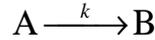


Lösungshinweise zum Block „Modellierung und Simulation biochemischer Prozesse“

juergen.zobeley@eml.villa-bosch.de

Aufgabe 1: Modellierung / Simulation einer radioaktiven Zerfallsreihe

Zunächst soll ganz allgemein der Zerfall einer Substanz A in ein stabiles Endprodukt B betrachtet werden.



Die Zerfallsgeschwindigkeit v der Substanz A ergibt sich in dieser Reaktion 1.Ordnung gemäß folgender Differentialgleichung (DGL):

$$v = \frac{d[A]}{dt} = -k \cdot [A]$$

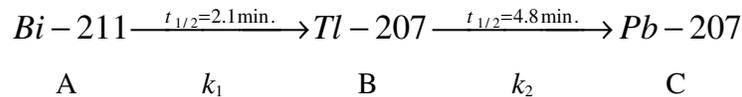
Hierbei ist $[A]$ die Konzentration der Substanz A; k ist die sog. Zerfallskonstante. Die zeitliche Entwicklung der Konzentration $[A](t)$ ausgehend von einer vorgegebenen Anfangskonzentration $[A]_0$ ($t=0$) erhält man durch Integration der DGL 1. Ordnung:

$$[A](t) = [A](t=0) \cdot e^{-k \cdot t} = [A]_0 \cdot e^{-k \cdot t}$$

Die Konzentration der Substanz A nimmt also exponentiell ab; die Stärke der Abnahme wird durch die Größe der Zerfallskonstanten k festgelegt. Als charakteristische Größe für die Geschwindigkeit eines Zerfallsprozesses wird oft die sog. Halbwertszeit $t_{1/2}$ angegeben; d.h. die Zeit, zu der die Hälfte der Ausgangssubstanz zerfallen ist. Der Zusammenhang zwischen Zerfallskonstante und Halbwertszeit ergibt sich gemäß

$$t_{1/2} : \frac{[A]_0}{2} = [A]_0 \cdot e^{-k \cdot t_{1/2}} \Rightarrow t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k}$$

Wir betrachten nun im folgenden die Modellierung der letzten zwei Zerfallsschritte der U-235 Zerfallsreihe:



Aus den angegebenen Halbwertszeiten ergeben sich folgende Zerfallskonstanten:

$$k_1 = 5.5 \cdot 10^{-3} [1/s]; \quad k_2 = 2.4 \cdot 10^{-3} [1/s]$$

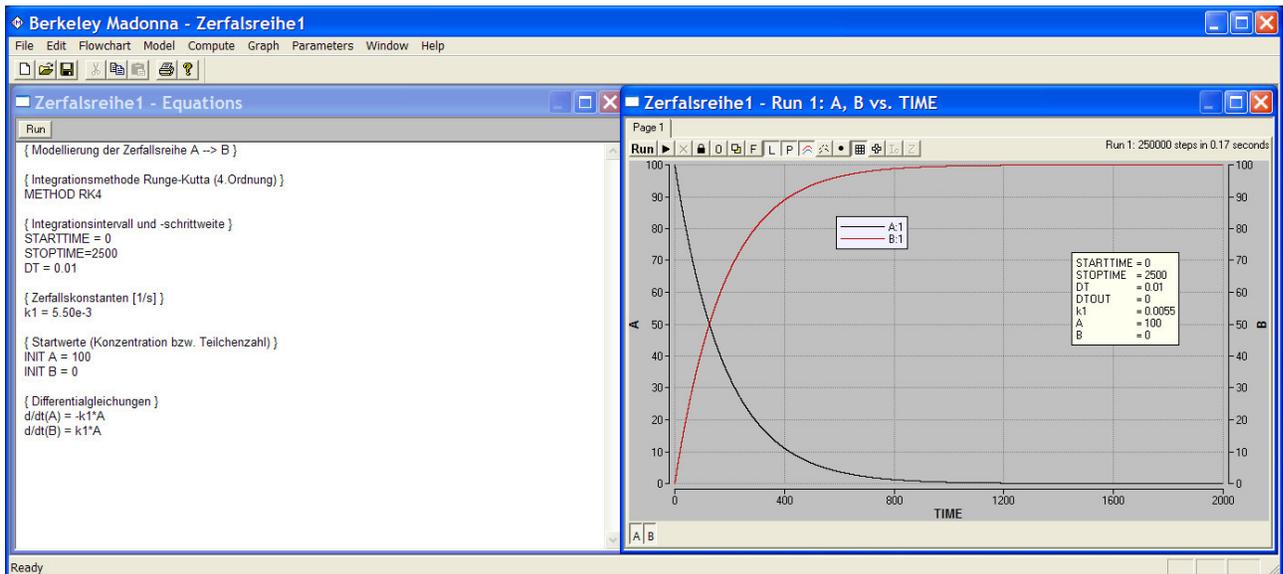
Im Rahmen eines deterministischen, kontinuierlichen Modellansatzes werden die beiden Zerfallsreaktionen durch ein DGL-System beschrieben:

$\frac{d[A]}{dt} = -k_1 \cdot [A]$	$-k_2 \cdot [B]$	$k_2 \cdot [B]$	<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> ← DGL-System 1. Zerfallsschritt ← DGL-System 1.+2. Zerfallsschritt </div>
$\frac{d[B]}{dt} = k_1 \cdot [A]$			
$\frac{d[C]}{dt} =$			

In diesem einfachen Modell wird die Produktion von A durch die vorgelagerte Zerfallsreaktion nicht berücksichtigt. Das Endprodukt C ist stabil und zerfällt somit nicht weiter.

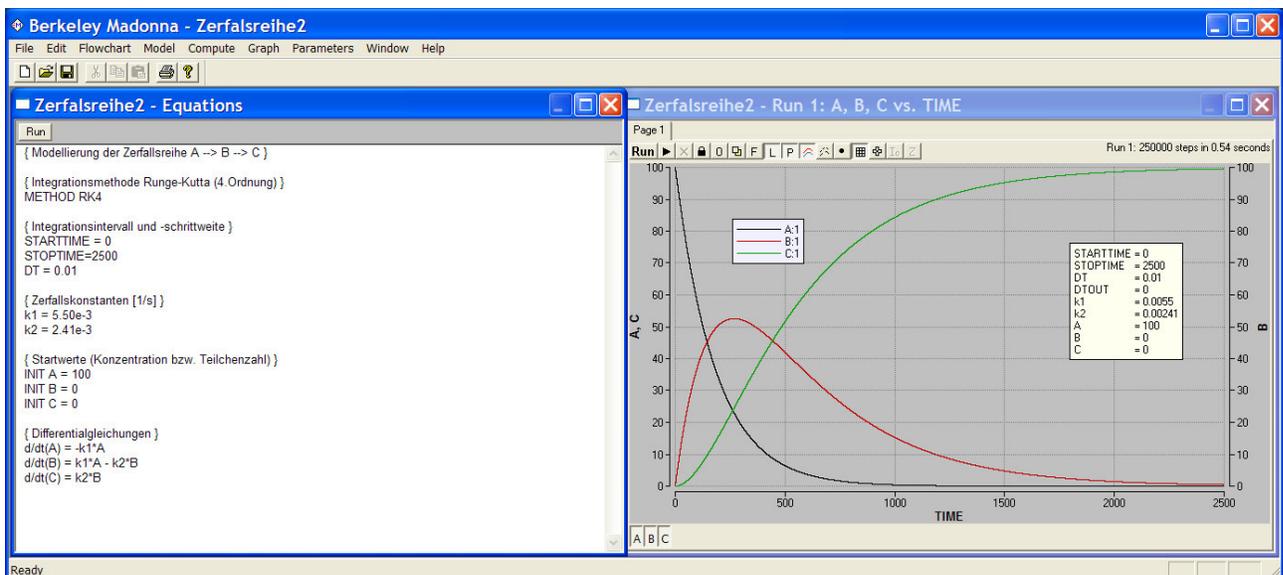
Wir betrachten zunächst den 1. Zerfallsschritt als isolierte Zerfallsreaktion. Zur numerischen Integration des DGL-Systems, sowie zur graphischen Darstellung der Resultate, verwenden wir das Programm *Madonna*.

Der Input des Programms besteht aus der Spezifikation der Integrationsmethode (hier Runge-Kutta 4. Ordnung [RK4]), des Integrationsintervalls und -schrittweite, der Zerfallskonstanten, der Startkonzentrationen, und schließlich des DGL-Systems. Einzelheiten zur Bedienung von *Madonna* können dem Programm-Manual (*madonnamanual.pdf*) bzw. der Hilfefunktion entnommen werden.



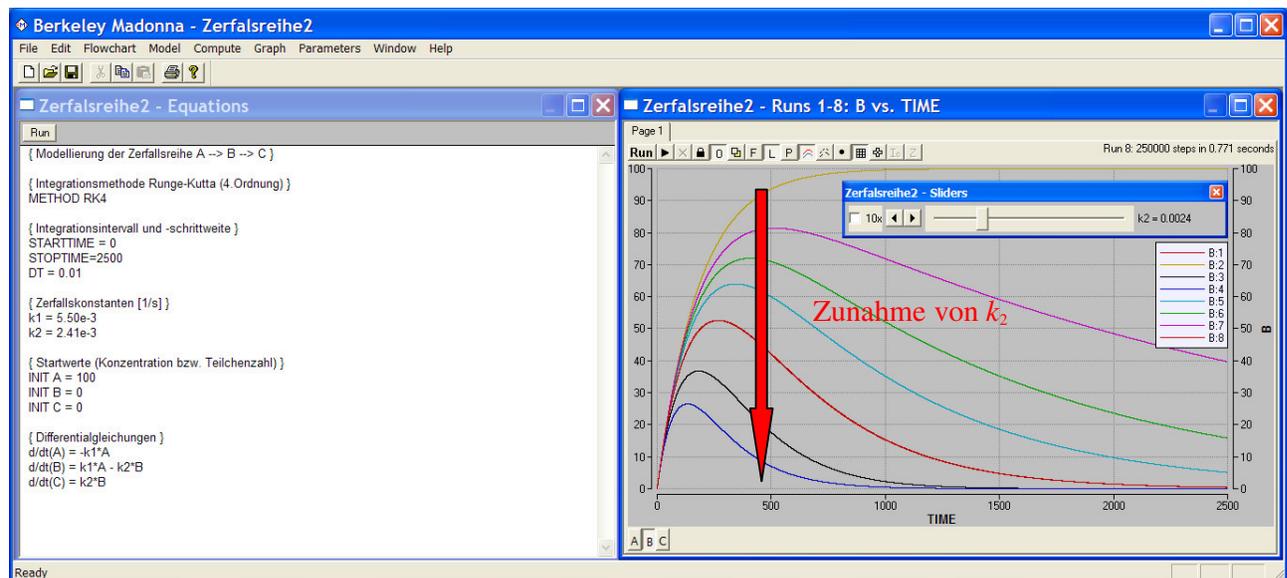
Als Resultat der Simulation erhält man eine exponentielle Abnahme der Ausgangssubstanz A, sowie eine entsprechende Zunahme des Zerfallsprodukts B. Da es sich bei dem Modell um ein geschlossenes System handelt, bleibt die Gesamtkonzentration $[A]+[B]$ konstant (Erhaltungsgröße). Berücksichtigt man diese Erhaltungsrelation, so lässt sich das DGL-System auf eine einzelne DGL (z.B. für Substanz A) reduzieren.

Nach Betrachtung des isolierten 1. Zerfallsschritts, soll nun die Kopplung des Modellsystems an den nachfolgenden 2. Zerfallsschritt berücksichtigt werden; der *Madonna*-Input wird entsprechend erweitert:



Wie bereits bei der Simulation des isolierten 1. Zerfallsschritts beobachtet man eine exponentielle Abnahme der Ausgangssubstanz A. Da das Produkt B des 1. Zerfallsschritts jetzt selbst zerfallen kann, findet jedoch nur in der Anfangsphase der Simulation ein exponentieller Anstieg von [B] statt. Die Zeitreihe für das reaktive Zwischenprodukt B durchläuft zunächst ein Maximum und fällt dann wieder exponentiell ab. Die charakteristische Form der Zeitreihe von [B] resultiert aus dem sich mit zunehmendem Verbrauch der Ausgangssubstanz A ändernden Verhältnis zwischen Bildungs- und Zerfallsrate von B. Letzteres hängt ganz wesentlich vom Verhältnis der Zerfallskonstanten ab. Die Zeitreihe von [C] resultiert aus dem Zerfall des Zwischenprodukts B unter Berücksichtigung der Erhaltungrelation $[A]+[B]+[C] = [A]_0 = \text{const.}$ Sie weist einen charakteristischen sigmoidalen Verlauf auf.

Die Auswirkungen der Variation der Systemparameter (Anfangskonzentration $[A]_0$, Zerfallskonstante k_1, k_2) auf das zeitliche Verhalten des Systems lassen sich mit dem Programm *Madonna* sehr einfach studieren. Hierzu definiert man sich sog. *Sliders*. Diese ermöglichen eine interaktive Variation der ausgewählten Parameter innerhalb eines vorgegebenen Intervalls. Das Resultat der Parameteränderung kann direkt am Plot der Zeitreihen abgelesen werden. Als Beispiel ist hier der Einfluss einer Variation von k_2 im Bereich von 0 bis 0.01 $[s^{-1}]$ auf die Zeitreihe von [B] gezeigt

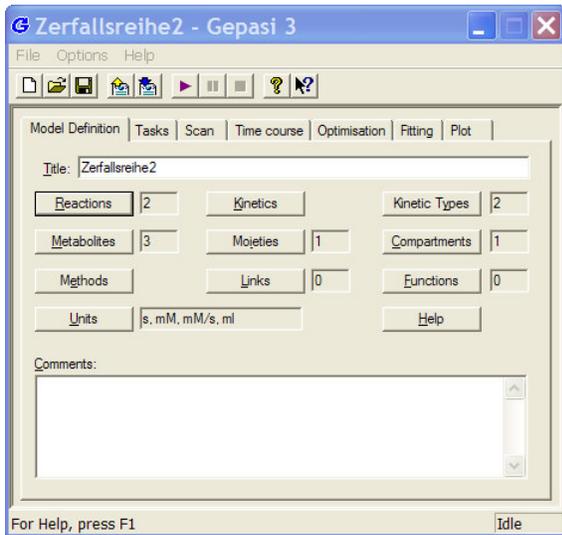


Im Grenzfall $k_2=0$ kann das Zwischenprodukt B nicht weiter zerfallen. Erhöht man k_2 , so beobachtet man die Ausbildung eines Maximums in der Zeitreihe von [B]. Mit zunehmendem Wert von k_2 kann sich immer weniger Zwischenprodukt akkumulieren, bis schließlich im Grenzfall sehr großer k_2 -Werte aus dem Zerfall von A gebildetes Zwischenprodukt B sofort zum stabilen Endprodukt C abreagiert.

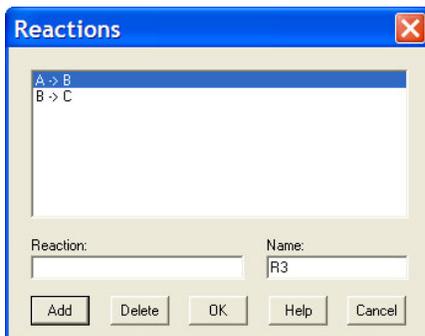
Im folgenden soll nun die Modellierung / Simulation der beiden gekoppelten Zerfallsreaktionen mit dem Programm *Gepasi* betrachtet werden. Während der Input in *Madonna* aus einem DGL-System besteht, wird das Reaktionssystem vom Benutzer in *Gepasi* direkt in Form von Reaktionsgleichungen angegeben. Dabei kann zu jeder spezifizierten Reaktion die gewünschte Reaktionskinetik entweder aus einem Satz vorgegebener Kinetiktypen ausgewählt, oder vom Benutzer neu definiert werden. Die vorgegebenen Kinetiktypen sind dabei speziell auf die Modellierung biochemischer Reaktionssysteme zugeschnitten.

Im Gegensatz zu *Madonna* erlaubt *Gepasi* neben der Berechnung der Zeitreihen durch Integration des DGL-Systems zusätzlich die Berechnung und Analyse stationärer Zustände des Systems. So kann mit Hilfe von *Gepasi* eine sog. Metabolische Kontrollanalyse (Metabolic Control Analysis MCA) durchgeführt werden (siehe Aufgabe 3).

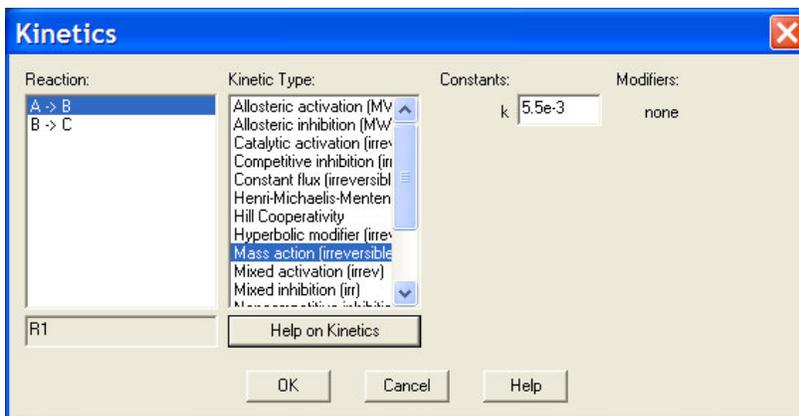
Die Definition des zu simulierenden Modells erfolgt in *Gepasi* über eine graphische Benutzerschnittstelle (*Model Definition*):



Zunächst wird das Reaktionssystem über das Menü *Reactions* spezifiziert (man unterscheidet zwischen irreversiblen (Symbol \rightarrow) und reversiblen Reaktionen (Symbol \rightleftharpoons)). Die gekoppelten Zerfallsreaktionen werden als irreversible Reaktionen modelliert.

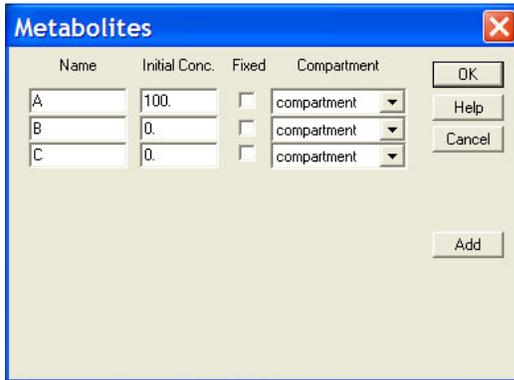


Dann wird für jede Reaktion die zugehörige Reaktionskinetik ausgewählt (Menü *Kinetics*) bzw. neu definiert (Menü *Kinetic Types*). Für die Modellierung der Zerfallsreihe verwenden wir die sog. Mass-action Kinetik (Elementarreaktionen).

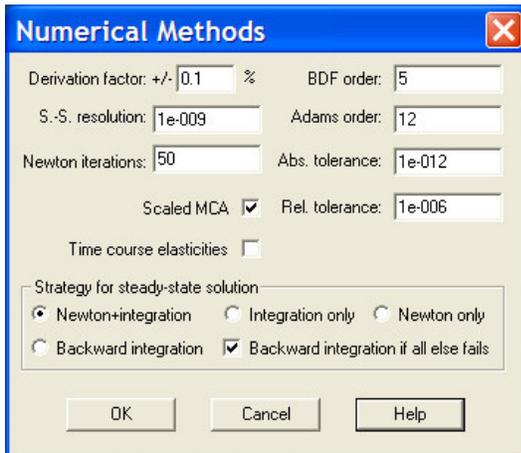


Zum Vorgehen bei der Definition eigener Kinetiktypen sei auf die sehr gute Hilfefunktion bzw. das Benutzer-Manual verwiesen.

Nun werden die Anfangskonzentrationen aller am Reaktionsnetzwerk beteiligten Substanzen festgelegt (Menü *Metabolites*). Durch Markieren (*Fixed*) können Konzentrationen während der Simulation konstant gehalten werden (Pools).



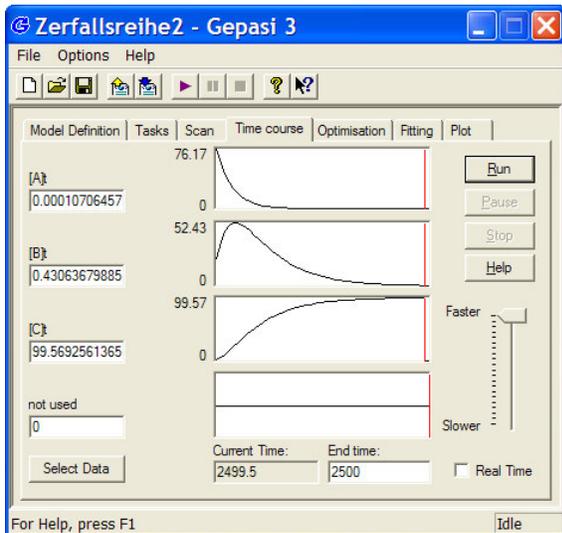
Schließlich werden die Parameter für die Simulation der Zeitreihen (Integration) und die Berechnung stationärer Zustände (steady state) spezifiziert.



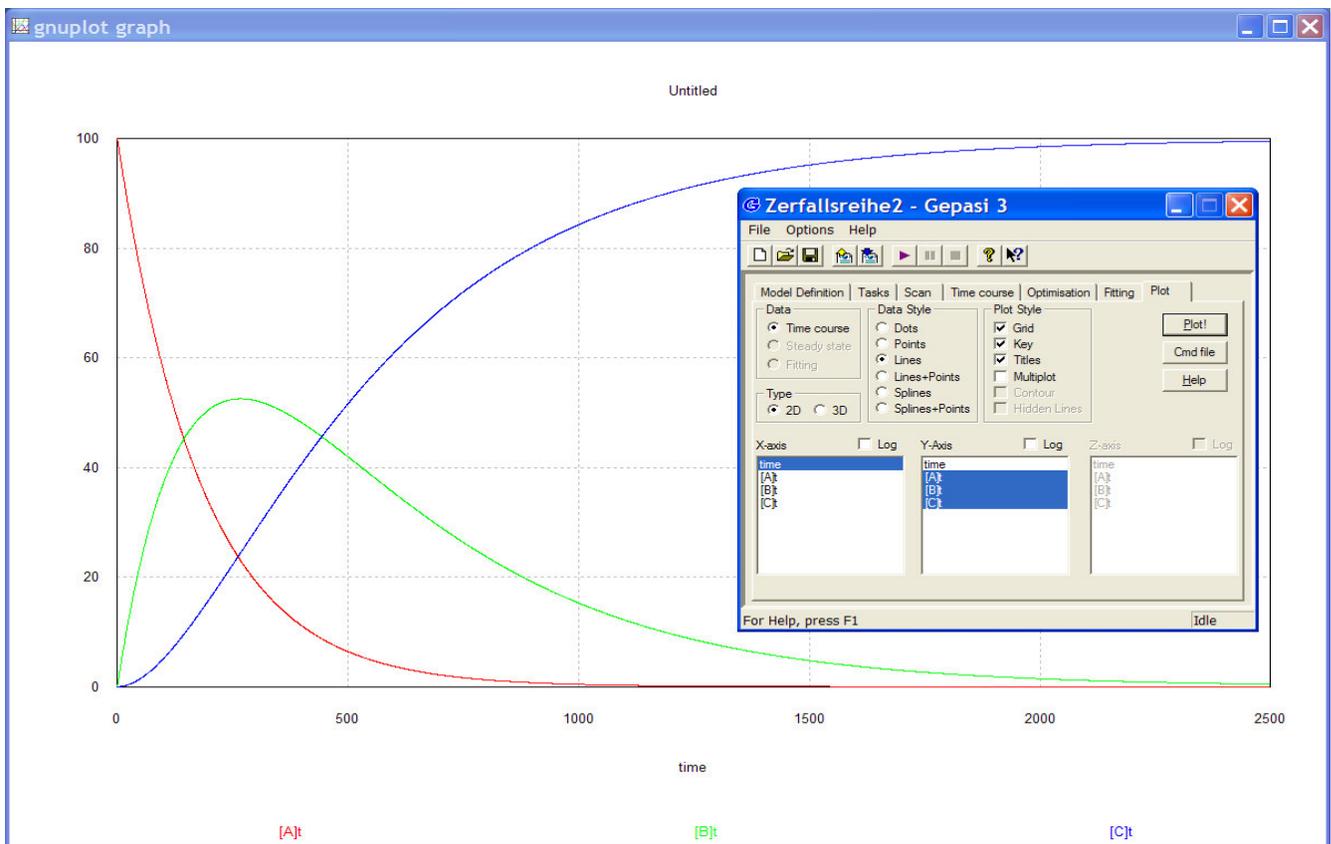
Nach erfolgter Modell-Definition wird über das Menü *Tasks* die vom Benutzer gewünschte Information der Simulation spezifiziert. So wird für die Berechnung der Zeitreihen (Time course) das Integrationsintervall, die Anzahl der Datenpunkte und die interessierenden Variablen selektiert.



Die berechneten Zeitreihen können nun entweder (für max. vier ausgewählte Substanzen) während der Simulation interaktiv verfolgt (Menü *Time course*),



oder nach Beendigung der Simulation über das Menü *Plot* betrachtet werden.



Darüber hinaus bietet Gepasi unter anderem die Möglichkeit von Parameterscans (Menü *Scan*). Auf diese Funktionalität soll hier jedoch nicht weiter eingegangen werden.

Bisher wurde die Zerfallskette im Rahmen eines deterministischen, kontinuierlichen Modells simuliert. Im folgenden soll nun zum Vergleich ein stochastischer, diskreter Formalismus als Simulationsgrundlage verwendet werden. Im Gegensatz zum deterministischen, kontinuierlichen Ansatz wird bei der stochastischen, diskreten Modellierung nicht die zeitliche Änderung von Konzentrationen, sondern von diskreten Teilchenzahlen betrachtet. Die Änderungen von Teilchenzahlen resultieren dabei aus dem Stattfinden von Reaktionsereignissen, welche im Rahmen eines stochastischen Formalismus ermittelt werden (siehe Vorlesungsskript).

Zur stochastischen Simulation der Zerfallskette wird das Programm *Stode* verwendet. Stode zerlegt ein gegebenes DGL-System automatisch zunächst in die Beiträge der einzelnen Reaktionen und übersetzt diese Beiträge dann in den entsprechenden stochastischen Prozess. Dieses transformierte System wird anschließend mit einem stochastischen Algorithmus (Gillespie) simuliert.

Schritt 1: Übersetzung des DGL-Systems in den entsprechenden stochastischen Prozess

```

# Stochastische Simulation der Zerfallsreihe A -> B -> C

# Differentialgleichungen
A' = -k1*A
B' = k1*A - k2*B
C' = k2*B

# Startkonzentrationen [1.0e-9*mol/l]
A = 1.0
B = 0.0
C = 0.0

# Reaktionsvolumen [l]
CellVolume := 1.660540e-12

# Zerfallskonstanten
k1 -> 5.50e-3
k2 -> 2.41e-3

Active reactants:
Reactant 0: A 1000
Reactant 1: B 0
Reactant 2: C 0
Passive reactants:
(no reactants)
Static reactants:
(no reactants)
Constants:
Constant 0: CellVolume 1.66054e-12
Displaying equation set
Equation 0
LHS = A
RHS:
Displaying term 0
Sign: -
Multiplicative factor: 1.000000
Rate constant: k1 = 0.005
Reactant: A^1.000000
Equation 1
LHS = B
RHS:
Displaying term 0
Sign: +
Multiplicative factor: 1.000000
Rate constant: k1 = 0.005
Reactant: A^1.000000
Displaying term 1
Sign: -
Multiplicative factor: 1.000000
Rate constant: k2 = 0.002
Reactant: B^1.000000
Equation 2
LHS = C
RHS:
Displaying term 0
Sign: +
Multiplicative factor: 1.000000

```

Status: Ready Time completion: Step completion: Number of steps: 0

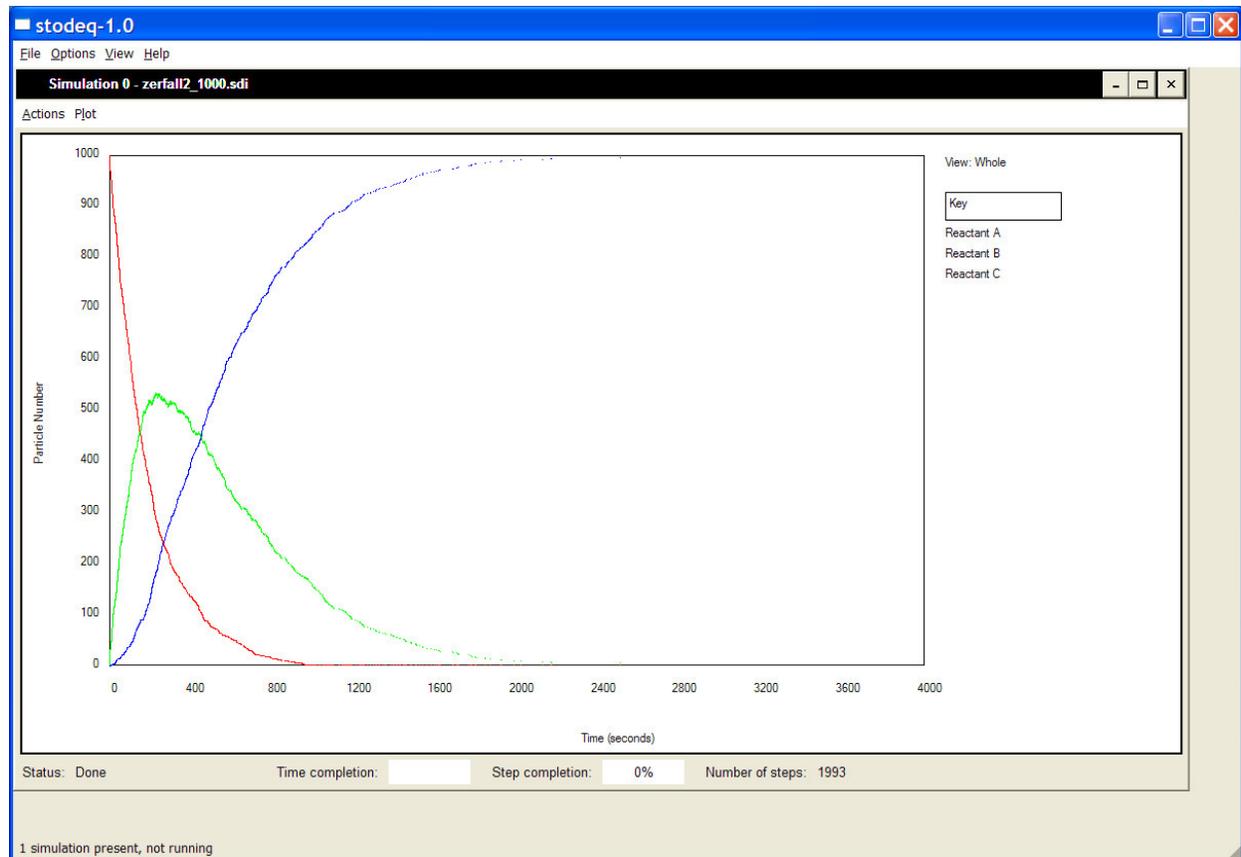
1 simulation present, not running

Zur Ermittlung der Teilchenzahlen n aus den angegebenen Startkonzentrationen c muss das Reaktionsvolumen V des Systems spezifiziert werden. Die Umrechnung ergibt sich aus

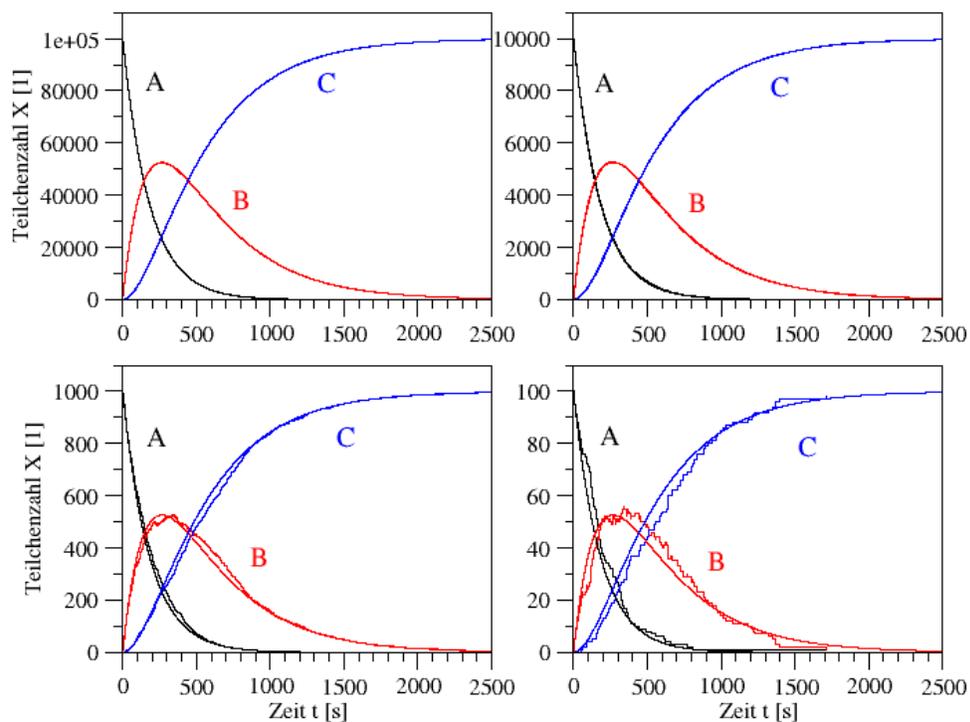
$$n = c \cdot V \cdot N_A \quad N_A = 6.0221367 \cdot 10^{23} [\text{mol}^{-1}]$$

Dabei ist N_A die sogenannte Avogadro-Konstante.

Schritt 2: Stochastische Simulation des Reaktionssystems, Plot der stochastischen Zeitreihen



Vergleich der stochastischen, diskreten Simulation mit der deterministischen, kontinuierlichen Simulation der Zerfallsreihe in Abhängigkeit von der Teilchenzahl:



Während für hinreichend große Teilchenzahlen n die stochastischen mit den deterministischen Zeitreihen praktisch deckungsgleich sind (für $n \rightarrow \infty$ identisch), zeigen sich beim Übergang zu kleinen Teilchenzahlen zunehmend starke Abweichungen der stochastischen Zeitreihen (die deterministischen Zeitreihen sind unabhängig von der Teilchenzahl). Bei kleinen Teilchenzahlen zeigt sich die diskrete, stochastische Natur der zugrunde liegenden chemischen Prozesse deutlich; hier versagt der Ansatz kontinuierlicher Stoffmengenänderungen. Da es sich bei dem betrachteten Reaktionssystem um ein lineares dynamisches System handelt, beobachtet man für kleine Teilchenzahlen keine qualitativ unterschiedlichen Verläufe der Zeitreihen. Es sei jedoch an dieser Stelle angemerkt, dass im Fall stark nichtlinearer Reaktionssysteme der deterministische Modellansatz bei kleinen Teilchenzahlen prinzipiell zu *qualitativ* falschen Vorhersagen führen kann, da sich bereits geringe Fluktuationen in einer Substanzvariable zu erheblichen Abweichungen im Reaktionsverhalten verstärken können.

