

Optativa 4rt curs de Biotecnologia

# Modelització i simulació de biosistemes

Revisió de conceptes bàsics

Joan Albiol

Departament d'Enginyeria Química  
Escola d'Enginyeria  
Universitat Autònoma de Barcelona



Als sistemes vius es compleix el principi de conservació de la matèria.

$$A = E - S + G$$

Variació de component al sistema = Entrada - Sortida + Generació

**Acumulació:** variació de la quantitat de component

**Entrada:** quantitat de component que entra al sistema travessant els límits

**Sortida:** quantitat de component que surt del sistema travessant els límits

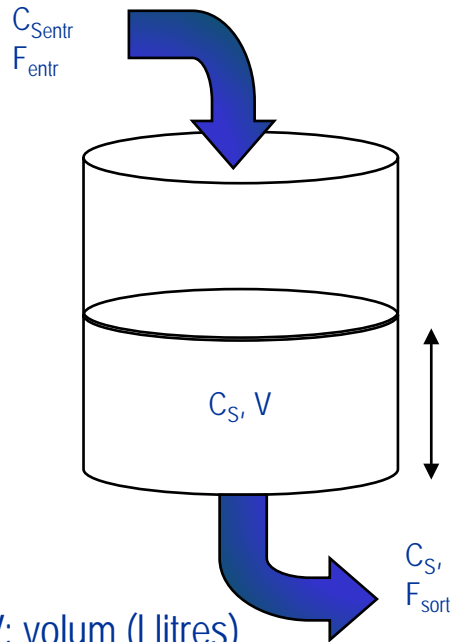
**Generació:** quantitat de component individual que es sintetitza o es consumeix/degrada (a partir de o formant un altre component)

**Exemple:** balanç de contingut de lisina a una cèl·lula

$$\frac{d}{dt} \text{Lisina} = \text{Lis}_{\text{entrada}} - \text{Lis}_{\text{sortida}} + \left( \text{Lis}_{\text{síntesi}} - \text{Lis}_{\text{consum/degradació}} \right)$$

# Estat estacionari o no estacionari

## Balanç de matèria a un bioreactor en continu. Volum constant



V: volum (l litres)

$C_s$ : concentració de substrat (mol/l)

F: cabal d'entrada (l/h)

$$A = E - S + G$$

Sense biomassa

$$\frac{d(VC_s)}{dt} = F_{entr} C_{sent} - F_{sort} C_s$$

$$\frac{dC_s}{dt} = F_{entr} C_{sent} - F_{sort} C_s$$

Si el volum és constant.  $F_{ent} = F_{sort} = F$ ; i  $V = cte$

$$V \frac{dC_s}{dt} = F C_{sent} - F C_s$$

$$\frac{dC_s}{dt} = \frac{F}{V} (C_{sent} - C_s)$$

$$\frac{dC_s}{dt} = \frac{F}{V} (C_{sent} - C_s)$$

$$\frac{dC_s}{dt} = \frac{1}{t} (C_{sent} - C_s)$$

$$\text{tau } t = \frac{V}{F} \text{ Temps de residència}$$

Unitats: (h)

En altres àmbits equival a:

Temps característic o

Temps de resposta

Temps de relaxació

Temps de recanvi

Temps de transició

$$\frac{dC_s}{dt} \frac{1}{(C_{sent} - C_s)} dC_s = \frac{1}{t} \frac{dC_s}{C_s} dt$$

$$\frac{dC_s}{dt} \frac{1}{(C_{Sent} - C_s)} = \frac{1}{t} \frac{d}{dt} \ln(C_{Sent} - C_s)$$

$$\frac{dx}{ax+b} = \frac{1}{a} \ln(ax+b)$$

$$\int_{C_{s0}}^{C_s} \frac{1}{(C_{Sent} - C_s)} dC_s = \int_{t_0}^t \frac{1}{t} dt$$

$$\ln \frac{(C_{Sent} - C_s)}{(C_{Sent} - C_{s0})} = -\frac{1}{t}$$

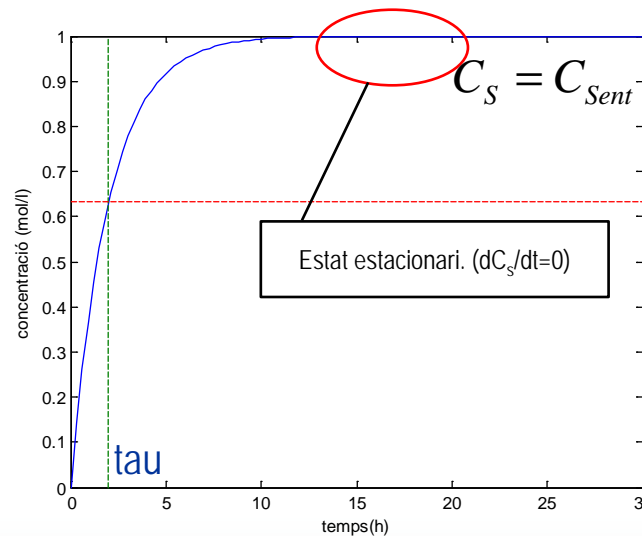
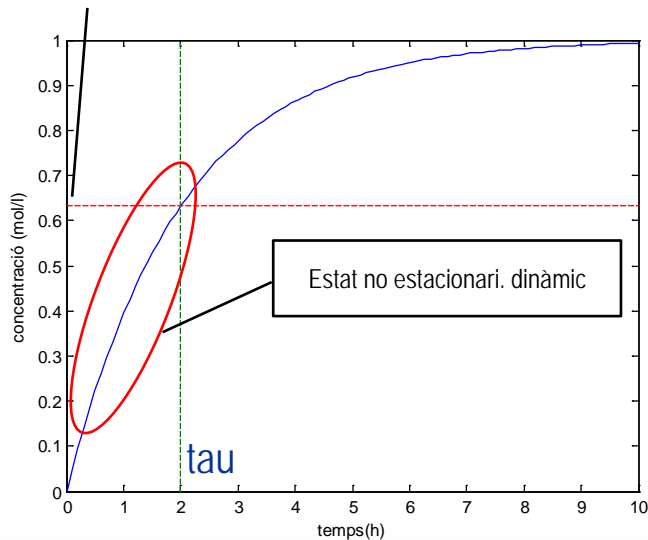
$$\ln \frac{(C_{Sent} - C_s)}{(C_{Sent} - C_{s0})} = -\frac{1}{t}$$

$$\frac{(C_{Sent} - C_s)}{(C_{Sent})} = e^{-\frac{1}{t}}$$

$$1 - \frac{C_s}{C_{Sent}} = e^{-\frac{1}{t}}$$

$$C_s = C_{Sent} (1 - e^{-\frac{1}{t}})$$

63.21% del canvi total



$$\tau = V/F = 1/0.5 = 2 \text{ (h)}$$

$$C_s = 1 - e^{-\frac{1}{2}} = 0.6321$$

A l'estat estacionari:  
 $C_{ss} = C_{sent} = 1 \text{ (mol/l)}$

$$\frac{dC_s}{dt} = \frac{1}{t} (C_{Sent} - C_s) = 0$$

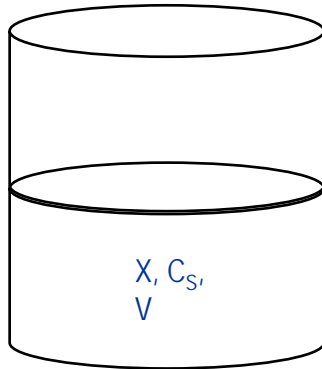
$$C_s = C_{Sent}$$

# Bioreactor com a sistema experimental.

## Balanç de matèria a un bioreactor en discontinu

2 components biomassa i Substrat

$$A = E - S + G$$



$$\begin{cases} \frac{d(VX)}{dt} = \mu X V \\ \frac{d(VC_s)}{dt} = -r_s X V \end{cases}$$

No hi ha entrada ni sortida del reactor  $E=0$ ;  $S=0$

Cada equació conté l'altra variable.  
Generalment no es poden resoldre per separat.

Biomassa (pes sec  $X$  (gDW·l<sup>-1</sup>))

$V$ : volum (l litres)

$C_s$ : concentració de substrat (mmol/l)

$Y_{x/s}$ : rendiment (gDW/mmolSubstrat)

$\mu$ : velocitat de creixement (1/h)

El volum és constant i està a ambdós cantons

Simplificant:

$$\begin{cases} \frac{dX}{dt} = \mu X \\ \frac{dC_s}{dt} = -r_s X \end{cases}$$

Suposant:

Amb:

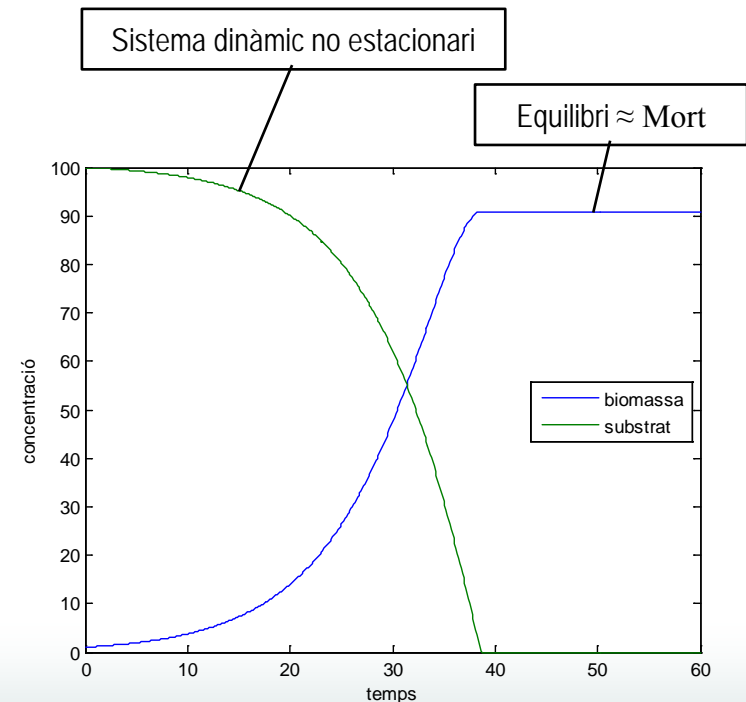
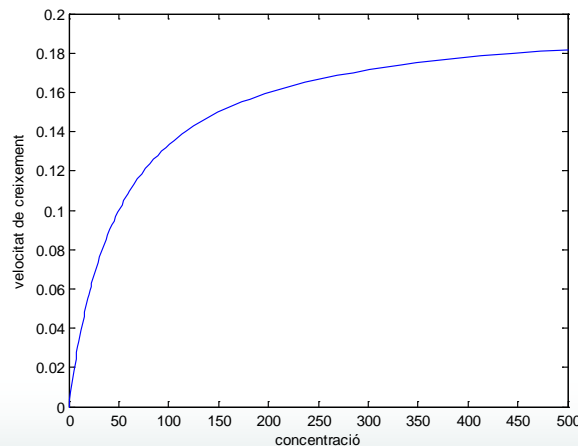
$\mu_{\max}=0.2$  (h<sup>-1</sup>)

$K_s=50$  (mmol/l)

$Y_{x/s}=10$   
(gDW/mmol)

$$\mu = \frac{\mu_{\max} C_s}{K_s + C_s}$$

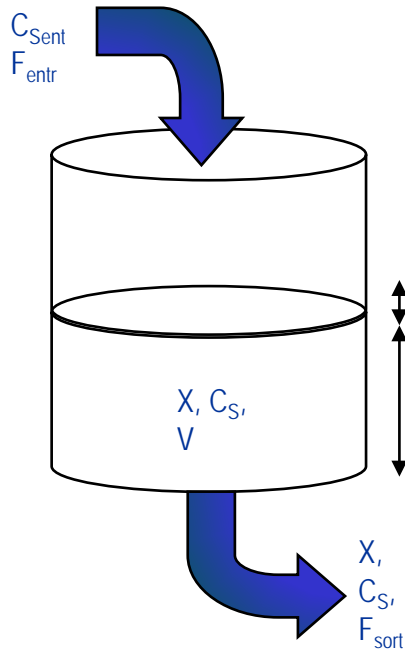
$$r_s = \frac{\mu}{Y_{x/s}}$$



## Bioreactor com a sistema experimental.

## Balanç de matèria a un bioreactor en continu. Volum variable

3 components volum, biomassa i Substrat

Biomassa (pes sec  $X$  (gDW·l<sup>-1</sup>))

V: volum (l litres)

 $C_s$ : concentració de substrat (mmol/l) $Y_{X/S}$ : rendiment (gDW/mmolSubstrat) $\mu$ = velocitat de creixement (1/h)

\* Assumint densitat  
constant  $\rho = \text{cte}$

$$\frac{dV}{dt} = F_{e\cancel{r}} - F_{s\cancel{r}}$$

$$A = E - S + G$$

$$\frac{dV}{dt} = F_{entr} - F_{sort}$$

Com abans:

$$m = \frac{m_{\max} \times C}{K_s + C}$$

$$\frac{d(VX)}{dt} = 0 - F_{sort}X + mXV$$

No hi ha cèl·lules a  
l'entrada  $E=0$ 

$$r_s = \frac{m}{Y_{X/S}}$$

$$\frac{d(VC_s)}{dt} = F_{entr}C_{sen} - F_{sort}C_s - r_sXV$$

El volum no és constant. Aplicant la derivada d'un producte

$$\frac{dX}{dt}V + X \frac{dV}{dt} = 0 - F_{sort}X + mXV$$

$$V \frac{dC_s}{dt} + \frac{dV}{dt}C_s = F_{ent}C_{sent} - F_{sort}C_s - r_sXV$$

Aïllant  $dX/dt$  i  $dC_s/dt$ :

$$\frac{dX}{dt} = mX - \frac{F_{sort}}{V}X - \frac{X}{V} \frac{dV}{dt}$$

$$\frac{dC_s}{dt} = -r_sX + \frac{F_{ent}}{V}C_{sent} - \frac{F_{sort}}{V} - \frac{1}{V} \frac{dV}{dt} C_s$$

## Bioreactor com a sistema experimental.

## Balanç de matèria a un bioreactor en continu. Volum constant

Si el volum és constant.

$$F_{ent} = F_{sort} = F; \text{ i } V = cte \Rightarrow \frac{dV}{dt} = 0$$

$$\frac{dX}{dt} = \mu X - \frac{F}{V} X = \left( \mu - D \right) X$$

$$\frac{dC_s}{dt} = -r_s X + \frac{F}{V} (C_{sent} - C_s)$$

assumint:  $\mu = \frac{\mu_{max} \cdot C}{K_s + C}$

$$\frac{F}{V} = \frac{1}{t} = D$$

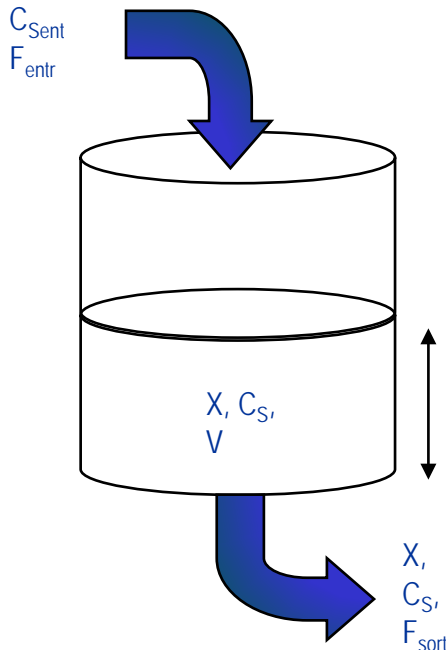
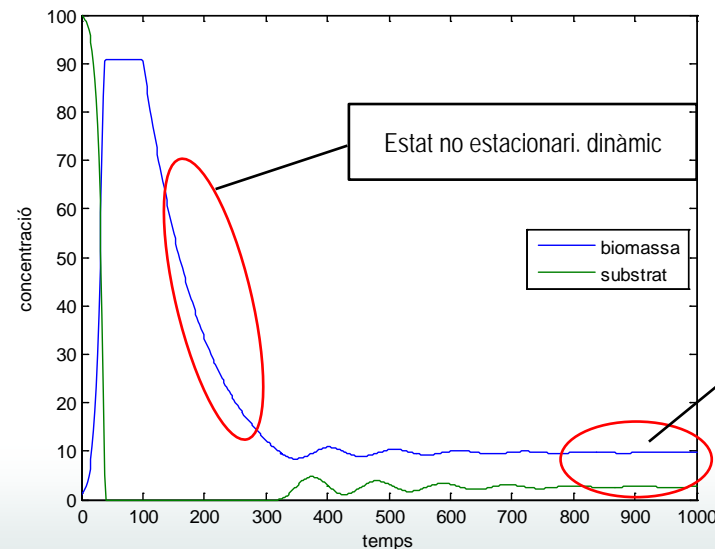
D: taxa dilució

$$r_s = \frac{\mu}{Y_{X/S}}$$

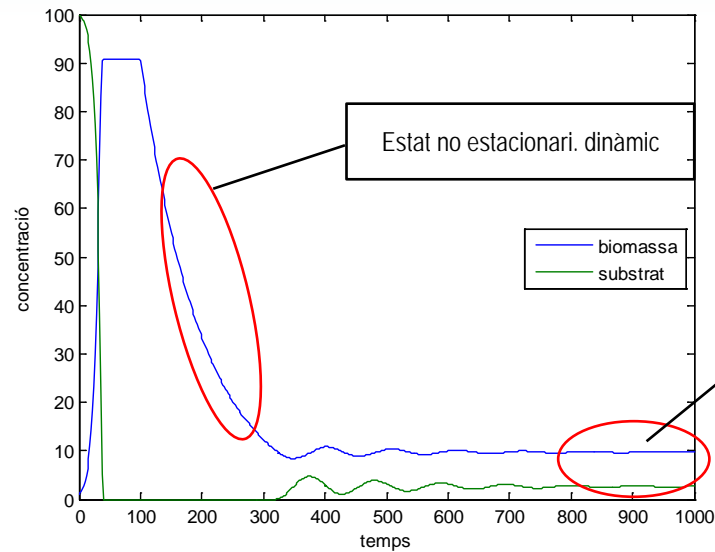
Arribem a les mateixes expressions  
que si al cas anterior assumim  $dV/dt=0$

$$\frac{dX}{dt} = (\mu - D) X$$

$$\frac{dC_s}{dt} = -r_s X + D(C_{sent} - C_s)$$



# Bioreactor com a sistema experimental.



A l'estat estacionari les derivades=0 i per tant:

$$\begin{aligned} 0 &= (\mu - D)X & \longrightarrow DX &= \mu X \\ 0 &= -r_s X + D(C_{sent} - C_s) & \text{Deduïm: } \boxed{\mu = D} \end{aligned}$$

$$r_s X = D(C_{sent} - C_s)$$

$$\frac{\mu}{Y_{X/S}} X = D(C_{sent} - C_s)$$

$$\frac{\mu}{Y_{X/S}} = \frac{D(C_{sent} - C_s)}{X}; \frac{\mu}{\text{h} \cdot \text{gDW}} = \frac{D(C_{sent} - C_s)}{\text{gDW}}$$

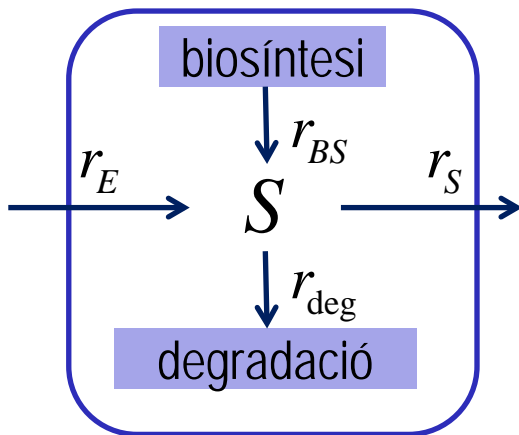
$$\frac{X}{Y_{X/S}} = (C_{sent} - C_s)$$

$$\text{Deduïm: } Y_{X/S} = \frac{X}{(C_{sent} - C_s)}; \frac{\text{gDW}}{\text{g} \cdot \text{h}} = \frac{X}{(C_{sent} - C_s) \cdot \text{h}}$$



## Balanç de matèria d'un component a una cèl·lula assumint creixement zero

Dades de  $C_s$  en unitats de mols per volum de cèl·lula



$$A = E - S + G$$

$$\frac{d(VC_s)}{dt} = r_E V - r_s V + r_{BS} V - r_{deg} V$$

Si no hi ha creixement podem assumir  $V=cte$

$$\frac{dC_s}{dt} = r_E - r_S + r_{BS} - r_{deg}$$

**Exemple de cas senzill:** El component **només** es sintetitza i es degrada.  $E=0$  i  $S=0$

La síntesi és constant. La cinètica de degradació és de primer ordre respecte a S.

$$\frac{dC_S}{dt} = 0 - 0 + r_{BS} - k \times C_S$$

$$\frac{dC_s}{dt} = r_{BS} - k \times C_s$$

$$\dot{Q}_{C_{S0=0}}^{C_S} \frac{1}{r_{BS} - k \times C_S} dC_S = \dot{Q}_{t=0}^t dt$$

$$\dot{C}_S \bigg|_{C_{S0}=0} \frac{1}{r_{BS} - k \times C_S} dC_S = \dot{t} \bigg|_{t=0}^t dt$$

$$\int \frac{dx}{ax+b} = \frac{1}{a} \ln(ax+b)$$

$$\int_{C_{S0}=0}^{C_S} \frac{1}{r_{BS} - k \times C_S} dC_S = t - t_0 = t$$

$$\ln \frac{r_{BS} - k \times C_S}{r_{BS}} = -kt$$

$$1 - \frac{k}{r_{BS}} \times C_S = e^{-kt}$$

$$C_S = \frac{r_{BS}}{k} (1 - e^{-kt})$$

$$\text{tau } t = \frac{1}{k}$$

Temps característic o  
Temps de resposta  
Temps de relaxació  
(h)

Si per exemple:

$$r_{BS}: 0.5 \text{ (mmol/(l·h))}$$

$$k = 0.25 \text{ (1/h)}$$

$$\text{tau} = 1/k = 4 \text{ (h)}$$

$$C_S = \frac{0.5}{0.25} (1 - e^{-0.25 \times 4}) = 1.264 = 2 \times 0.6321$$

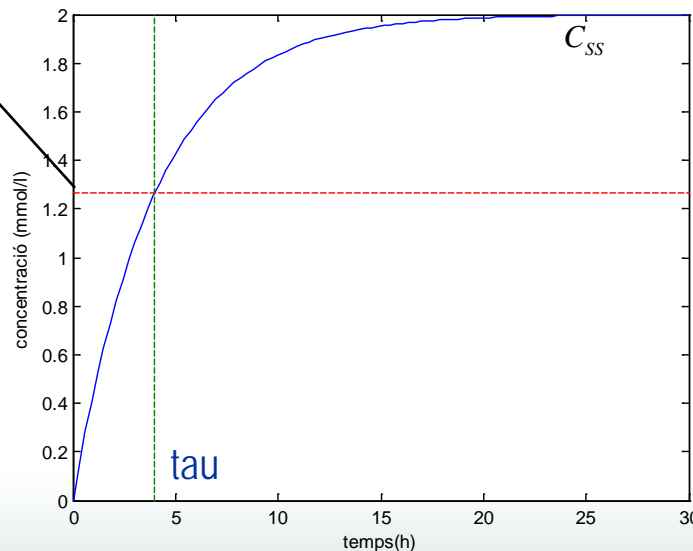
Al'estat estacionari:  $t \rightarrow \infty$  o  $dC_S/dt = 0$

$$C_{SS} = r_{BS}/k = 2 \text{ (mmol/l)}$$

$$\frac{dC_S}{dt} = r_{BS} - k \times C_S = 0$$

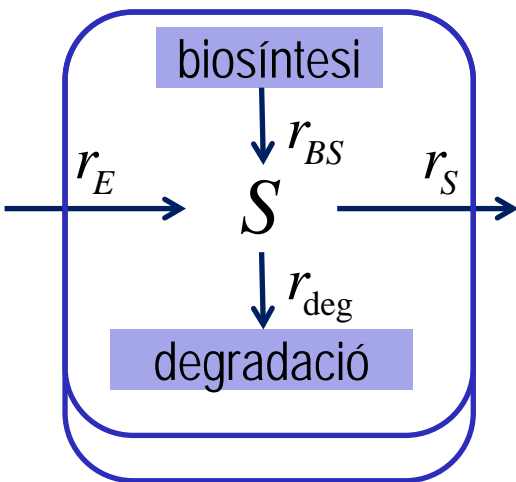
$$C_S = \frac{r_{BS}}{k} = C_{SS}$$

63.21% del canvi total



# Balanç de matèria d'un component a una cèl·lula amb creixement

Dades de  $C_S$  en unitats de mmols de component per unitat de biomassa (gDW)



X: biomassa (gDW)

$$A = E - S + G$$

$$\frac{d(XC_S)}{dt} = r_E X - r_S X + r_{BS} X - r_{deg} X \quad \frac{\text{mmols}}{\text{gDW} \cdot \text{h}}$$

Si hi ha creixement:  $\frac{dX}{dt} = mX$   $\rightarrow$   $\frac{1}{X} \frac{dX}{dt} = m$  Assumim constant

$$\frac{dC_S}{dt} X + \frac{dX}{dt} C_S = r_E X - r_S X + r_{BS} X - r_{deg} X \quad \frac{\text{mmols}}{\text{gDW} \cdot \text{h}}$$

$$\frac{dC_S}{dt} = \frac{r_E X}{X} - \frac{r_S X}{X} + \frac{r_{BS} X}{X} - \frac{r_{deg} X}{X} - \frac{1}{X} \frac{dX}{dt} C_S$$

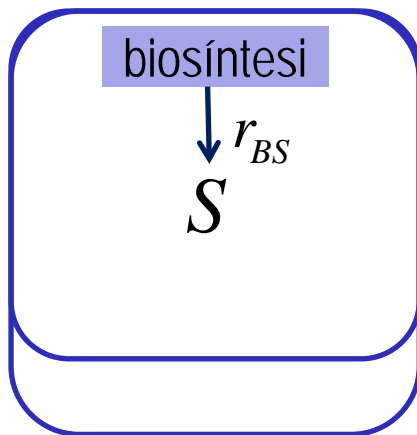
$$\frac{dC_S}{dt} = r_E - r_S + r_{BS} - r_{deg} - m C_S \quad \frac{\text{mmols}}{\text{gDW} \cdot \text{h}}$$

Efecte 'dilució per creixement'

Negligible en la majoria de casos

# Balanç de matèria d'un component a una cèl·lula amb creixement II

Dades de  $C_S$  en unitats de mmols de component per unitat de biomassa (gDW)



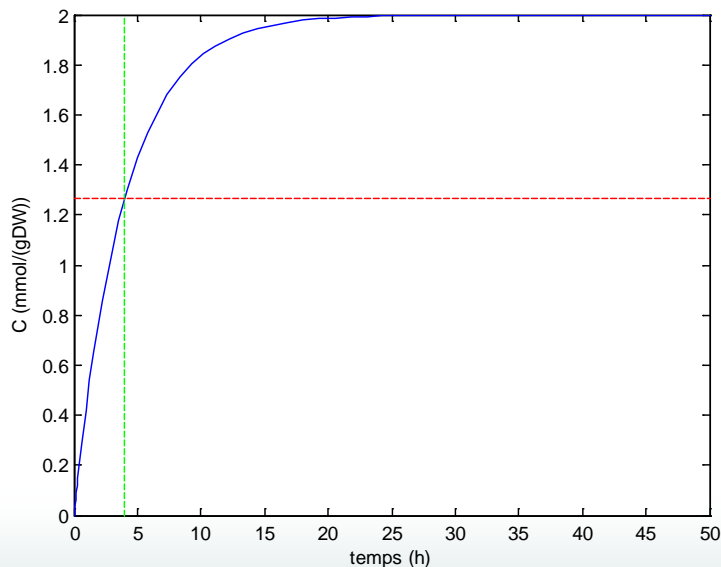
$$\frac{dC_S}{dt} = \cancel{r_E} - \cancel{r_S} + r_{BS} - \cancel{r_{deg}} - mC_S$$

$\frac{\text{mmols}}{\text{h} \cdot \text{gDW}} \div \frac{\text{mmols}}{\text{gDW}} = \frac{1}{\text{h}}$

$$\frac{dC_S}{dt} = r_{BS} - mC_S$$

Termes de dilució per creixement

$$\dot{Q}_{C_S} \frac{1}{r_{BS} - mC_S} dC_S = \dot{Q}_{t=0} dt \quad \Rightarrow \quad C_S = \frac{r_{BS}}{m} (1 - e^{-m})$$



Per mantenir una concentració constant (biosíntesi mínima.  
Relació entre la concentració, la síntesi i el creixement):

$$\frac{dC_S}{dt} = r_{BS} - mC_S = 0$$

$$r_{BS} = mC_S$$

$$C_S = \frac{r_{BS}}{m}$$

Si per exemple:

$r_{BS}$ : 0.5 (mmol/(gDW·h))

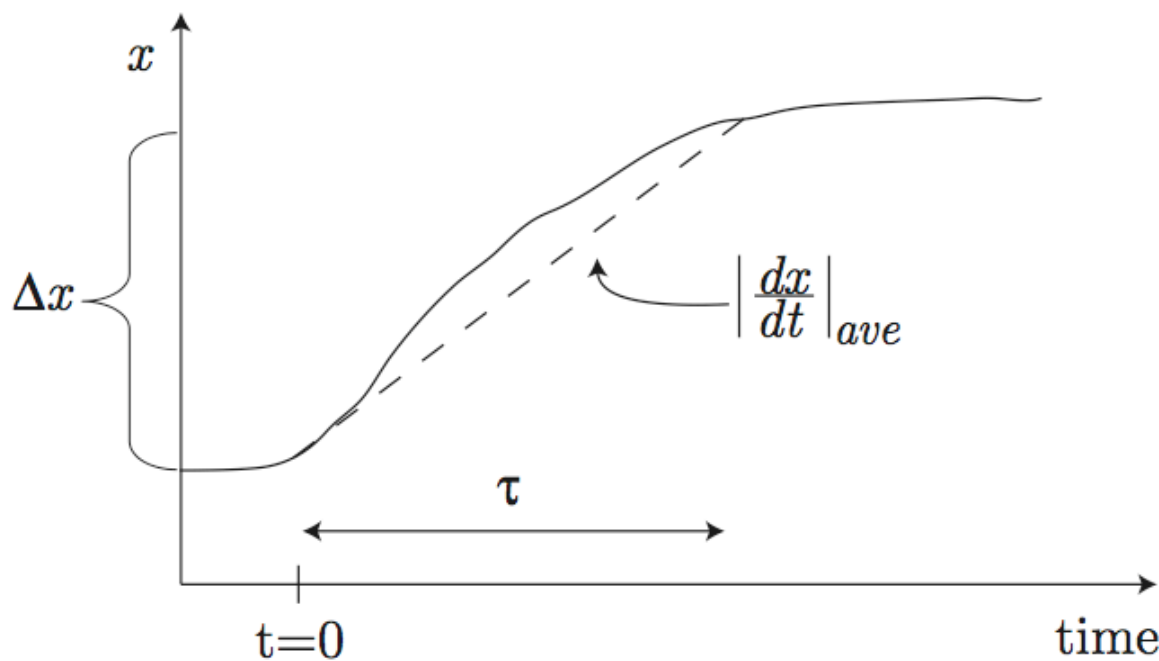
$\mu = 0.25$  (1/h)

$\tau = 1/\mu = 4$  (h)

$C_S = 2$  mmol/gDW

Si mesurem  $\mu$  i  $C_S$ , podem calcular  $r_{BS}$ .

Indicació dels temps que es triga a aconseguir un canvi significatiu a una variable  
Interessa tenir una mesura comparable entre diferents processos per poder simplificar



hi ha varies possibles  
definicions a banda de  
la ja vista

Un altre possible:

$$t = \frac{Dx}{\left| \frac{dx}{dt} \right|_{prom}}$$

Unitats de temps

$$C_S = C_{SS} (1 - e^{-kt}) \quad t = \frac{1}{k}$$

Temps característic  
 Temps de resposta  
 Temps de relaxació  
 Temps de recanvi  
 Temps de transició

De vegades es fa servir el  
temps de duplicació (h) amb  
el mateix propòsit.

$$t_d = \frac{\ln(2)}{k}$$

# Temps característic

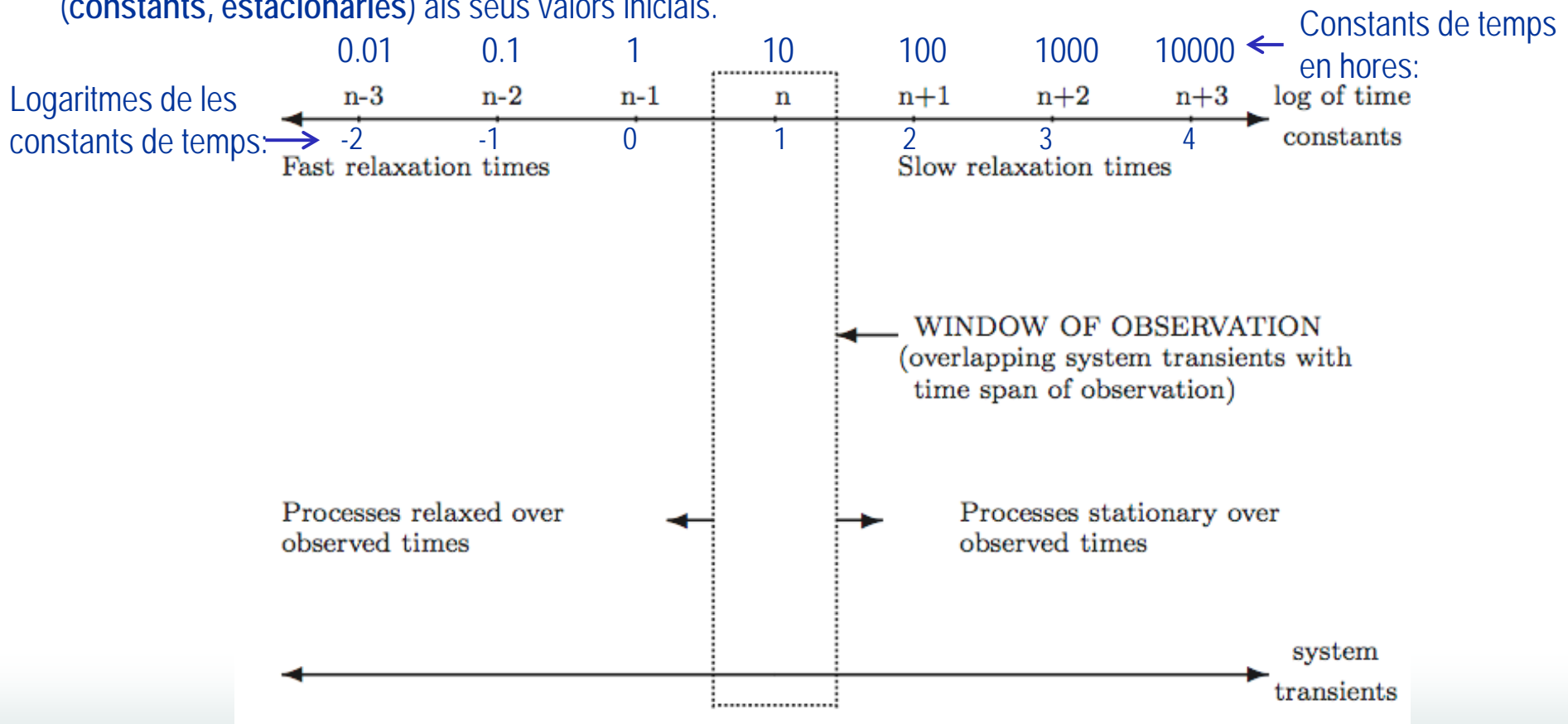
El temps característic o temps de relaxació és important per adequar el model a la 'finestra temporal' per la qual fem el model.

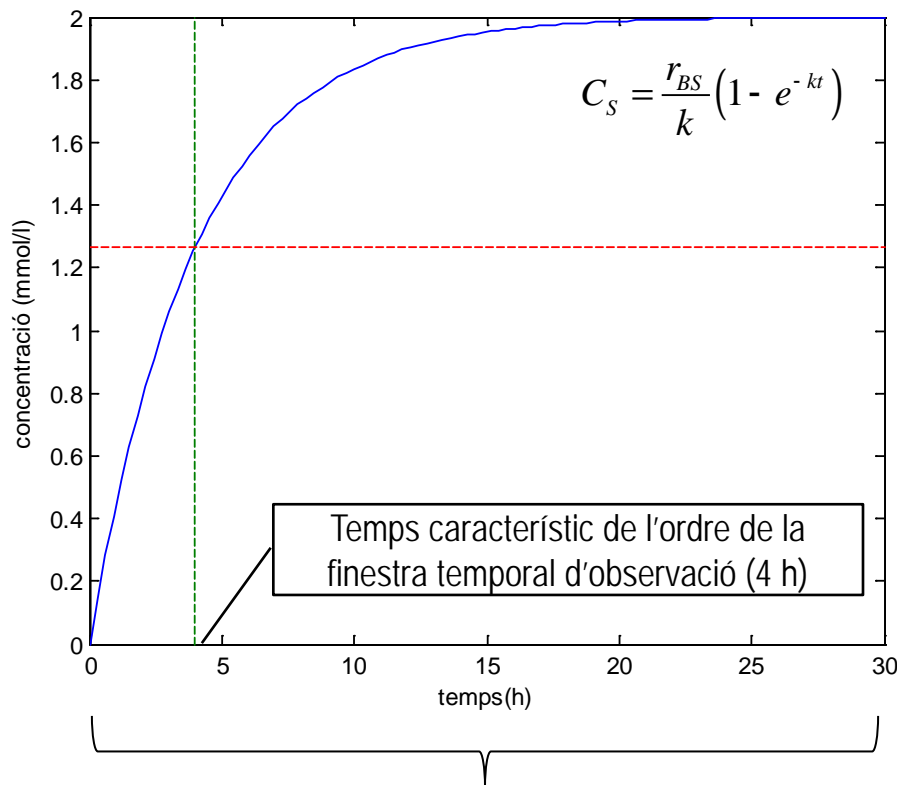
**Finestra temporal:** interval de temps durant el qual 'observem' o 'simulem' el sistema.

Les variables amb temps característic al voltant o dins de la 'finestra temporal' son les que el model en descriu la dinàmica.

Les variables amb temps de relaxació molt menor que la 'finestra temporal' es pot considerar que son 'instantànies'

Les variables amb temps de relaxació molt més gran que la finestra temporal, es poden considerar 'congelades' (constants, estacionaries) als seus valors inicials.





A la pràctica es considera que un canvi ha arribat al seu nivell final quan ha passat un temps equivalent a 5 vegades el seu temps característic (>99.3% de canvi).

Fent servir l'exemple anterior

$r_{BS}$ : 0.5 (mmol/(l·h))

$k = 0.25$  (1/h)

$\tau = 1/k = 4$  (h)

Per aquest sistema (escala en hores):

- Log(1000): 3  
(processos de > 1000 hores es poden considerar estacionaris)

- Log(100): 2

.....

- Log(30): 1.5

- Log(4): 0.6

- Log(1): 0

Finestra temporal  
d'observació: ~30 h

.....

- Log(0.1): -1

- Log(0.01): -2

(processos amb temps menors de 0.01 hores (<1 min) els podem considerar instantanis).

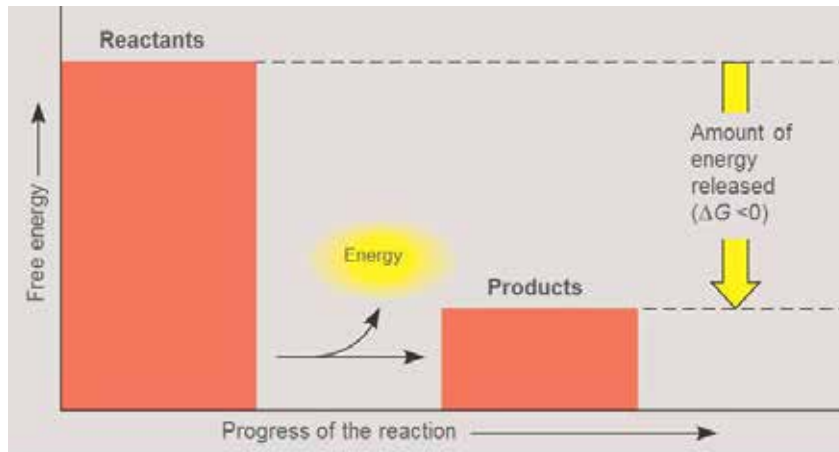
A més a més de les consideracions ja vistes,  
l'estudi de reaccions metabòliques ha de considerar  
dos aspectes clau més:

- Termodinàmica
- Cinètica

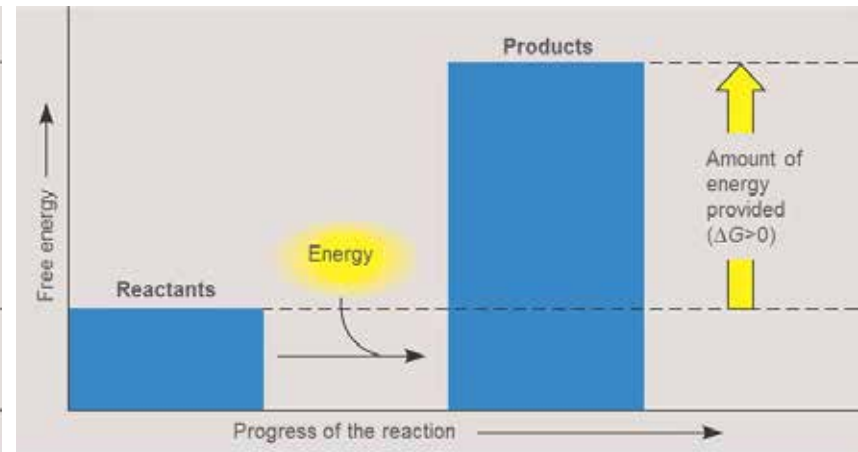


# Revisió de conceptes preliminars

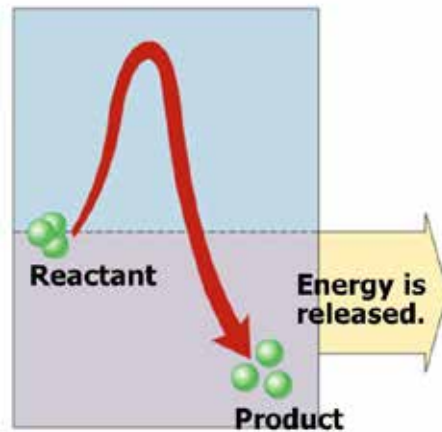
Les reaccions es poden agrupar en dos tipus:



(a) Exergonic reaction: energy released

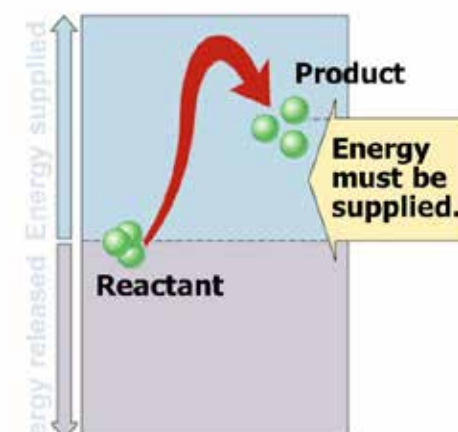


(b) Endergonic reaction: energy required



**Exergonic**

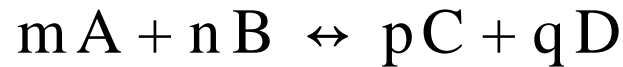
$$\Delta G_R = \Delta H_R - T\Delta S_R$$



**Endergonic**

Només les reaccions que alliberen energia avancen espontàniament cap a la formació de productes

Les reaccions 'avancen' en la direcció de disminuir l'energia lliure ( $\Delta G$  J/mol)



$$\Delta G = \Delta G^{o'} + RT \ln \frac{[C]^p [D]^q}{[A]^m [B]^n}$$

$\Delta G^{o'}$  Energia lliure en condicions estàndard (1 M de reactius i productes, 1 atm, a bioquímica pH: 7, 55.5 M  $H_2O$ , 1mM Mg)

$R$  Constant dels gasos ideals ( $8.314 \text{ J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$ ,  $0.082 \text{ atm} \cdot \text{L} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$ )

$T$  Temperatura (Kelvin)

# A l'equilibri ( $\Delta G=0$ )

$$0 = \Delta G = \Delta G^{o'} + RT \ln \frac{[C]_{eq}^p [D]_{eq}^q}{[A]_{eq}^m [B]_{eq}^n}$$

$$\Delta G^{o'} = - RT \ln \frac{[C]_{eq}^p [D]_{eq}^q}{[A]_{eq}^m [B]_{eq}^n}$$

$$\Delta G^{o'} = - RT \ln (K_{eq})$$

$K_{eq} > 1$  A l'equilibri la reacció està desplaçada cap a productes

$K_{eq} < 1$  A l'equilibri la reacció està desplaçada cap a substrats

La termodinàmica restringeix la direcció de la reacció  
(a pressió constant)



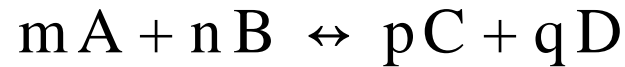
$$\Delta G = \Delta G^{\circ} + RT \ln \frac{[C]^p [D]^q}{[A]^m [B]^n}$$

$\Delta G < 0$  La reacció neta avança en direcció reactius  $\rightarrow$  Productes

$\Delta G = 0$  La reacció es troba a l'equilibri (reacció directa e inversa iguals)

$\Delta G > 0$  La reacció neta avança en direcció productes  $\rightarrow$  reactius

Fora de la situació d'equilibri tindrem:



Relació d'acció de masses  
(mass-action ratio)  
(gamma)

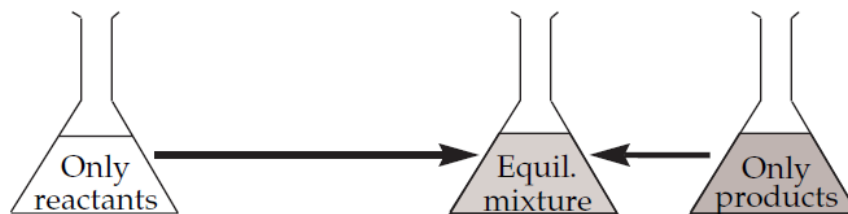
$$G = \frac{[C]^p [D]^q}{[A]^m [B]^n}$$

Lavors es pot escriure:

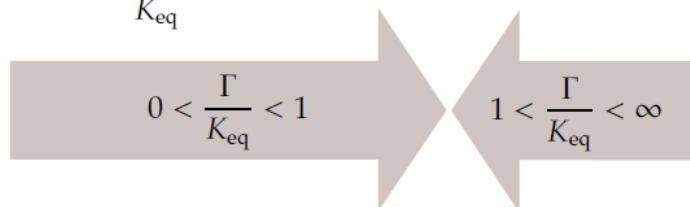
$$DG = - RT \ln (Keq) + RT \ln (G)$$

$$DG = RT \ln \frac{G}{Keq}$$

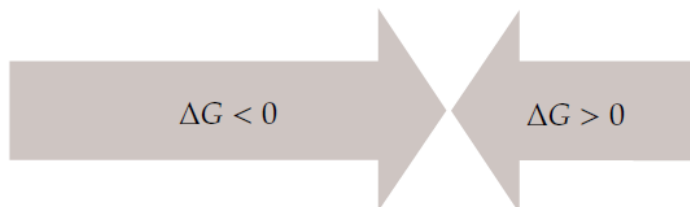
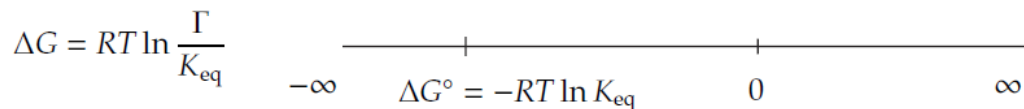
on:  $\frac{G}{Keq}$  es coneix com 'relació de desequilibri' (disequilibrium ratio)



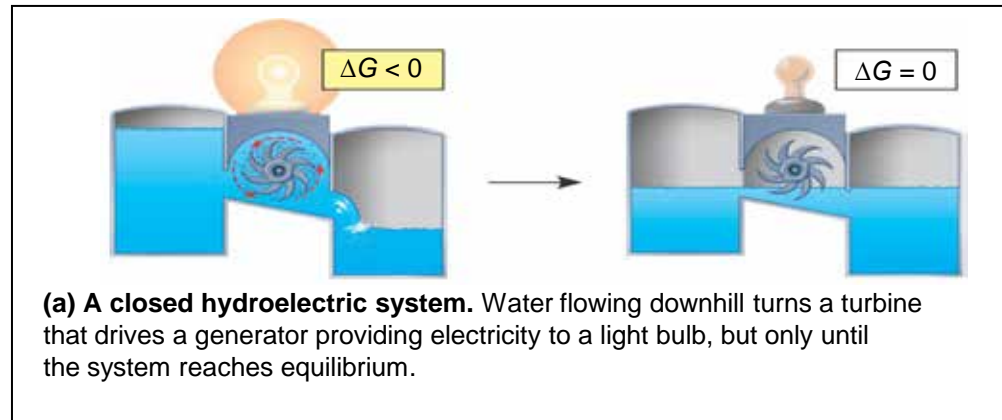
Si el desequilibri és  $<1$  avança endavant



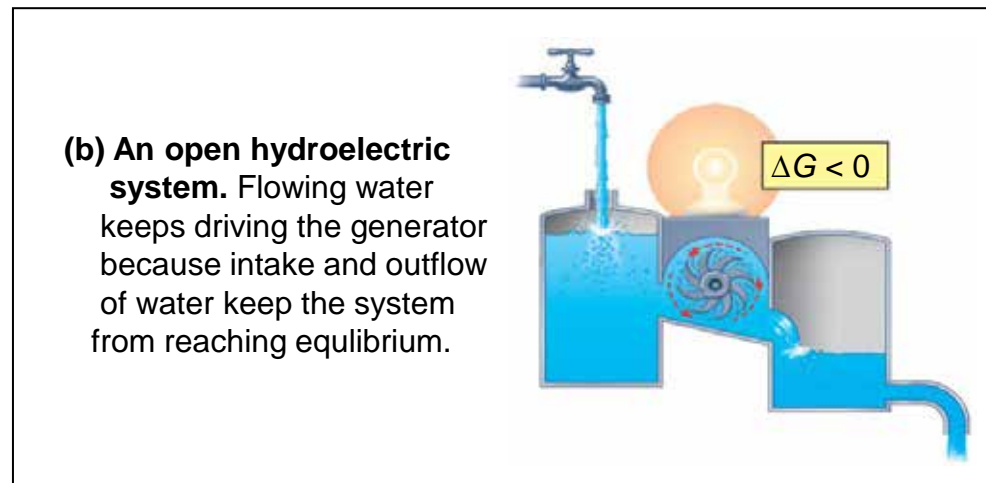
Si el desequilibri és  $>1$  avança endarrere

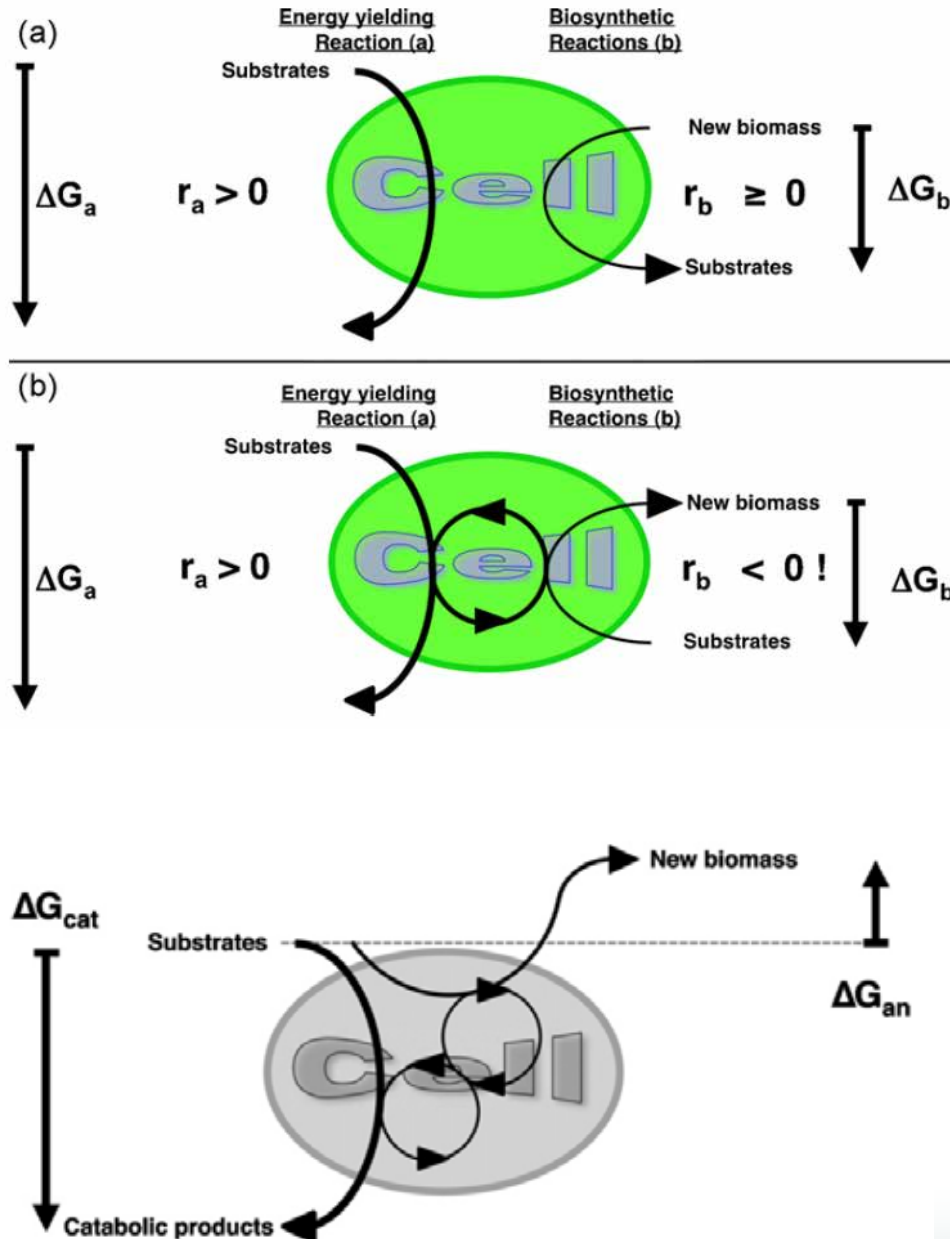


## En un sistema tancat les reaccions arriben a l'equilibri



## En un sistema viu es manté un flux constant que manté el sistema lluny de l'equilibri





Si no es subministres energia els components cel·lulars tendrien a la degradació

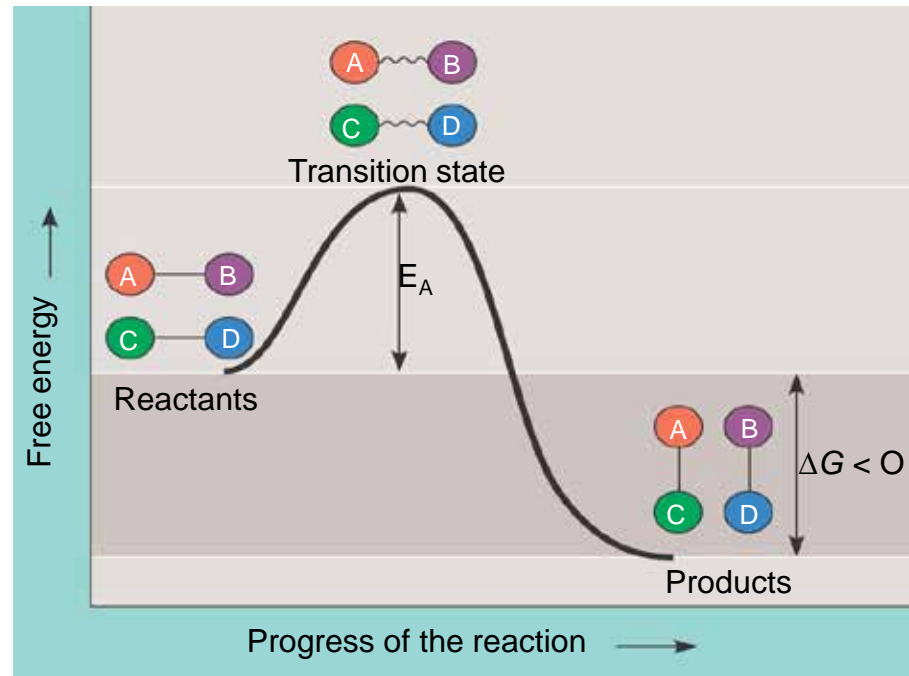
La generació dels components nous de la cèl·lula implica acoblar processos o reaccions que consumeixen energia amb d'altres que la generen perquè el resultat combinat resulti termodinàmicament favorable

(von Stockar *et al.* 2007)

(Liu *et al.* 2007)



Perquè una reacció tingui lloc s'ha de subministrar una energia mínima coneguda com energia d'activació  $E_A$



La velocitat a la que es dona una reacció està directament relacionada amb l'energia d'activació  $E_A$ .

El concepte d'energia d'activació ens porta a parlar de la velocitat de reacció i la cinètica

Per una reacció:  $2A + B \rightleftharpoons 2C$

$$0 = 2C - 2A - B$$

La velocitat de reacció  $v$  serà:

$$v = - \frac{1}{2} \frac{dA}{dt} = - \frac{dB}{dt} = \frac{1}{2} \frac{dC}{dt}$$

També es coneix com: (variació del grau d'avanç)  $= \frac{dx}{dt}$

# Revisió de conceptes preliminars velocitat de reacció i cinètica



Si hi ha més d'una reacció que afecta a un metabòlit :

$r1: X_0 \xrightarrow{v1} 2S_1$  amb velocitat neta  $v_1$

$r2: S_1 \xrightarrow{v2} X_1$  amb velocitat neta  $v_2$

Síntesi de  $S_1$  per:  $r1: \frac{dS_1}{dt} = 2v_1$

i també consum de  $S_1$  per:  $r2: \frac{dS_1}{dt} = -v_2$

$r_1$  i  $r_2$  afecten a  $S_1$  per tant l'efecte es combina:

Balanç a  $S_1$ :  $\frac{dS_1}{dt} = 2v_1 - v_2$

O també:  $\frac{dS_1}{dt} = [2 \quad -1] \begin{pmatrix} v_1 \\ v_2 \end{pmatrix}$

Necessitem una expressió per a la velocitat de reacció

- La velocitat de reacció és proporcional al nombre de molècules amb energia suficient per creuar el llindar de l'energia d'activació.
- La velocitat de reacció és proporcional a la quantitat de A i de B i al nombre de molècules que hagin de col·lisionar per reaccionar

Segons aquesta llei d'acció de masses:

$$v = k \times [A]^p \times [B]^q$$

Per exemple:



$$v = k \times [A]^2 \times [B]^1$$

- On p i q es coneixen com **l'ordre respecte a A** i **l'ordre respecte a B**.
- p i q poden coincidir amb els coeficients estequiomètrics de A o B però no necessàriament.
- **L'ordre de la reacció seria p+q.**

$$v = k \times [A]^p \times [B]^q$$

Prenent logaritmes:  $\ln(v) = \ln(k) + p \cdot \ln([A]) + q \cdot \ln([B])$

Si mantenim constant B obtindríem una recta en una representació gràfica doble logarítmica ( $\ln(v)$  vs  $\ln(A)$ ) amb pendent p

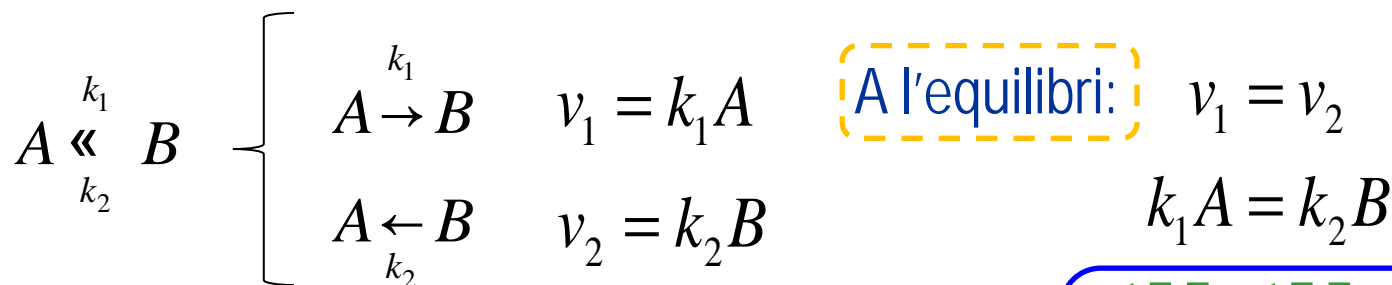
$$\ln(v) = C + p \cdot \ln([A])$$

$$\text{amb: } C = \ln(k) + q \cdot \ln([B])$$

Per tant -> (l'ordre és el pendent de la representació logarítmica)

## Exemple sistema senzill 1:

Reacció reversible. La velocitat de les reaccions directa e inversa proporcionals al seu substrat (primer ordre).



A l'equilibri:

$$v_1 = v_2$$

$$k_1 A = k_2 B$$

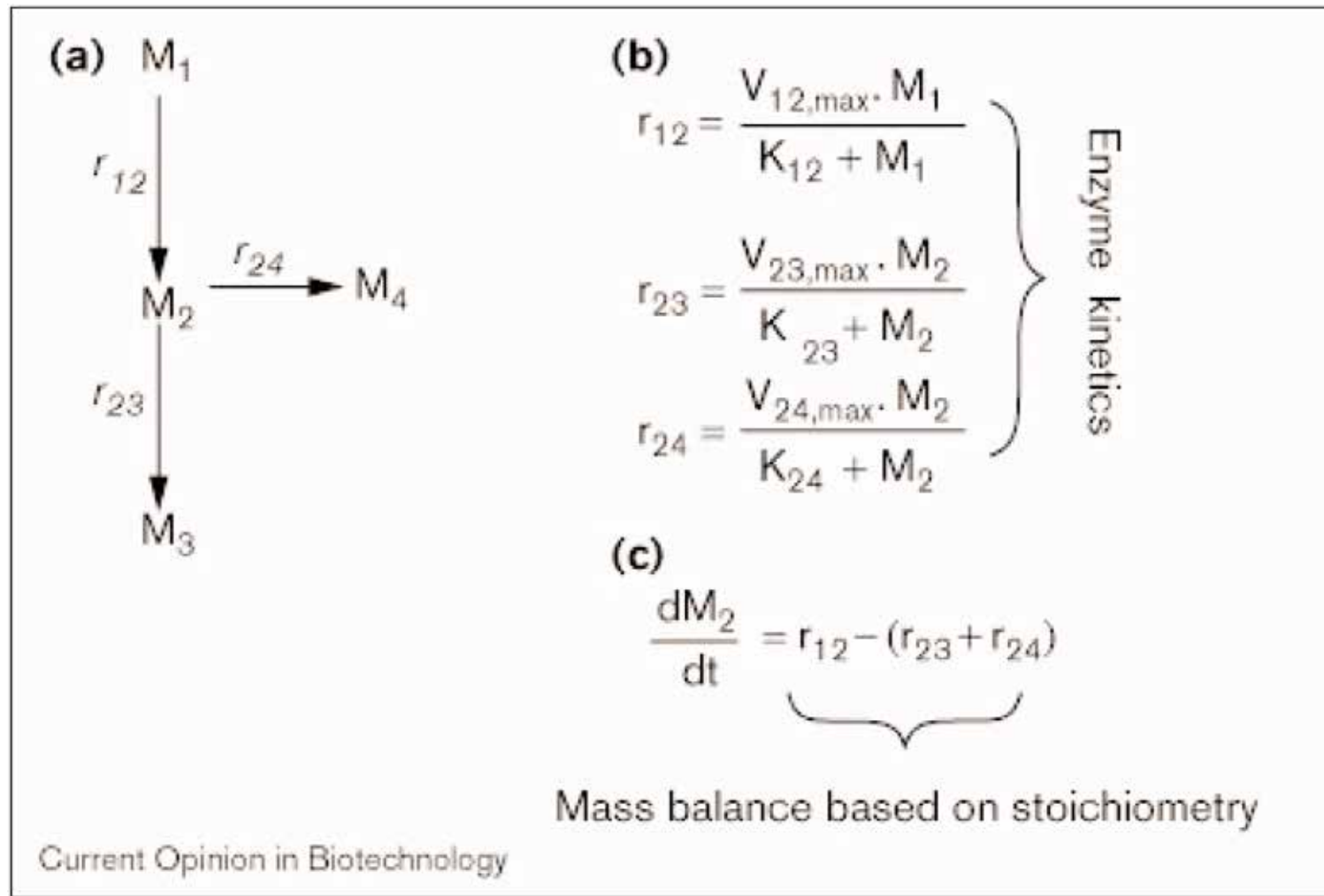
$$\frac{k_1}{k_2} = \frac{B}{A} = K_{eq}$$

A qualsevol altra moment:

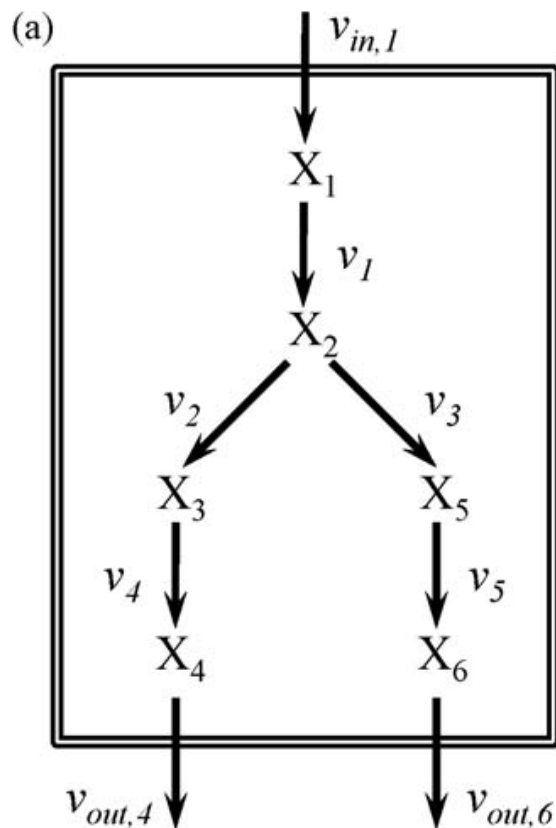
La mateixa equació amb signe canviat:

$$\begin{aligned} \frac{dA}{dt} &= -v_1 + v_2 = -k_1 A + k_2 B = -k_1 A + \frac{k_1}{K_{eq}} B \\ \frac{dB}{dt} &= +v_1 - v_2 = +k_1 A - k_2 B = +k_1 A - \frac{k_1}{K_{eq}} B \end{aligned}$$

## En el cas de reaccions enzimàtiques



# Balanç, estequiometria i xarxes



(b)

$$\begin{aligned} \frac{dX_1}{dt} &= v_{in,1} - v_1 & \frac{dX_4}{dt} &= v_4 - v_{out,4} \\ \frac{dX_2}{dt} &= v_1 - v_2 - v_3 & \frac{dX_5}{dt} &= v_3 - v_5 \\ \frac{dX_3}{dt} &= v_2 - v_4 & \frac{dX_6}{dt} &= v_5 - v_{out,6} \end{aligned}$$

(c)

$$\frac{d}{dt} \begin{bmatrix} X_1 \\ X_2 \\ X_3 \\ X_4 \\ X_5 \\ X_6 \end{bmatrix} = \underbrace{\begin{bmatrix} 1 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & -1 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 & -1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & -1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & -1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & -1 \end{bmatrix}}_S \begin{bmatrix} v_{in,1} \\ v_1 \\ v_2 \\ v_3 \\ v_4 \\ v_5 \\ v_{out,4} \\ v_{out,6} \end{bmatrix} = 0$$

$\underbrace{\begin{bmatrix} v_{out,4} \\ v_{out,6} \end{bmatrix}}_v$



## Exemple sistema senzill 2: sistema de reaccions reversibles

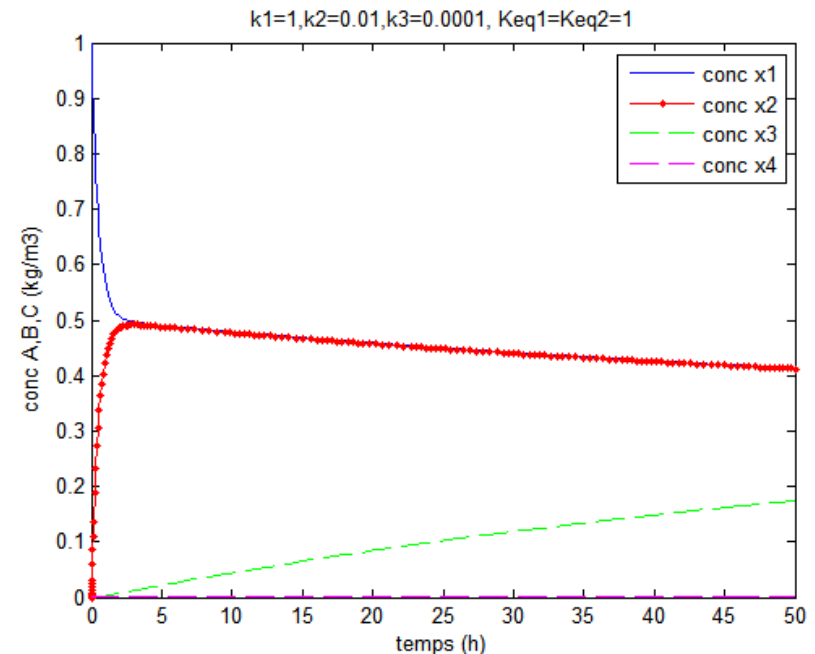


$$\begin{aligned} \frac{dx_1}{dt} &= -x_1 + x_2 \\ \frac{dx_2}{dt} &= x_1 - x_2 + x_3 \\ \frac{dx_3}{dt} &= x_2 - x_3 \\ \frac{dx_4}{dt} &= x_3 \end{aligned}$$

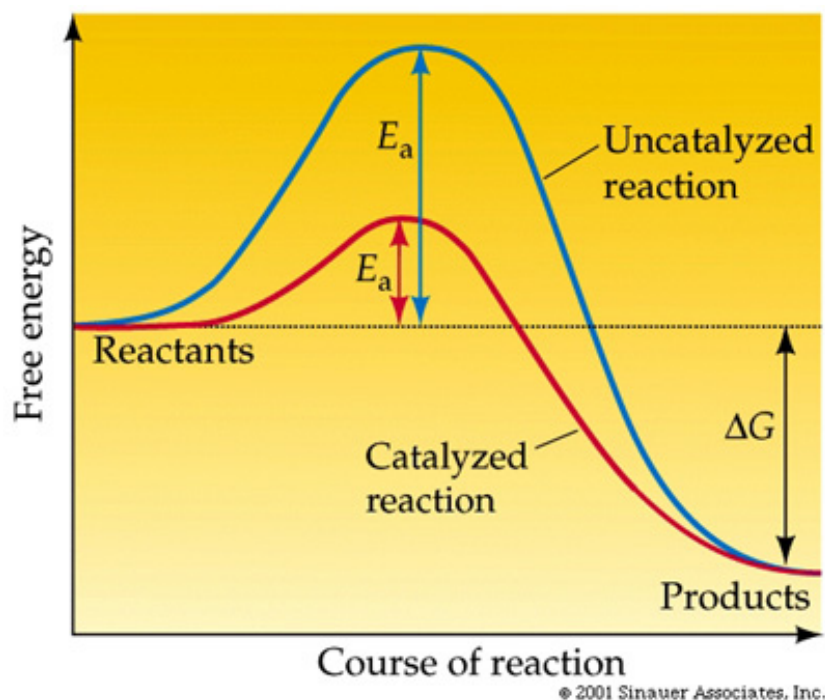
Observació: si sumem totes les files (per columnes) de la matriu dona zero -> indica que  $x_1 + x_2 + x_3 + x_4 = \text{cte}$   
Conseqüència, el valor d'una de les variables sempre depèn del valor de les altres 3. Només cal calcular la dinàmica de 3 variables i l'altra queda fixada.

Velocitats netes:

$$\begin{aligned} v_1 &= k_1 x_1 - \frac{x_2}{K_1} \\ v_2 &= k_2 x_2 - \frac{x_3}{K_2} \\ v_3 &= k_3 x_3 \end{aligned}$$



Una manera d'accelerar la reacció és afegint un catalitzador (enzim)



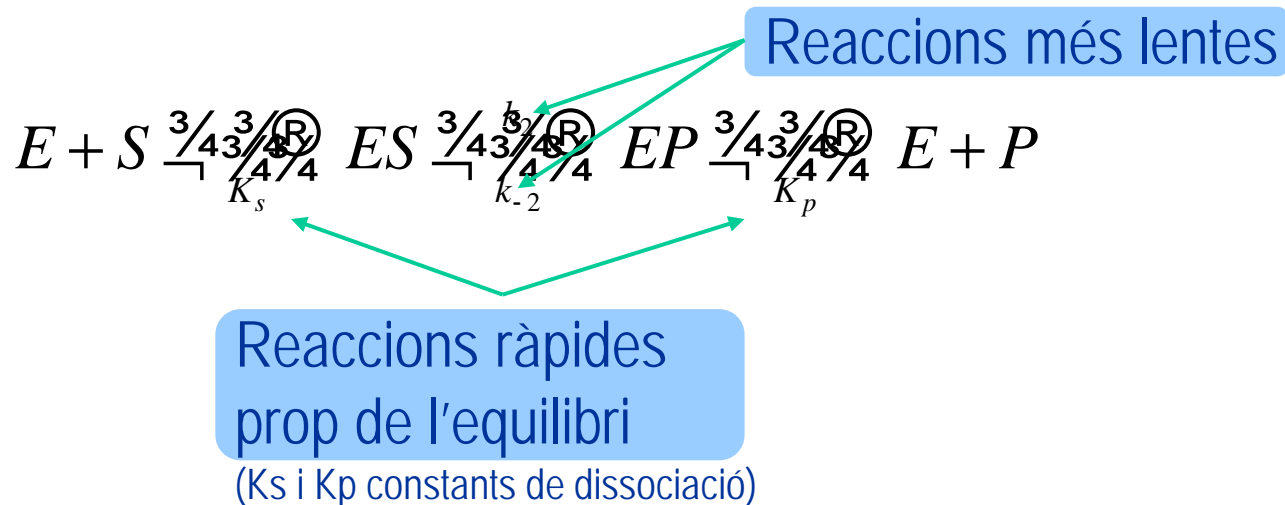
Els enzims disminueixen l'energia d'activació accelerant la reacció

Els enzims no canvien la diferència d'energia entre substrats i productes

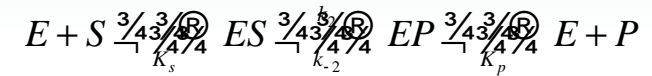
Es pot pensar que a una determinada temperatura hi ha un determinat nombre de molècules amb energia suficient per creuar el llindar  $E_a$ . Si  $E_a$  disminueix, hi haurà més molècules amb l'energia mínima per superar el llindar i passar a productes i per tant la reacció anirà més ràpida.

- Al sistemes biològics amb reaccions catalitzades per enzims, la representació doble logarítmica anterior no dona habitualment una recta.
- Les equacions de les cinètiques enzimàtiques es deriven a partir de considerar una '**mecanisme de reacció**', format per passos elementals cadascun d'ells regit per una cinètica d'acció de masses.

Per exemple (Michaelis-Menten reversible):



## Consideracions:



- Si només hi ha substrat i la quantitat d'enzim és molt menor, els llocs catalítics l'enzim es troben totalment ocupats i la velocitat endavant és màxima:  $V_f = k_2 \times ES = k_2 \times E_0$

Igual si només hi ha producte:  $V_r = k_{-2} \times EP = k_{-2} \times E_0$

- A qualsevol situació intermèdia la velocitat de reacció neta depèn de la quantitat de substrat o producte i de:  $v_2 = k_2 \times ES$

$$v_{-2} = k_{-2} \times EP$$

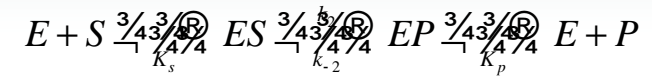
- La quantitat total d'enzim es conserva:  $E_0 = E_{free} + ES + EP$

- E, S, P i ES estan relacionades per les constants de dissociació::

$$K_s = \frac{E_{free} \cdot S}{ES}$$

$$K_p = \frac{E_{free} \cdot P}{EP}$$

## Consideracions:



- P i S són el substrat i producte no unit a l'enzim.
- Però **si s'assumeix poca quantitat d'enzim**, S i P són equivalents a la quantitat total de S i P.
- La velocitat de reacció serà proporcional a la **fracció d'enzim ocupat** que és:

$$v_2 = k_2 \times ES$$

$$\frac{v_2}{V_f} = \frac{k_2 \times ES}{k_2 \times (E_{free} + ES + EP)} = \frac{ES}{E_{free} + ES + EP} = \frac{\frac{E_{free} \cdot S}{K_s}}{E_{free} + \frac{E_{free} \cdot S}{K_s} + \frac{E_{free} \cdot P}{K_p}} = \frac{\frac{S}{K_s}}{1 + \frac{S}{K_s} + \frac{P}{K_p}}$$

Igual per al producte:  $\frac{EP}{E_0} = \frac{\frac{P}{K_p}}{1 + \frac{S}{K_s} + \frac{P}{K_p}}$

Per tant:  $ES = E_0 \frac{\frac{S}{K_s}}{1 + \frac{S}{K_s} + \frac{P}{K_p}}$  i:  $EP = E_0 \frac{\frac{P}{K_p}}{1 + \frac{S}{K_s} + \frac{P}{K_p}}$

- A qualsevol moment la velocitat de reacció neta serà:

$$v = k_2 ES - k_{-2} EP$$

Substituint: 
$$v = k_2 E_0 \frac{\frac{S}{K_s}}{1 + \frac{S}{K_s} + \frac{P}{K_p}} - k_{-2} E_0 \frac{\frac{P}{K_p}}{1 + \frac{S}{K_s} + \frac{P}{K_p}}$$

Agrupant: 
$$v = \frac{k_2 E_0 \frac{S}{K_s} - k_{-2} E_0 \frac{P}{K_p}}{1 + \frac{S}{K_s} + \frac{P}{K_p}}$$

Substituint  $V_f$  i  $V_r$

$$v = \frac{V_f \frac{S}{K_s} - V_r \frac{P}{K_p}}{1 + \frac{S}{K_s} + \frac{P}{K_p}}$$

Equació Michaelis-Menten reversible

En situació d'**equilibri** les velocitats directa e inversa són iguals:

$$V_f \frac{\frac{S_{eq}}{K_s}}{1 + \frac{S_{eq}}{K_s} + \frac{P_{eq}}{K_p}} = V_r \frac{\frac{P_{eq}}{K_p}}{1 + \frac{S_{eq}}{K_s} + \frac{P_{eq}}{K_p}}$$

Simplificant:  $V_f \frac{S_{eq}}{K_s} = V_r \frac{P_{eq}}{K_p}$

D'on:  $\frac{P_{eq}}{S_{eq}} = K_{eq} = \frac{V_f K_p}{V_r K_s}$

Relació de Haldane

Indica una relació entre constants i  
permet re-escriure la cinètica

$$\frac{V_r}{K_p} = \frac{V_f}{K_{eq} K_s}$$

Substituint a l'equació de la pàgina anterior i aplicant S/S:

$$v = \frac{V_f \frac{S}{K_s} - \frac{V_f}{K_{eq} K_s} P \frac{S}{S}}{1 + \frac{S}{K_s} + \frac{P}{K_p}} = \frac{V_f \frac{S}{K_s} - \frac{V_f \cdot S}{K_s} \frac{P}{SK_{eq}}}{1 + \frac{S}{K_s} + \frac{P}{K_p}} = \frac{V_f \frac{S}{K_s} \frac{\frac{S}{S}}{1} - \frac{P}{SK_{eq}} \frac{\frac{S}{S}}{\frac{S}{S}}}{1 + \frac{S}{K_s} + \frac{P}{K_p}} = \frac{V_f \frac{S}{K_s} \frac{\frac{S}{S}}{1} - \frac{P}{SK_{eq}} \frac{\frac{S}{S}}{\frac{S}{S}}}{1 + \frac{S}{K_s} + \frac{P}{K_p}}$$

Es pot observar:

$$V_f = k_2 \times E_0$$

$$v = \frac{V_f \frac{S}{K_s} \left( 1 - \frac{G}{K_{eq}} \right)}{1 + \frac{S}{K_s} + \frac{P}{K_p}} = \underbrace{\frac{V_f}{K_s}}_{\text{Proportional a la}} \times \underbrace{\frac{1}{1 + \frac{S}{K_s} + \frac{P}{K_p}}}_{\text{Cinètica de}} \times \underbrace{\frac{S}{K_s} \left( 1 - \frac{G}{K_{eq}} \right)}_{\text{Proximitat a l'equilibri}}$$

Proportional a la  
quantitat d'enzim

Cinètica de  
saturació

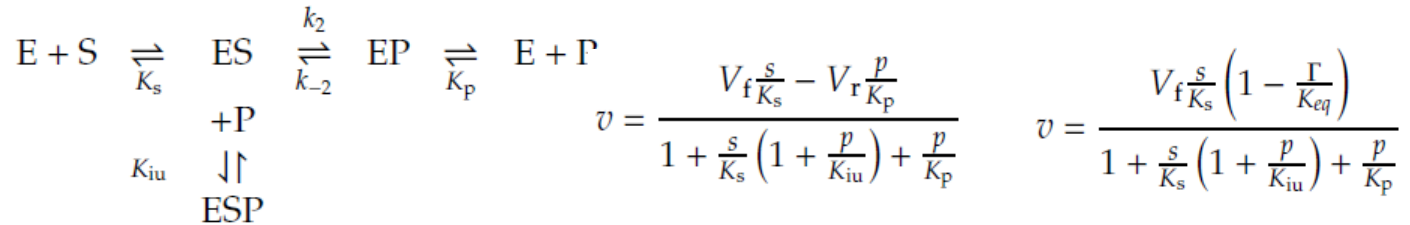
Proximitat a l'equilibri  
Direccionalitat  
termodinàmica

$$v = \frac{V_f \frac{S}{K_s} \left( 1 - \frac{G}{K_{eq}} \right)}{1 + \frac{S}{K_s} + \frac{P}{K_p}} = V_f \times \underbrace{\frac{\frac{S}{K_s}}{1 + \frac{S}{K_s} + \frac{P}{K_p}}}_{\text{Cinètica de}} \times \underbrace{\left( 1 - \frac{G}{K_{eq}} \right)}_{\text{Proximitat a l'equilibri}}$$



Hi ha gran varietat de cinètiques descrites a partir del seu mecanisme  
per exemple:

Inhibició no  
competitiva:



Altres exemples:

Hill, cooperativa:

$$v = \frac{V_f \sigma \left(1 - \frac{\Gamma}{K_{eq}}\right) (\sigma + \pi)^{h-1}}{1 + (\sigma + \pi)^h}
 \quad
 \rho = \frac{p}{p_{0.5}}
 \quad
 s = \frac{s}{s_{0.5}}
 \quad
 h = \text{llocs actius}$$

Hill, cooperativa amb  
1 modificador:

$$v = \frac{V_f \sigma \left(1 - \frac{\Gamma}{K_{eq}}\right) (\sigma + \pi)^{h-1}}{(\sigma + \pi)^h + \frac{1 + \xi^h}{1 + \alpha \xi^h}}
 \quad
 x = \frac{x}{x_{0.5}}
 \quad
 a = \begin{cases} \text{inhibidor si } < 1 \\ \text{activador si } > 1 \end{cases}$$

## Altres exemples similars:

**Tab. 5-3** Types of inhibition for irreversible and reversible Michaelis-Menten kinetics.

Name	Implementation	Equation – irreversible	Equation – reversible case	Characteristics
Competitive inhibition	I binds only to free E; P-release only from ES-complex $k_{\pm 4} = k_{\pm 5} = k_6 = 0$	$v = \frac{V_{max} S}{K_m \cdot i_3 + S}$	$v = \frac{V_{max}^f \frac{S}{K_{mS}} - V_{max}^r \frac{P}{K_{mP}}}{\frac{S}{K_{mS}} + \frac{P}{K_{mP}} + i_3}$	$K_m$ changes, $V_{max}$ remains; S and I compete for the binding place; high S may out compete I
Uncompetitive inhibition	I binds only to the ES-complex; P-release only from ES-complex $k_{\pm 3} = k_{\pm 5} = k_6 = 0$	$v = \frac{V_{max} S}{K_m + S \cdot i_4}$	$v = \frac{V_{max}^f \frac{S}{K_{mS}} - V_{max}^r \frac{P}{K_{mP}}}{1 + \left( \frac{S}{K_{mS}} + \frac{P}{K_{mP}} \right) \cdot i_4}$	$K_m$ and $V_{max}$ change, but their ratio remains; S may not out compete I
Noncompetitive inhibition	I binds to E and ES; P-release only from ES $K_{I,3} = K_{I,4}, k_6 = 0$	$v = \frac{V_{max} S}{(K_m + S) \cdot i_3}$	$v = \frac{V_{max}^f \frac{S}{K_{mS}} - V_{max}^r \frac{P}{K_{mP}}}{\left( 1 + \frac{S}{K_{mS}} + \frac{P}{K_{mP}} \right) \cdot i_4}$	$K_m$ remains, $V_{max}$ changes; S may not out compete I
Mixed inhibition	I binds to E and ES; P-release only from ES $K_{I,3} \neq K_{I,4}, k_6 = 0$	$v = \frac{V_{max} S}{K_m \cdot i_4 + S \cdot i_3}$		$K_m$ and $V_{max}$ change; $K_{I,3} > K_{I,4}$ : competitive-noncompetitive inhibition; $K_{I,3} < K_{I,4}$ : noncompetitive-uncompetitive inhibition
Partial inhibition	I may bind to E and ES; P-release from ES and ESI $K_{I,3} \neq K_{I,4}, k_6 \neq 0$	$v = \frac{V_{max} S \left( 1 + \frac{k_6 \cdot I}{k_2 K_{I,3}} \right)}{K_m \cdot i_4 + S \cdot i_3}$		$K_m$ and $V_{max}$ change; if $k_6 > k_2$ , activation instead of inhibition.

Abbreviations:  $K_{I,3} = \frac{k_{-3}}{k_3}$ ,  $K_{I,4} = \frac{k_{-4}}{k_4}$ ,  $i_3 = 1 + \frac{I}{K_{I,3}}$ ,  $i_4 = 1 + \frac{I}{K_{I,4}}$