

# Modelli di Sistemi Biologici a.a. 2020/21

Paolo Magni

## Esercitazione 5 - Simulazione di reazioni enzimatiche

Si supponga che l'enzima E interagisca con il substrato S per formare inizialmente un complesso C e che successivamente C si separi per formare uno o più prodotti P liberando l'enzima. Siano  $k_{+1}$  e  $k_{-1}$  rispettivamente le costanti di velocità di formazione e dissociazione del composto C a partire da E e S; siano inoltre  $k_{+2}$ ,  $k_{-2}$  rispettivamente le costanti di dissociazione del composto e formazione del prodotto P e di ricombinazione prodotto enzima. Siano  $s_0$ ,  $e_0$ ,  $c_0$  e  $p_0$  le concentrazioni iniziali rispettivamente di S, E, C, P. Generalmente si suppone  $c_0 = 0$  e  $p_0 = 0$ .

Si scriva il modello in termini di equazioni differenziali ordinarie e si simuli l'evoluzione del sistema nel tempo imponendo le condizioni sotto riportate. Si grafichino in particolare gli andamenti nel tempo della concentrazione del substrato, dell'enzima, del composto e del prodotto. Si grafichi anche l'andamento nel tempo della velocità di formazione del prodotto ( $dp/dt$ ).

1. Porre  $k_{+1} = 1 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{sec}^{-1}$ ,  $k_{-1} = 1 \text{ sec}^{-1}$ ,  $k_{+2} = 1 \text{ sec}^{-1}$ ,  $k_{-2} = 1 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{sec}^{-1}$  e  $s_0 = 1 \text{ mM}$ ,  $e_0 = 100 \text{ mM}$ .
  - (a) Che tipo di crescita (lineare, esponenziale, ecc.) del prodotto e decrescita del substrato si osserva?
  - (b) Si raggiunge un valore di regime? In quanto tempo? In che rapporto si trovano le diverse concentrazioni?
  - (c) A regime in che forma si trova l'enzima?
2. Porre  $k_{+1} = 1 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{sec}^{-1}$ ,  $k_{-1} = 1 \text{ sec}^{-1}$ ,  $k_{+2} = 1 \text{ sec}^{-1}$ ,  $k_{-2} = 1 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{sec}^{-1}$  e  $s_0 = 100 \text{ mM}$ ,  $e_0 = 1 \text{ mM}$ .
  - (a) Che tipo di crescita del prodotto e decrescita del substrato si osserva?
  - (b) Si raggiunge un valore di regime? In quanto tempo? In che rapporto si trovano le diverse concentrazioni?
  - (c) A regime in che forma si trova l'enzima?
  - (d) Quali sono le differenze che si evidenziano rispetto la situazione precedente?
3. Spesso è sostanzialmente assente la ricombinazione del prodotto con l'enzima per la formazione del composto. Un esempio è dato dalla idratazione della  $\text{CO}_2$  durante il trasferimento dai tessuti al sangue e da questo all'aria alveolare. La reazione è catalizzata da un enzima (carbonic-anhydrase). In questo caso i parametri assumono i seguenti valori  $k_{+1} = 75e3 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{sec}^{-1}$ ,  $k_{-1} = 75 \text{ sec}^{-1}$ ,  $k_{+2} = 600e3 \text{ sec}^{-1}$ ,  $k_{-2} = 0 \text{ sec}^{-1}$  e  $s_0 = 100$ ,  $e_0 = 1$ .
  - (a) Che tipo di crescita del prodotto e decrescita del substrato si osserva?
  - (b) Si raggiunge un valore di regime? In quanto tempo? In che rapporto si trovano le diverse concentrazioni?
  - (c) A regime in che forma si trova l'enzima?
  - (d) Su che scala temporale posso valutare l'andamento a "regime"? Quante fasi transitorie posso individuare?

- (e) Verificare se  $\tau_0 = (k_{+1}s_0 + k_{-1} + k_{+2})^{-1}$  è effettivamente la costante di tempo del transitorio necessario affinché  $dc/dt$  diventi circa uguale a zero (c costante).
  - (f) Verificare la legge di Michaelis-Menten al variare di  $s_0$  ( $V = dp/dt = V_{max}s_0/(k_m + s_0)$ ), con  $V_{max} = k_{+2}e_0$  e  $k_m = (k_{-1} + k_{+2})/k_{+1}$ .
4. Si consideri la reazione al punto precedente. E si supponga che esista un altro substrato (I) capace di interagire con l'enzima in questione. Supponiamo che i parametri della reazione siano i seguenti  $k_{+1} = 75e2 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{sec}^{-1}$ ,  $k_{-1} = 75 \text{ sec}^{-1}$ ,  $k_{+2} = 600e3 \text{ sec}^{-1}$ ,  $k_{-2} = 0 \text{ sec}^{-1}$ .
- (a) Si simulino i diversi comportamenti che si potrebbero osservare al variare della concentrazione iniziale di I (tra 0 e 1000).
  - (b) Come cambia la velocità iniziale di formazione del prodotto al variare della concentrazione iniziale di I?
  - (c) Come cambiano le considerazioni precedenti al variare del parametro  $k_{+1}$  (analisi di sensitività)?