## تمرین سری سوم (سری اول بخش دکتر خلج) درس زیست شناسی مصنوعی

**امین سعیدی**

**۴۰۰۲۱۱۵۷۹**

### سوال ۱ (الف):

کلونینگ DNA یک تکنیک زیست شناسی مولکولی است که بسیاری از کپی های یکسان از یک قطعه DNA مانند یک ژن می سازد. در یک آزمایش کلونینگ معمولی، یک ژن هدف در یک قطعه دایره ای از DNA به نام پلاسمید وارد می شود. پلاسمید از طریق فرآیندی به نام تبدیل به باکتری وارد می شود و باکتری های حامل پلاسمید با استفاده از آنتی بیوتیک ها انتخاب می شوند. باکتری های دارای پلاسمید صحیح برای ساختن DNA پلاسمید بیشتری یا در برخی موارد برای بیان ژن و ساخت پروتئین القا می شوند. قدم های کلی به صورت زیر هستند:

۱. برش دادن پلاسمید و در ژن paste کردن. این فرآیند به آنزیم های محدود کننده (که DNA را قطع می کند) و DNA لیگاز (که به DNA می پیوندد) متکی است.
۲. وارد کردن پلاسمید در باکتری. از آنتی بیوتیک برای شناسایی باکتری هایی که پلاسمید را گرفته اند استفاده میشود.
۳. تعداد زیادی باکتری حامل پلاسمید پرورش داده میشوند و از آنها به عنوان "کارخانه" برای تولید پروتئین استفاده میشود. سپس پروتئین را از باکتری ها برداشت کرده و آن ها را تصفیه میکنند.

DNA Cloning سنتی معمولاً به استفاده از اندونوکلئازهای محدودکننده ((Restriction enzyme(RE) برای تولید قطعات DNA با توالی‌های انتهایی مکمل خاص که قبل از تبدیل می‌توانند به یک DNA لیگاز متصل شوند، اشاره دارد. این معمولاً شامل آماده‌سازی یک قطعه DNA برای شبیه‌سازی (درج) و یک پلاسمید DNA خودتکثیر شونده (وکتور) با برش با دو آنزیم محدودکننده منحصربه‌فرد است که در کنار توالی DNA قرار دارند و در محل ترجیحی درج وکتور وجود دارند، اغلب سایت کلونینگ چندگانه (MCS) نامیده می شود. با استفاده از دو RE مختلف، دو انتهای ناسازگار تولید می‌شود، بنابراین درج مجبور می‌شود به‌طور جهتی کلون شود، و پس‌زمینه تبدیل بردار مجدد پیوند شده به تنهایی کاهش می‌یابد. کلونینگ جهت دار اغلب برای حفظ یک چارچوب خواندن باز یا نیازهای موقعیتی دیگر با عناصر تنظیم کننده سیس-اثر مفید است. کلونینگ غیر جهت دار نیز می تواند با انتهای سازگار تولید شده توسط یک آنزیم محدود کننده انجام شود. در این مورد، کلون ها باید غربال شوند تا مشخص شود که جهت گیری ژن صحیح است. به طور معمول، وکتور باید دفسفریله شود تا از خود بستن، که مستقیماً با درج رقابت می کند و کارایی واکنش کلونینگ را کاهش می دهد، جلوگیری شود.

توضیحات تکمیلی در مورد انزیم های محدود کننده و همچنین DNA لیگاز در ادامه آمده است: کلونینگ سنتی، که کلونینگ PCR نیز نامیده می‌شود، به استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) برای تقویت توالی الگوی مورد نظر (معمولاً ژن مورد نظر) و افزودن مکان‌های محدودکننده به انتهای توالی نیاز دارد. از آنزیم های محدود کننده برای برش الگوی مورد نظر و بردار هدف استفاده می شود و DNA لیگاز برای اتصال انتهای چسبنده الگو و وکتور به یکدیگر استفاده می شود. کلونینگ سنتی امکان دستکاری توالی DNA انعطاف پذیر را فراهم می کند، که ساخت تقریباً هر ساختار دلخواه را تسهیل می کند. با این حال، چک پوینت ها و روش های بهینه سازی مورد نیاز برای کلونینگ سنتی می توانند دست و پا گیر باشند، و معرف (reagent) های مورد نیاز می توانند گران باشند.

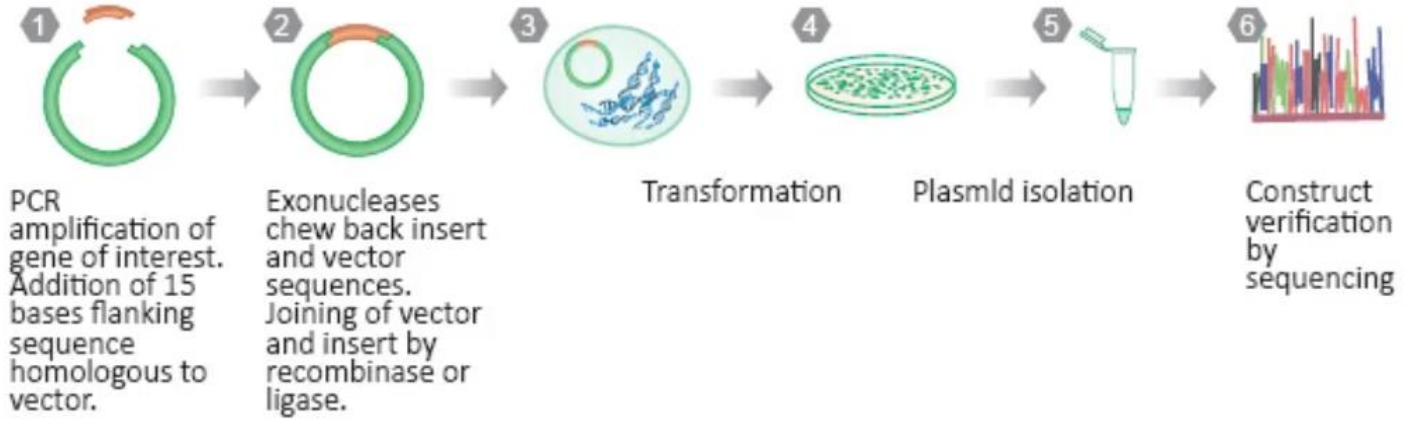
## سوال ۱ (ب):

از معایب کلونینگ سنتی این است که مکان‌های هدف آنزیم محدودکننده را می‌توان در طول یک توالی DNA خاص تکرار کرد، که می‌تواند گاهی اوقات شناسایی آنزیم‌های محدودکننده سازگار را که درج یا بک بون را تنها در محل مورد نظر پروژه کلونینگ برش می‌دهند، دشوار کند. شبیه‌سازی آنزیم محدودکننده نیز یک اسکار کوتاه در توالی DNA بر جای می‌گذارد و در مقایسه با سایر روش‌های شبیه‌سازی زمان‌بر است. همچین محدودیت های احتمالی توالی به دلیل حضور و/یا ترجمه محل محدودیت نیز از معایب این روش است.

۱. Seamless cloning

این فناوری کلونینگ نیاز به آنزیم های محدود کننده را از بین می برد. این اتفاق زمانی سودمند است که یک عملیات درج حاوی تعدادی مکان محدود کننده در توالی خود باشد، و شناسایی آنزیم های محدود کننده ای که ژن مورد نظر (Gene of interest) را در طول فرآیند کلونینگ برش نمی دهند، دشوار است. این فناوری از نوترکیبی همولوگ بهره می برد و تغییرات زیادی در این تکنیک وجود دارد. به طور کلی، این روش شامل افزودن توالی های کناری به طول تقریبی ۱۵ جفت باز به هر دو قسمت درج و بردار از طریق PCR است. اگزونوکلئازها برای جویدن توالی های درج و وکتور استفاده می شوند و DNA با استفاده از آنزیم های رکامبیناز یا DNA لیگاز به هم متصل می شود. با توسعه کیت هایی که قبلاً حاوی وکتور هدف و ترکیبی اختصاصی از آنزیم های مورد نیاز برای واکنش نوترکیبی هستند، ساده شده است.

در ادامه تصویر شماتیک این روش آمده است:




۲. TA Cloning

۳. Ligation Independent Cloning

۴. Gibson cloning

## سوال ۲

### الف)

$$\frac{dA}{dt} = -k * [A][E] \rightarrow \text{نیاز به حل معادله دیفرانسیل} \rightarrow \frac{\frac{dA}{dt}}{A} = -k[E] \rightarrow \int \frac{\frac{dA}{dt}}{A} dt = \int -k[E]dt$$

$$\rightarrow log\big(A(t)\big) = -k[E]t + c_1 \rightarrow A(t) = e^{-k[E]t+c_1} = c_1 e^{-k[E]t} \; where\ c_1\ is\ constant$$

$$\frac{dE}{dt} = -k[A][E] + k[A][E] = 0 \rightarrow E(t) = E_0$$

$$\frac{dB}{dt} = +k[A][E] \rightarrow B(t) = \int k[A][E]\, dt = \int k * c_1 e^{-k[E]t}[E]\, dt = -c_1 e^{-k[E]t} + C$$

### ب)

$$\frac{dA}{dt} = -k[A]^3 \rightarrow \text{نیاز به حل معادله دیفرانسیل} \rightarrow \frac{\frac{dA}{dt}}{A^3} = -k \rightarrow \int \frac{\frac{dA}{dt}}{A^3} dt = \int -kdt$$

$$\rightarrow -\frac{1}{2A^2} = -kt + c_1 \rightarrow A(t) = \frac{1}{\sqrt{2kt - 2c_1}} = \frac{1}{\sqrt{2kt + c_1}} \; where\ c_1\ is\ constant$$

$$\frac{dB}{dt} = +k[A]^3 \rightarrow B(t) = \int k[A]^3\, dt = \int \frac{k}{(2kt + c_1)^{1.5}} dt = -\frac{1}{\sqrt{2kt + c_1}} + C$$

### ج)

$$\frac{dA}{dt} = -k_1 * 3 * 2 * [A]^3[B]^2 + k_2[C][D] + K_3[C][D]$$

$$\frac{dB}{dt} = -k_1 * 3 * 2 * [A]^3[B]^2$$

$$\frac{dC}{dt} = +k_1 * 3 * 2 * [A]^3[B]^2 - k_2[C][D] - K_3[C][D]$$

$$\frac{dD}{dt} = +k_1 * 3 * 2 * [A]^3[B]^2 - k_2[C][D] - K_3[C][D]$$

$$\frac{dE}{dt} = K_3[C][D]$$

## سوال ۳

$$X + S_x \rightleftharpoons_{k_2}^{k_1} X^*$$

$$X^* + D_0 \rightleftharpoons_{k_4}^{k_3} D_1$$

$$D_1 + P + [y_i] \rightarrow^{k_{cat}} D_1 + P + Y$$

روال کلی و خلاصه حل به این صورت است که ابتدا معادلات دیفرانسیل مربوط به واکنش ها را نوشته و سپس با انجام فرضیاتی معادلات دیفرانسیل را ساده کرده و حل میکنیم تا به نرخ تولید پروتئین برسیم.

$$\frac{dX}{dt} = -k_1[X][S_x] + k_2[X^*]$$

$$\frac{dS_x}{dt} = -k_1[X][S_x] + k_2[X^*]$$

$$\frac{dX^*}{dt} = +k_1[X][S_x] - k_2[X^*] - k_3[X^*][D_0] + k_4[D_1]$$

$$\frac{dD_0}{dt} = -k_3[X^*][D_0] + k_4[D_1]$$

$$\frac{dD_1}{dt} = +k_3[X^*][D_0] - k_4[D_1] - k_{cat}[D_1][P][y_i] + k_{cat}[D_1][P][y_i]$$

$$\frac{dP}{dt} = -k_{cat}[D_1][P][y_i] + k_{cat}[D_1][P][y_i] \rightarrow P(t) = P_0$$

$$\frac{dy_i}{dt} = -k_{cat}[D_1][P][y_i]$$

$$\frac{dY}{dt} = +k_{cat}[D_1][P][y_i] \triangleq \mathbf{v} \text{ نرخ تولید پروتئین}$$

از آنجایی که حل معادلات دیفرانسیل بالا ساده نیست، باید پاسخ را تقریب زد. برای این کار دو انجام میدهیم:

۱. فرض میکنیم که دو واکنش اول دارای فرض زیر هستند: quasi-steady state در نتیجه این دواکنش سریعا به حالت پایدار خواهند رفت و میتوان معادلات دیفرانسیل تغییرات اجزای واکنششان را برابر با صفر گرفت و معادلات را به صورت زیر بازنویسی نمود.

۲. فرض میکنیم $K_۱.K_۲.K_۳.k_۴ \gg K_{cat}$ یعنی این که دو واکنش اول بسیار سریعتر تر از واکنش تولید پروتئین هستند.

**ادامه حل با فرضیات بالا در صفحه بعد آمده است.**

$$\frac{dX^*}{dt} = +k_1[X][S_x] - k_2[X^*] - k_3[X^*][D_0] + k_4[D_1] = 0$$

$$\rightarrow +k_1[X][S_x] - k_2[X^*] = +k_3[X^*][D_0] - k_4[D_1]$$

$$\frac{dD_1}{dt} = +k_3[X^*][D_0] - k_4[D_1] - k_{cat}[D_1][P][y_i] + k_{cat}[D_1][P][y_i] = 0$$

$$\rightarrow +k_3[X^*][D_0] - k_4[D_1] = 0 \rightarrow k_1[X][S_x] - k_2[X^*] = 0$$

$$\rightarrow [X^*] = \frac{k_1[X][S_x]}{k_2}$$

$$\rightarrow [D_1] = \frac{k_3[X^*][D_0]}{k_4} \rightarrow [D_1] = \frac{k_1 k_3[X][S_x][D_0]}{k_2 k_4}$$

$$\frac{dY}{dt} = +k_{cat}[D_1][P][y_i] \triangleq \nu$$

$$\nu = k_{cat} * \frac{k_1 k_3[X][S_x][D_0]}{k_2 k_4} * [P][y_i] = k_{cat} * \frac{[X][S_X][D_0]}{k_{d_1} k_{d_2}} * [P][y_i]$$

$$D_{total} = D_0 + D_1 \rightarrow D_0 = D_t - D_1 \,.\; FO_2 = \frac{D_1}{D_{total}}$$

$$X_{total} = X + X^* \rightarrow X = X_{total} - X^* \,.\; FO_1 = \frac{X^*}{X_{total}}$$

$$\frac{k_2}{k_1} = k_{d_1} = \frac{[X][S_x]}{[X^*]} \rightarrow \frac{k_{d_1}}{[S_x]} = \frac{X_{total} - X^*}{[X^*]} \rightarrow \frac{k_{d_1} + [S_x]}{[S_x]} = \frac{X_{total}}{[X^*]} \rightarrow [X^*] = \frac{X_{total} * [S_x]}{K_{d_1} + [S_x]}$$

$$\frac{k_4}{k_3} = k_{d_2} = \frac{[D_0][X^*]}{[D_1]} \rightarrow \frac{k_{d_2}}{[X^*]} = \frac{(D_{total} - D_1)}{D_1} \rightarrow \frac{k_{d_2} + [X^*]}{[X^*]} = \frac{D_{total}}{D_1} \rightarrow D_1 = \frac{D_{total} * [X^*]}{k_{d_2} + [X^*]}$$

$$D_1 = \frac{D_{total} * \frac{X_{total} * [S_x]}{K_{d_1} + [S_x]}}{k_{d_2} + \frac{X_{total} * [S_x]}{K_{d_1} + [S_x]}} = \frac{D_{total} * X_{total} * [S_x]}{K_{d_2} * \left(k_{d_1} + [S_x]\right) + X_{total}[S_x]} = D_{total} * X_{toal} * A$$

$$where\ (A < 1)$$

$$\nu = k_{cat} * \frac{D_{total} * X_{total} * [S_x]}{K_{d_2} * \left(k_{d_1} + [S_x]\right) + X_{total}[S_x]} * [P][y_i] = \underbrace{k_{cat} * D_{total} * X_{total} * P_0[y_i]}_{\nu_{max}} * A$$

## سوال ۴

$$\boldsymbol{a} = \boldsymbol{\alpha_{dil}} + \boldsymbol{\alpha_{deg}} \ \& \ \boldsymbol{\beta} = \text{rate of protein production} \rightarrow \frac{\boldsymbol{dY}}{\boldsymbol{dt}} = \boldsymbol{\beta} - \boldsymbol{\alpha Y} \rightarrow \frac{\boldsymbol{dY}}{\boldsymbol{dt}} = \boldsymbol{0} \rightarrow \boldsymbol{Y_{st}} = \frac{\boldsymbol{\beta}}{\boldsymbol{\alpha}}$$

$$\frac{\boldsymbol{dY}}{\boldsymbol{dt}} = \boldsymbol{\beta} - \boldsymbol{\alpha Y} \rightarrow \boldsymbol{if\ \beta = 0} \rightarrow \ \boldsymbol{solving\ Differential\ equation} \rightarrow \boldsymbol{Y(t) = Y_{st} * e^{-\alpha t}}$$

$$\boldsymbol{response\ time = T_{\frac{1}{2}}\ when\ Y(t) = \frac{Y_{st}}{2}} \rightarrow \boldsymbol{for\ assumption\ above} \rightarrow \boldsymbol{T_{\frac{1}{2}} = \frac{log(2)}{\alpha}}$$

**الف)**

$$\boldsymbol{Y_m = concentration\ of\ mRNA\ of\ gene\ Y}$$

$$\boldsymbol{dynamical\ equation\ for\ the\ concentration\ of\ mRNA} \rightarrow \boldsymbol{\frac{dY_m}{dt} = \beta_m - \alpha_m Y_m}$$

$$\boldsymbol{\beta} = \text{protein production rate} = \ \text{production of p copies per mRNA per unit time} \ = \boldsymbol{pY_m}$$

$$\boldsymbol{dynamical\ equation\ for\ the\ protein\ product} \rightarrow \boldsymbol{\frac{dY}{dt} = \beta - \alpha Y = pY_m - \alpha Y}$$

**ب)**

در حالتی که نرخ از بین رفتن mRNA بسیار بیشتر از نرخ کم شدن پروتئین است، میتوان فرض کرد که $Y_m$ در مقایسه با پروتئین بسیار سریعتر به حالت پایدار میرسد. در نتیجه زمان پاسخ mRNA که برابر است با $\frac{\log(۲)}{\alpha_m}$ بسیار کوتاه تر از زمان پاسخ پروتئین که برابر است با $\frac{\log(۲)}{\alpha}$ است خواهد بود. زیرا همانطور که در صورت سوال گفته شده $\alpha_m \gg \alpha$. درنتیجه میتوان از فرض quasi-steady-state استفاده نمود.

**پ)** با توجه به توضیحات قسمت ب میتوان روابط زیر را نوشت.

$$\boldsymbol{steady - state\ mRNA} \ \rightarrow \ \boldsymbol{\frac{dY_m}{dt} = 0 \rightarrow Y_{m.st} = \frac{\beta_m}{\alpha_m}}$$

$$\boldsymbol{\beta} = \text{protein production rate} = \ \text{production of p copies per mRNA per unit time} \ = \boldsymbol{p\frac{\beta_m}{\alpha_m}}$$

$$\boldsymbol{dynamical\ equation\ for\ the\ protein\ product} \rightarrow \boldsymbol{\frac{dY}{dt} = \beta - \alpha Y = p\frac{\beta_m}{\alpha_m} - \alpha Y}$$

$$\boldsymbol{we\ know}: \boldsymbol{\frac{dY}{dt} = \beta - \alpha Y \rightarrow \beta = p\frac{\beta_m}{\alpha_m}}$$

## سوال ۵

از آنجایی که فرض strong auto repression داریم ($\left(\frac{X}{K}\right)^n \gg 1$) در نتیجه میتوان از تابع ورودی یک مخرج را حذف نمود و در نتیجه تابع ورودی به شکل زیر در میآید:

$$\frac{dX}{dt} = \frac{\beta K^n}{X^n} - \alpha X$$

برای حل این معادله دیفرانسیل دو طرف تساوی را در $X^n$ ضرب میکنیم و طبق راهنمایی صورت سوال از تغییر متغیر $u = X^{n+1}$ استفاده میکنیم. راه حل به صورت زیر خواهد بود:

$$\frac{du}{dt} = (n+1)X^n \frac{dX}{dt} \rightarrow \frac{du}{dt} = (n+1)X^n * \left(\frac{\beta K^n}{X^n} - \alpha X\right) = (n+1)\beta K^n - (n+1)\alpha u$$

$$now\ we\ need\ to\ slove\ this\ equation: \frac{du}{dt} = (n+1)\beta K^n - (n+1)\alpha u$$

$$u(t) = u_{st}\left(1 - e^{-(n+1)\alpha t}\right) \rightarrow switching\ to\ X \rightarrow X(t) = X_{st}\left(1 - e^{-(n+1)\alpha t}\right)^{\frac{1}{n+1}}$$

$$response\ time: X\left(T_{\frac{1}{2}}\right) = \frac{X_{st}}{2} \rightarrow \left(1 - e^{-(n+1)\alpha t}\right)^{\frac{1}{n+1}} = \frac{1}{2} \rightarrow T_{\frac{1}{2}} = \frac{1}{(n+1)\alpha} log\left(\frac{2^{n+1}}{2^{n+1} - 1}\right)$$

$$for\ n = 1.2.3.4\ we\ should\ compare\ T_{\frac{1}{2}}\ to\ T_{\frac{1}{2}} = \frac{log(2)}{\alpha}\ of\ simple\ regulation$$

$$n = 1:\ T_{\frac{1}{2}} = \frac{1}{2\alpha} log\left(\frac{4}{3}\right) \rightarrow comparison\ factor = CF = \frac{\frac{1}{2\alpha} log\left(\frac{4}{3}\right)}{\frac{log(2)}{\alpha}} \approx 0.2$$

$$n = 2:\ T_{\frac{1}{2}} = \frac{1}{3\alpha} log\left(\frac{8}{7}\right) \rightarrow comparison\ factor = CF = \frac{\frac{1}{3\alpha} log\left(\frac{8}{7}\right)}{\frac{log(2)}{\alpha}} \approx 0.06$$

$$n = 3:\ T_{\frac{1}{2}} = \frac{1}{4\alpha} log\left(\frac{16}{15}\right) \rightarrow comparison\ factor = CF = \frac{\frac{1}{4\alpha} log\left(\frac{16}{15}\right)}{\frac{log(2)}{\alpha}} \approx 0.02$$

$$n = 4:\ T_{\frac{1}{2}} = \frac{1}{5\alpha} log\left(\frac{32}{31}\right) \rightarrow comparison\ factor = CF = \frac{\frac{1}{5\alpha} log\left(\frac{32}{31}\right)}{\frac{log(2)}{\alpha}} \approx 0.009$$

با توجه به مقایسه های بالا میتوان به این نتیجه رسید که هرچه قدر مقدار n بیشتر باشد، زمان پاسخ نیز کمتر خواهد بود و درنتیجه سرعت نیز بیشتر خواهد بود.

## سوال ۶

### الف)

$$E + S \rightleftharpoons_{k_2}^{k_1} ES \rightarrow k_m = \frac{[E][S]}{[ES]} \rightarrow [ES] = \frac{[E][S]}{k_m}$$

$$E + I \rightleftharpoons_{k_4}^{k_3} EI \rightarrow K_I = \frac{[E][I]}{[EI]} \rightarrow [EI] = \frac{[E][I]}{k_I}$$

$$ES \rightarrow^{k_{cat}} E + P$$

$$\frac{dP}{dt} = k_{cat}[ES] \rightarrow v_p = k_{cat}[ES]$$

$$[E]_{total} = [E] + [EI] + [ES] = [E] + \frac{[E][S]}{k_m} + \frac{[E][I]}{k_I} = [E]\left(1 + \frac{[S]}{k_m} + \frac{[I]}{k_I}\right) \rightarrow [E] = \frac{[E]_{total}}{\left(1 + \frac{[S]}{k_m} + \frac{[I]}{k_I}\right)}$$

$$[ES] = \frac{[E][S]}{k_m} = \frac{[E]_{total} * [S]}{\left(1 + \frac{[S]}{k_m} + \frac{[I]}{k_I}\right) * k_m} \rightarrow v_p = k_{cat} * \frac{[E]_{total} * [S]}{\left(1 + \frac{[S]}{k_m} + \frac{[I]}{k_I}\right) * k_m}$$

$$k_{cat} * [E]_{total} = v_{max} \rightarrow v_p = v_{max} * \frac{[S]}{k_m\left(1 + \frac{[I]}{k_I}\right) + [S]} \rightarrow \alpha = 1 + \frac{[I]}{k_I}$$

$$Simple\ Michaelis - Menten \rightarrow v_p = \frac{v_{max}[S]}{k_m + [S]}$$

درنتیجه همانطور که دیده میشود، $\alpha > ۱$ پس مخرج کسر بیشتر از حالت ساده معادله میکائیل-منتن خواهد بود ودر نتیجه سرعت تولید پروتئین در هنگام حضور یک بازدارنده رقابتی مطابق آنچه انتظار میرود کمتر خواهد بود از حالت ساده.

### ب)

$$E + S \rightleftharpoons_{k_2}^{k_1} ES \rightarrow k_m = \frac{[E][S]}{[ES]} \rightarrow [ES] = \frac{[E][S]}{k_m}$$

$$ES + I \rightleftharpoons_{k_4}^{k_3} ESI \rightarrow K'_I = \frac{[ES][I]}{[ESI]} \rightarrow [ESI] = \frac{[ES][I]}{k'_I}$$

$$ES \rightarrow^{k_{cat}} E + P$$

$$\frac{dP}{dt} = k_{cat}[ES] \rightarrow v_p = k_{cat}[ES]$$

$$[E]_{total} = [E] + [ESI] + [ES] = [E] + \frac{[ES][I]}{k'_I} + \frac{[E][S]}{k_m} = [E]\left(1 + \frac{[S]}{k_m}\right) + [ES]\left(\frac{[I]}{k'_I}\right)$$

$$\rightarrow [E]_{total} = [E]\left(1 + \frac{[S]}{k_m}\right) + \frac{[E][S]}{k_m}\left(\frac{[I]}{k'_I}\right) = [E]\left(1 + \frac{[S]}{k_m} + \frac{[S][I]}{k_m k'_I}\right) = [E]\left(1 + \left(\frac{[S]}{k_m}\right)\left(1 + \frac{[I]}{k'_I}\right)\right)$$

$$\rightarrow [E] = \frac{[E]_{total}}{\left(1 + \left(\frac{[S]}{k_m}\right)\left(1 + \frac{[I]}{k'_I}\right)\right)}$$

$$[ES] = \frac{[E][S]}{k_m} = \frac{[E]_{total} * [S]}{\left(1 + \left(\frac{[S]}{k_m}\right)\left(1 + \frac{[I]}{k'_I}\right)\right) * k_m} \rightarrow v_p = k_{cat} * \frac{[E]_{total} * [S]}{\left(1 + \left(\frac{[S]}{k_m}\right)\left(1 + \frac{[I]}{k'_I}\right)\right) * k_m}$$

$$k_{cat} * [E]_{total} = v_{max} \rightarrow \ v_p = v_{max} * \frac{[S]}{k_m + [S]\left(1 + \frac{[I]}{k'_I}\right)} \rightarrow \beta = 1 + \frac{[I]}{k'_I}$$

$$Simple\ Michaelis - Menten \rightarrow v_p = \frac{v_{max}[S]}{k_m + [S]}$$

درنتیجه همانطور که دیده میشود، $\beta > ۱$ پس مخرج کسر بیشتر از حالت ساده معادله میکائیل-منتن خواهد بود ودر نتیجه سرعت تولید پروتئین در هنگام حضور یک بازدارنده غیر رقابتی نیز مطابق آنچه انتظار میرود از حالت ساده کمتر خواهد بود.

**پ)**

**واکنش اول**

$$\frac{dE}{dt} = -k_i[E][I] + k_{-i}[EI] - k_1[E][S_1] + k_{-1}[ES_1] + k_4[FS_2]$$

$$\frac{dS_1}{dt} = -k_1[E][S_1] + k_{-1}[ES_1]$$

$$\frac{dI}{dt} = -k_i[E][I] + k_{-i}[EI]$$

$$\frac{d[EI]}{dt} = k_i[E][I] - k_{-i}[EI]$$

$$\frac{d[ES_1]}{dt} = k_1[E][S_1] - k_{-1}[ES_1] - k_2[ES_1]$$

$$\frac{dP_1}{dt} = +k_2[ES_1]$$

$$\frac{dF}{dt} = -k_3[F][S_2] + k_{-3}[FS_2] + k_2[ES_1]$$

$$\frac{dS_2}{dt} = -k_3[F][S_2] + k_{-3}[FS_2] + k_2[ES_1]$$

$$\frac{d[FS_2]}{dt} = k_3[F][S_2] - k_{-3}[FS_2] - k_4[FS_2]$$

$$\frac{dP_2}{dt} = k_4[FS_2]$$

واکنش دوم

$$\frac{dE}{dt} = -k_1[E][S_1] + k_{-1}[ES_1] + k_4[FS_2]$$

$$\frac{dS_1}{dt} = -k_1[E][S_1] + k_{-1}[ES_1]$$

$$\frac{dI}{dt} = -k_i[F][I] + k_{-i}[FI]$$

$$\frac{d[FI]}{dt} = k_i[F][I] - k_{-i}[FI]$$

$$\frac{d[ES_1]}{dt} = k_1[E][S_1] - k_{-1}[ES_1] - k_2[ES_1]$$

$$\frac{dP_1}{dt} = +k_2[ES_1]$$

$$\frac{dF}{dt} = -k_3[F][S_2] + k_{-3}[FS_2] + k_2[ES_1] - k_i[F][I] + k_{-i}[FI]$$

$$\frac{dS_2}{dt} = -k_3[F][S_2] + k_{-3}[FS_2] + k_2[ES_1]$$

$$\frac{d[FS_2]}{dt} = k_3[F][S_2] - k_{-3}[FS_2] - k_4[FS_2]$$

$$\frac{dP_2}{dt} = k_4[FS_2]$$

واکنش سوم

$$\frac{dE}{dt} = -k_i[E][I] + k_{-i}[EI] - k_1[E][S_1] + k_{-1}[ES_1] + k_4[FS_2]$$

$$\frac{dS_1}{dt} = -k_1[E][S_1] + k_{-1}[ES_1]$$

$$\frac{dI}{dt} = -k_j[F][I] + k_{-j}[FI] - k_i[E][I] + k_{-i}[EI]$$

$$\frac{d[FI]}{dt} = k_j[F][I] - k_{-j}[FI]$$

$$\frac{d[EI]}{dt} = k_i[E][I] - k_{-i}[EI]$$

$$\frac{d[ES_1]}{dt} = k_1[E][S_1] - k_{-1}[ES_1] - k_2[ES_1]$$

$$\frac{dP_1}{dt} = +k_2[ES_1]$$

$$\frac{dF}{dt} = -k_3[F][S_2] + k_{-3}[FS_2] + k_2[ES_1] - k_j[F][I] + k_{-j}[FI]$$

$$\frac{dS_2}{dt} = -k_3[F][S_2] + k_{-3}[FS_2] + k_2[ES_1]$$

$$\frac{d[FS_2]}{dt} = k_3[F][S_2] - k_{-3}[FS_2] - k_4[FS_2]$$

$$\frac{dP_2}{dt} = k_4[FS_2]$$

ت)

برای این قسمت کدی زده شده است که در فایل ارسالی با نام **Q6_part4.py** موجود است. در این کد، برای هر یک از سه واکنش داده شده، توابع دیفرانسیل با توجه به قسمت (پ) نوشته شده، و معادلات دیفرانسیل با شرایط اولیه ذکر شده (برای مواردی که شرایط اولیه ذکر نشده بود، مقدار غلظت اولیه شان صفر در نظر گرفته شده است)حل گشتند و نمودار های خواسته شده در تابع **plotter** رسم شدند. همچنین حل کننده دستگاه معادلات دیفرانسیل نیز در فایلی با نام **ODESolver.py** موجود است. برای حل معادلات دیفرانسیل به روش عددی از روش **Forward Euler** استفاده شده است. (منبع فایل **ODESolver.py**: این لینک است) نمودار های خواسته شده همراه با فایل تمرین آپلود شده اند. در نمودار **comparison** غلظت در هنگام حضور مهار کننده با رنگ سبز و هنگامی که مهار کننده حضور ندارد با رنگ آبی رسم شده اند، همانطور که مشاهده میشود، در هنگام حضور مهارکننده، غلظت با نرمی بیشتری افزایش میابد تا به ماکسیمم مقدار خود برسد، در حالی که اگر مهارکننده حضور نداشته باشد، غلظت ابتدا تا ماکسیمم میزان خود پیش میرود و سپس ثابت میماند. دلیل این امر به این صورت است که همانطور که از نام مهارکننده مشخص است، در هنگام حضورش میزان افزایش غلظت پروتئین را مهار میکند و رفتاری مجانبی به آن میدهد.