

TMG Uyarımlı Bir Lak Operon Modeli için Sınırlılık ve Yerel Kararlılık Analizi

Boundedness and Local Stability Analysis for a TMG Induced Lac Operon Model

Neslihan Avcu¹, Güleser Kalaycı Demir¹, Ferhan Pekergin²,

Hakan Alyürük³, Levent Çavaş³, Cüneyt Güzeliş⁴

¹Elektrik-Elektronik Mühendisliği Bölümü
Dokuz Eylül Üniversitesi
neslihan.avcu@deu.edu.tr, guleser.demir@deu.edu.tr

³Kimya Bölümü
Dokuz Eylül Üniversitesi
alyurukhakan@hotmail.com, levent.cavas@deu.edu.tr

²Université Paris 13
Sorbonne Paris Cité, LIPN, CNRS
pekergin@lipn.univ-paris13.fr

⁴Elektrik-Elektronik Mühendisliği Bölümü
İzmir Ekonomi Üniversitesi
cuneyt.guzelis@ieu.edu.tr

Özet

Bildiri, üzerinde en çok çalışılan gen ağı olan lak operonun çift-kararlı davranışının model parametrelerine bağlı olarak incelenmesine ilişkin kuramsal bir çalışmanın sonuçlarını sunmaktadır. Çalışmada, ele alınan basit matematiksel model için durum değişkenlerinin sınırlılığı gösterilmiş, çoklu denge noktalarının dolayısıyla çift kararlı davranışın varlığını sağlayan parametre değerleri belirlenmiş ve denge noktalarının yerel kararlılık analizi yapılmıştır. Durum denklemleri biçiminde verilen model, enzim kinetiğine dayalı olarak Hill ve Michealis-Menten yaklaşımları ile oluşturulan rasyonel sağ yanlı adi diferansiyel denklemlerle tanımlıdır. Çoklu denge noktalarının var olduğu parametre bölgesi diskriminantaya dayalı cebrik bir yolla belirlenmiştir. Sunulan analiz yöntemi, sağ yanlı rasyonel olan durum denklemleriyle verilen diğer gen düzenleyici ve metabolik ağların parametrik olarak incelenmesi için de uygulanabilir.

Abstract

This paper presents the results of a theoretical study on the analysis of bi-stable behavior of the most studied gene regulatory network "lac operon" in terms of the model parameters. In the study, the boundedness of the state variables for the considered model are demonstrated, the parameter values providing the existence of the multiple equilibria thus the bi-stable behavior are determined and the local stability analysis of the equilibria is performed. The model given in the state equation form is defined by the ordinary differential equations with the rational right hand sides constituted within Hill and Michealis-Menten approaches based on enzyme kinetics. The parameter region yielding the existence of multiple equilibria is determined by an algebraic way based on discriminant. The presented method can also be applied to the parametric studies of the

other gene regulatory and metabolic networks given by the state equations with the rational right hand sides.

1. Giriş

Lak operon, koli basilinin (*Escherichia Coli*) glikoz yokluğunda besin olarak laktozu kullanmasını sağlayan enzimlerin sentezlendiği DNA bölgesidir. Lak operon, ikisi laktozun hücre içine taşınıp allo-laktoza dönüştürülerek metabolize edilmesinde görevli üç yapısal gen içermektedir. LacY, LacZ ve LacA sırasıyla laktozun hücre içine taşınmasını sağlayan permeaz, laktozu allo-laktoza dönüştüren β -galaktozidaz ve şeker metabolizmasında görevli transasetilaz enzimini üretmektedir. Baskılayıcı (represör) proteini sentezleyen LacI geni lak operonun açılıp kapanmasını kontrol etmektedir. Ortamda glikoz bulunduğu zaman represör protein lak operonun promotör (başlatıcı) bölgesine tutunarak ilgili gen ürünlerinin sentezlenmesini engeller.

Hücrede bazal metabolizma nedeniyle çok az miktarda permeaz ve β -galaktozidaz bulunmaktadır. Bazal düzeydeki iki enzim, laktozun olduğu ama glikozun bulunmadığı ortamda laktozun hücre içine alınarak allo-laktoza dönüştürülmesini sağlar. Hücre içindeki allo-laktoz, represör protein ile kimyasal tepkimeye girerek proteinin yapısını değiştirir. Bu yapısal farklılık represör proteinin promotör bölgesine tutunmasını engeller. Böylece RNA polimeraz, lak operon bölgesindeki üç genden mRNA transkripsiyonuna başlar. Lak operonun içerdiği pozitif geri besleme sayesinde üretilen gen ürünlerindeki artış, hücre içindeki allo-laktoz düzeyini artırır. Artan allo-laktoz düzeyi, baskılayıcı proteini daha çok engelleyerek enzim sentezlenmesini destekler.

Lak operonun kontrolü iki farklı mekanizmayla gerçekleştirilmektedir. Katabolit baskılama (catabolite repression) olarak isimlendirilen birinci kontrol mekanizması, glikozun cAMP yoluyla mRNA üretimini engellemesine

dayanır. cAMP miktarı hücre içi glikoz miktarıyla ters orantılı olarak değişir. cAMP molekülü, cAMP almaç (reseptör) proteini (CRP) ile CAP kompleksini oluşturur. CAP kompleksi promotor bölgesine tutunarak mRNA üretimini artırır. Glikozun varlığı cAMP miktarını azalttığı için mRNA üretimini de azaltır. Glikozun hücre dışındaki laktozun içeri alınmasını engelleme süreciye uyarıcı dışarlama (inducer exclusion) olarak tanımlanan ikinci kontrol mekanizmasıdır.

Deneyel çalışmalarda, genellikle, allo-laktoz ile kimyasal benzerlik gösteren TMG yapay uyarıcı olarak kullanılmaktadır. Yapay bir bileşik olan TMG, allo-laktozdan farklı olarak glikoza dönüştürülemez ve enerji mekanizmasına girmez. TMG'nin uyarıcı olarak kullanıldığı bu çalışmalar, glikoliz aşaması içermediği için lak operon enzimlerinin işlevlerini incelemede daha uygun koşullar sağlarlar.

Biyolojik sistemlerin matematiksel modellerinin oluşturulması ve mühendislik yöntemleri ile incelenmesi yönündeki çalışmalar 1950'li yıllardan beri hızla artmaktadır [1]. Lak operon ile ilgili ilk teorik ve deneysel çalışmalar Jacob ve Monod tarafından yapılmıştır. Bu çalışmalarda gen düzenlemesi enzim üretiminin kontrolünü biyolojik bir anahtar mekanizması ile açıklamaktadır. Jacob ve Monod'un çalışmaları lak operon üzerinde birçok modelleme ve analiz çalışmasına yol açmıştır [2]-[4]. Lak operonun davranışı bilimsel yazında genellikle enzim kinetiğinden türetilen adi diferansiyel denklemlerle modellenmektedir [3]-[5]. Bunun dışında gecikmeli adi diferansiyel denklem sistemleri ve stokastik modeller de bilimsel yazında yer almaktadır [7].

Deterministik matematiksel modellerde reaksiyon hızları molekül konsantrasyonlarının zamana göre türevi olarak tanımlanmaktadır. Enzim kinetiklerini modellemek için Michealis-Menten ve/veya Hill gibi yaklaşımlar kullanıldığında lak operonu tanımlayan diferansiyel denklemler molekül konsantrasyonlarının doğrusal olmayan ve rasyonel fonksiyonları olarak elde edilmektedir [3]-[5]. Düşük molekül konsantrasyonları için oluşturulan stokastik modellerde reaksiyon hızları, molekül sayıları cinsinden rassal değişkenler olarak veya diferansiyel denklemlere gürlü terimleri eklenerek tanımlanmaktadır [7]. Stokastik modeller, uyarılmış ve uyarılmamış durumlar arasında anlık geçişlerin modellenmesi açısından uygun olmalarına karşın yoğun hesap gerektirdiğinden sıkça kullanılmamaktadır.

Bu bildiride sunulan çalışmanın amacı, lak operon modellerinde çözümlerinin sınırlılığını, çift-kararlılık için gerekli olan çoklu denge noktalarının hangi durumlarda ortaya çıktığını ve denge noktalarının Lyapunov anlamında kararlılığını, basit fakat sistem dinamiklerini açıklamak için yeterli bir model üzerinde incelemektir. İnceleme sonuçları, lak operonun deneysel olarak çok iyi bilinen çift-kararlı dinamiklerinin hangi parametre değerlerinde gerçekleştiğini kuramsal olarak açıklaması açısından bilimsel yazına katkı oluşturmaktadır.

2. Matematiksel Lak Operon Modeli

Bildiride ele alınan model, uyarıcı olarak allo-laktoz ile benzer özellikler gösteren ama yapay bir bileşik olan TMG için geçerlidir. Model, mRNA, permeaz ve hücre içi TMG konsantrasyonlarını durum değişkeni olarak zamanla

değişimlerini açıklayan üç adi diferansiyel denklem ile tanımlıdır. Verilen model: i) hücre dışı glikozun katabolit baskılaya ve uyarıcı dışarlama etkilerini, ii) mRNA'nın TMG etkisi ile transkripsiyonunu, iii) permeaz üretimini, iv) permeaz ile TMG'nin hücre içine taşınmasını ve v) TMG, mRNA ve permeazın bozulmasını içermektedir. Modelde lak operon mekanizması için transkripsiyon ve translasyon işlemlerinde gecikme olmadığı kabul edilmiştir. Yapılan analizlerde de görüleceği üzere, model lak operonun çift-kararlı histerezis davranışını etkin olarak açıklamaktadır.

Model, durum değişkenleri mRNA, permeaz ve hücre içi TMG konsantrasyonlarının tepkime hızlarını birinci derece diferansiyel denklemlerle vermektedir:

$$\frac{dM}{dt} = \alpha_M f_{M,T}(T) f_{M,Ge}(Ge) - \gamma_M M \quad (1)$$

$$\frac{dP}{dt} = \alpha_P M - \gamma_P P \quad (2)$$

$$\frac{dT}{dt} = \alpha_T f_{T,Te}(Te) f_{T,Ge}(Ge) P - \gamma_T T \quad (3)$$

Burada M , P ve T durum değişkenleri, sırasıyla, mRNA, permeaz ve hücre içi TMG konsantrasyonunu belirtmektedir. Model girişleri olan T_e ve G_e sırasıyla hücre dışı TMG ve glikoz konsantrasyonlarıdır. $i \in \{M, P, T\}$ olmak üzere, her bir durum değişkeni için γ_i bozunma sabitini, α_i ise üretim sabitini ifade etmektedir. γ_i , hücre içindeki aktif bozunmayı ve hücre büyümesinden kaynaklanan konsantrasyondaki seyrelmeyi kapsamaktadır. $f_{M,T}(T)$ ve $f_{M,Ge}(Ge)$, sırasıyla, mRNA üretimi üzerine hücre içi TMG'nin pozitif ve hücre dışı glikozun negatif etkilerini göstermektedir. Benzer olarak $f_{T,Te}(Te)$ ve $f_{T,Ge}(Ge)$, TMG'nin hücre içine taşınmasında hücre dışı TMG'nin pozitif ve hücre dışı glikozun negatif etkilerini ifade eder. Burada $f_{M,Ge}(Ge)$ ve $f_{T,Ge}(Ge)$ hücre dışı glikozun azalan fonksiyonları olup sırayla katabolit baskılaya ve uyarıcı dışarlama etkileridir.

Modelde, (1) denklemi mRNA konsantrasyonundaki değişimi; hücre dışı glikozun katabolit baskılaya etkisi altında hücre içi TMG konsantrasyonunun üretilmesi ile toplam bozunma arasındaki fark olarak tanımlanmaktadır. Denklem (2), permeaz konsantrasyonundaki değişimi, sentezlenen permeaz ile permeazdaki bozunmanın farkı olarak gösterir. Benzer biçimde, (3) denklemi hücre içi TMG konsantrasyonundaki değişimi, uyarıcı dışarlama oluştuğu azaltma etkisi altında hücre dışı TMG'nin hücre içine taşınmasından kaynaklanan artış terimi ile toplam bozunma arasındaki fark olarak açıklamaktadır.

Allo-laktoz durumundakine benzer olarak TMG etkisi altında allosterik tepkime ile üretildiği kabul edilen mRNA'ya ait üretim fonksiyonu, $f_{M,T}(T)$, uyarılmış Hill fonksiyonu ile denklem (4)'de verilmektedir [6].

$$f_{M,T}(T) = \frac{1 + K_1 T^n}{K + K_1 T^n} \quad (4)$$

Burada, n baskılayıcı proteini etkisiz hale getirmek için gereken TMG molekülü sayısını, K_1 parametresi TMG ile baskılayıcı protein arasındaki etkileşimin denge sabitini, $1/K$ parametresi koli basılindaki bazal mRNA düzeyini göstermektedir. Baskılayıcı proteinin baskılanabilmesi için en az iki TMG molekülü gerektiği deneysel çalışmalarda gösterildiğinden ve basitlik için $n = 2$ olarak alınmıştır.

Hücre dışı TMG'nin hücre içine taşınması Michealis-Menten kinetiği kullanılarak aşağıdaki gibi modellenmektedir.

$$f_{T,Te}(Te) = \frac{Te}{K_{Te} + Te} \quad (5)$$

Burada, K_{Te} Michealis sabitidir. Hücre dışı glikoz konsantrasyonunun azalan fonksiyonu olarak tanımlanan katabolit baskılama ve uyarıcı dışarlama etkileri aşağıdaki denklemlerdeki gibi alınmıştır.

$$f_{M,Ge}(Ge) = \frac{K_{M,Ge,1} + Ge^m}{K_{M,Ge,2} + K_{M,Ge,3} Ge^m} \quad (6)$$

$$f_{T,Ge}(Ge) = 1 - \beta_{T,Ge} \frac{Ge}{K_{T,Ge} + Ge} \quad (7)$$

Yukarıda, $K_{M,Ge,1}$, $K_{M,Ge,2}$, $K_{M,Ge,3}$ ve m katabolit baskılama parametrelerini, $\beta_{T,Ge}$ ile $K_{T,Ge}$ ise uyarıcı dışarlama parametrelerini belirtmektedir.

3. Çözümlerin Sınırlılığı, Çoklu Denge Noktalarının Varlığı ve Yerel Kararlılık Analizi

Daha önce geliştirilen modeller [2]-[5] lak operonun deneysel çalışmalarda gözlemlenen çift-kararlı davranışını doğrulamaktadır. Bir sistem için çift-kararlı dinamik, olası kararsız bir denge noktasından başlamamak şartıyla başlangıç noktalarına bağlı olarak sistemin tüm yörüngelerinin herhangi birinde sonlandığı iki kararlı denge noktasının varlığı ile tanımlanır. Bölüm 3, (1)-(3) ile verilen modelin sınırlı dinamikleri olduğunu, belirli parametre değerlerinde çoklu denge noktalarının ortaya çıktığını ve denge noktalarının yerel kararlılığı için gerekli koşulları içermektedir.

3.1. Çözümlerin Sınırlılığı

(1)-(3)'deki, kayıp terimleri doğrusaldır. Dolayısıyla, doğrusal olmayan üretim terimleri giriş olarak alındığında, durum değişkenlerinin çözümleri aşağıdaki gibi elde edilebilir:

$$M(t) = e^{-\gamma_M(t-t_0)} M(t_0) + \int_{t_0}^t e^{-\gamma_M(t-\tau)} \alpha_M f_{M,T}(T(\tau)) f_{M,Ge}(Ge) d\tau \quad (8)$$

$$P(t) = e^{-\gamma_P(t-t_0)} P(t_0) + \int_{t_0}^t e^{-\gamma_P(t-\tau)} \alpha_P M(\tau) d\tau \quad (9)$$

$$T(t) = e^{-\gamma_T(t-t_0)} T(t_0) + \int_{t_0}^t e^{-\gamma_T(t-\tau)} \alpha_T f_{T,Te}(Te) f_{T,Ge}(Ge) P(\tau) d\tau \quad (10)$$

(4) ve (6) verilen mRNA üretim fonksiyonu ve glikozun katabolit baskılama etkisi üstten sınırlı fonksiyonlardır.

$$\left| f_{M,T}(T) \right| = \left| \frac{1 + K_1 T^2}{K + K_1 T^2} \right| < 1, K > 1 \text{ için} \quad (11)$$

$$\left| f_{M,Ge}(Ge) \right| = \left| \frac{K_{M,Ge,1} + Ge^m}{K_{M,Ge,2} + K_{M,Ge,3} Ge^m} \right| \leq \frac{K_{M,Ge,1}}{K_{M,Ge,2}} \quad (12)$$

Deneysel çalışmalardan $K > 1$ olduğu bilinmektedir. Bu durumda mRNA konsantrasyonu için bir üst sınır aşağıdaki gibi elde edilebilir:

$$\left| M(t) \right| \leq e^{-\gamma_M(t-t_0)} M(t_0) + \frac{\alpha_M}{\gamma_M} \frac{K_{M,Ge,1}}{K_{M,Ge,2}} \left[1 - e^{-\gamma_M(t-t_0)} \right] \quad (13)$$

Permeaz konsantrasyonu için de aşağıdaki üst sınır bulunur:

$$\left| P(t) \right| \leq e^{-\gamma_P(t-t_0)} P(t_0) + \frac{\alpha_P}{\gamma_P} \left| M(t) \right| \left[1 - e^{-\gamma_P(t-t_0)} \right] \quad (14)$$

$f_{T,Te}(Te)$ ve $f_{T,Ge}(Ge)$ için (15)-(16)'da verilen sınırlarla,

$$\left| f_{T,Te}(Te) \right| = \left| \frac{Te}{K_{Te} + Te} \right| \leq 1 \quad (15)$$

$$\left| f_{T,Ge}(Ge) \right| = \left| 1 - \beta_{T,Ge} \frac{Ge}{K_{T,Ge} + Ge} \right| \leq 1 \quad (16)$$

hücre içi TMG konsantrasyonu için (17)'deki üst sınır türetilir.

$$\left| T(t) \right| = e^{-\gamma_T(t-t_0)} T(t_0) + \frac{\alpha_T}{\gamma_T} \left| P(t) \right| \left[1 - e^{-\gamma_T(t-t_0)} \right] \quad (17)$$

Denklem (13), (14) ve (17)'de $M(t)$, $P(t)$ ve $T(t)$ durum değişkenlerinin sınırlılığını göstermektedir. (18)-(20)'deki üst sınırların limit değerlerinden görüldüğü gibi (1)-(3) ile tanımlanan model gerçekten "Sonunda Düzgün Sınırlıdır" [8].

$$\lim_{t \rightarrow \infty} \left| M(t) \right| \leq \frac{\alpha_M K_{M,Ge,1}}{\gamma_M K_{M,Ge,2}} \quad (18)$$

$$\lim_{t \rightarrow \infty} \left| P(t) \right| \leq \frac{\alpha_P \alpha_M K_{M,Ge,1}}{\gamma_P \gamma_M K_{M,Ge,2}} \quad (19)$$

$$\lim_{t \rightarrow \infty} \left| T(t) \right| \leq \frac{\alpha_T \alpha_P \alpha_M K_{M,Ge,1}}{\gamma_T \gamma_P \gamma_M K_{M,Ge,2}} \quad (20)$$

(12), (15)-(16)'da verilen fonksiyonlar lak operon girişlerinin (hücre dışı glikoz ve TMG) sürekli fonksiyonları olduğu için çözümlere üst sınır oluştururlar. Bu nedenle, (1)-(3) ile verilen model "Sınırlı Giriş Sınırlı Durum" kararlıdır [8].

3.2. Çoklu Köklerin Varlığı ve Diskriminant Analizi

Bu bölümde modelin parametrelerine bağlı olarak denge noktalarının sayısı incelenmiştir. Durum değişkenleri M , P ve T 'yi sabit kabul edip M ve P konsantrasyonlarına ait denklemleri eleterek T için denge denklemi aşağıdaki şekilde elde edilir.

$$p f_{M,T}(T) - T = p \frac{1 + K_1 T^2}{K + K_1 T^2} - T = 0 \quad (21)$$

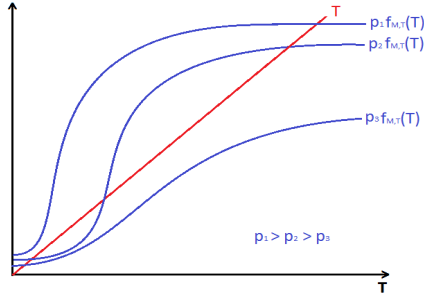
Burada, p model parametrelerine bağlı olarak denklem (22)'deki gibi tanımlanır.

$$p \triangleq \frac{\alpha_T}{\gamma_T} \frac{\alpha_P}{\gamma_P} \frac{\alpha_M}{\gamma_M} f_{T,Te}(Te) f_{T,Ge}(Ge) f_{M,Ge}(Ge) \quad (22)$$

Şekil 1'de görüldüğü gibi mRNA üretim fonksiyonu, K_1 parametresinden bağımsız olarak $1/K$ değerinden başlar ve asimptotik olarak $1/e$ gider. $1/K > 0$ ve $f_{M,T}(T)$ fonksiyonunun sürekli ve doymalı olma özelliği $pf_{M,T}(T)$ 'nin (21)'de ikinci terimle verilen 1 eğimli T doğrusunu keseceğini gösterir. Bu bulgu, en az bir denge noktasının varlığını kanıtlar. Ayrıca, $K > 1$ her zaman sağlandığından (23)'de verilen türev pozitif olur, dolayısıyla $f_{M,T}(T)$ 'nin monoton artan bir fonksiyon olduğu görülür.

$$\frac{d}{dT} f_{M,T}(T) = \frac{d}{dT} \left\{ \frac{1 + K_1 T^2}{K + K_1 T^2} \right\} = \frac{2K_1 T(K-1)}{(K + K_1 T^2)^2} \quad (23)$$

Fakat $pf_{M,T}(T)$ 'nin türevi monoton bir fonksiyon değildir, çok küçük ve çok büyük T değerleri için birden küçük olurken ara değerler için birden büyüktür. p parametresinin değerine bağlı olarak denklem (21)'in birinci ve ikinci terimleri Şekil 1'den görüldüğü üzere modelin denge noktalarına karşılık gelen üç farklı noktada kesişmektedir.



Şekil 1: Çoklu denge noktalarının geometrik incelemesi

Yukarıdaki grafik inceleme, çift-kararlı çalışma biçiminin gözlemlenmesi için ikisi kararlı üç denge noktasının gerekliliğini gösterir. Çoklu denge noktasının varlığını sağlayan parametre değerlerinin aralığını belirlemek için aşağıdaki cebirsel analiz kullanılabilir. Polinomsal denklemlerin köklerinin parametrik olarak belirlenmesi için geliştirilen yöntemlerin kullanılmasına izin vermek için denge denklemi (21) aşağıdaki polinomsal formda düzenlenebilir.

$$K_1 T^3 - pK_1 T^2 + KT - p = 0 \quad (24)$$

Parametre değerlerinden bağımsız olarak en az bir denge noktasının varlığını gösteren (24)'ün, her zaman bir gerçel kökü vardır. Diğer iki kök bir karmaşık eşlenik çift veya iki gerçel kök olarak ortaya çıkabilir. Üç gerçel kök varken üç farklı durum olabilir: Üç katlı bir kök, biri iki katlı iki farklı kök ve birbirinden farklı üç kök. Çift-kararlı davranış, (24)'teki polinomsal ifadenin üç farklı gerçel kökü olduğu zaman gerçekleşir. Üç gerçel kökün varlığını sağlayan parametre değer aralığını belirlemek için karmaşık köklerin gerçel köklere dönüştüğü parametre değerleri belirlenebilir. Parametre uzayındaki bu dönme noktaları katlı kök koşullarından aşağıda verilen biçimde bulunabilir.

Bilimsel yazında yer alan farklı lak operon modellerine [3], [5] uygulandığı gibi, (24)'deki polinomsal denklemin üç katlı

bir kökünün olması için denklemin, birinci ve ikinci türevinin aynı noktada (kökte) sifira eşit olması gerekir.

$$K_1 T^3 - pK_1 T^2 + KT - p = 0 \quad (25)$$

$$3K_1 T^2 - 2pK_1 T + K = 0 \quad (26)$$

$$6K_1 T - 2pK_1 = 0 \quad (27)$$

(25)-(27), $K = 9$ ve $K_1 = 27/p^2$ değerleri için $T = p/3$ 'te üç katlı çakışık bir kök olduğunu gösterir. Çeşitli lak operon modellerine [3]-[5], çift-kararlı çalışma biçimi için $K > 9$ koşulu elde edilmiştir. (25)-(27)'den anlaşıldığı gibi $K = 9$ değeri, sadece K_1 ve p parametrelerinin $K_1 = 27/p^2$ koşulunu sağladığı durumlarda, çift-kararlı bölgenin K parametresi için alt sınırının 9 olduğunu belirtir. Bu çalışmada yapılan diskriminant analiziyle de görüleceği gibi, $K_1 = 27/p^2$ koşulu sağlanmadığında $K > 9$ 'dan farklı çift-kararlılık aralıkları bulunmaktadır. Bu durumlarda çift-kararlılık bölgesinin sınırları, biri çift katlı olmak üzere iki gerçel kök olduğu kabul edilerek belirlenebilir. Bunun için polinomsal denklem (24)'ün diskriminantı aşağıdaki şekilde hesaplanır:

$$\Delta = -4K_1^3 p^4 + (18K_1^2 K - 27K_1^2 + K_1^2 K) p^2 - 4K_1 K^3 \quad (28)$$

Bir polinomun diskriminantı, kökler arasındaki uzaklıkların karelerinin çarpımı olduğundan Δ çift ya da üç katlı bir kök varken sıfır olur. Diskriminant pozitif olduğunda (24)'teki denge denkleminin üç farklı gerçel kökü vardır. Bir parametre üzerindeki koşulları elde etmek için diğer iki parametre sabit alınıp, $\Delta = 0$ denklemi bu parametre için çözülebilir. p aralığını belirlemek için $\Delta = 0$ denklemini sağlayan p değerleri aşağıdaki gibi hesaplanabilir:

$$p_{1,2} = \sqrt{\frac{a \pm \sqrt{b}}{8K_1}} \quad (29)$$

$$p_{3,4} = -\sqrt{\frac{a \pm \sqrt{b}}{8K_1}} \quad (30)$$

Yukarıdaki denklemlerde

$$a \triangleq K^2 + 18K - 27 \quad (31)$$

$$b \triangleq K^4 - 28K^3 + 270K^2 - 972K + 729 \quad (32)$$

olarak tanımlıdır. $\Delta > 0$ olduğu p aralığını belirlemek için öncelikle $\Delta = 0$ yapan gerçel p kökleri bulunabilir. (33)'deki eşitsizlik sağlanmadığı durumlarda, $\Delta = 0$ için dört karmaşık kök elde edilir. Bu durumda, biyolojik parametre K_1 'in pozitifliğinden dolayı, en büyük dereceli terimi $-4K_1^3$ olan Δ 'yı pozitif yapacak hiçbir p değeri yoktur.

$$K^4 - 28K^3 + 270K^2 - 972K + 729 = (K-1)(K-9)^3 \geq 0 \quad (33)$$

Böylece, $1 < K < 9$ aralığındaki K değerlerinin çift-kararlılığı vermediği görülmektedir. Diğer yandan, (31)-(32)'den elde

edilen (34) bağıntısı a 'nın \sqrt{b} 'den genlikçe daha büyük olduğunu gösterir.

$$(K^2 + 18K - 27)^2 - (K^4 - 28K^3 + 270K^2 - 972K + 729) = 64K^3 \quad (34)$$

(29) ve (30)'da verilen köklerin karmaşık olmaması ve $\Delta > 0$ olabilmesi için $a > 0$ bir gerek koşuldur. $0 < K < 1$ aralığındaki K değerleri için $a < 0$ olduğu ve (29)-(30)'daki tüm köklerin sadece $K > 9$ koşulunda gerçel olduğu gözlemlenebilir. Gerçel p_1, p_2, p_3 ve p_4 durumunda, $[p_1, p_2]$ ve $[p_3, p_4]$ aralıklarındaki p değerleri için $\Delta > 0$ 'dır. Modelde p parametresi pozitif (biyolojik) sabitlerin çarpımı olduğundan negatif p değerleri içeren $[p_3, p_4]$ aralığı geçerli bir parametre aralığı değildir. Böylece, p, K ve K_1 parametre uzayındaki çift-kararlılık bölgesi (35)'deki gibi belirlenebilir.

$$K > 9, \quad p_1 < p < p_2 \quad \text{ve} \quad K_1 > 0 \quad (35)$$

3.3. Yerel Kararlılık Analizi

Denklem (1)-(3)'te verilen modelin yerel kararlılık analizi Jakobyen matrisinin öz değerlerinin konumu belirlenerek yapılabilir [8]. İşlemleri kolaylaştırmak için (1)-(3)'teki durum denklemleri aşağıdaki biçime dönüştürülebilir:

$$\frac{1}{\gamma_M} \frac{dM}{dt} = \frac{\alpha_M}{\gamma_M} f_{M,T}(T) f_{M,Ge}(Ge) - M \quad (36)$$

$$\frac{1}{\gamma_P} \frac{dP}{dt} = \frac{\alpha_P}{\gamma_P} M - P \quad (37)$$

$$\frac{1}{\gamma_T} \frac{dT}{dt} = \frac{\alpha_T}{\gamma_T} f_{T,Te}(Te) f_{T,Ge}(Ge) P - T \quad (38)$$

Bu dönüşümle, Jakobyen matrisin öz değerleri aynı kompleks yarı düzlemde kalırlar. (39)'dan görülebileceği üzere (36)-(38) durum denklemlerinin Jakobyen matrisine ilişkin öz değerler (1)-(3) durum denklemlerinin Jakobyen matrisine ilişkin öz değerlerin, $\gamma_i > 0$ olacak biçimde $\lambda = \hat{\lambda} / \gamma_i$ ile çarpımıdır.

$$\det(\hat{\lambda} I - \hat{J}) = \det(\hat{\lambda} I - \text{diag}(\gamma_M, \gamma_P, \gamma_T) J) \quad (39)$$

$$= \gamma_M \gamma_P \gamma_T \det(\lambda I - J) = 0$$

(39)'daki \hat{J} ve J , sırasıyla, asıl ve dönüştürülmüş modellerin Jakobyen matrislerini gösterir. Dönüştürülmüş matrisin öz değerleri, karakteristik denklem (40)'ın köklerine eşittir.

$$\det(\lambda I - J) = \begin{vmatrix} \lambda + 1 & 0 & -\frac{\alpha_P}{\gamma_P} f_{M,Ge}(Ge) \frac{d}{dT} f_{M,T}(T) \\ -\frac{\alpha_P}{\gamma_P} & \lambda + 1 & 0 \\ 0 & \frac{-\alpha_T}{\gamma_T} f_{T,Te}(Te) f_{T,Ge}(Ge) & \lambda + 1 \end{vmatrix}$$

$$= \lambda^3 + 3\lambda^2 + 3\lambda + 1 - p \frac{d}{dT} f_{M,T}(T) = 0 \quad (40)$$

Karakteristik denklem (40)'ın sağ yarı düzlemde kökü olup olmadığını belirleme amacıyla Routh-Hurwitz testi uygulayabilmek için Çizelge 1'deki Routh dizisi oluşturulabilir. Dizinin ilk sütununun aşağıda verilen son üyesinin negatif olması Jakobyenin tanımlı olduğu denge noktasının kararlı olması anlamına gelir.

$$1 - p \frac{d}{dT} f_{M,T}(T) = 1 - p \frac{2K_1 T (K-1)}{(K + K_1 T^2)^2} \quad (41)$$

Şekil 1'de görüleceği üzere, çok büyük ve çok küçük T değerlerinde gerçekleşen denge noktalarında, (41)'de yer alan terim, $f_{M,T}(T)$ 'nin küçük olması dolayısıyla negatif, ara bir konstrasyon değerinde gerçekleşen denge noktasında ise $f_{M,T}(T)$ 'nin büyük olması dolayısıyla pozitif olmaktadır. Dolayısıyla, bir kararsız iki kararlı denge noktasının var olduğu bir çift-kararlı dinamik davranış olduğu görülmektedir.

Çizelge 1: Dönüştürülmüş modelin karakteristik denklemi için Routh dizisi

$$\begin{array}{c} \lambda^3 \\ \lambda^2 \\ \lambda^1 \\ \lambda^0 \end{array} \begin{vmatrix} 1 & 3 \\ 3 & 1 - p \frac{d}{dT} f_{M,T}(T) \\ \frac{1}{3} \left(8 + p \frac{d}{dT} f_{M,T}(T) \right) & \\ 1 - p \frac{d}{dT} f_{M,T}(T) & \end{vmatrix}$$

4. Sonuçlar

Basit bir lak operon modeli üzerinde, lak operon gen ağında deneysel olarak gözlemlenen çift-kararlı davranış kuramsal olarak incelenmiştir. Matematiksel modelin temel durum değişkenleri olan mRNA, permeaz ve hücre içi TMG konsantrasyonlarının sınırlı olduğu, çoklu denge noktalarının parametrelere bağlı olarak ortaya çıkışı ve denge noktalarının yerel olarak kararlılıkları incelenerek, modelin biyolojik lak operon gen ağının çalışmasını iyi bir biçimde modellediği gösterilmiştir. Çift-kararlı çalışma biçiminin model parametrelerine bağlı olarak ortaya çıkışını açıklayan sonuçlar, lak operon gen ağının deneysel olarak gözlemlenen davranışları ve bilimsel yazında yer alan çalışmalarda elde edilen verilerle uyumludur ve söz konusu biyolojik ağın davranışlarının anlaşılmasına katkı oluşturmaktadır.

5. Kaynaklar

- [1] Novick, A. ve Wiener M., "Enzyme induction as an all-or-none Phenomenon", *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 43, 553-566, 1957.
- [2] Wong P., Gladney S. ve Keasling J. D., "Mathematical model of the lac operon: inducer exclusion, catabolite repression, and diauxic growth on glucose and lactose", *Biotechnol. Prog.*, 13, 132-143, 1997.
- [3] Özbudak M., Thattai M., Lim H. N., Shraiman B. I. ve Van Oudenaarden A., "Multistability in the lactose utilization network of Escherichia coli", *Nature*, 427, 737-740, 2004.
- [4] Yıldırım N., Santillan M, Horike D. ve Mackey MC. "Dynamics and bistability in a reduced model of the lac operon", *Chaos*, 4(2), 279-92, 2004.
- [5] Van Hoek M.J. ve Hogeweg P., "In silico evolved lac operons exhibit bistability for artificial inducers, but not for lactose", *Biophys. J.*, 91, 2833-2843, 2006.
- [6] Yagil, G. ve Yagil. E. "On the relation between effector concentration and the rate of induced enzyme synthesis" *Biophys. J.* 11, 11-27, 1971.
- [7] Julius A., Halasz A., Sakar S., Harvey R., ve Pappas G.J., "Stochastic Modeling and Control of Biological Systems: The Lactose Regulation System of E.coli", *IEEE Trans Auto. Cont.* 51-65, 2008.
- [8] Vidyasagar, M., *Nonlinear System Analysis*, Prentice Hall, New Jersey, 1972.