolické rovnice.

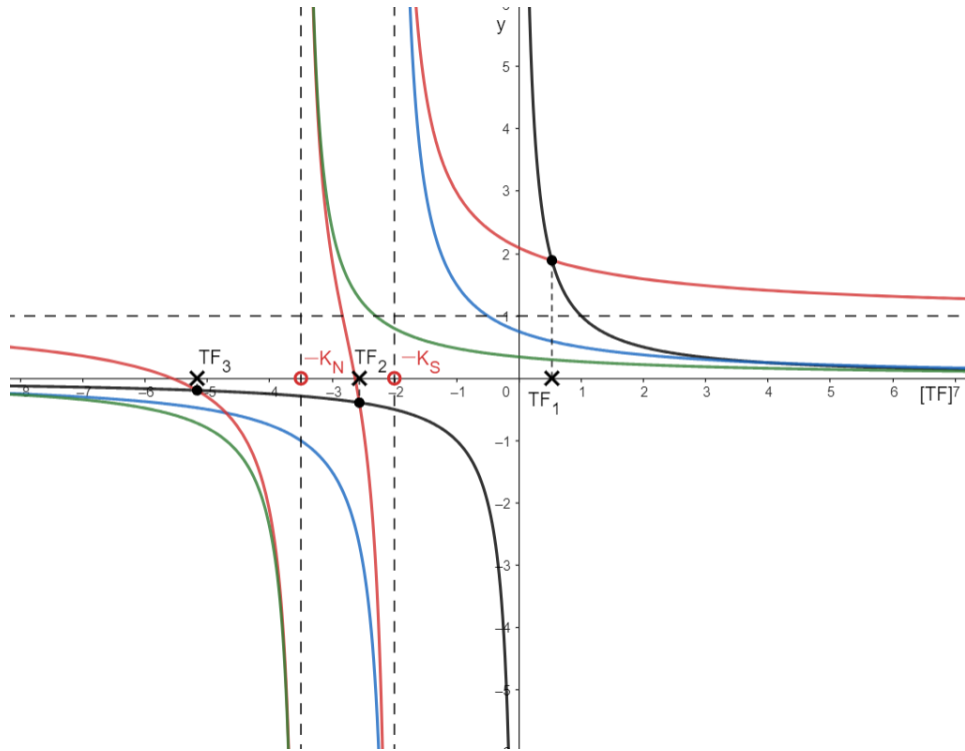
Poznámka 25. *Z tvaru hyperbol na Obrázku 6, speciálně z poloh všech tří svislých asymptot a z vodorovné asymptoty $y \equiv 1$ červené hyperboly pravé strany rovnice (39) a z asymptoty $y \equiv 0$, dále z faktu, že všechny konstanty v rovnosti (39) jsou kladné, je patrné, že existují právě tři ekvilibria systému (30), přičemž jedno ekvilibrium má složku $TF_1 > 0$ a druhá dvě ekvilibria mají složky $TF_2, TF_3 < 0$.*

V případě rovnosti disociačních konstant K_S a K_N by obě záporné svislé asymptoty splynuly a Obrázek 6 by tak přešel do Obrázku 5. Tudíž by existovaly dva kořeny, jeden záporný a jeden kladný (fyzikálně důležitý). V praktických situacích z fyzikálního hlediska ale bude K_N vždy větší než K_S , dokonce o několik řádů, proto ve skutečnosti platí Obrázek 6, a tudíž jsou dva záporné a jeden kladný kořen rovnice (39) resp. (44).

Poznámka 26. *Z fyzikálního a biologického důvodu nás zajímá pouze kladné ekvilibrium.*

Věta 27. *Bod $[TF_1, S_1, N_1, TF_{-S_1}, TF_{-N_1}]$ je stabilní kladné ekvilibrium systému (30).*

Důkaz. Z Poznámky 25 plyne, že složka $TF_1 > 0$, a po dosazení do vztahu (37) zjistíme, že $S_1 > 0$. Analogicky z (38) pro $TF_1 > 0$ plyne $N_1 > 0$. Následně z rovností (33)



Obrázek 6: Ilustrační obrázek existence a polohy netriviálních ekvilibríí systému (30) dané hyperbolicou rovnicí (39). Černá hyperbola odpovídá levé straně rovnice (39), zelená hyperbola členu $\frac{[cN]}{K_N+[TF]}$, modrá hyperbola členu $\frac{[cS]}{K_S+[TF]}$ a červená hyperbola celé pravé straně rovnice (39). Průniky černé a červené hyperboly jsou první složky TF_1, TF_2, TF_3 netriviálních pevných bodů systému (30).

a (35) a z kladnosti $K_S, K_N > 0$ vyplývá, že $TF_{S_1} > 0$ a $TF_{N_1} > 0$. Znaménka všech pěti složek netriviálního ekvilibría systému (30) proto jsou $[TF_1, S_1, N_1, TF_{S_1}, TF_{N_1}] = [+ , + , + , + , +]$.

Nyní určíme stabilitu tohoto pevného bodu. Vyjádřením koncentrací komplexů z (31)

získáme rovnosti

$$[TF_S] + [TF_N] = [cTF] - [TF], \quad (40a)$$

$$[TF_S] = [cS] - [S], \quad (40b)$$

$$[TF_N] = [cN] - [N] \quad (40c)$$

a následným dosazením (40b) a (40c) do (40a) dostaneme vyjádření koncentrace volných transkripčních faktorů pomocí (známých) celkových koncentrací a neznámých $[S]$ a $[N]$

$$[TF] = [cTF] - ([TF_S] + [TF_N]) = [cTF] - ([cS] + [cN]) + [S] + [N]. \quad (41)$$

Dosadíme-li (40b), (40c) a (41) do rovnic (30b) a (30c) dostaneme systém nyní již jen dvou obyčejných diferenciálních rovnic pro $[S]$ a $[N]$

$$\begin{aligned} \frac{d[S]}{dt} &= -k_1([cTF] - ([cS] + [cN]) + [S] + [N])[S] + k_2([cS] - [S]) \\ &= -k_1((cTF] - [cS] - [cN])[S] + [S]^2 + [S][N]) + k_2([cS] - [S]), \\ \frac{d[N]}{dt} &= -k_3([cTF] - ([cS] + [cN]) + [S] + [N])[N] + k_4([cN] - [N]) \\ &= -k_3((cTF] - [cS] - [cN])[N] + [N]^2 + [S][N]) + k_4([cN] - [N]). \end{aligned} \quad (42)$$

Tento systém můžeme přepsat ve tvaru

$$\begin{aligned} \frac{d[S]}{dt} &= f([S], [N]), \\ \frac{d[N]}{dt} &= g([S], [N]) \end{aligned}$$

pro vhodnou volbu $f, g : \mathbb{R}^2 \rightarrow \mathbb{R}$. Jakobiho matice systému (42) je

$$J([S], [N]) = \begin{pmatrix} \frac{\partial f}{\partial [S]} & \frac{\partial f}{\partial [N]} \\ \frac{\partial g}{\partial [S]} & \frac{\partial g}{\partial [N]} \end{pmatrix},$$

kde jednotlivé prvky jsou

$$\begin{aligned}\frac{\partial f}{\partial [S]} &= -k_1 ([cTF] - ([cS] + [cN]) + 2[S] + [N] - k_2), \\ \frac{\partial f}{\partial [N]} &= -k_1 [S], \\ \frac{\partial g}{\partial [S]} &= -k_3 [N], \\ \frac{\partial g}{\partial [N]} &= -k_3 ([cTF] - ([cS] + [cN]) + 2[N] + [S] - k_4).\end{aligned}$$

Pokud tyto výrazy mírně upravíme tím, že za rozdíly $[cS] - [S]$ a $[cN] - [N]$ dosadíme $[TF_S]$ a $[TF_N]$ z rovnic (40b) a (40c), a následně si uvědomíme, že výraz $[cTF] - [TF_S] - [TF_N]$ vyjadřuje díky (40a) resp. (41) koncentraci transkripčních faktorů $[TF]$, získáme Jakobiho matici ve tvaru

$$J([S], [N]) = \begin{pmatrix} -k_1([TF] + [S]) - k_2 & -k_1[S] \\ -k_3[N] & -k_3([TF] + [N]) - k_4 \end{pmatrix},$$

Nyní pomocí Věty 10 rozhodneme o stabilitě pevného bodu. Stopa matice je

$$-k_1([TF] + [S]) - k_2 - k_3([TF] + [N]) - k_4$$

a determinant matice je

$$(-k_1([TF] + [S]) - k_2)(-k_3([TF] + [N]) - k_4) - k_1 k_3 [S][N]. \quad (43)$$

Součin prvků na diagonále tj. součin závorek ve (43) přepíšeme ve tvaru

$$\begin{aligned}& (k_1([TF] + [S]) + k_2)(k_3([TF] + [N]) + k_4) \\ &= (k_1[TF] + k_1[S] + k_2)(k_3[TF] + k_3[N] + k_4) \\ &= (k_1[TF] + k_1[S] + k_2)(k_3[TF] + k_4) + k_3[N](k_1[TF] + k_2) + k_1 k_3 [S][N] \\ &= (k_1([TF] + [S]) + k_2)(k_3[TF] + k_4) + k_3[N](k_1[TF] + k_2) + k_1 k_3 [S][N],\end{aligned}$$

a proto

$$\det J([S], [N]) = (k_1([TF] + [S]) + k_2)(k_3[TF] + k_4) + k_3[N](k_1[TF] + k_2).$$

Pro $TF_1 > 0$, $S_1 > 0$, $N_1 > 0$ je stopa matice $\text{Tr}(J) < 0$ a determinant matice $\det(J) > 0$. Tudíž dle Věty 10 a Věty 11 je kladný pevný bod $[TF_1, S_1, N_1, TF_S_1, TF_N_1]$ lokálně stabilní, a to dokonce asymptoticky. \square

4.3 Analytické vyjádření pevných bodů systému

V této sekci se pokusíme analyticky vyjádřit kořeny hyperbolické rovnice (39) a získat tak explicitní tvar pro ekvilibria.

Hyperbolickou rovnici (39) můžeme ekvivalentně přepsat do tvaru kubické rovnice

$$\begin{aligned} [TF]^3 + (K_S + K_N + [cS] + [cN] - [cTF])[TF]^2 \\ + ((K_N + [cN])K_S + [cS]K_N - [cTF](K_S + K_N)) [TF] - [cTF]K_NK_S = 0. \end{aligned} \quad (44)$$

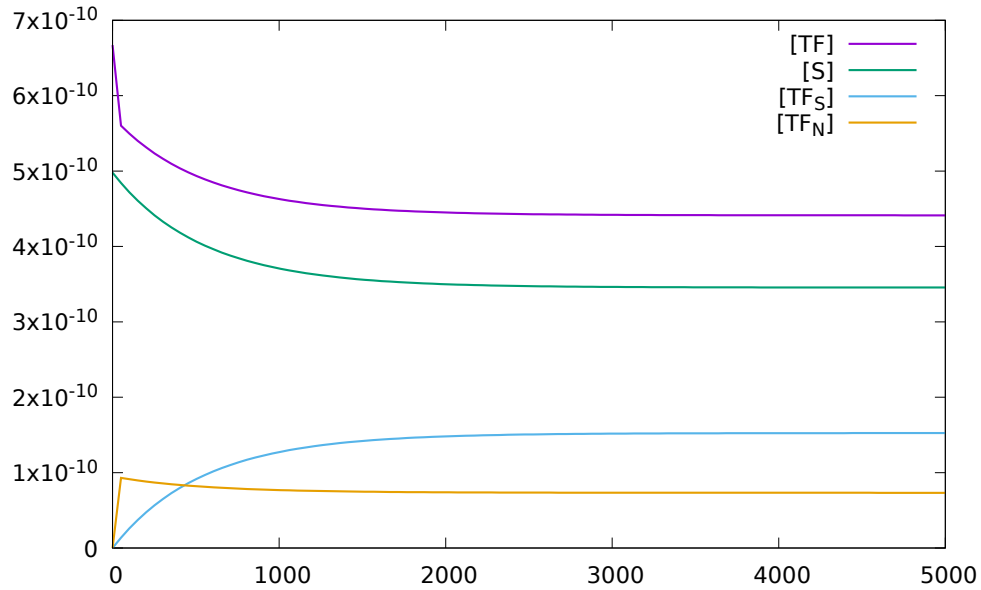
Poznámka 28. *Z tvarů jednotlivých členů je vidět, že absolutní člen má opačné znaménko než kubický koeficient, odkud je patrné, že musí existovat alespoň jeden kladný kořen. Zároveň je odtud vidět, že existují nejvýše tři kořeny TF . To spolu s Poznámkou 25 ukazuje, že existují právě tři netriviální pevné body přičemž $TF_1 > 0$ a $TF_2, TF_3 < 0$.*

Tyto úvahy spolu s Poznámkou 24 dokazují Větu 23.

Jednotlivé kořeny rovnice (44) lze explicitně vyjádřit např. pomocí Cardanových vzorců. My jsme se pokusili kořeny zjistit s využitím softwaru Maxima, Maple i Wolfram Mathematica. Nejkratší výstup (byl z programu Mathematica) je zhruba na stránku výpisu pro každý z kořenů. Uvádíme ho pro úplnost jako přílohu. Nicméně žádné vlastnosti kořenů z něj neumíme vyčíst.

4.4 Ilustrace numerické simulace

V této sekci ukazujeme na Obrázku 7 výsledek numerického řešení pro vybrané hodnoty parametrů na časovém intervalu $[0, 5000]$, odkud je patrné, že se jednotlivé koncentrace blíží svým ekvilibriálním hodnotám.



Obrázek 7: Ilustrace průběhu řešení (26) systému (30) pro vybrané hodnoty parametrů. Fialová křivka popisuje průběh koncentrace volných transkripčních faktorů $[TF]$, zelená křivka průběh koncentrace neobsazených specifických vazebných míst $[S]$, modrá křivka průběh koncentrace transkripčních faktorů navázaných na specifická vazebná místa $[TF_S]$ a oranžová křivka průběh koncentrace transkripčních faktorů navázaných na nesespecifická vazebná místa $[TF_N]$. Složka $[N]$ pro nesespecifická vazebná místa nebyla vykreslena, neboť má hodnoty o tři řády větší a nelze ji tedy do takto pojatého obrázku rozumně zakreslit.

Křivky byly získány jako výsledek simulace řešení systému (30) pomocí funkce `lsode` programu GNU Octave.

Poznámka 29. Ze tvarů (30) i (44) je patrné, že hodnoty složek ekvilibrií nezávisí na velikosti rychlostních konstant k_1, k_2, k_3, k_4 , ale pouze na poměrech $K_S = \frac{k_2}{k_1}$ a $K_N = \frac{k_4}{k_3}$. Oproti tomu časový průběh závisí na všech čtyřech rychlostech. Pro jiné rychlosti, ale stejné poměry K_S a K_N jsou průběhy příslušných řešení odlišné, ale křivky asymptoticky konvergují ke stejným limitám (tedy ke stejným hodnotám jednotlivých složek kladného

ekvilibria).

Transkripční aktivitu promotoru můžeme měřit jeho frakční obsazeností. Tuto frakční okupanci f_S specifických vazebných míst vyjádříme jako doplněk poměru koncentrace volných specifických vazebných míst ku jejich celkové koncentraci

$$f_S = 1 - \frac{[S]}{[cS]},$$

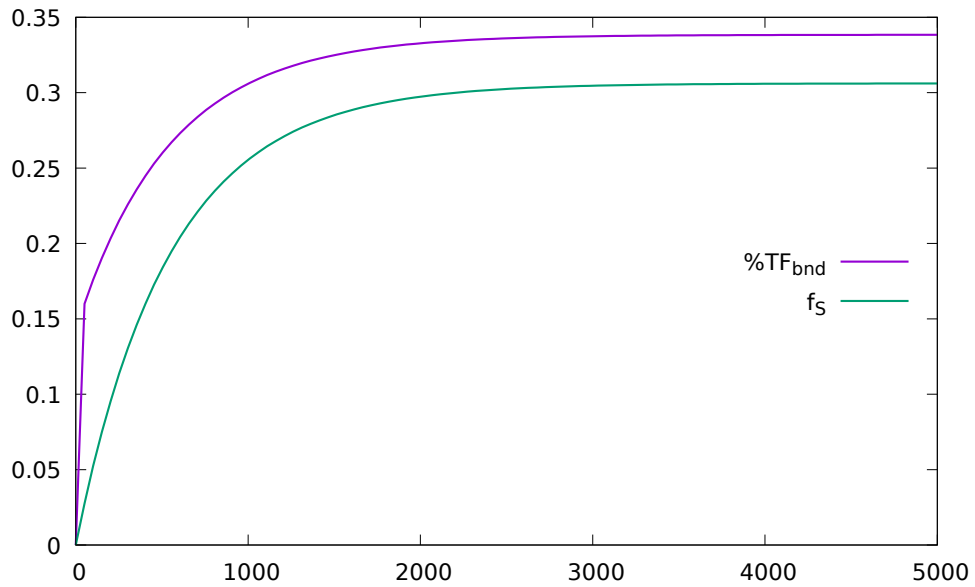
podobně frakční okupance f_N nspecifických vazebných míst je

$$f_N = 1 - \frac{[N]}{[cN]}.$$

Analogicky vyjádříme afinitu transkripčních faktorů jako

$$\%TF_{bnd} = 1 - \frac{[TF]}{[cTF]}.$$

Časové průběhy frakční okupance f_S a afinity $\%TF_{bnd}$ jsou pro odpovídající řešení z Obrázku 7 zachyceny na Obrázku 8.



Obrázek 8: Ilustrace frakční obsazenosti. Fialová křivka zobrazuje $\%TF_{bnd}$, což je procento všech návazných transkripčních faktorů na specifická i nespecifická místa. Zelená křivka ukazuje obsazenost neboli frakční okupanci f_S specifických vazebných míst. Frakční okupance nespecifických vazebných míst je o tři řády nižší, tak není v grafu zahrnuta.

5 Závěr

V bakalářské práci jsme studovali dva modely chemických resp. biochemických vazeb, model dvou reaktantů za vzniku jejich komplexu a model transkripčních faktorů vázajících se na dva typy vazebných míst na promotoru.

V sekci 3 jsme zavedli používané matematické pojmy a analyzovali jsme jednoduchý chemický model reakce enzymu se substrátem za vzniku komplexu enzym-substrát. Dynamika reakce byla popsána systémem obyčejných diferenciálních rovnic. Zjistili jsme, že tento systém je ekvivalentní s jednou obyčejnou diferenciální rovnicí, pro kterou jsme našli ekvilibria a určili jejich stabilitu. Díky ekvivalenci jedné diferenciální rovnice se systémem jsme byli schopni nalézt ekvilibria systému a určit jejich stabilitu. Bylo nalezeno jediné ve všech složkách kladné (fyzikálně smysluplné) ekvilibrium. Poté bylo odvozeno explicitní obecné řešení tohoto systému a řešení příslušné Cauchyovy úlohy.

V sekci 4 byla zkoumána vazba transkripčních faktorů na specifická a nespecifická vazebná místa v oblasti promotoru za tvorby komplexů. Dynamika reakcí byla popsána systémem pěti obyčejných diferenciálních rovnic. Zkoumali jsme pevné body tohoto modelu. Nalezli jsme jediné kladné ekvilibrium jakožto jediný kladný kořen hyperbolické rovnice. Dokázali jsme o něm, že je stabilní, a to dokonce asymptoticky stabilní. Tím se nám z části podařilo potvrdit, že model v článku [6] byl zvolen vhodně, protože byl nalezen jediný a navíc stabilní kladný pevný bod. Dále se díky programu Wolfram Mathematica podařilo najít explicitní vzorec pro ekvilibria tohoto modelu. Na konci kapitoly jsme ukázali časový průběh řešení zkoumaného modelu včetně ilustrace, jak se mění (v našem případě zvětšuje) frakční okupance specifických vazebných míst na promotoru. To se totiž ukazuje být podstatnou pro expresi některých genů v buňce, proto je důležité ji zkoumat.

V budoucnu bychom rádi model vazby transkripčních faktorů na promotor rozšířili o možnost vazby dvou typů transkripčních faktorů pocházejících od dvou různých rodičů za předpokladu, že vzniká hybridní potomek.

A Přílohy

A.1 Vyjádření kořenů kubické rovnice

4 | *koreny.nb*

In[54]= **Simplify**[res[[1, 1, 2]], Assumptions → {cT > 0, cS > 0, cN > 0, kS > 0, kN > 0}]

$$\text{Out[54]} = \frac{1}{6} \left(-2 (cN + cS - cT + kN + kS) + \right. \\ \left. (2 \times 2^{1/3} (cN^2 + cS^2 + cT^2 + cT kN + kN^2 - cS (2 cT + kN - 2 kS) + cN (2 cS - 2 cT + 2 kN - kS) + \right. \\ \left. cT kS - kN kS + kS^2)) \right) / \left(-2 cN^3 - 6 cN^2 cS - 6 cN cS^2 - 2 cS^3 + 6 cN^2 cT + \right. \\ \left. 12 cN cS cT + 6 cS^2 cT - 6 cN cT^2 - 6 cS cT^2 + 2 cT^3 - 6 cN^2 kN - 3 cN cS kN + \right. \\ \left. 3 cS^2 kN + 3 cN cT kN - 6 cS cT kN + 3 cT^2 kN - 6 cN kN^2 + 3 cS kN^2 - 3 cT kN^2 - 2 kN^3 + \right. \\ \left. 3 cN^2 kS - 3 cN cS kS - 6 cS^2 kS - 6 cN cT kS + 3 cS cT kS + 3 cT^2 kS + 6 cN kN kS + \right. \\ \left. 6 cS kN kS + 12 cT kN kS + 3 kN^2 kS + 3 cN kS^2 - 6 cS kS^2 - 3 cT kS^2 + 3 kN kS^2 - 2 kS^3 + \right. \\ \left. \sqrt{4 (3 cS kN + 3 (cN + kN) kS - 3 cT (kN + kS) - (cN + cS - cT + kN + kS)^2)^3 + \right. \\ \left. (2 cN^3 + 2 cS^3 - 2 cT^3 - 3 cT^2 kN + 3 cT kN^2 + 2 kN^3 + cN^2 (6 cS - 6 cT + 6 kN - 3 kS) - 3 \right. \\ \left. cS^2 (2 cT + kN - 2 kS) - 3 cT^2 kS - 12 cT kN kS - 3 kN^2 kS + 3 cT kS^2 - 3 kN kS^2 + 2 \right. \\ \left. kS^3 + cS (6 cT^2 + 6 cT kN - 3 kN^2 - 3 cT kS - 6 kN kS + 6 kS^2) + 3 cN (2 cS^2 + \right. \\ \left. 2 cT^2 - cT kN + 2 kN^2 + 2 cT kS - 2 kN kS - kS^2 + cS (-4 cT + kN + kS)) \right)^2 \Big)^{1/3} + \\ \left. 2^{2/3} \left(-2 cN^3 - 6 cN^2 cS - 6 cN cS^2 - 2 cS^3 + 6 cN^2 cT + 12 cN cS cT + 6 cS^2 cT - 6 cN cT^2 - \right. \right. \\ \left. \left. 6 cS cT^2 + 2 cT^3 - 6 cN^2 kN - 3 cN cS kN + 3 cS^2 kN + 3 cN cT kN - 6 cS cT kN + \right. \right. \\ \left. \left. 3 cT^2 kN - 6 cN kN^2 + 3 cS kN^2 - 3 cT kN^2 - 2 kN^3 + 3 cN^2 kS - 3 cN cS kS - \right. \right. \\ \left. \left. 6 cS^2 kS - 6 cN cT kS + 3 cS cT kS + 3 cT^2 kS + 6 cN kN kS + 6 cS kN kS + \right. \right. \\ \left. \left. 12 cT kN kS + 3 kN^2 kS + 3 cN kS^2 - 6 cS kS^2 - 3 cT kS^2 + 3 kN kS^2 - 2 kS^3 + \right. \right. \\ \left. \left. \sqrt{4 (3 cS kN + 3 (cN + kN) kS - 3 cT (kN + kS) - (cN + cS - cT + kN + kS)^2)^3 + \right. \right. \\ \left. \left. (2 cN^3 + 2 cS^3 - 2 cT^3 - 3 cT^2 kN + 3 cT kN^2 + 2 kN^3 + cN^2 (6 cS - 6 cT + 6 kN - 3 kS) - 3 \right. \right. \\ \left. \left. cS^2 (2 cT + kN - 2 kS) - 3 cT^2 kS - 12 cT kN kS - 3 kN^2 kS + 3 cT kS^2 - 3 kN kS^2 + 2 \right. \right. \\ \left. \left. kS^3 + cS (6 cT^2 + 6 cT kN - 3 kN^2 - 3 cT kS - 6 kN kS + 6 kS^2) + 3 cN (2 cS^2 + \right. \right. \\ \left. \left. 2 cT^2 - cT kN + 2 kN^2 + 2 cT kS - 2 kN kS - kS^2 + cS (-4 cT + kN + kS)) \right)^2 \right)^{1/3} \Big) \Big)$$

úprava druhého kořene

In[58]= Simplify[res[[2, 1, 2]], Assumptions → {cT > 0, cS > 0, cN > 0, kS > 0, kN > 0}]

$$\text{Out[58]= } \frac{1}{12} \left(-4 (cN + cS - cT + kN + kS) - \right. \\ \left. \left(2 \sqrt[3]{2} \left(-\sqrt{3} + \sqrt{3} \right) \left(cN^2 + cS^2 + cT^2 + cT kN + kN^2 - cS (2 cT + kN - 2 kS) + \right. \right. \right. \\ \left. \left. \left. cN (2 cS - 2 cT + 2 kN - kS) + cT kS - kN kS + kS^2 \right) \right) \right) / \\ \left(-2 cN^3 - 6 cN^2 cS - 6 cN cS^2 - 2 cS^3 + 6 cN^2 cT + 12 cN cS cT + 6 cS^2 cT - 6 cN cT^2 - 6 cS cT^2 + \right. \\ \left. 2 cT^3 - 6 cN^2 kN - 3 cN cS kN + 3 cS^2 kN + 3 cN cT kN - 6 cS cT kN + 3 cT^2 kN - 6 cN kN^2 + 3 cS \right. \\ \left. kN^2 - 3 cT kN^2 - 2 kN^3 + 3 cN^2 kS - 3 cN cS kS - 6 cS^2 kS - 6 cN cT kS + 3 cS cT kS + 3 cT^2 kS + \right. \\ \left. 6 cN kN kS + 6 cS kN kS + 12 cT kN kS + 3 kN^2 kS + 3 cN kS^2 - 6 cS kS^2 - 3 cT kS^2 + 3 kN kS^2 - \right. \\ \left. 2 kS^3 + \sqrt{\left(4 (3 cS kN + 3 (cN + kN) kS - 3 cT (kN + kS) - (cN + cS - cT + kN + kS)^2) \right)^3} + \right. \\ \left. \left(2 cN^3 + 2 cS^3 - 2 cT^3 - 3 cT^2 kN + 3 cT kN^2 + 2 kN^3 + cN^2 (6 cS - 6 cT + 6 kN - 3 kS) - 3 \right. \right. \\ \left. \left. cS^2 (2 cT + kN - 2 kS) - 3 cT^2 kS - 12 cT kN kS - 3 kN^2 kS + 3 cT kS^2 - 3 kN kS^2 + 2 \right. \right. \\ \left. \left. kS^3 + cS (6 cT^2 + 6 cT kN - 3 kN^2 - 3 cT kS - 6 kN kS + 6 kS^2) + 3 cN (2 cS^2 + \right. \right. \\ \left. \left. 2 cT^2 - cT kN + 2 kN^2 + 2 cT kS - 2 kN kS - kS^2 + cS (-4 cT + kN + kS) \right) \right)^{1/3} + \\ \left. \sqrt[3]{2} \left(\sqrt{3} + \sqrt{3} \right) \left(-2 cN^3 - 6 cN^2 cS - 6 cN cS^2 - 2 cS^3 + 6 cN^2 cT + 12 cN cS cT + 6 cS^2 cT - \right. \right. \\ \left. \left. 6 cN cT^2 - 6 cS cT^2 + 2 cT^3 - 6 cN^2 kN - 3 cN cS kN + 3 cS^2 kN + 3 cN cT kN - \right. \right. \\ \left. \left. 6 cS cT kN + 3 cT^2 kN - 6 cN kN^2 + 3 cS kN^2 - 3 cT kN^2 - 2 kN^3 + 3 cN^2 kS - \right. \right. \\ \left. \left. 3 cN cS kS - 6 cS^2 kS - 6 cN cT kS + 3 cS cT kS + 3 cT^2 kS + 6 cN kN kS + 6 cS kN kS + \right. \right. \\ \left. \left. 12 cT kN kS + 3 kN^2 kS + 3 cN kS^2 - 6 cS kS^2 - 3 cT kS^2 + 3 kN kS^2 - 2 kS^3 + \right. \right. \\ \left. \left. \sqrt{\left(4 (3 cS kN + 3 (cN + kN) kS - 3 cT (kN + kS) - (cN + cS - cT + kN + kS)^2) \right)^3} + \right. \right. \\ \left. \left. \left(2 cN^3 + 2 cS^3 - 2 cT^3 - 3 cT^2 kN + 3 cT kN^2 + 2 kN^3 + cN^2 (6 cS - 6 cT + 6 kN - 3 kS) - 3 \right. \right. \right. \\ \left. \left. \left. cS^2 (2 cT + kN - 2 kS) - 3 cT^2 kS - 12 cT kN kS - 3 kN^2 kS + 3 cT kS^2 - 3 kN kS^2 + 2 \right. \right. \right. \\ \left. \left. \left. kS^3 + cS (6 cT^2 + 6 cT kN - 3 kN^2 - 3 cT kS - 6 kN kS + 6 kS^2) + 3 cN (2 cS^2 + \right. \right. \right. \\ \left. \left. \left. 2 cT^2 - cT kN + 2 kN^2 + 2 cT kS - 2 kN kS - kS^2 + cS (-4 cT + kN + kS) \right) \right) \right)^{1/3} \right)$$

úprava třetího kořene

In[59]= Simplify[res[[3, 1, 2]], Assumptions → {cT > 0, cS > 0, cN > 0, kS > 0, kN > 0}]

$$\text{Out[59]= } \frac{1}{12} \left(-4 (cN + cS - cT + kN + kS) + \right. \\ \left. \left(2 \sqrt[3]{2} \left(\sqrt{3} \right) \left(cN^2 + cS^2 + cT^2 + cT kN + kN^2 - cS (2 cT + kN - 2 kS) + \right. \right. \right. \\ \left. \left. \left. cN (2 cS - 2 cT + 2 kN - kS) + cT kS - kN kS + kS^2 \right) \right) \right) / \\ \left(-2 cN^3 - 6 cN^2 cS - 6 cN cS^2 - 2 cS^3 + 6 cN^2 cT + 12 cN cS cT + 6 cS^2 cT - 6 cN cT^2 - 6 cS cT^2 + \right. \\ \left. 2 cT^3 - 6 cN^2 kN - 3 cN cS kN + 3 cS^2 kN + 3 cN cT kN - 6 cS cT kN + 3 cT^2 kN - 6 cN kN^2 + 3 cS \right. \\ \left. kN^2 - 3 cT kN^2 - 2 kN^3 + 3 cN^2 kS - 3 cN cS kS - 6 cS^2 kS - 6 cN cT kS + 3 cS cT kS + 3 cT^2 kS + \right. \\ \left. 6 cN kN kS + 6 cS kN kS + 12 cT kN kS + 3 kN^2 kS + 3 cN kS^2 - 6 cS kS^2 - 3 cT kS^2 + 3 kN kS^2 - \right. \\ \left. 2 kS^3 + \sqrt{\left(4 (3 cS kN + 3 (cN + kN) kS - 3 cT (kN + kS) - (cN + cS - cT + kN + kS)^2) \right)^3} + \right. \\ \left. \left(2 cN^3 + 2 cS^3 - 2 cT^3 - 3 cT^2 kN + 3 cT kN^2 + 2 kN^3 + cN^2 (6 cS - 6 cT + 6 kN - 3 kS) - 3 \right. \right. \\ \left. \left. cS^2 (2 cT + kN - 2 kS) - 3 cT^2 kS - 12 cT kN kS - 3 kN^2 kS + 3 cT kS^2 - 3 kN kS^2 + 2 \right. \right. \\ \left. \left. kS^3 + cS (6 cT^2 + 6 cT kN - 3 kN^2 - 3 cT kS - 6 kN kS + 6 kS^2) + 3 cN (2 cS^2 + \right. \right. \\ \left. \left. 2 cT^2 - cT kN + 2 kN^2 + 2 cT kS - 2 kN kS - kS^2 + cS (-4 cT + kN + kS) \right) \right)^{1/3} \left. \right) - \\ 2^{2/3} \left(1 + \sqrt{3} \right) \left(-2 cN^3 - 6 cN^2 cS - 6 cN cS^2 - 2 cS^3 + 6 cN^2 cT + 12 cN cS cT + 6 cS^2 cT - \right. \\ \left. 6 cN cT^2 - 6 cS cT^2 + 2 cT^3 - 6 cN^2 kN - 3 cN cS kN + 3 cS^2 kN + 3 cN cT kN - \right. \\ \left. 6 cS cT kN + 3 cT^2 kN - 6 cN kN^2 + 3 cS kN^2 - 3 cT kN^2 - 2 kN^3 + 3 cN^2 kS - \right. \\ \left. 3 cN cS kS - 6 cS^2 kS - 6 cN cT kS + 3 cS cT kS + 3 cT^2 kS + 6 cN kN kS + 6 cS kN kS + \right. \\ \left. 12 cT kN kS + 3 kN^2 kS + 3 cN kS^2 - 6 cS kS^2 - 3 cT kS^2 + 3 kN kS^2 - 2 kS^3 + \right. \\ \left. \sqrt{\left(4 (3 cS kN + 3 (cN + kN) kS - 3 cT (kN + kS) - (cN + cS - cT + kN + kS)^2) \right)^3} + \right. \\ \left. \left(2 cN^3 + 2 cS^3 - 2 cT^3 - 3 cT^2 kN + 3 cT kN^2 + 2 kN^3 + cN^2 (6 cS - 6 cT + 6 kN - 3 kS) - 3 \right. \right. \\ \left. \left. cS^2 (2 cT + kN - 2 kS) - 3 cT^2 kS - 12 cT kN kS - 3 kN^2 kS + 3 cT kS^2 - 3 kN kS^2 + 2 \right. \right. \\ \left. \left. kS^3 + cS (6 cT^2 + 6 cT kN - 3 kN^2 - 3 cT kS - 6 kN kS + 6 kS^2) + 3 cN (2 cS^2 + \right. \right. \\ \left. \left. 2 cT^2 - cT kN + 2 kN^2 + 2 cT kS - 2 kN kS - kS^2 + cS (-4 cT + kN + kS) \right) \right)^{1/3} \left. \right)$$

Literatura

- [1] ARYAL, Sagar. *Gene expression: Stages, regulations, methods*. Microbe Notes, 2023. Dostupné z: <https://microbenotes.com/gene-expression/>.
- [2] ATKINS, Peter William a Julio De PAULA. *Physical chemistry for the life sciences*. Oxford University Press, 2011. ISBN: 978-0-19-956428-6.
- [3] ATKINS, Peter William a Julio De PAULA. *Fyzikální chemie*. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2013. ISBN 978-80-7080-830-6.
- [4] CARSON, Ewart a Claudio COBELLI. *Modelling methodology for physiology and medicine*. Second Edition. Elsevier, 2014. ISBN 978-0-12-411557-6, Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/book/9780124115576/>.
- [5] HAVELKA, Marek. *Transaktivační potenciál fúzních proteinů asociovaných s nádorovými chorobami*. Bakalářská práce. Brno: Masarykova univerzita, Lékařská fakulta, 2017. Dostupné také z: https://is.muni.cz/th/dy4mp/MarekHavekla_BP.pdf.
- [6] JANKO, Karel, EISNER, Jan, CÍGLER, Petr a TICHOPÁD, Tomáš. *Gene Expression Patterns in Hybrids and Polyploids Are Driven by Regulatory Divergence between 2 Parental Species: Insights from an Enhanced Model of Transcription Factor Binding*. Zasláno do tisku.
- [7] *KINETIKA ENZYMATICKÝCH REAKCÍ*, Vysoká škola chemicko-technická v Praze . Dostupné z:<https://old.vscht.cz/fch/cz/pomucky/bartovska/Kin-teorie/9-EnzymovaKatalyza.pdf>.
- [8] KRATOCHVILOVÁ, Libuše. *VYUŽITÍ KVASINKOVÉHO ISOGENNÍHO SYSTÉMU PRO STUDIUM INTERAKCÍ PROTEINU IFI16 S DNA*. Bakalářská práce. Brno: Vysoké učení technické v Brně, 2021. Dostupné také z: <https://dspace>.

vut.cz/server/api/core/bitstreams/8f1a7342-a008-4472-badb-4debaec4c5ae/
content.

- [9] KURZWEIL, Jaroslav. Ordinary differential equations: introduction to the theory of ordinary differential equations in the real domain. Amsterdam: Elsevier, 1986. Studies in applied mechanics.
- [10] MALÍKOVÁ, Michaela. *Matematické modelování na buněčné úrovni: enzymatická kinetika, dynamika infekce a farmakologie*. Diplomová práce. České Budějovice: Jihočeská univerzita, 2018.
- [11] MAREČEK, Aleš a Jaroslav HONZA. *Chemie pro čtyřletá gymnázia 1.díl*. Třetí opravné vydání. Dataprint Brno, 2013. ISBN 80-902402-0-8.
- [12] MATOUŠKOVÁ, Petra. *STANOVENÍ GENOVÉ EXPRESE*. Hradec Králové, 2018. Dostupné také z: <https://dspace.cuni.cz/bitstream/handle/20.500.11956/105838/Habilita%C4%8Dn%C3%AD%20pr%C3%A1ce%20Matou%C5%A1kov%C3%A1.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- [13] *Michaelis-Menten Kinetics and Briggs-Haldane Kinetics*. Departments of Medicinal Chemistry and Pharmaceutics, University of Washington, 2007. Dostupné z: <https://depts.washington.edu/wmatkins/kinetics/michaelis-menten.html>.
- [14] *Molekulární biologie, 6. Regulace genové exprese*. Dostupné z: https://is.muni.cz/el/1433/jaro2017/VV072/um/6_Regulace_genove_exprese_2017.pdf.
- [15] SAURO, Herbert M. Enzyme kinetics for systems biology. Future Skill Software, 2011. ISBN 10: 0-9824-7730-9.
- [16] ŠÍPAL, Zdeněk, ANZENBACHER, Pavel, PEČ, Pavel, POSPÍŠIL, Jiří a RŮŽIČKA Ivan. *Biochemie*. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, 1992. ISBN 80-04-21736-2.

- [17] *Transkripční faktory*. In: Wikipedia: the free encyclopedia [online]. Dostupné z: https://www.wikiskripta.eu/w/Transkrip%C4%8Dn%C3%AD_faktory
- [18] VODRÁŽKA, Zdeněk. *Biochemie*. 2. oprav. vyd. Praha: Academia, 1996. ISBN 80-200-0600-1.