



UNIVERSITEIT VAN AMSTERDAM

MODELLEN VAN GEZONDHEID EN ZIEKTE

Chris de Koster
Huub Hoefsloot
Gooitzen Zwanenburg

- 2011 -

Hoofdstuk 1

Modellen van gezondheid en ziekte

1.1 Inleiding

De systeembioogie houdt zich bezig met biologische netwerken. Zij kijkt hoe verschillende biologische “componenten” onderling met elkaar verbonden zijn. Systeembioogie richt zich daarbij vooral op de processen en minder op een specifieke systeem. We kunnen op celniveau bijvoorbeeld denken aan de regulatie van genen of transport en reacties van eiwitten in de cell. Maar de systeembioogie houdt zich ook bezig met biologische netwerken op grotere schaal zoals communicatie tussen cellen onderling. Op nog grotere schaal worden interacties tussen soorten in ecosystemen bestudeerd of de verspreiding van ziekten in een populatie. De netwerken die worden beschouwd zijn dus heel divers: van reacties tussen eiwitten tot voedselketens in het tropisch regenwoud.

Het tot in detail beschrijven van complexe systemen is meestal niet haalbaar. Daarom wordt vaak gebruik gemaakt van een *model* van het systeem. In een dergelijk model proberen we die onderdelen van het systeem te vangen waarvan we denken dat ze relevant voor het onderwerp waarin we geïnteresseerd zijn. Zo zullen we misschien willen weten hoeveel plantmateriaal gevormd wordt maar hoeven we niet te weten van welke soorten dit afkomstig is. Net zo kunnen we de snelheid van reacties in een cell prima beschrijven zonder in detail te weten wat de exacte conformaties van de betrokken eiwitten zijn. Natuurlijk blijkt soms dat een model niet goed is, dat het te eenvoudig is of dat we verkeerde aannames hebben gemaakt. Het model zal dan moeten worden aangepast.

We gebruiken modellen om een beter begrip te krijgen in het verloop van processen in een biologisch netwerk. Maar modellen kunnen, mits ze goed genoeg zijn, ook gebruikt worden om situaties te simuleren die niet of moeilijk direct te zijn meten. In dat geval is een model een soort ”stand in” voor de werkelijke wereld.

De kunst is het vinden van een goed model. De manier waarop we het “juiste model” proberen de vinden verloopt vaak als volgt. Je hebt een idee hoe een bepaald systeem werkt en probeert dit in een (wiskundig) model te vatten. Een dergelijk model heeft meestal één of meer *parameters* die je kunt variëren zodat je experimentele data zo goed mogelijk aansluiten bij je model. De mate waarin met het model berekende waarden

overeenkomen met gemeten waarden geeft je een idee hoe goed je model is. Je moet je hierbij wel realiseren dat hoe meer parameters je hebt, hoe beter je het model kunt passen ('fitten') op je experimentele data. Dit heet overfitten. Er bestaan verschillende statistische technieken om te controleren of je model niet overfit maar daar zullen we in dit college niet verder op in gaan.

In dit college richten we ons op modellen die heel verschillende situaties beschrijven. Van cellulaire processen tot de verspreiding van ziekten. Wat opvalt is dat voor deze heel verschillende situaties toch veelal gelijksoortige (wiskundige) technieken gebruikt kunnen worden. Veel modellen beschrijven een verandering, hetzij een verandering in de tijd, hetzij een verandering in de plaats. De aangewezen manier om veranderingen te beschrijven is met differentiaalvergelijkingen. In het vervolg zul je vele soorten differentiaalvergelijkingen tegenkomen. Sommige zijn eenvoudig met de hand op te lossen, voor andere is een computer nodig. In het volgende onderdeel zullen we eerste een korte inleiding geven over differentiaalvergelijkingen. We doen dit aan de hand van reactiekinetiek. Deze beschrijft de concentratieverandering van de deelnemende stoffen tijdens chemische reacties. In het vervolg zul je enkele eenvoudige modellen bouwen met het programma CellDesigner en later in het college meer complexe modellen maken in Matlab. Korte handleidingen voor deze programma's vind je achterin deze syllabus.

Wiskunde Toets

In de systeembioïogie wordt veel gebruik gemaakt van wiskundige modellen. Daarom heb je een goede basiskennis van de wiskunde nodig om de cursus te kunnen volgen en te begrijpen. Deze toets is bedoeld om voor jezelf een idee te krijgen hoe het staat met je wiskunde vaardigheden. De docenten zullen de toetsresultaten gebruiken om te beoordelen waar extra aandacht besteed moet worden aan de wiskunde. Deze toets telt niet mee in de beoordeling voor deze cursus.

Breuken

Bereken de volgende breuken exact.

- $\frac{1}{6} + \frac{2}{9}$

- $\frac{3}{13} + \frac{1}{39}$

- $\frac{3}{39} + \frac{1}{13}$

Breng de volgende breuken onder één noemer en vereenvoudig.

- $\frac{1}{a} + \frac{1}{c}$

- $\frac{1}{a+b} + \frac{1}{c}$

- $\frac{a}{bc} + \frac{b}{ac} + \frac{c}{ab}$

- $\frac{a+b}{a-b} - \frac{a-b}{a+b}$

Vereenvoudigen

Vereenvoudig de volgende uitdrukkingen.

- $\frac{4}{16}$

- $\frac{a}{a+ab}$

- $(2^3)^2$

- $\sqrt{\sqrt{\sqrt{\frac{1}{256}}}}$

- $(2a - 5)(2a + 5)$

- $a^2 + b^2 + 2ab$

- $\frac{x^2-x}{1-2x+x^2}$

15. $\sin^3 x + \cos^2 x \sin x$

16. $\frac{x^5 - x}{x^3 - x}$

17. $e^{\ln 24 - 2 \ln 6}$

18. $2^a \cdot 2^c$

Differentiëren

Differentieer de volgende functies.

19. $f(x) = x$

20. $f(x) = \pi$

21. $f(x) = \cos x$

22. $f(x) = \sin^5 x$

23. $f(x) = \frac{x^2}{1-x^3}$

24. $f(x) = \sqrt{x}$

25. $f(x) = x \ln x$

26. $f(x) = x \sin 2x$

27. $f(x) = e^{2x}$

Integreren

Bereken de volgende integralen exact.

28. $\int_0^\infty e^{-x} dx$

29. $\int_0^{2\pi} \sin x dx$

30. $\int_{-2}^2 x^2 dx$

31. $\int_1^8 \frac{dx}{x}$

Differentiaalvergelijkingen

32. Welke functie voldoet aan de volgende differentiaalvergelijking?

$$\frac{dy}{dt} = t$$

33. Los de volgende differentiaalvergelijkingen op met begintijd $t = 0$.

$$\frac{dC(t)}{dt} = -k$$

met k een constante en $C(0) = C_0$.

34. Los de volgende differentiaalvergelijkingen op met begintijd $t = 0$.

$$\frac{dC(t)}{dt} = -kC(t)$$

met k een constante en $C(0) = C_0$.

Antwoorden wiskunde toets

Breuken

Bereken de volgende breuken exact:

1. $\frac{1}{6} + \frac{2}{9} = \frac{3}{18} + \frac{4}{18} = \frac{7}{18}$
2. $\frac{3}{13} + \frac{1}{39} = \frac{9}{39} + \frac{1}{39} = \frac{10}{39}$
3. $\frac{3}{39} + \frac{1}{13} = \frac{1}{13} + \frac{1}{13} = \frac{2}{13}$

Breng de volgende breuken onder één noemer en vereenvoudig.

4. $\frac{1}{a} + \frac{1}{c} = \frac{c}{ac} + \frac{a}{ac} = \frac{a+c}{ac}$
5. $\frac{1}{a+b} + \frac{1}{c} = \frac{c}{c(a+b)} + \frac{a+b}{c(a+b)} = \frac{a+b+c}{c(a+b)}$
6. $\frac{a}{bc} + \frac{b}{ac} + \frac{c}{ab} = \frac{a^2}{abc} + \frac{b^2}{abc} + \frac{c^2}{abc} = \frac{a^2+b^2+c^2}{abc}$
7. $\frac{a+b}{a-b} - \frac{a-b}{a+b} = \frac{(a+b)(a+b) - (a-b)(a-b)}{(a-b)(a+b)} = \frac{4ab}{a^2-b^2}$

Vereenvoudigen

Vereenvoudig de volgende uitdrukkingen.

8. $\frac{4}{16} = \frac{1}{4}$
9. $\frac{a}{a+ab} = \frac{a}{a(1+b)} = \frac{1}{1+b}$
10. $(2^3)^2 = (8)^2 = 64$
11. $\sqrt{\sqrt{\sqrt{\frac{1}{256}}}} = \sqrt{\sqrt{\frac{1}{16}}} = \sqrt{\frac{1}{4}} = \frac{1}{2}$
12. $(2a - 5)(2a + 5) = 4a^2 + 10a - 10a - 25 = 4a^2 - 25$
13. $a^2 + b^2 + 2ab = (a + b)^2$
14. $\frac{x^2-x}{1-x^2} = \frac{x(x-1)}{(1-x)(1+x)} = \frac{-x}{x-1}$
15. $\sin^3 x + \cos^2 x \sin x = \sin x \sin^2 x + \sin x \cos^2 x = \sin x (\sin^2 x + \cos^2 x) = \sin x$
16. $\frac{x^5-x}{x^3-x} = \frac{x(x^4-1)}{x(x^2-1)} = \frac{(x^2-1)(x^2+1)}{x^2-1} = x^2 + 1$
17. $e^{\ln 24 - 2 \ln 6} = e^{\ln 24} e^{-2 \ln 6} = \frac{24}{6^2} = \frac{2}{3}$
18. $2^a \cdot 2^c = 2^{a+c}$

Differentieren

Differentieer de volgende functies.

$$19. \begin{aligned} f(x) &= x \\ f'(x) &= 1 \end{aligned}$$

$$20. \begin{aligned} f(x) &= \pi \\ f'(x) &= 0 \end{aligned}$$

$$21. \begin{aligned} f(x) &= \cos x \\ f'(x) &= -\sin x \end{aligned}$$

$$22. \begin{aligned} f(x) &= \sin^5 x \\ f'(x) &= 5 \sin^4 x \cos x \end{aligned}$$

$$23. \begin{aligned} f(x) &= \frac{x^2}{1-x^3} \\ f'(x) &= \frac{2x(1-x^3)+x^2 3x^2}{(1-x^3)^2} = \frac{2x(1-x^3)+3x^4}{(1-x^3)^2} \end{aligned}$$

$$24. \begin{aligned} f(x) &= \sqrt{x} \\ f'(x) &= \frac{1}{2} \frac{1}{\sqrt{x}} \end{aligned}$$

$$25. \begin{aligned} f(x) &= x \ln x \\ f'(x) &= \ln x + \frac{x}{x} = 1 + \ln x \end{aligned}$$

$$26. \begin{aligned} f(x) &= x \sin 2x \\ f'(x) &= \sin 2x + 2x \cos 2x \end{aligned}$$

$$27. \begin{aligned} f(x) &= e^{2x} \\ f'(x) &= 2e^{2x} \end{aligned}$$

Integreren

Bereken de volgende integralen exact.

$$28. \int_0^\infty e^{-x} dx = -(e^{-\infty} - e^0) = -(0 - 1) = 1$$

$$29. \int_0^{2\pi} \sin x dx = -(\cos 2\pi - \cos 0) = -(1 - 1) = 0$$

$$30. \int_{-2}^2 x^2 dx = \frac{1}{3}(2^3 - (-2)^3) = \frac{1}{3}(8 + 8) = 5\frac{1}{3}$$

$$31. \int_1^8 \frac{dx}{x} = (\ln 8 - \ln 1) = \ln 8$$

Differentiaalvergelijkingen

32. Welke functie voldoet aan de volgende differentiaalvergelijking?
 $\frac{dy}{dt} = t$ We moeten een functie hebben die na differentiëren t oplevert. De functies die hieraan voldoen zijn de functies $y(t) = \frac{1}{2}t^2 + c$ waarbij c een constante is.
33. Los de volgende differentiaalvergelijkingen op met begintijd $t = 0$

$$\frac{dC(t)}{dt} = -k$$

met k een constante en $C(t = 0) = C_0$.

$$\int_{C_0}^{C(t)} dC = \int_0^t -k dt$$

dus

$$C(t) - C_0 = k(t - 0) \implies C(t) = C_0 - kt$$

34. Los de volgende differentiaalvergelijkingen op met begintijd $t = 0$

$$\frac{dC(t)}{dt} = -kC(t)$$

met k een constante en $C(t = 0) = C_0$.

$$\int_{C_0}^{C(t)} \frac{dC(t)}{C(t)} = \int_0^t -k dt \implies C(t) = C_0 - kt$$

Integralen uitvoeren levert

$$\ln C(t) - \ln C_0 = -kt \implies \ln \frac{C(t)}{C_0} = -kt \implies C(t) = C_0 e^{-kt}$$

Hoofdstuk 2

Reactiekinetiek en Differentiaalvergelijkingen

2.1 Reactiekinetiek van enkele eenvoudige reacties

Biologische processen zijn vaak uitermate complex. Om deze processen te kunnen begrijpen maken we vaak een *model* van een proces. Een model wordt altijd gemaakt met een bepaald doel. De kunst is het model zo te maken dat het niet te ingewikkeld wordt om (wiskundig) te beschrijven, maar natuurlijk wel beantwoordt aan het doel waarvoor het gemaakt is. Om dit te bereiken is het meestal nodig een aantal aannames en vereenvoudigingen te maken. Met een goed model kunnen we voorspellingen doen over het systeem dat we gemodelleerd hebben en begrijpen we hoe het systeem werkt in termen van het model. Zo kunnen we bijvoorbeeld een model maken dat de werking van een medicijn beschrijft en met dit model het effect van verschillende doses van het medicijn voorspellen.

Bij het modelleren van biochemische processen zijn we geïnteresseerd in concentraties van eiwitten, verzuren, metabolieten en andere stoffen die een rol spelen bij biologische processen. Omdat een biologisch systeem eigenlijk nooit in evenwicht is, willen we vooral weten hoe concentraties veranderen in de loop van de tijd. In een chemische reactie nemen de concentraties van de reactanten af terwijl de concentraties van de gevormde stoffen toenemen. Om de snelheid van waarmee stoffen omgezet worden wiskundig te beschrijven gebruiken we *differentiaal vergelijkingen*. Een ‘gewone’ vergelijking, vaak algebraïsche vergelijking genoemd, heeft een getal als oplossing. Denk aan een vergelijking als $y = x^2$. Als $x = 5$ heeft deze vergelijking als oplossing $y = 25$. Een differentiaalvergelijking heeft geen getal maar een functie als oplossing. Een differentiaalvergelijking is een relatie tussen een functie en zijn afgeleiden. De oplossing van een differentiaalvergelijking is de functie die aan die relaties voldoet. Als voorbeeld geven we een type differentiaalvergelijkingen dat we veel zullen tegen komen:

$$\frac{dC(t)}{dt} = f(C(t), t) \tag{2.1}$$

waarbij t de tijd is, $C(t)$ de concentratie als functie van de tijd en $f(C(t), t)$ een functie

van de concentratie en de tijd. De term links van het =-teken betekent dat we de afgeleide van de concentratie naar de tijd nemen. De afgeleide van een functie naar de tijd beschrijft de verandering van de concentratie met de tijd. Dit is een zogenaamde *eerste orde* differentiaalvergelijking omdat alleen de eerste afgeleide naar t voorkomt. De oplossing van deze differentiaal vergelijking wordt gegeven door de functie $C(t)$ die aan vergelijking (2.1) voldoet.

Laten we eens een concreet voorbeeld bekijken. Neem de reactie waarbij een stof A wordt omgezet in een stof P:



We willen nu de concentratie van A als functie van de tijd uitrekenen. Daarvoor nemen we aan dat we te maken hebben met een eerste orde reactie. Dat wil zeggen dat de hoeveelheid A die wordt omgezet naar P evenredig is met de aanwezige hoeveelheid A. Hoe meer A er is, hoe meer P per seconde gevormd wordt. Dus als de concentratie A tweemaal zo groot wordt, dan wordt er ook tweemaal zoveel A per seconde omgezet in P. Dit kunnen we vatten in een differentiaalvergelijking van het type dat we zagen in vergelijking (2.1):

$$\frac{dC_A(t)}{dt} = -kC_A(t) \quad (2.3)$$

Deze vergelijking zegt dat de concentratieverandering van A in de tijd, $dC_A(t)/dt$, evenredig is met de concentratie $C_A(t)$ van A en dat de evenredigheidsconstante k is. De evenredigheidsconstante wordt de *reactiesnelheidsconstante* genoemd en heeft dimensie per seconde, s^{-1} . Het min-teken staat er omdat de concentratie van A afneemt met de tijd. De functie $f(C(t), t)$ uit vergelijking (2.1) is in dit geval $-kC_A(t)$. Zoals gezegd, dit is een *eerste orde* reactie omdat de verandering in de concentratie evenredig is met de concentratie van het aanwezige A tot de macht 1, dus evenredig met $C_A(t)$. Verwar dit niet met de eerste orde differentiaal vergelijking. De twee hebben niets met elkaar te maken!

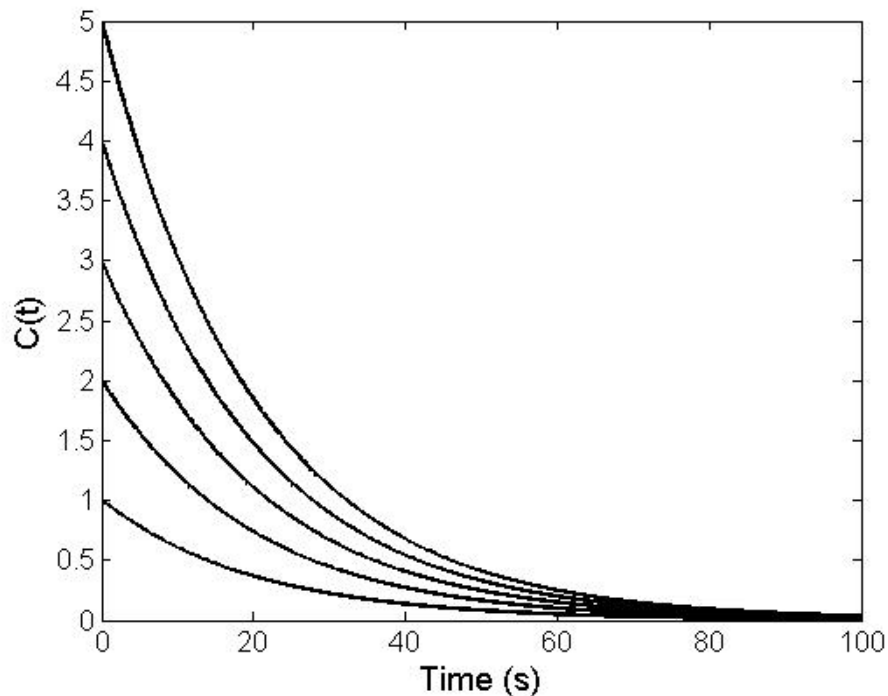
De volgende stap is om de differentiaalvergelijking op te lossen om de concentratie van A als functie van de tijd te bepalen. Oplossen van differentiaalvergelijkingen kan heel lastig zijn, maar in dit geval is de oplossing erg simpel. We zoeken een functie waarvan de afgeleide de functie zelf is, vermenigvuldigd met een constante. Het ligt dan voor de hand te denken aan een exponentiële functie als oplossing. We proberen de volgende functie als oplossing:

$$C_A(t) = \alpha e^{\beta t} \quad (2.4)$$

invullen in de differentiaal vergelijking geeft

$$\alpha \beta e^{\beta t} = -\alpha k e^{\beta t}$$

Hieruit zien we dat de probeerfunctie (2.4) een oplossing is als $\beta = -k$. Door invullen kunnen we echter niet de constante α bepalen. Dit komt algemeen voor bij differentiaalvergelijkingen. Er is altijd een hele verzameling functies die een oplossing vormt van de



Figuur 2.1: Verzameling oplossingen $C_A(t)$ van de differentiaalvergelijking (2.3).

differentiaalvergelijking. In figuur 2.1 zijn vijf oplossingen van de differentiaalvergelijking getekend, ieder met een andere waarde voor α . Om een eenduidige oplossing te krijgen moet ook nog een zogenaamde beginwaarde gegeven worden. Dit is de waarde die de functie heeft op tijdstip $t = 0$. In ons voorbeeld is de beginwaarde de concentratie van **A** waar we mee beginnen. Laten we die concentratie C noemen. Nu kunnen we uit de verzameling van oplossingen de functie vinden die de oplossing is van de differentiaalvergelijking en die ook nog de goede beginwaarde heeft. We hebben

$$\alpha e^{-k \cdot 0} = C \iff \alpha = C \quad (2.5)$$

en dus is de oplossing van de differentiaalvergelijking (2.3) met de beginvoorwaarde $C_A(0) = C$

$$C_A(t) = C e^{-kt} \quad (2.6)$$

We hebben in het bovenstaande voorbeeld de differentiaalvergelijking (2.3) opgelost met behulp van een probeerfunctie waarvan we de onbekende parameters α en β bepaalden door de probeerfunctie in te vullen in de differentiaalvergelijking en de beginvoorwaarde te gebruiken. Een meer algemene (en formele) manier om differentiaalvergelijkingen op te lossen is door de vergelijking te *integreren*. Hoe dit gaat laten we hieronder zien. We

integreren de linker en rechter kant van het =-teken van tijdstip $t' = 0$ tot $t' = t$:

$$\int_0^t \frac{dC_A(t')}{dt'} dt' = \int_0^t -kC_A(t') dt' \iff \int_0^t \frac{dC_A(t')}{C_A(t')} = - \int_0^t k dt' \quad (2.7)$$

waarbij in de tweede stap links en rechts gedeeld is door $C_A(t')$ (we nemen aan dat $C_A(t')$ nergens tussen $t' = 0$ en $t' = t$ gelijk is aan 0). De integratie variabele is t' , dit is een 'dummy' variabele voor de integratie, een variabele zonder betekenis, in tegenstelling tot de variabele t die de tijd weergeeft.

Nu komt enige kennis van integreren en primitieve functies goed van pas. De afgeleide van $\ln x$ is $f(x) = 1/x$ dus is de integraal aan de linkerkant van het =-teken gelijk aan $\ln C_A(t')$. Uitvoeren van de integraal aan de rechter kant levert $-kt'$ op. De oplossing wordt dan

$$\int_0^t \frac{dC_A(t')}{C_A(t')} = - \int_0^t k dt' \iff \ln C_A(t) - \ln C_A(0) = -kt - 0 \quad (2.8)$$

Dit kan verder uitgewerkt worden door gebruik te maken van de relatie $\ln a - \ln b = \ln a/b$.

$$\ln C_A(t) - \ln C_A(0) = -kt \iff \ln \frac{C_A(t)}{C_A(0)} = -kt \quad (2.9)$$

Beide kanten exponentiëren geeft tenslotte het gezochte antwoord:

$$\frac{C_A(t)}{C_A(0)} = e^{-kt} \iff C_A(t) = C e^{-kt} \quad (2.10)$$

Zoals je ziet komt de beginwaarde $C_A(0)$ meteen goed in het antwoord omdat we integreren van de begintijd $t = 0$ tot tijd t . In figuur 2.2 is het verloop van de concentraties van A en P getekend. De concentratie van A neemt af terwijl de concentratie van P toeneemt. Zoals je ziet is de som van de concentraties van A en P constant en gelijk aan C .

Nu het verloop van de concentratie $C_A(t)$ bekend is, kunnen we uitrekenen hoe lang het duurt voordat de helft van A is omgezet in P. Deze tijd heet de *halfwaardetijd* en wordt aangegeven met $t_{\frac{1}{2}}$. Om de halfwaardetijd uit te rekenen bedenken we dat voor $t = t_{\frac{1}{2}}$ geldt

$$C_A(t_{\frac{1}{2}}) = \frac{1}{2}C \quad (2.11)$$

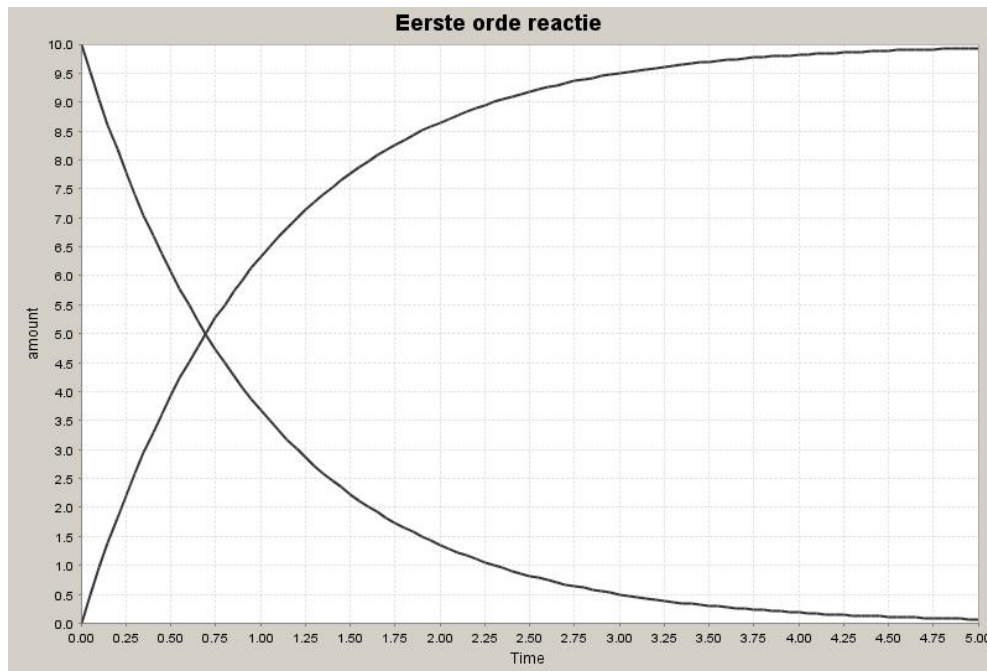
en dus hebben we

$$\frac{1}{2}C = C e^{-kt_{\frac{1}{2}}} \iff \ln \frac{1}{2} = -kt_{\frac{1}{2}}$$

waaruit we vinden

$$t_{\frac{1}{2}} = \frac{\ln 2}{k} \quad (2.12)$$

Opgave 2.1



Figuur 2.2: Verloop van de concentraties A en P als functie van de tijd voor de eerste orde reactie van vergelijking (2.2).

- Bouw de eerste orde reactie van vergelijking 2.2 in CellDesigner. Kies voor de reactiesnelheidsconstante $k = 1$. Verifieer dat de concentratie $C_A(t)$ als functie van de tijd verloopt als in figuur 2.2.
- Controleer de uitdrukking voor de halfwaardetijd uit je grafiek voor de concentratie van A.
- Maak de reactiesnelheidsconstante 10 maal zo klein. Wat gebeurt er met de halfwaardetijd? Controleer dit met de grafiek voor de concentratie $C_A(t)$.

Opgave 2.2

- Een ander type reactie dat je met enige regelmaat tegenkomt is een nulde orde reactie. Zoals je gezien hebt, is bij de eerste orde reactie de verandering van de concentratie met de tijd evenredig met de hoeveelheid van de reactant die aanwezig is. Bij een nulde orde reactie is de verandering van de concentratie constant. We kijken weer naar de reactie waarin een stof A wordt omgezet in een stof P die we eerder al zagen:



maar nu nemen we aan dat de omzetsnelheid van A constant is, we kijken nu dus naar een nulde orde reactie.

Stel de differentiaalvergelijking voor deze nulde orde reactie op.

- Los de differentiaalvergelijking op door integreren van de differentiaalvergelijking en schets het verloop van de concentratie van A als functie van de tijd.
- Bereken de halfwaarde tijd voor de nulde orde reactie.
- Modelleer de nulde orde reactie in CellDesigner en verifiëer je uitdrukking voor de halfwaardetijd.

2.2 Reversibele reacties en “steady state”

De reacties die we tot nu toe bekeken hebben waren aflopende reacties, ze gingen één kant uit. Veel reacties in de biologie zijn echter evenwichtsreacties waarbij een evenwicht ontstaat tussen de heen- en de teruggaande reacties. We bekijken de evenwichtsreactie



waarvan we aannemen dat zowel de heengaande als de teruggaande reactie eerste orde reacties zijn. Over het algemeen hebben de heen- en teruggaande reacties verschillende reactiesnelheidsconstanten. De reactiesnelheidsconstante voor de reactie van links naar rechts (van S naar P) is k_{12} , de reactiesnelheidsconstante voor de omgekeerde reactie, van P naar S, is k_{21} . We willen het verloop van de concentratie $C_S(t)$ als functie van de tijd weten. Het opstellen van de differentiaalvergelijking is nu wat ingewikkelder: S verdwijnt niet alleen, maar wordt ook weer gevormd door de reactie van P naar S. Beide termen moeten in rekening gebracht worden bij het opstellen van de vergelijking voor de verandering van de concentratie van S.

$$\frac{dC_S(t)}{dt} = -k_{12}C_S(t) + k_{21}C_P(t) \quad (2.14)$$

De eerste term aan de rechterkant beschrijft het verdwijnen van S (vandaar het min-teken), de tweede term aan de rechterkant beschrijft de toename van S doordat P weer terug gevormd wordt naar S.

Opgave 2.3

- Waaraan zie je in vergelijking (2.14) dat de heen- en teruggaande reacties eerste orde reacties zijn?

Voordat we de differentiaalvergelijking (2.14) oplossen stellen we de volgende beginvoorwaarden: de concentraties op $t = 0$ voor S en P zijn, respectievelijk, $C_S(0) = S_0$ en $C_P(0) = 0$. Verder moet gelden dat de hoeveelheid S die verdwijnt, gelijk is aan de hoeveelheid P die wordt gevormd, dus $C_P(t) = S_0 - C_S(t)$. Met deze relatie tussen $C_S(t)$ en $C_P(t)$ kunnen we $C_P(t)$ elimineren uit de differentiaalvergelijking (2.14):

$$\frac{dC_S(t)}{dt} = -k_{12}C_S(t) + k_{21}(S_0 - C_S(t))$$

Om deze differentiaalvergelijking op te lossen, herschrijven we het rechter lid van de reactiesnelheidsvergelijking naar

$$-k_{12}C_S(t) + k_{21}(S_0 - C_S(t)) = -(k_{12} + k_{21})C_S(t) + k_{21}S_0 \quad (2.15)$$

Nu introduceren we twee constanten, A en x_0 , die we als volgt definiëren:

$$\begin{aligned} A &= -(k_{12} + k_{21}) \\ x_0 &= \frac{k_{21}}{k_{12} + k_{21}} S_0 \end{aligned}$$

Waarmee de differentiaalvergelijking (2.14) er veel eenvoudiger komt uit te zien:

$$\frac{dC_S(t)}{dt} = A(C_S(t) - x_0) \quad (2.16)$$

Opgave 2.4

- Los vergelijking (2.16) op met de volgende hint. De afgeleide van een constante is nul:

$$\frac{dx_0}{dt} = 0 \quad (2.17)$$

- Na verloop van tijd zal zich een evenwicht instellen waarin er per seconde evenveel **S** gevormd wordt als er verdwijnt, het systeem is dan in een “steady state” toestand gekomen. $C_S(t)$ verandert dan niet meer met de tijd,

$$\frac{dC_S(t)}{dt} = 0 \quad (2.18)$$

Bereken hieruit de evenwichtsconcentraties C_{S_e} en C_{P_e} van $C_S(t)$ en $C_P(t)$ in termen van de reactiesnelheidsconstanten k_{12} en k_{21} .

- Bouw de reversibele reactie



in CellDesigner en simuleer de concentraties van **S** en **P** als functie van de tijd. Neem $S_0 = 1 \text{ mol/l}$, $C_P(0) = 0$, $k_{12} = 2 \text{ s}^{-1}$ en $k_{21} = 5 \text{ s}^{-1}$. Bepaal de evenwichtsconcentraties S_e en C_{P_e} uit de simulatie. Komen deze overeen met de waarden die je berekent uit de reactiesnelheidsconstanten?

Opgave 2.5

- Je hebt nu kennis gemaakt met nulde orde en eerste orde reactiesnelheidsvergelijkingen. Stel een differentiaalvergelijking op voor de concentratie van een stof **A** die volgens een tweede orde reactie overgaat in een stof **P**.

- Bedenk een reactie die volgens tweede orde proces zou kunnen verlopen.
- Los de differentiaalvergelijking die je hebt gevonden op. Hint: de afgeleide van $\frac{1}{x}$ is $\frac{-1}{x^2}$.
- Bouw de tweede orde reactie in CellDesigner en simuleer de concentratie van A als functie van de tijd.
- Bereken de halfwaardetijd voor de tweede orde reactie en vergelijk je uitkomst met de uitkomst die je met CellDesigner uit het concentratieprofiel van $C_A(t)$ haalt.

2.3 Michaelis-Menten kinetiek

In de biologie komen enzym gekatalyseerde reacties veel voor. In deze reacties vormen een enzym, E, en een substraat, S, een enzym-substraat complex, ES, dat vervolgens overgaat in een product P en het vrije enzym E. Deze reacties geven we als volgt weer:



Er wordt bij deze reacties vanuit gegaan dat ze allemaal eerste orde zijn en dat het enzym en product irreversibel uit elkaar vallen, terwijl de reactie waarbij enzym en substraat een complex vormen reversibel is. De reactiesnelheidsconstanten voor de heen- en teruggaande reacties zijn k_{12} en k_{21} , voor de reactie van enzym-substraatcomplex naar product is de reactiesnelheidsconstante k_{23} . Dit model voor enzym gekatalyseerde reacties werd in het begin van de 20-ste eeuw opgesteld door Leonor Michaelis en Maud Menten (zie figuur 2.3) en staat bekend als de Michaelis-Menten reactie.

Opgave 2.6

- Stel de reactiesnelheidsvergelijkingen op voor S, E, ES en P
- Leid uit de snelheidsvergelijkingen voor E en ES die je zojuist gevonden hebt een uitdrukking af voor

$$\frac{d(E + ES)}{dt} \quad (2.20)$$

- Wat betekent de uitdrukking die je zojuist gevonden hebt? Integreer de uitdrukking met als randvoorwaarde dat de beginconcentratie van E gelijk is aan E_0 .

Waar we uiteindelijk in geïnteresseerd zijn is hoeveel product P er gevormd wordt als functie van de tijd. In principe kunnen we dit uitrekenen door de snelheidsvergelijking voor P die we in de voorgaande opgave opgesteld hebben op te lossen. Het vinden van een oplossing uit de snelheidsvergelijkingen is echter niet eenvoudig omdat dit een stelsel gekoppelde differentiaal vergelijkingen is dat niet analytisch is op te lossen. We kunnen

echter wel iets van de oplossingen zeggen door de integratie ‘numeriek’ te laten uitvoeren door CellDesigner. Ook kunnen we een aantal aannames maken waardoor we een beter inzicht krijgen in de oplossingen die met CellDesigner gevonden kunnen worden. We zullen nu aannemen dat de concentratie van het enzymgebonden substraat ES niet afhangt van de tijd, met andere woorden dat er evenveel substraat gebonden enzym ES gevormd wordt als er weg reageert, met andere woorden, de enzymconcentratie is in steady state:

$$\frac{dES}{dt} = 0 \quad (2.21)$$

In de laatste opgave hadden we gevonden dat $E + ES = E_0$. Samen met de reactiesnelheidsvergelijkingen en vergelijking (2.21) kunnen we nu een uitdrukking voor ES vinden. Uit de reactiesnelheidsvergelijking en vergelijking (2.21) vinden we

$$k_{12}SE - k_{21}ES = 0 \quad (2.22)$$

Als we dit combineren met $E + ES = E_0$ vinden we na wat herschikken:

$$ES = \frac{E_0S}{\frac{k_{21}+k_{23}}{k_{12}} + S} \quad (2.23)$$

De constante

$$K_M = \frac{k_{21} + k_{23}}{k_{12}} \quad (2.24)$$

staat bekend als de Michaelis-Menten constante. We kunnen nu de snelheid waarmee het product gevormd wordt eenvoudig uitrekenen:

$$\frac{dP}{dt} = k_{23}ES = k_{23}E_0 \frac{S}{K_M + S} \quad (2.25)$$

De snelheid, V , waarmee het product gevormd kan worden is maximaal, V_{\max} , als alle enzym gebonden is aan het substraat, dus als $ES = E_0$

$$\left(\frac{dP}{dt}\right)_{\max} = V_{\max} = k_{23}E_0 \quad (2.26)$$

We vinden dan uiteindelijk *Michaelis-Menten* vergelijking:

$$V = V_{\max} \frac{S}{K_M + S} \quad (2.27)$$

Opgave 2.7

- Uitgaande van de Michaelis-Menten vergelijking (2.27), hoe hangt de vorming van het product P af van de substraat concentratie als



(a)



(b)

Figuur 2.3: Leonor Michaelis (a) en Maude Leonora Menten (b).

- De substraatconcentratie veel kleiner is dan K_M
- De substraatconcentratie veel groter is dan K_M

In CellDesigner kunnen Michaelis-Menten reacties gemodelleerd worden door de reactie van reactant naar product in het model te zetten:



De kinetiek wordt bepaald door de Michaelis-Menten vergelijking waarvoor de parameters ingevuld kunnen worden door met de rechter muisknop op de reactie te klikken en vervolgens `Edit Kinetic Law` te kiezen. In het venster dat verschijnt kies je `Irreversible_Simple_Michaelis-Menten` waarop je de constanten K_M en V_{\max} kunt invullen. Let op, in CellDesigner wordt de concentratie van de reactanten en producten als functie van de tijd gegeven, dus $S(t)$ en $P(t)$ en niet de reactiesnelheid zoals in de Michaelis-Menten vergelijking (2.27).

In de literatuur vind je vaak de K_M en V_{\max} waarden om enzym activiteit te karakteriseren. Experimenteel kunnen deze bepaald worden uit een zogenaamde Lineweaver-Burke plot. In een Lineweaver-Burke plot wordt $1/V$ uitgezet tegen $1/S$. Je krijgt dan een rechte lijn waaruit je uit de asafsnode en de richtingscoëfficiënt de parameters K_M en V_{\max} van de Michaelis-Menten vergelijking kunt bepalen.

Opgave 2.8

- Gebruik de Michaelis-Menten vergelijking (2.27) om relaties te vinden waarmee de parameters K_M en V_{\max} uit asafsnode en richtingscoëfficiënt van de Lineweaver-Burke plot te bepalen zijn.

Experimenteel wordt een Lineweaver-Burke plot gemaakt door een aantal oplossingen met bekende substraatconcentratie te bereiden. Op tijdstip $t = 0$ wordt aan de oplossing

een enzym toegevoegd en de snelheid waarmee het product gevormd wordt, gemeten. Dit kan worden gedaan door de productconcentratie als functie van de tijd te meten, bijvoorbeeld door absorptie van licht door de oplossing te meten. Met CellDesigner kunnen we een dergelijk experiment simuleren door de snelheid te meten aan de productconcentratiegrafiek van P als functie van de substraatconcentratie S.

Opgave 2.9

- Bouw een Michaelis-Menten reactie in CellDesigner. Neem voor de waarde $K_M = 0.2$ en $V_{\max} = 0.4$. Varieer de concentratie van de reactant S en bepaal uit de grafiek van de concentratie van P als functie van de tijd de snelheid. Zoals je uit de grafiek ziet, hangt de snelheid waarmee P gevormd wordt af van de tijd. Omdat we geïnteresseerd zijn in de snelheid bij bekende concentraties van de reactant S moeten we de snelheid zo vroeg mogelijk meten omdat dan nog weinig S gereageerd heeft en we goed weten hoeveel substraat aanwezig is.
- Maak met de gemeten waarden van de snelheid en concentratie een Lineweaver-Burke plot en bepaal V_{\max} en K_M voor je model. Vergelijk de gemeten waarden met de waarden die je in je model gebruikt hebt.
- Bij het maken van de plot zul je merken dat punten clusteren aan de linkerkant in de plot. Waarom is dat en wat betekent dat voor je experiment als je in het lab een Lineweaver-Burke plot wilt maken?

Hoofdstuk 3

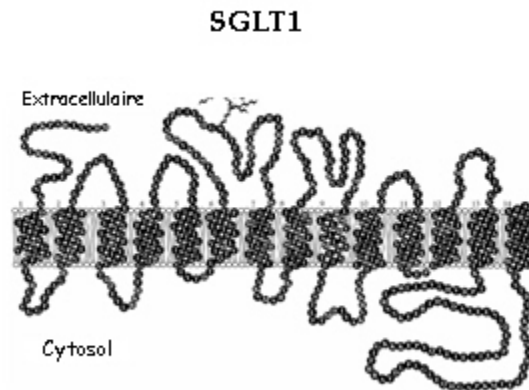
Na⁺-Glucose Cotransporter

Het celmembraan zorgt ervoor dat de inhoud van de cel bij elkaar gehouden wordt en dat ongewenste stoffen buiten de cel blijven. Tegelijkertijd heeft de cel voortdurend stoffen nodig om te kunnen functioneren en moeten afvalstoffen verwijderd worden. Om selectief stoffen door het celmembraan naar binnen of naar buiten te transporteren heeft de cel de beschikking over “transporters”. Deze transporters bestaan uit eiwitten die in het celmembraan zitten en daar een soort kanaal vormen waardoor selectief moleculen de cel in of uit gebracht kunnen worden. Er zijn twee soorten transporters: actieve en de passieve transporters. Actief transport kost energie. Het gaat in dat geval meestal om transport tegen een concentratiegradiënt in: van een lage naar een hoge concentratie. Passief transport levert energie op en gaat met de concentratiegradiënt mee, van hoge naar lage concentratie. In dit onderdeel van de cursus bestuderen we actief transport van glucose van buiten de cel naar binnen door een bepaald type transporter, de Na⁺/glucose cotransporter, afgekort SGLT1 van Sodium GLucose Transporter 1. In figuur 3.1 zie je een schematische afbeelding van de transporter. De concentratie van glucose binnen de cel is veel hoger (ongeveer 5 mM) dan de concentratie daarbuiten (ongeveer 0.005 mM). Het kost dan ook energie om glucose de cel binnen te brengen. De SGLT1 wint deze energie door met elk glucosemolecuul dat de cel binnen gaat, twee natrium ionen mee de cel in te nemen, vandaar ook de naam cotransporter. Het gelijktijdig transporteren van twee natriumionen levert energie op omdat de concentratie van natriumionen buiten de cel hoger is dan binnen de cel (140 mM vs. 14 mM).

We maken nu een kort uitstapje naar de wet van Nernst en het begrip membraanpotentiaal om beter te begrijpen waarom het gelijktijdig transport van twee natrium ionen energie oplevert.

3.1 Concentratiegradiënten en Membraanpotentialen

Als aan één kant van een doorlatend membraan de concentratie van een stof die we 'A' zullen noemen hoger is dan aan de andere kant, dan zal een netto transport van moleculen door het membraan plaatsvinden totdat zich een evenwicht instelt en de concentraties van



Figuur 3.1: SGLT1 (From: ScienceBio.com).

A aan beide kanten van het membraan gelijk zijn. We kunnen ons voorstellen hoe dit werkt door aan te nemen dat van alle moleculen die tegen het membraan botsen een bepaalde fractie het membraan ook zal passeren. Aan de kant van het membraan met de hoge concentratie zullen per tijdseenheid meer botsingen plaatsvinden dan aan de kant met de lage concentratie. Er zullen dus ook meer moleculen de oversteek van hoge concentratie naar lage concentratie maken dan andersom. Dit zal doorgaan totdat de concentraties aan beide kanten van het membraan gelijk zijn. Dit betekent niet dat er dan geen moleculen meer door het membraan gaan, maar dat er per tijdseenheid evenveel moleculen van de ene naar de andere kant gaan als in omgekeerde richting. Dit wordt een dynamisch evenwicht genoemd. We kunnen transport van moleculen A door het membraan weergeven met de volgende reactie:



Opgave 3.1

- Stel de reactiesnelheidsvergelijkingen op voor het transport door het membraan. De reactiesnelheidsconstante voor het transport van hoog naar laag is k_{hl} en voor het transport van laag naar hoog k_{lh} .
- Bereken de verhouding van de concentraties van A aan de ‘hoog’ kant en de ‘laag’ kant in evenwicht in termen van de reactiesnelheidsconstanten.
- Bouw en simuleer deze reactie in CellDesigner. Neem voor de hoge A concentratie 10 mmolair en voor de lage A concentratie 1 mmolair. Voor de reactiesnelheidsconstanten kun je $k_{hl} = 0.3$ en $k_{lh} = 0.4$ nemen.

- Controleer of de verhouding van de concentraties van A bij evenwicht die je hebt uitgerekend kloppen met de uitkomst van de simulatie in CellDesigner.

Of een proces spontaan verloopt of niet wordt bepaald door het verschil in de zogenaamde *Gibbs vrije energie* tussen de begin- en eind toestand van een proces. het begrip Gibbs vrije energie komt uit de thermodynamica. Het is de energie die beschikbaar is voor een proces bij constante druk. Hieronder vallen de meeste biologische processen. Als de Gibbs vrije energie tijdens een proces afneemt, $\Delta G = G_{\text{eind}} - G_{\text{begin}} < 0$, zal het proces spontaan verlopen. De producten hebben dan een lagere vrije energie dan de reactanten. Als de Gibbs vrije energie tijdens een proces niet verandert, dus als $\Delta G = 0$, hebben we te maken met een evenwicht. We passen dit toe op het concentratieverschil aan weerszijden van het membraan dat we zojuist bekeken met reactie (3.1). We leiden dit hier niet af, maar het verschil in Gibbs vrije energie voor deze reactie wordt gegeven door:

$$\Delta G = RT \ln \frac{[A]_{\text{laag}}}{[A]_{\text{hoog}}} = RT \ln \frac{1}{10} = (8.3)(300)(-2.3) = -5733 \text{ J/mol} \quad (3.2)$$

Hier is $R = 8.3 \text{ J mol}^{-1}\text{K}^{-1}$ de gasconstante en T de temperatuur in Kelvin. De vierkante haken $[A]$ betekenen concentratie van A . Zoals je ziet is ΔG voor deze reactie negatief en zal de reactie spontaan verlopen. Je ziet ook dat de omgekeerde reactie, transport van lage concentratie naar hoge concentratie niet spontaan zal verlopen omdat de Gibbs vrije energie voor deze reactie positief is. Je hebt in de simulaties gezien dat bij gelijke reactiesnelheidsconstanten de evenwichtsconcentraties gelijk zijn. In dat geval geldt voor de Gibbs vrije energie bij evenwicht:

$$\Delta G^0 = RT \ln \frac{[A]_{\text{laag}}}{[A]_{\text{hoog}}} = RT \ln K = RT \ln 1 = 0 \quad (3.3)$$

waarin K de evenwichtsconstante van de reactie is.

In de opgave die je zojuist gemaakt hebt, hebben we naar een concentratie verschil van ongeladen deeltjes aan weerszijden van het membraan gekeken. Voor geladen deeltjes, ionen, heeft een potentiaalverschil tussen de beide kanten van het membraan ook invloed op het transport door het membraan. De potentiaal aan de binnenkant van de cel is vaak negatief ten opzichte van de buitenkant. Dit komt door een overschot aan positieve ionen (Na^+ , Ca^{2+}) buiten de cel. Dit overschot wordt in stand gehouden door transporters die actief kationen uit de cel pompen.

We kijken nu naar het effect van een potentiaalverschil tussen de binnen- en buitenkant van de cel op de ligging van het evenwicht tussen de concentraties ionen aan weerszijden van het membraan. Als een reactie niet spontaan verloopt moeten we moeite doen om de reactie te laten verlopen. ‘Moeite doen’ kan in de vorm van het toevoeren van extra energie. In de cel wordt deze extra energie geleverd door chemische reacties zoals de hydrolyse van ATP of door het passieve transport van ionen over een potentiaalverschil. Als een positief ion van een hoge naar een lage potentiaal gaat levert dit energie op: de potentiële energie van het ion wordt omgezet in warmte of, als we het slim aanpakken, arbeid. Je kunt dit

vergelijken met water dat van een heuvel stroomt. De potentiële energie van het water boven op de heuvel wordt omgezet in kinetische energie van stromend water. Als we een schoepenrad bouwen in de stroom kunnen we uit de kinetische energie van het water arbeid halen. De vraag is nu hoeveel energie we uit het transport van ionen over een potentiaalverschil kunnen halen?

Om deze vraag te beantwoorden nemen we een membraan als in opgave 3.1 maar in plaats van ongeladen moleculen A nemen we aan dat we aan weerszijden van het membraan verschillende concentraties natrium ionen, Na^+ , hebben. Omdat we nu te maken hebben met geladen deeltjes zal een concentratieverschil tussen de ene- en de andere kant van het membraan leiden tot een potentiaalverschil, V , tussen beide zijden van het membraan. De relatie tussen concentratieverschil en potentiaal wordt gegeven door de wet van Nernst:

$$V = V^0 - \frac{RT}{nF} \ln Q \quad (3.4)$$

hierbij is Q de concentratieverhouding van aan weerszijden van het membraan, V^0 is de zogenaamde “standaard spanning”. Deze wordt gemeten in een in een standaard elektrochemische cel bij 1 atmosfeer, kamertemperatuur en ionen concentraties van 1 mol/liter. V^0 is voor gelijke ionen aan weerszijden van het membraan gelijk zijn aan nul, maar als er verschillende ionen aan weerszijden van het membraan zitten dan kan een potentiaalverschil over het membraan ontstaan. Dit potentiaalverschil wordt in batterijen gebruikt om stroom te leveren voor iPods en auto’s. F is de Faraday constante: $F = 9.65 \times 10^4 \text{ C/mol}$ en n de lading per ion. Voor Na^+ is $n = 1$.

Opgave 3.2

- In levende cellen is de potentiaal aan binnenkant van de cel negatief ten opzichte van die aan de buitenkant. Het potentiaalverschil bedraagt ongeveer 70 mV. Bereken de verhouding van de concentraties Na^+ -ionen binnen en buiten de cel als we ervan uit gaan dat het potentiaalverschil uitsluitend door Na^+ -ionen wordt veroorzaakt. Neem $T = 310 \text{ K}$ en $V^0 = 0$.
- In levende cellen is de Na^+ -concentratie buiten de cell in de orde van 100 mmol/l en binnen de cel ongeveer 20 mmol/l. Hoe laat dat zich rijmen met de verhouding die je zojuist gevonden hebt?
- Wat is het potentiaalverschil als gevolg van de werkelijke natriumconcentraties binnen en buiten de cel?

3.2 Glucose transporter

Terug naar de glucose transporter. We weten nu waar de glucose transporter zijn energie vandaan haalt: uit het passieve transport van Na^+ -ionen door het celmembraan. De vrij komende energie wordt door de SGLT1 glucosetransporter gebruikt om glucose van buiten

de cel naar binnen te transporteren. Laten we hier eens wat getallen aanhangen. Als we aannemen dat glucose van een concentratie van ongeveer 0.005 mM buiten de cel naar een concentratie van 5 mM binnen de cel gepompt moet worden dan is de energie, ΔG , die hiervoor nodig is

$$\Delta G = RT \ln \frac{C_{\text{glucose}}^{\text{buiten}}}{C_{\text{glucose}}^{\text{cel}}} \quad (3.5)$$

waarin $C_{\text{glucose}}^{\text{buiten}}$ de glucoseconcentratie buiten de cel en $C_{\text{glucose}}^{\text{cel}}$ de glucoseconcentratie in de cel is. Invullen van de getallen geeft:

$$\Delta G = RT \ln \frac{C_{\text{glucose}}^{\text{buiten}}}{C_{\text{glucose}}^{\text{cel}}} = (8.3)(310) \ln \frac{5}{0.005} = 17.8 \text{ KJ/mol}$$

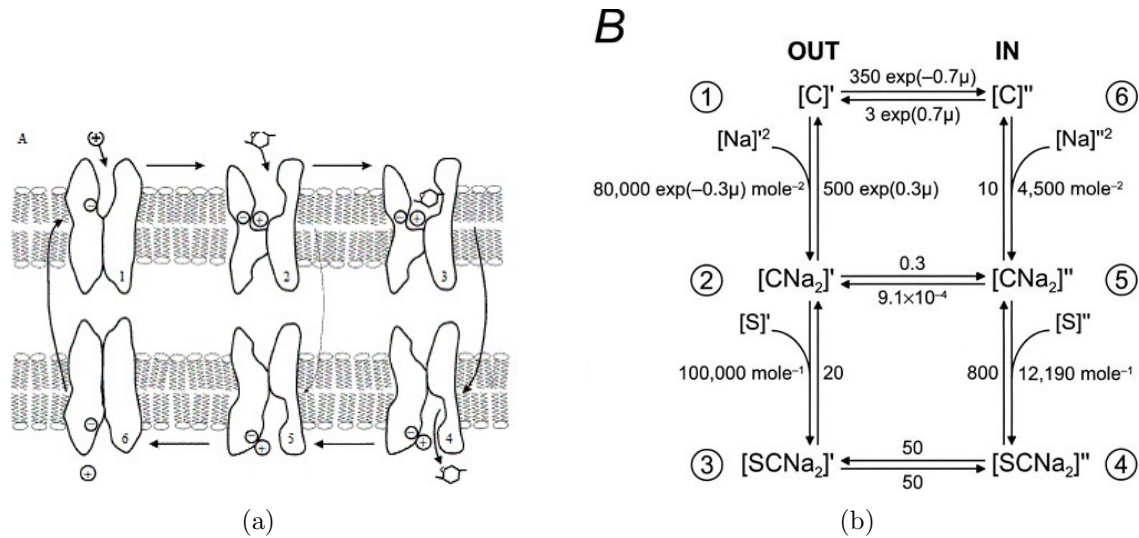
Voor het transport van één mol glucose tegen de concentratiegradiënt in is dus 17.8 KJ/mol nodig. In de cotransporter wordt deze energie verkregen door tegelijk met glucose Na^+ -ionen de cel in te pompen. Zo wordt op twee manieren energie gewonnen. Ten eerste worden Na^+ ionen van een hoge concentratie naar een lage concentratie gebracht. Ten tweede wordt met elk ion een lading van een hoge potentiële energie naar een lagere potentiële energie gebracht. De algemene regel is dat de verandering in energie van een lading q die een potentiaalverschil ΔV doorloopt gelijk is aan $\Delta G = q\Delta V$. De lading van een mol 1-waardige ionen wordt gegeven door Faraday's constante. Dus als een mol n -waardige ionen een potentiaalverschil ΔV doorloopt is het energieverval gelijk aan:

$$\Delta G = nF\Delta V \quad (3.6)$$

Opgave 3.3

- Bereken de energie die het transport van natriumionen van buiten naar binnen de cel oplevert. Je kunt voor het potentiaalverschil over het celmembraan -70 mV nemen. Voor de concentraties natrium ionen binnen en buiten de cel neem je respectievelijk 20 mmol/l en 100 mmol/l. Hoeveel mol natriumionen zijn minimaal nodig voor het transport van één mol glucose?

We hebben nu voldoende bagage om nader naar de cotransporter te kijken. Het mechanisme waarmee de cotransporter natrium en glucose de cel in brengt, is als volgt: aan de buitenzijde van het membraan binden twee Na^+ -ionen aan een negatief geladen plaats aan de cotransporter. Deze krijgt hierdoor een grote affiniteit voor glucose, waardoor ook een glucose molecuul aan de cotransporter kan binden. Als twee Na^+ -ionen en een glucosemolecuul gebonden zijn, vindt een verandering in de structuur van de cotransporter plaats waardoor het glucosemolecuul en de twee Na^+ -ionen aan de binnenzijde van het membraan los komen van de cotransporter. Hierna vindt opnieuw een conformatie verandering plaats waardoor de cotransporter terugkeert naar de oorspronkelijke toestand.



Figuur 3.2: Verschillende stappen in glucose transport door SGLT1 cotransporter (Wright, 1994) (a). Kinetisch model voor het glucose transport (Eskandari, 2005) (b).

Op deze manier worden in elke cyclus van de transporter één glucosemolecuul en twee Na^+ -ionen de cel ingebracht. Zie figuur 3.2 (a) voor een schets van het transport.

Naarmate er meer Na^+ -ionen de cel binnengaan, komt er meer positieve lading de cel binnen waardoor het potentiaalverschil tussen binnenkant en de buitenkant van de cel kleiner zal worden (de binnenkant van de cel wordt positiever). Om te zorgen dat het potentiaalverschil in stand wordt gehouden zijn er andere transport mechanismen die de Na^+ -ionen weer uit de cel pompen. Deze pompen zullen we hier niet verder beschouwen.

In figuur 3.2 (b) zie je een kinetisch model voor de glucose cotransporter dat is opgesteld door S. Eskandari et al. Het model beschrijft de zes stadia weergegeven in figuur 3.2 (a). In de figuur staan naast elke reactie de corresponderende reactiesnelheidsconstanten. Om te beginnen zoomen we in op de reactie waarbij natrium bindt aan de transporter. Zoals je ziet zijn de reactiesnelheidsconstanten in deze reactie afhankelijk van de membraanpotentiala V_m . De relatie tussen de membraanpotentiala V_m en μ wordt gegeven door $\mu = FV_m/RT$. Voor de temperatuur nemen we $T = 310$ K, de potentiala is hier in volt. Met dit deelmodel kunnen we de invloed van de membraanpotentiala op de binding van Na^+ aan de cotransporter onderzoeken.

Opgave 3.4

- Bouw in CellDesigner de reactie van stadium 1 (vrije transporter) naar stadium 2 (transporter met gebonden natrium). Een tip en een punt om even op te letten. De tip: je kunt een *globale* variabele (een variabele die voor alle reacties hetzelfde is) aanmaken door in het onderste paneel in CellDesigner het tabblad **parameters** op te zoeken en vervolgens via de **new** knop een nieuwe variabele aan te maken. Het aandachtspunt: alle reacties in het model zijn eerste orde in de componenten behalve de binding van Na^+ aan de transporter, deze reactie is een *tweede* orde reactie in Na^+

omdat in dit model twee Na^+ ionen tegelijk binden met de transporter. Het aanpassen van de stoichiometrie kan in CellDesigner door rechts op de reactie te klikken en **Edit Reaction** te kiezen.

- Onderzoek het effect van de membraanpotentialaal op de snelheid waarmee natriumionen binden aan de transporter.

Als we aannemen dat alle natriumionen die aan het membraan binden ook daadwerkelijk het membraan passeren dan is de stroom gelijk aan de snelheid waarmee de natriumgebonden cotransporter gevormd wordt, immers stroom is lading per seconde. De snelheid waarmee het cotransportercomplex gevormd wordt is gelijk aan:

$$\frac{d[C_{\text{Na}}]}{dt} = [\text{Na}^+]^2[C]K_{12}e^{-k_e\mu} \quad (3.7)$$

Uit de reactiesnelheidsconstanten in figuur 3.2 (b) zie je dat $k_e = 0.3$.

Opgave 3.5

- In het algemeen worden parameters in modellen uit experimenten verkregen. Via de zogenaamde ‘Voltage clamp’ methode kunnen stroompjes door een membraan gemeten worden bij een constant spanningsverschil over het membraan. Bedenk een manier waarop je met vergelijking (3.7) de parameter k_e kunt bepalen door de stroom door het membraan te meten als functie van de spanning.
- Bepaal de parameter k_e uit uit simulaties met CellDesigner. Gebruik hiervoor het model dat je voor het eerste stadium van het glucosetransport in CellDesigner hebt gebouwd en de manier die je hebt bedacht om de parameter k_e te bepalen. Hint, om de stroom te meten uit je simulatie kun je de helling (afgeleide) van de concentratiegrafiek voor $[C_{\text{Na}}]$ gebruiken op tijdstip $t \approx 0$.

Opgave 3.6

- Bouw het complete model voor de cotransporter zoals beschreven in het artikel van Eskandari et al. figuur 6B (Eskandari, 2005). Dit model is ook gegeven in figuur 3.2 (b).
- Voer de simulatie van het glucosetransport uit met glucoseconcentraties binnen en buiten de cel respectievelijk 500 mM en 50 mM, natriumconcentraties binnen en buiten de cel respectievelijk 10 mM 200 mM, en de concentratie ongebonden transporter buiten de cel gelijk aan 0.01.
- Je ziet dat niet alle glucose buiten de cel naar binnen gebracht wordt. Probeer het model uit te breiden met een extra reactie zodat wel alle glucose de cel in gaat.

Hoofdstuk 4

HDL transport

Modellen kunnen dienen om processen beter te begrijpen of om het gedrag van systemen te simuleren als dit niet of slecht mogelijk is aan het systeem zelf. Zo konden we het transport van glucose door het celmembraan via de SGLT1 transporter begrijpen in termen van het transportermodel in het vorige hoofdstuk. Als niet op voorhand duidelijk is hoe een proces precies verloopt, kan een model ook helpen bij het ontrafelen van de processen. In dit hoofdstuk worden twee alternatieve processen voor het transport van HDL (High Density Lipoprotein) in levercellen gemodelleerd. Aan de hand van de resultaten die met de modellen verkregen worden en experimentele resultaten proberen we te achterhalen welk van de twee processen het transport van HDL juist beschrijft. Overigens moet je voorzichtig zijn met de conclusie dat het ‘beste’ model het proces weergeeft zoals het in werkelijkheid verloopt. Experimenten die het gevonden model bevestigen zullen je overtuiging dat het model de werkelijkheid goed beschrijft versterken terwijl experimentele resultaten die het model tegenspreken aanleiding moeten zijn het model en de gemaakte aannames nog eens goed tegen het licht te houden.

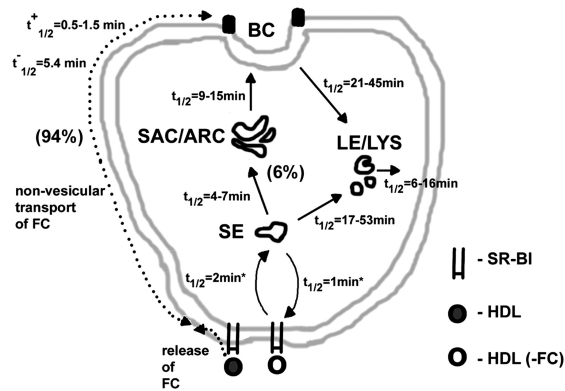
4.1 HDL transport

Het proces dat we bekijken is het transport van HDL in zogenaamde hepG2 cellen. Deze cellen zijn afkomstig van de ‘Human hepatocellular liver carcinoma cell line’. Samen met LDL (Low Density Lipoprotein) is HDL een belangrijke speler in het transport van slecht in water oplosbare lipiden en sterolen door het lichaam. LDL en HDL zijn specifieke eiwitten die aan, onder andere, cholesterol binden waardoor deeltjes ontstaan die in het waterige plasma oplosbaar zijn. Kort gezegd transporteert LDL cholesterol van de lever naar de verschillende delen van het lichaam en transporteert HDL cholesterol in omgekeerde richting, terug naar de lever. Dit laatste proces wordt dan ook ‘reverse cholesterol transport’ genoemd. Cholesterol dat door HDL in de lever wordt afgeleverd, wordt voor het overgrote deel via de gal uitgescheiden.

Het proces waar we ons hier op richten is het afleveren van cholesterol door HDL aan het basale membraan van gepolariseerde hepG2 cellen dat in contact staat met het bloedplasma

en het daarop volgende transport van HDL in de hepG2 cellen. Tot een aantal jaar geleden was niet precies bekend hoe het cholesterol werd afgeleverd en wat er daarna met het HDL gebeurde. Intensief onderzoek heeft een jaar of vijf geleden geleid tot publicatie (Wüstner, 2005) van de verschillende stappen in de verwerking van HDL in hepG2 cellen.

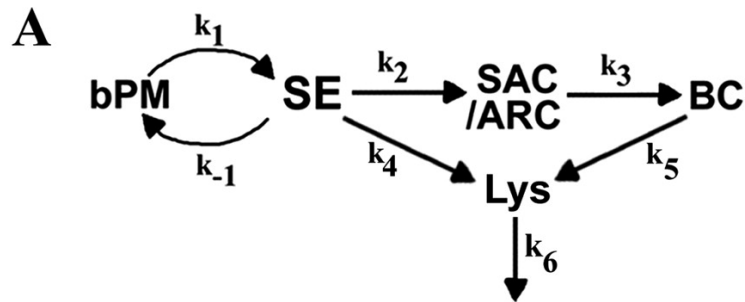
Figuur 4.1 geeft een globaal overzicht van het lot van HDL in de hepG2 cellen.



Figuur 4.1: Grafische weergave van het HDL transport in hepG2 cellen. Afbeelding uit het artikel van Wüstner (Wüstner, 2005)

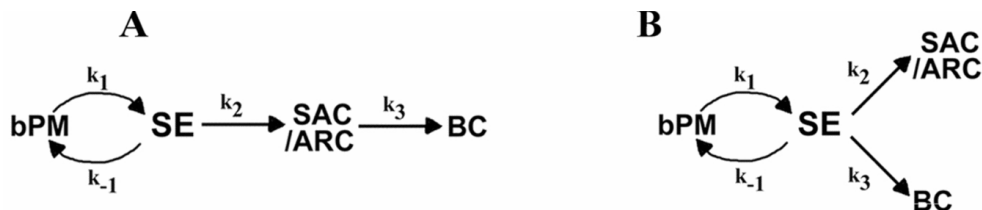
Met cholesterol beladen HDL bindt aan het SR-BI (Scavenger Receptor BI) eiwit waarbij het meeste cholesterol los wordt gemaakt van HDL en als vrij cholesterol door het cytoplasma naar de apicale zijde van de cel getransporteerd wordt. Daar wordt het vervolgens uitgescheiden in de galkanaaltjes (*biliary canaliculus*), BC in de figuur. Het HDL wordt met behulp van SR-BI opgenomen in de cel waar het in het SE (*sorting endosome*) wordt opgenomen. Van hieruit wordt het meeste in een snelle evenwichtsreactie teruggevoerd naar basale membraan. Een deel van het HDL gaat via het SAC/ARC (*SubApical Compartment/Apical Recycling Compartment*) naar de BC. Een deel blijft achter in de SE wat langzaam vervalt tot een LE/LYS (*Late Endosome/ Lysosome*) waar het HDL wordt afgebroken. Ook vanuit de BC wordt HDL opgenomen dat naar de lysosomen wordt getransporteerd om te worden afgebroken. Schematisch is het hele proces weergegeven in figuur 4.2

Het exacte mechanisme van al deze processen was niet helder. Zo was niet duidelijk of het HDL dat niet gerecycled wordt vanuit de sorting endosome (SE) naar de BC gaat of dat er ook een directe route van het SE naar de BC loopt. Beide routes zijn aangegeven in figuur 4.3. Om de exacte route van het HDL in de cel vast te stellen bouwt Wüstner in het eerste deel van zijn artikel uit 2005 voor elk van de twee routes een kinetisch model. Met het model simuleert hij de hoeveelheid HDL die in de verschillende compartimenten van de cel gevonden wordt als functie van de tijd. De simulaties vergelijkt hij vervolgens met de resultaten van fluorescentiemetingen waarmee het transport van HDL in hepG2 cellen gevolgd werd. De mate waarin de beide modellen overeenstemmen met de experimentele resultaten helpen hem met de keuze welke van de twee routes door HDL gevolgd worden. In het volgende bekijken we beide modellen en de argumenten van



Figuur 4.2: Uitgebreid model (ESTM) voor het transport van HDL. Afbeelding uit het artikel van Wüstner (Wüstner, 2005).

Wüstner voor zijn keuze.



Figuur 4.3: Alternatieven voor de route van HDL door hepG2 cellen. **A**: sequentiële transport **B**: parallelle route. Afbeelding uit het artikel van Wüstner (Wüstner, 2005).

4.1.1 Modellen voor HDL transport

De modellen voor het sequentiële transport van HDL en het parallel transport van HDL zoals schematisch weergegeven in figuur 4.3 worden beschreven door een aantal differentiaalvergelijkingen waarmee de hoeveelheid HDL in de verschillende compartimenten in de cel kan worden bepaald. Vergelijkingen (Eq.3) t/m (Eq. 6) in Wüstner geven de differentiaalvergelijkingen voor het sequentiële model, vergelijkingen (Eq. 3) en (Eq. 13) t/m (Eq. 15) geven de differentiaalvergelijkingen voor het parallelle model.

Opgave 4.1

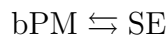
- Bestudeer het sequentiële en het parallelle model dat Wüstner in zijn artikel beschrijft, beginnend onderaan pagina 6767 bij het kopje “*Results*” en eindigend op pagina 6769 bij “*Validation of the Rapid Equilibrium Approach...*”. Probeer je een goed beeld te vormen van beide modellen en de aannames die gemaakt worden.

4.1.2 Evenwichtsbenadering

In beide modellen maakt Wüstner gebruik van de zogenaamde “rapid equilibrium approximation” (REA). Deze benadering zegt dat de evenwichtsinstelling van opname van HDL in het SE en recycling van HDL aan het basale membraan veel sneller verloopt dan het vervoltransport van HDL door de cel. Op grond van deze aanname wordt een evenwichtssituatie voor de HDL concentraties in het SE en het basaal membraan verondersteld. Door deze aanname verandert de differentiaalvergelijking (Eq. 4) voor de concentratie c_2 van HDL in het SE. In plaats van vergelijking (Eq. 4) wordt de verandering in c_2 nu gegeven door vergelijking (Eq. 12) waarbij een effectieve concentratie voor c_2 gebruikt wordt. Let op! In vergelijking (Eq. 12) van Wüstner staat na het tweede =-teken ten onrechte geen --teken.

Opgave 4.2

- Leidt uit het evenwicht tussen c_1 en c_2 vergelijking (Eq. 7) af.
- Bouw het model voor de evenwichtsreactie tussen opname van HDL in het SE en hergebruik aan het basale membraan in CellDesigner, met andere woorden bouw de evenwichtsreactie:



De waarden voor de evenwichtsconstanten k_1 en k_{-1} kun je vinden in de tekst onder figuur 9 op pagina 6776 van Wüstner. De waarden zijn gegeven in halfwaardetijden. Bij de bepaling van de reactiesnelheidsconstanten uit de halfwaardetijden kun je ervan uit gaan dat de reacties eerste orde in alle reactanten zijn. Als begin concentraties kun je nemen $c_1(0) = 1$ en $c_2(0) = 0$. Controleer of in je simulatie geldt: $q = 0.5$.

- Bepaal uit je simulatie na hoeveel tijd de evenwichtstoestand is bereikt. Hoe verhoudt deze tijd zich tot de reactiesnelheden van de overige reacties (zie figuur 9 Wüstner)? Denk je dat de evenwichtsbenadering een gerechtvaardigde benadering is?

In de laatste opgave heb je de tijd die nodig is voor het instellen van het evenwicht tussen gerecycled HDL en HDL dat wordt opgenomen door het SE geschat uit de concentratieprofielen. Om betere inschatting van de geldigheid van de veronderstelling dat er een evenwicht is tussen c_1 en c_2 gaan we de evenwichtsbenadering gebaseerd op vergelijkingen (Eq. 5), (Eq. 6) en (Eq. 12) van het sequentiele model vergelijken met het sequentiele model zonder evenwichtsbenadering dat gebaseerd is op vergelijkingen (Eq. 3) t/m (Eq. 6)

Opgave 4.3

- Bouw in CellDesigner het sequentiele model met en zonder de evenwichtsbenadering. Vergelijk de resultaten van de simulaties en geef nogmaals je mening over de validiteit van de evenwichtsbenadering. De waarden voor de evenwichtsconstanten die je nodig hebt kun je weer vinden in de tekst onder figuur 9 op pagina 6776 van Wüstner.

4.1.3 Parallel of sequentiël?

In zijn artikel overweegt Wüstner de twee verschillende routes die zijn geschetst in figure 4.3 voor het transport van HDL door de cel. Om tot een keuze tussen deze twee routes te komen vergelijkt Wüstner uit fluorescentie experimenten bepaalde concentraties met de oplossingen van de differentiaalvergelijkingen die het sequentiële en parallelle model beschrijven. Hij komt daarbij tot de keuze voor het sequentiële model. Deze conclusie is vooral gebaseerd op het eerst toenemen en vervolgens afnemen van de HDL concentratie in het SAC/ARC (zie figuur 1 van Wüstner) en op het feit dat de fit-parameters voor het sequentiële model een kleinere fout vertonen dan die voor het parallelle model (zie figuur 2 van Wüstner).

Opgave 4.4

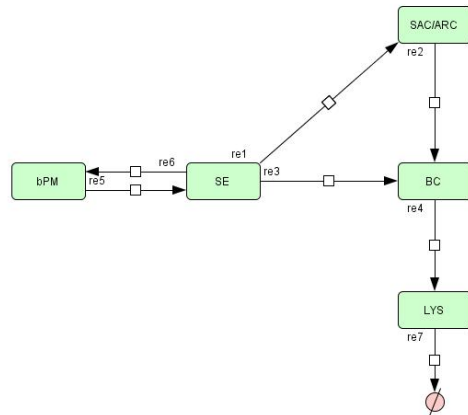
- Bouw en simuleer zowel het sequentiële model (vergelijkingen (Eq. 3) t/m (Eq. 6)) als het parallelle model (vergelijkingen (Eq. 3) plus (Eq. 13) t/m (Eq. 15)) in CellDesigner. Gebruik de parameters zoals die door Wüstner zijn bepaald uit figuur 2 van Wüstner (Lees de waarden zo goed mogelijk af uit de staafdiagrammen). Verder kun je $k_1 = 2 \text{ min}^{-1}$ en $k_{-1} = 1 \text{ min}^{-1}$ gebruiken.
- In de modellen die Wüstner gebruikt komt nog een parameter M voor, dit is de totale hoeveelheid HDL in het SE en aan het basale membraan. Als je kijkt naar de oplossingen van de differentiaalvergelijkingen in appendix A (vergelijkingen (Eq. A1) t/m (Eq. A6)), wat verwacht je dan dat het effect van een verandering in M is? Hoe komt de parameter M terug in de twee modellen die je zojuist in CellDesigner hebt gemaakt?
- Vergelijk de simulaties met de experimentele data in figuur 1 van Wüstner. Welk model heeft jou voorkeur?

4.1.4 Het volledige model

Om een keuze te maken tussen het sequentiële en het parallelle model heeft Wüstner alleen gekeken naar het transport van HDL naar het SAC/ARC en de BC. Zoals boven al is aangegeven en is te zien in figuur 4.2, wordt er ook HDL opgenomen vanuit de BC en getransporteerd naar een lysosoom om daar te worden afgebroken. Wüstner voegt deze extra route aan zijn sequentiële model toe en krijgt zo een uitgebreid HDL transportmodel. In de evenwichtsbenadering wordt dit model beschreven door de vergelijkingen (Eq. 17) tot en met (Eq. 20) van Wüstner.

Opgave 4.5

- Bouw het uitgebreide sequentiële model (ESTM) met evenwichtsbenadering in CellDesigner. Gebruik de halfwaardetijden die in de text onder figuur 9 vermeld staan om de reactiesnelheidsconstanten te bepalen. Voer de simulatie uit met de beginwaarde $c_2(0) = 1$ en de overige beginwaarden gelijk aan nul.



Figuur 4.4: Alternatief voor het volledige sequentiële transportmodel.

- In figuur 4.4 is een alternatief model gegeven voor het volledige sequentiële transportmodel uitgaande van het parallelle model van figuur 4.3 (**B**). Bouw dit model in CellDesigner, kies ‘redelijke’ waarden voor de reactiesnelheidsconstanten die niet in het artikel van Wüstner staan. Simuleer ook dit uitgebreide parallelle model.
- Geef je mening over de keuze voor het sequentiële model en de aanwijzingen daarvoor nu je het volledige model en een mogelijk alternatief hebt gezien.

Hoofdstuk 5

SIR modellen

5.1 Inleiding

In deze opdracht gaan we het verloop van een epidemie in een populatie modeleren. We gaan in eerste instantie uit van een gesloten systeem. Tijdens de epidemie is de populatie geïsoleerd van de buitenwereld. Er is geen immigratie en emigratie van personen. Een bekend voorbeeld dat we in de eerste opdracht zullen uitwerken is het model van de pestepidemie in Eyam van mei 1666 tot oktober 1666. Tijdens deze pest epidemie mocht niemand het dorp in en uit. We nemen in eerste instantie ook aan dat de populatie niet groeit door geboorte of dat er sterfte door andere oorzaken plaats vindt. Deze aanname gaat op bij snelverlopende epidemieën zoals bijvoorbeeld een griep epidemie op een engelse jongens kostschool. We gaan uit van een systeem dat bestaat uit drie compartimenten. Een persoon kan in drie verschillende toestanden verkeren: vatbaar, geïnfecteerd of immuun:

- Hij kan vatbaar zijn en is onderdeel van het compartiment of klasse vatbaar. In de engstalige literatuur is dit de klasse susceptible S . Hij kan de ziekte krijgen als hij een persoon tegenkomt die besmettelijk is, het pathogeen wordt overgedragen, en hij ook daadwerkelijk besmet wordt.
- Een persoon is geïnfecteerd en hoort tot de klasse infectives I . Hij kan als hij in aanraking komt met personen S die bevattelijk zijn deze besmetten.
- Een persoon is na de ziekte niet langer besmettelijk. Hij hoort tot het compartiment recovered R . Deze personen zijn niet langer besmettelijk omdat zij aan de populatie zijn onttrokken door isolatie, zijn overleden of hersteld en immuun zijn geworden voor de ziekte. Het verloop wordt door het volgende model weergegeven.

5.2 Het SIR model

We definiëren drie compartimenten S , I en R . Dit model wordt in de literatuur een SIR-model genoemd. Het SIR model kunnen we als volgt beschrijven. Een persoon is vatbaar en wordt besmet als hij in aanraking komt met een geïnfecteerd persoon. Het individu is per direct besmettelijk besmet en kan bij contact met een ander individu S deze besmetten.

Het geïnfecteerde individu herstelt en is daarna immuun, overlijdt of wordt geïsoleerd en draagt niet langer bij aan het compartiment besmettelijke personen I . De persoon gaat deel uitmaken van het compartiment recovered R . Het transport tussen de compartimenten is



In het klassieke model veronderstellen we dat de totale populatie gedurende de ziekte constant is. Dat wil zeggen

$$S + I + R = N \quad (5.2)$$

waarbij N de grootte van de populatie is. Let wel, aan de ziekte overleden individuen worden meegeteld in het R compartiment. Bij epidemieën zoals HIV/AIDS of TB die zich over een langere tijd uitstrekken dienen we het model uit te breiden met geboorte en natuurlijke sterfte. het effect hiervan zullen we in de laatste opdracht bestuderen. Hierbij wordt een contact gezien als het overdragen van het pathogen door I aan een ander persoon S . Een aanname is dat de persoon na besmetting direct besmettelijk is. Deze aanname is niet altijd realistisch. Een gemiddeld lid van de populatie maakt contact met βN anderen per eenheid van tijd. Alleen een contact met een vatbaar persoon leidt tot een nieuwe besmetting. De kans op een contact met een vatbaar persoon is het aantal vatbare personen gedeeld door het totaal aantal personen (S/N). Het totaal aantal besmettingen dat per eenheid van tijd plaats vindt is dan $(\beta N)(S/N)I$. De toename in het geïnfecteerde compartiment is evenredig met βIS . De snelheid waarmee het aantal vatbare personen S afneemt is evenredig met $-\beta IS$. Personen die besmettelijk zijn, raken na een bepaalde tijd hun besmettelijkheid kwijt. Indien personen gemiddeld a dagen besmettelijk zijn, dan verliezen van alle besmettelijke personen er elke dag een deel $\alpha = 1/a$ hun besmettelijkheid. Er is dus een afname in het aantal geïnfecteerde personen per tijdseenheid van αI . Het aantal immune of aan de ziekte overleden personen R neemt toe met dit aantal.

Onderstaande model is het klassieke Kermack-McKendric model.

$$\frac{dS}{dt} = -\beta IS \quad (5.3)$$

$$\frac{dI}{dt} = \beta IS - \alpha I \quad (5.4)$$

$$\frac{dR}{dt} = \alpha I \quad (5.5)$$

Als we bovenstaande differentiaal vergelijkingen optellen dan zien we dat de populatiegrootte inderdaad constant is

$$\frac{dS}{dt} + \frac{dI}{dt} + \frac{dR}{dt} = 0 \implies S(t) + I(t) + R(t) = N \quad (5.6)$$

Het model is gesloten. Een belangrijke vraag is hoe groot het maximum aantal geïnfekteerde personen is bij het verloop van de epidemie als functie van de tijd en de beginwaarden S_0 en I_0 . $I(t)$ heeft een maximum of minimum als de eerste afgeleide dI/dt gelijk is aan 0.

$$\frac{dI}{dt} = \beta IS - \alpha I = I(\beta S - \alpha) = 0 \longrightarrow \beta S - \alpha = 0 \quad S = \frac{\alpha}{\beta} = \sigma \quad (5.7)$$

De kritische parameter σ wordt de relative removal rate genoemd. Als S_0 groter is dan σ dan neemt het aantal geïnfekteerden toe met een maximum bij $S = \sigma$. Daarna dooft de epidemie uit. Als S_0 kleiner is dan σ dan dooft de epidemie direct uit.

Het stelsel differentiaalvergelijkingen is inhomogeen en analytisch niet oplosbaar. We zullen de differentiaal vergelijkingen van het model integreren met behulp van Matlab. We kunnen wel een relatie afleiden tussen $I(t)$ en $S(t)$.

$$\frac{dI}{dS} = \frac{\beta SI - \alpha I}{-\beta SI} = -1 + \frac{\sigma}{S} \quad \sigma = \frac{\alpha}{\beta} \quad (5.8)$$

Integratie geeft

$$I + S - \sigma \ln S = I_0 + S_0 - \sigma \ln S_0 \quad (5.9)$$

Deze vergelijking beschrijft het verloop van de epidemie in het $(S(t), I(t))$ fasevlak. In dit fasevlak worden $S(t)$ en $I(t)$ tegen elkaar uitgezet. Deze vergelijking gaan we gebruiken om σ te schatten als we het aantal vatbare personen S_0 aan het begin van de epidemie en S_∞ aan het einde van de epidemie kennen. In het geval van de pestepidemie in Eyam is S_∞ het aantal overlevenden. We veronderstellen dat op $t = 0$ het aantal geïnfekteerde personen verwaarloosd mag worden ten opzichte van S . S_0 is dan bij benadering gelijk aan de populatie grootte N en $I_0 = 0$

$$I + S - \sigma \ln S = S_0 - \sigma \ln S_0 \quad (5.10)$$

als t nadert tot oneindig dan verdwijnen alle geïnfekteerden personen uit de populatie, $I_\infty = 0$ en $S = S_\infty$. Invullen in vergelijking (5.10) levert

$$S_\infty - \sigma \ln S_\infty = S_0 - \sigma \ln S_0 \quad (5.11)$$

Vergelijking (5.11) gebruiken we om σ te schatten

$$\sigma = \frac{S_\infty - S_0}{\ln S_\infty - \ln S_0} \quad (5.12)$$

5.2.1 Opdracht Longpest in Eyam voorjaar 1666

We gebruiken het klassieke Kermack-McKendric model om het verloop van een longpest epidemie in Eyam te beschrijven in 1666. De sterfte aan de pest in Eyam is goed gedocumenteerd en de bevolking van Eyam legde zichzelf een strenge quarantaine op waardoor

er geen immigratie en emigratie gedurende het verloop van de epidemie plaats vond. De epidemie kende twee golven. De eerste was een uitbraak van builenpest. De besmetting vond vermoedelijk plaats door met vlooiën besmette dekens die van Londen naar Eyam zijn getransporteerd. De tweede golf was een uitbraak van longpest. Hierbij verloopt besmetting door contact van een besmet persoon met een vatbaar persoon. We modeleren het verloop van de tweede uitbraak in de periode half mei 1666 tot half oktober 1666. De epidemie verloopt over een tijddomein van 7 maanden. Als tijdeenheid nemen we de maand. Aan het begin van de epidemie heeft Eyam 261 inwoners en aan het einde van de epidemie zijn er 83 overlevenden. De data is in onderstaande Tabel weergegeven.

Tabel 5.1: Data Eyam pestepidemie 1666

Datum	Susceptibles	Infectives
15 juni	254	7
3/4 juli	235	14.5
19 juli	201	22
3/4 augustus	153.5	29
19 augustus	121	21
3/4 september	108	8
19 september	97	8
4 oktober	–	–
20 oktober	83	0

We gebruiken vergelijking (5.12) om β/α te schatten. Aan het begin van de epidemie is $S_0 = 254$, $I_0 = 7$ en aan het einde is $S_\infty = 83$. De ratio β/α is dan $6.54 \cdot 10^{-3}$ en $\alpha/\beta = 153$. Een persoon is gemiddeld 11 dagen of 0.3667 maand besmettelijk. Dus $\beta = 0.0178$. Het stelsel is analytisch niet oplosbaar en we zullen het stelsel van differentiaal vergelijkingen integreren met behulp van Matlab. De m-code van het Kermack-McKendrick SIR model is te vinden op black board. Waar nodig is de code van commentaar voorzien. De commentaarregels beginnen met een dollarteken.

Opgave 5.1

- Bouw het model in en voer een simulatie uit voor de gegeven beginvoorwaarden. Vergelijk de voorspelde waarden $I(t)$ met de datapunten.
- Maak een plot van t versus $S(t)$ en t versus $R(t)$. Pas hiervoor zelf de m-file aan. Informatie over het commando plot kun je vinden onder de helpfunctie van Matlab.
- Vervolgens zullen we het verloop van de epidemie in het $S(t), I(t)$ fasevlak als functie van de startwaarden S_0 en I_0 bestuderen. De populatiegrootte is op $t = 0$ gelijk aan 261 inwoners. Voer voor $I_0 = 1, 26, 51, 76, 101, 126, 151, 176, 201, 226$ en 251 een simulatie uit. Let, wel de populatie grootte N is constant. Door gebruik te maken

van het commando `hold on` kunnen we de banen van de oplossingen in één figuur worden weergegeven.

- Voor welke startwaarden van S_0 neemt de epidemie toe en voor welke waarden dooft de epidemie uit.
- Maak een schatting van σ . Gebruik hiervoor de resultaten die je uit de simulaties hebt verkregen en vergelijk deze waarde met de berekende waarde van de relative removal rate.

5.3 SIR model waarbij β een functie is van de populatie grootte

In het SIR model hebben we tot nu toe aangenomen dat het aantal contacten βN rechtevenredig is met de populatiegrootte N . Deze aanname is niet altijd even realistisch. Met name de overdracht van geslachtsziekten voldoet hier niet aan. Voor de verspreiding van het HIV virus zijn dan ook meer generieke modellen ontwikkeld. Voor een generiek model veronderstellen we dat β een functie is van populatie grootte N , id est $\beta(N)$. Een gemiddeld geïnfecteerd individu maakt $C(N)$ contacten met een vatbaar individu S per eenheid van tijd. We definiëren

$$\beta(N) = \frac{C(N)}{N} \quad (5.13)$$

Als $C(N) = \beta N$ dan verkrijgen we het klassieke Kermack-McKendric model. In het model dat we nu gaan bestuderen nemen we aan dat een geïnfecteerd individu β contacten heeft per dag. Het aantal contacten is dus onafhankelijk van de populatiegrootte N . In totaal zijn er dan βI contacten. De kans op een contact met een S is S/N . Het SIR model is dan

$$\frac{dS}{dt} = -\beta I \frac{S}{N} \quad (5.14)$$

$$\frac{dI}{dt} = \beta I \frac{S}{N} - \alpha I \quad (5.15)$$

$$\frac{dR}{dt} = \alpha I \quad (5.16)$$

Dit model is onder andere door het RIVM gebruikt om het verloop van een griepiepidemie in Nederland te simuleren.

5.4 Het SIR model met geboorte en sterfte

Tot nu toe hebben we aangenomen dat de tijdschaal van het verloop van de epidemie kort is ten opzichte van groei van de populatie door geboorte en sterfte door overige doodoorzaken.

Voor dit model nemen aan dat $C(N) = \beta$. Het aantal geboorte per tijdseenheid is evenredig met de populatie omvang N . Een individu dat wordt geboren is vatbaar en treedt toe tot het S compartiment met snelheid μN . Sterfte is evenredig met de het aantal individuen per compartiment. We nemen aan dat de evenredigheidsconstane μ voor geboorte ook wel birth rate genoemd gelijk is aan de evenredigheidsconstante voor sterfte ook wel death rate genoemd. het model wordt dan.

$$\frac{dS}{dt} = \mu N - \mu S - \beta I \frac{S}{N} \quad (5.17)$$

$$\frac{dI}{dt} = \beta I \frac{S}{N} - \alpha I - \mu I \quad (5.18)$$

$$\frac{dR}{dt} = \alpha I - \mu R \quad (5.19)$$

waarbij de populatie grootte gelijk is aan N

$$S + I + R = N \quad (5.20)$$

Voordat we het model simuleren delen we bovenstaande vergelijking door N . We normaliseren de vergelijkingen voor de populatiegrootte.

$$s + i + r = 1 \quad (5.21)$$

waarbij

$$s = \frac{S}{N} \quad i = \frac{I}{N} \quad r = \frac{R}{N} \quad (5.22)$$

Bovenstaande variabelen zijn genormaliseerde variabelen en hebben een waarde die ligt in het domein van nul tot en met één. Op t_0 is

$$s_0 = \frac{S_0}{N} \quad i_0 = \frac{I_0}{N} \quad r_0 = \frac{R_0}{N} \quad (5.23)$$

als we het stelsel differentiaalvergelijkingen delen door N krijgen we

$$\frac{d(\frac{S}{N})}{dt} = \mu - \mu \frac{S}{N} - \beta \frac{S}{N} \frac{I}{N} \quad (5.24)$$

$$\frac{d(\frac{I}{N})}{dt} = \beta \frac{S}{N} \frac{I}{N} - \alpha \frac{I}{N} - \mu \frac{I}{N} \quad (5.25)$$

$$\frac{d(\frac{R}{N})}{dt} = \alpha \frac{I}{N} - \mu \frac{R}{N} \quad (5.26)$$

Substitutie van de genormaliseerde variabelen s , i , en r levert het stelsel differentiaalvergelijkingen

$$\frac{ds}{dt} = \mu - \mu s - \beta si \quad (5.27)$$

$$\frac{di}{dt} = \beta si - \alpha i - \mu i \quad (5.28)$$

$$\frac{dr}{dt} = \alpha i - \mu r \quad (5.29)$$

5.4.1 Opdracht SIR model met geboorte en sterfte

Opgave 5.2

- Bouw het model en voer de volgende simulaties uit.
- We zullen we het verloop van de epidemie in het $(s(t), i(t))$ fasevlak als functie van de startwaarden s_0 en i_0 bestuderen. De populatiegrootte is op $t = 0$ gelijk aan 1. Voer voor $i_0 = 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9$ een simulatie uit. Let wel, $n = 1$. De birth rate is gelijk aan de death rate $\mu = 0.09$, $\beta = 3$ en $\alpha = 1$. Door gebruik te maken van het commando `hold on` kunnen de banen van de oplossingen in één figuur worden weergegeven.
- We zien dat de banen in het $(s(t), i(t))$ fasevlak naar een evenwicht (s_e, i_e) spiraliseren. Dit evenwichtspunt kunnen we ook berekenen. In het evenwichtspunt geldt dat $s(t)$ en $i(t)$ niet meer toe of afnemen als functie van de tijd.

$$\frac{ds}{dt} = 0 \quad \text{en} \quad \frac{di}{dt} = 0 \quad (5.30)$$

en we bereken de evenwichtswaarden s_e en i_e door onderstaande vergelijkingen op te lossen.

$$\mu - \mu s_e - \beta s_e i_e = 0 \quad (5.31)$$

$$\beta s_e i_e - \alpha i_e - \mu i_e = 0 \quad (5.32)$$

$$(5.33)$$

Laat zien dat het evenwichtspunt (s_e, i_e) als functie van de parameters μ , β en σ gelijk is aan

$$(s_e, i_e) = \left(\frac{1}{\sigma}, \frac{\mu(\sigma - 1)}{\beta} \right) \quad (5.34)$$

waarbij σ is gedefinieerd als

$$\sigma = \frac{\beta}{\alpha + \mu} \quad (5.35)$$

- De wiskunde die nodig is om de stabiliteit van het evenwicht te analyseren valt buiten het bestek van deze cursus. We zullen deze analyse numeriek uitvoeren. Voer een simulatie uit voor $\sigma = 3$ met $\mu = 0.025$, $\beta = 3$ en $\alpha = 0.975$ en $\sigma = 0.5$ met $\mu = 0.025$, $\beta = 0.5$ en $\alpha = 0.975$. Vergelijk de resultaten.

Hoofdstuk 6

Signalering

6.1 Introductie

Signalering is een belangrijk biologisch proces waarbij informatie overdracht plaatsvindt. Er zijn talloze voorbeelden van signalering. Meestal bestaat signalering uit een aantal opeenvolgende reacties. In dit hoofdstuk gaan we een model van Kholodenko over mitogen-activated protein kinase (MAPK) cascade behandelen. Het doel is om het model zoals beschreven in het artikel te maken en te kijken of de resultaten zoals beschreven in het paper te reproduceren zijn.

6.2 Reacties

In figuur 6.1 staat het kinetische schema van de MAPK cascade.

De cascade begint met een MKKKK. Deze beïnvloed reactie nummer 1 van MKKK naar MKKK-P. Deze eerste reactie is een fosforeleringsreactie. Reactie nummer twee is dan de de-fosforelering. Het gefosforeleerde eiwit MKKK-P beïnvloed de fosforelering op het lagere niveau, dus de reacties 3 en 4. Het dubbel gefosforeleerde MKK-PP beïnvloed weer de reacties op het nog lagere niveau, de reacties 7 en 8. Het eiwit MAPK-PP geeft in de celkern een signaal af. Ook beïnvloed dit eiwit de reactie nummer 1. Er is dus sprake van terugkoppeling. Deze terugkoppeling kan aanleiding zijn tot complex gedrag.

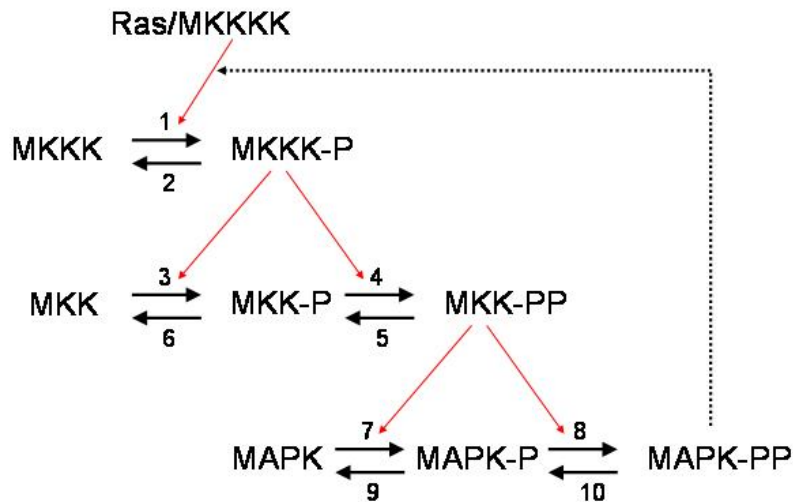
De kinetische vergelijkingen voor de verschillende eiwitten zien er als volgt uit.

$$\frac{d\text{MKKK}}{dt} = v_2 - v_1 \tag{6.1}$$

$$\frac{d\text{MKKK} - \text{P}}{dt} = v_1 - v_2 \tag{6.2}$$

$$\frac{d\text{MKK}}{dt} = v_6 - v_3 \tag{6.3}$$

$$\frac{d\text{MKK} - \text{P}}{dt} = v_3 + v_5 - v_4 - v_6 \tag{6.4}$$



Figuur 6.1: Kinetisch schema van de MAPK cascade.

$$\frac{d\text{MKK} - \text{PP}}{dt} = v_4 - v_5 \quad (6.5)$$

$$\frac{d\text{MAPK}}{dt} = v_{10} - v_7 \quad (6.6)$$

$$\frac{d\text{MAPK} - \text{P}}{dt} = v_7 + v_9 - v_8 - v_{10} \quad (6.7)$$

$$\frac{d\text{MAPK} - \text{PP}}{dt} = v_8 - v_9 \quad (6.8)$$

$$\text{MKKK} + \text{MKKK} - \text{P} = \text{constant} \quad (6.9)$$

$$\text{MKK} + \text{MKK} - \text{P} + \text{MKK} - \text{PP} = \text{constant} \quad (6.10)$$

$$\text{MAPK} + \text{MAPK} - \text{P} + \text{MAPK} - \text{PP} = \text{constant} \quad (6.11)$$

De reactie snelheden v kunnen in table 2 van het artikel van Khododenko gevonden worden.

Opgave 6.1

- Maak een programma in MATLAB dat het systeem van differentiaal vergelijkingen oplost. Kijk of je de resultaten zoals beschreven in figuur 2 van het artikel kunt reproduceren.

- Hoe kun je door de parameters te veranderen het oscilerende gedrag stoppen?
- Als je naar de vergelijkingen kijkt is er dan sprake van behoud van massa? Waar wel en waar niet?

Hoofdstuk 7

Modellen voor genregulatie

Luuk Mocking, Wouter W. Woud en Tom Boer, 21-6-2010

7.1 Inleiding

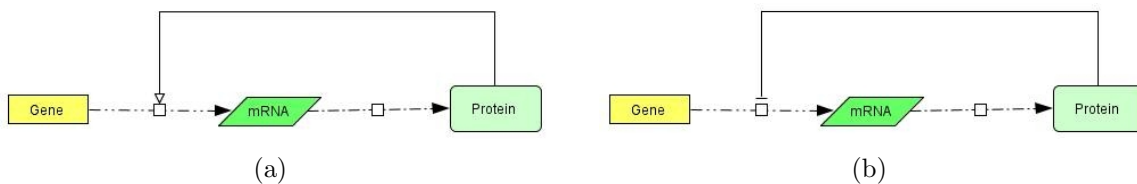
Doel van dit project was het maken van een werkcollege/ computerpracticum over genregulatie en het modelleren daarvan. Dit werkcollege is bedoeld voor tweedejaars studenten Biomedische wetenschappen. Voor dit project hebben we gebruik gemaakt van het programma MATLAB. Daarnaast proberen we inzicht te geven in netwerkregulatie en oscillaties.

Het werkcollege is gebaseerd op het artikel “Design principles of biochemical oscillators” (Novk B, Tyson JJ., 2008). In dit artikel worden verschillende biochemische oscillerende systemen beschreven en gemodelleerd. De uitgevoerde simulaties zijn relatief eenvoudig na te doen dankzij de gegeven formules en parameters. Alvorens in te gaan op de oscillerende systemen beginnen we het werkcollege met een aantal eenvoudige reacties. Op deze manier kan de basiskennis van de genregulatie worden opgefrist en kan de basiskennis van MATLAB worden overgedragen. Langzamerhand gaan we vervolgens over op complexere systemen. Tussendoor worden opdrachten gegeven en vragen gesteld. We hebben hierbij geprobeerd te variëren tussen theorie en inzichtvragen. Naarmate het werkcollege vordert wordt minder ”voorgezegdën moeten de studenten zelfstandiger de modellen uitvoeren. Tussen het meer wiskundige modelleren door geven we uitleg over genregulatie en de verschillende condities van oscillatie. Door middel van vragen en opdrachten onderzoeken de studenten ook zelf deze voorwaarden van oscillatie. Bovendien proberen we de gebruikte vergelijkingen toe te lichten. Wij hopen aan het eind van het practicum de studenten inzicht te hebben gegeven in genregulatie, MATLAB en het modelleren van genregulerende systemen. Zelf hebben wij ook geleerd van dit project. Het programma MATLAB was ons onbekend en hebben wij gedurende dit project leren beheersen. Ook zijn wij dieper dan voorheen ingegaan op oscillaties en voorwaarden voor oscillaties. We hadden al aardig wat kennis over genregulatie en hebben dit nu kunnen visualiseren door het te modelleren. Ook hebben wij ontdekt hoe het is om vragen te bedenken in plaats

van te beantwoorden.

7.2 Tutorial

Om eiwitten te maken dienen eerst genen te worden geactiveerd. Deze genen worden vervolgens afgeschreven in mRNA (transcriptie), dit mRNA wordt vervolgens vertaald naar een eiwit (translatie). Vaak heeft het geproduceerde eiwit een negatieve (of positieve) feedback op de mate van transcriptie van het bijbehorende gen. Omdat er niet direct van gen naar eiwit kan worden gegaan, treed er enige 'vertraging' op in de reactie; eerst moet er namelijk mRNA gevormd worden! Deze zogenoemde 'delay' kan zorgen voor oscillaties (schommelingen) in de concentraties van deze componenten.



Figuur 7.1: In figuur (a) heeft het geproduceerde eiwit een positieve feedback op de transcriptie, in figuur (b) heeft deze een negatieve feedback.

Opgave 7.1

- Beredeneer wat er bij beide systemen gebeurt wat betreft de mRNA en eiwit concentraties.

Opgave 7.2

- Wat wordt bedoeld met oscillaties in een cel?

Opgave 7.3

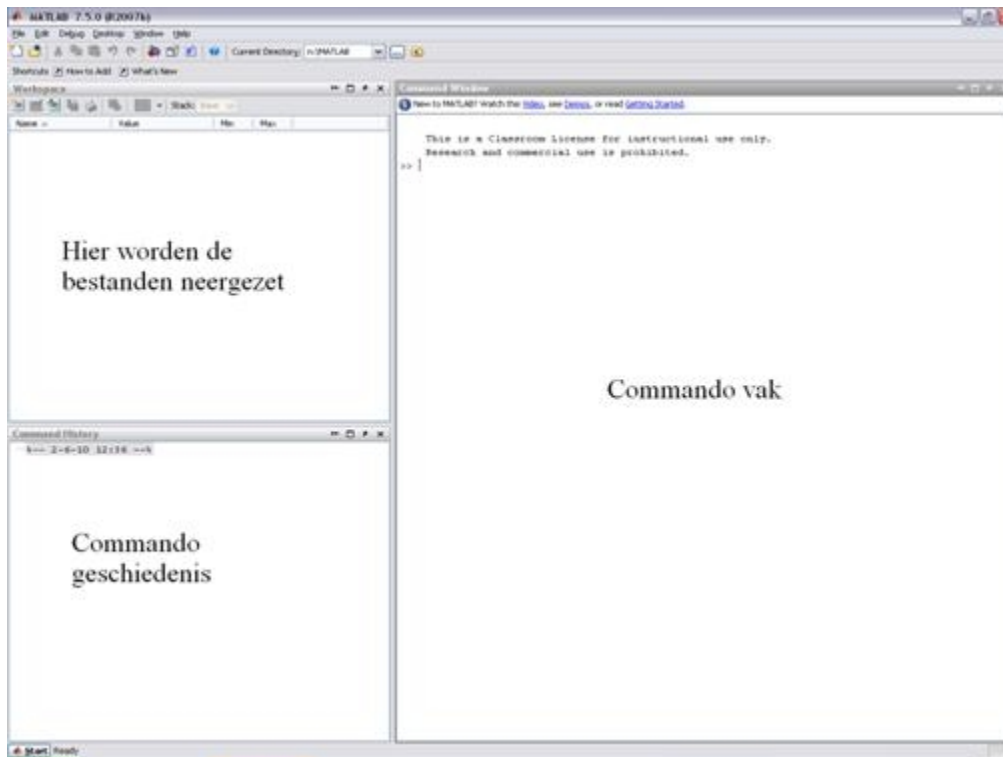
- Wat zou het nut kunnen zijn van een dergelijke oscillatie?

We gaan tijdens dit werkcollege systemen simuleren met behulp van het computerprogramma MATLAB, (zie figuur 7.2) te vinden onder `start` → `alle programmas` → `MATLAB`.

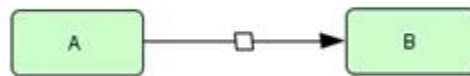
Om vertrouwd te raken met MATLAB beginnen we met de reactie in figuur 7.3.

Opgave 7.4

- Stel de differentiaalvergelijking op voor de afname van A. Ga uit van een eerste orde lineaire kinetische reactie.



Figuur 7.2: De MATLAB interface (als je per ongeluk iets af sluit krijg je het terug via desktop).



Figuur 7.3: A vormt B.

Voor iedere simulatie die in MATLAB uitgevoerd dient te worden, moet er eerst een file worden gemaakt waarin de uit te voeren simulatie staat beschreven. Vaak bestaat een dergelijke file uit de functie die men wilt simuleren, gevolgd door de variabelen die een rol spelen tijdens deze simulatie. Ook worden op deze manier enkele constanten vastgelegd. In MATLAB wordt dit allemaal uitgevoerd in een zogenoemde “M-file”.

Opgave 7.5

- Maak een nieuwe M-file (File → new → M-file). Voer het volgende in in de M-file:

```
function dBdt=opgave5(t,B)
k1=0.4;A=23;
dBdt=
```

Vul achter dBdt= de differentiaalvergelijking van opgave 6.4 in. (vul als constante k_1

in) Sla de file op als `opgave5.m`

- Los de differentiaalvergelijkingen op met het volgende commando:

```
sol=ode23(@vraag5,0:20,[0]);
```

(je voert hier een ordinary differential equation in voor de M-file `opgave5.m` op het tijdsinterval 0 tot 20 met een beginconcentratie van 0 voor B). Voor meer informatie over hoe de ODE-solver werkt kun je het commando `help ode23` uitvoeren. Je kunt dit help commando gebruiken voor informatie over alle in dit werkcollege gebruikte functies.

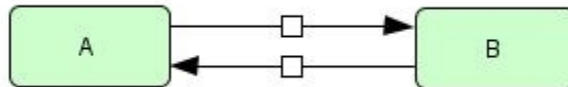
- Maak een grafiek van de waarden met het commando:

```
plot(sol.x,sol.y)
```

Opgave 7.6

- Wat gebeurt er met de concentratie van B? Wat betekent dit voor de concentratie van A, en is dit reel?

We nemen nu een iets moeilijker model dat in figuur 7.4 is getekend.



Figuur 7.4:

In dit model wordt B gevormd door A, maar wordt A op zijn beurt gevormd door B. Na verloop van tijd zal zich een evenwicht in stellen. Ook hier kun je uitgaan van eerste orde lineaire reacties.

Opgave 7.7

- Stel beide differentiaalvergelijkingen op. Gebruik bij de reactie van A naar B de reactieconstante k_1 en bij de omgekeerde reactie de constante k_2 . Zorg ervoor dat je deze k_1 en k_2 zo maakt dat er twee keer zo veel B als A wordt gevormd.

Opgave 7.8

- Maak een nieuwe M-file en vul het volgende commando in:

```

function dydt=vraag8(t,y)
k1=;k2=;
dydt(1)=
dydt(2)=
dydt=dydt';

```

Vul de differentiaalvergelijkingen en de gekozen k waarden van opgave 7.2 in. Gebruik voor de concentratie van A $y(1)$ en voor B $y(2)$. $dydt(1)$ is dus $dAdt$. Sla het op als `opgave8.m`

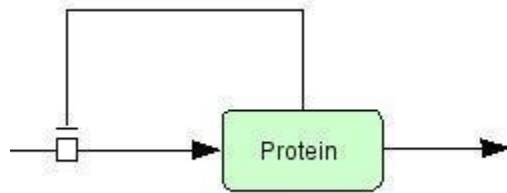
- Los het systeem op met de `ode23`-functie, waarbij je zelf de een tijdsinterval kiest. Neem als begin concentraties `[300]`.
- N.B. het tijdsinterval is afhankelijk van de k waarden die je gekozen hebt.

Opgave 7.9

- Maak een plot. Heb je de juiste k waarden genomen?

7.3 Oscillaties

Zoals al eerder gezegd kunnen er in een cel oscillaties plaatsvinden. In het volgende model onderdrukt een eiwit zijn eigen synthese. Hoe hoger de concentratie van het eiwit, hoe sterker het zijn eigen synthese remt.



Figuur 7.5:

Opgave 7.10

- Zullen er in het model in figuur 7.5 oscillaties plaatsvinden? Leg uit

In het voorgaande model wordt de verandering in de eiwit concentratie per eenheid van tijd weergegeven door de volgende differentiaal vergelijking:

$$\frac{dY}{dt} = k_1 S \frac{K_d^p}{K_d^p + Y^p} - k_2 E_t \frac{Y}{K_m + Y} \quad (7.1)$$

In deze vergelijking hebben alle constanten behalve p de waarde 1 ($p = 2$). De eerste term laat zien in welke mate het eiwit gesynthetiseerd wordt, terwijl de tweede term de degradatie ervan laat zien. De vergelijking geeft een concentratieverandering in de tijd weer, het gaat hier dus om de synthese- en degradatiesnelheid.

De mate van synthese recht evenredig met een signaal S (welke staat voor de concentratie van een transcriptiefactor welke het gen opreguleert), vermenigvuldigd met een factor $\frac{K_d^p}{K_d^p + Y^p}$ welke aangeeft hoe de transcriptie wordt downgereguleerd door eiwit Y . In deze factor staat K_d voor de dissociatie constante voor de binding van eiwit Y aan een upstream regulatie sequence van het gen, en p is een integer die aangeeft of eiwit Y aan het DNA bindt als monomeer, dimeer of trimeer. De reactie constante k_1 is de mate van synthese (per signaal-eenheid) van eiwit Y wanneer de concentratie van Y laag is en het gen volledig tot expressie komt.

De eiwitdegradatie wordt beschreven met behulp van Michaelis-Menten kinetiek. In de tweede term staat E_t voor de totale concentratie van een protease dat degradeert, k_2 is de reactie constante hiervan en de bijbehorende Michaelis-Menten constante is K_m .

Opgave 7.11

- Bovenstaande formule (7.1) bestaat uit 2 delen: de synthese en de afbraak. Simuleer beide delen in een M file:

```
function dydt=vraag11(t,y)
y=[0:0.1:4];
k1=1; k2=1; S=1; Kd=1; p=2; Km=1; Et=1;
synthese=
degradatie=
plot(y,synthese,y,degradatie)
```

Vul de differentiaalvergelijkingen in voor de synthese en de degradatie. Vermenigvuldig de degradatie met -1.

NB: Voeg voor elke machtsverheffing en deling een punt toe! Dit geldt voor iedere simulatie. Deze punt is vooral van belang bij het rekenen met matrices. Het geeft (bij bijvoorbeeld een vermenigvuldiging) aan dat ieder element van de matrix wordt vermenigvuldigd met hetzelfde element in een andere matrix, zoals gewenst bij de berekeningen in dit werkcollege. Zonder deze punt worden de matrices als geheel vermenigvuldigd, wat ongewenste resultaten oplevert.

Let op: er hoeft geen `ode23` uitgevoerd te worden. Voer de M-file uit door de naam van de M-file in het commandovak te typen.

Opgave 7.12

- Op welk punt verwacht je dat de gehele synthese + degradatie in evenwicht is na het zien van de plot?

Opgave 7.13

- Simuleer de gehele synthese+degradatie en maak een plot (met `ode23` etc.). Doe dit voor de y_0 waarden 0, 0.5, 1, 1.5 en 2 en 2.5. Met het commando `hold on` voorkom je dat de vorige grafiek verdwijnt als je een nieuwe maakt. Klopte je antwoord bij opgave 6.12?

Opgave 7.14

- Als je de bij opgave 6.12 verkregen degradatie waarden van de synthese waarden af trekt. Krijg je dan dezelfde grafiek als bij opgave 6.13? Leg uit.

7.4 Time-delay

Zoals je hiervoor een aantal keer hebt gezien bereiken reactie na enige tijd vaak een evenwicht. In de levende cel is dit ook vaak het geval. Maar er zijn ook situaties waarin geen evenwicht wordt ingesteld, bijvoorbeeld als de externe omstandigheden fluctueren of als het systeem aan het oscilleren is.

Een systeem kan oscilleren door verschillende oorzaken, zoals een serie intermediairen, feedback loops en time-delay.

We bekijken nu het systeem weergegeven door de volgende differentiaalvergelijking:

$$\frac{dY}{dt} = k_1 S \frac{K_d^p}{K_d^p + (Y(t - \tau))^p} - k_2 E_t \frac{Y}{K_m + Y} \quad (7.2)$$

Bij het simuleren van dit systeem moeten we rekening houden met de time-delay. Deze zien we terug in de synthese term in de vorm $Y(t - \tau)$, waarbij τ staat voor de time-delay (in minuten). De verandering van Y per tijdseenheid is dus afhankelijk van de concentratie van Y in het verleden, namelijk τ geleden.

Om dit systeem op te lossen gebruiken we een nieuwe functie, namelijk `dde23`. Bij de `dde23` (delayed differential equation) voeren we naast de tijdsduur en de beginconcentratie ook de time-delay in (in minuten). Vervang de term $Y(t - \tau)$ door z .

Ook in de M-file wordt de time-delay ingevoerd:

function dydt=naam(t, y, z)

De rest van de M-file kun je invullen zoals je gewend bent. Het systeem wordt vervolgens als volgt opgelost:

```
sol = dde23(@M-file name, time-delay, [start concentration], tspan)
```

Opgave 7.15

- Beïnvloedt de time-delay de degradatie direct of indirect? Leg uit.

Opgave 7.16

- Simuleer bovenstaande `dde` met behulp van MATLAB. De waarden blijven hetzelfde als bij opgave 6.12, neem als time-delay $\tau = 10$, als startconcentratie 0 en als t -span $0 : 200$.

Opgave 7.17

- Verklaar de grafiek die je hebt gekregen met behulp van de formule, de time-delay en het antwoord uit opgave 6.12. (Besteed vooral aandacht aan de eerste piek)

Opgave 7.18

- Herhaal vraag 6.17 met een beginconcentratie van 1. Verklaar je grafiek.

Opgave 7.19

- Herhaal vraag 6.17 nu met een andere (langere) time-delay. Wat gebeurt er met de minima van de grafiek?

Om de time-delay goed te kunnen zien kunnen we de time-delayed rate van eiwitsynthese plotten tegen de eiwitconcentratie. Dit is lastig, omdat we niet simpelweg de Y waarden in `sol.y` kunnen invullen in de vergelijking voor de synthese om zo de rate van synthese te berekenen. Dit komt omdat de time-delay in deze vergelijking voorkomt. Matlab heeft echter de dY/dt waarden opgeslagen in `sol.y`. Als we hier de rate van degradatie bij optellen vinden we de rate van synthese (ga dit na!). Bereken de degradatierate en tel deze op bij `sol.y`:

```
degradatie = k2*Et*Y/(Km + Y);
syntheserate = sol.y + degradatie;
```

Plot nu de rate van synthese tegen de eiwitconcentratie:

```
plot(sol.y, syntheserate)
```

Opgave 7.20

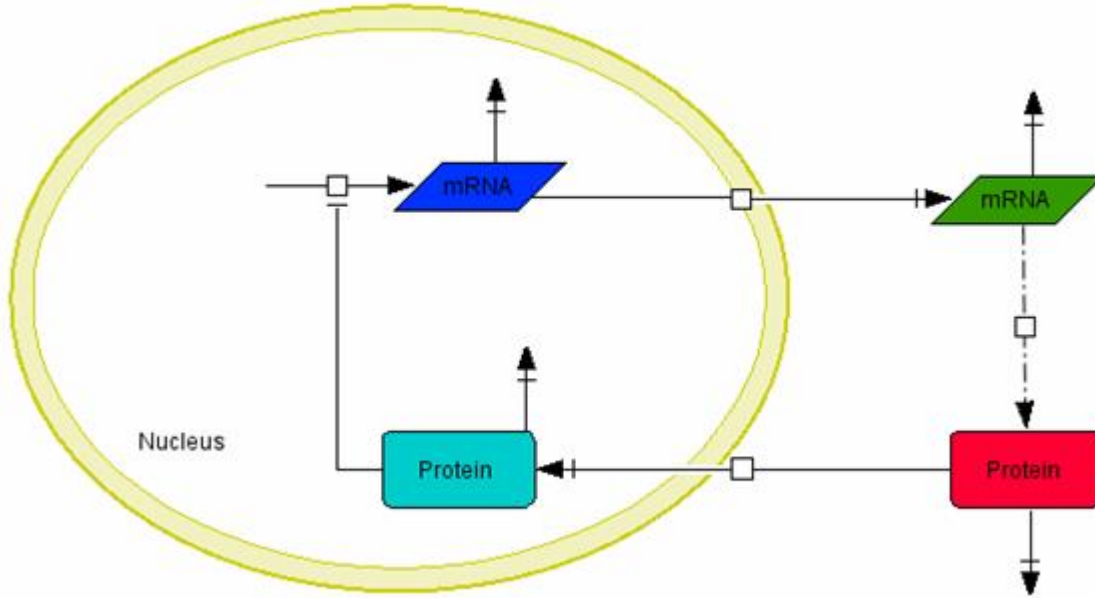
- Plot de synthese en degradatie van vraag 6.12 in dezelfde figuur. Vergeet niet het commando `hold on` te gebruiken.

Opgave 7.21

- Hoe gedraagt de time-delayed rate zich ten opzichte van de evenwichtssituatie? Leg uit waarom dit gebeurt.

7.5 Transport

In het volgende voorbeeld wordt mRNA in een celkern (nucleus) naar buiten getransporteerd. Dit mRNA wordt vervolgens getransleerd naar een eiwit, welke op zijn beurt de celkern weer ingaat om zijn eigen transcriptie te inhiberen (zie figuur 7.6).



Figuur 7.6:

De veranderingen van de concentraties in de tijd worden door de volgende differentiaalvergelijkingen beschreven:

$$\frac{dy(1)}{dt} = k_{dxn} \left(\frac{sig}{1 + y(4)^p} - y(1) \right) - k_{export}y(1) \quad (7.3)$$

$$\frac{dy(2)}{dt} = eps k_{export}y(1) - k_{xdc}y(2) \quad (7.4)$$

$$\frac{dy(3)}{dt} = k_{dyc}(y(2) - y(3)) - eps k_{import}y(3) \quad (7.5)$$

$$\frac{dy(4)}{dt} = k_{import}y(3) - \frac{k_{dyn}y(4)}{K_m + y(4)} \quad (7.6)$$

met $k_{dxn} = 10$, $k_{dxc} = 0.2$, $k_{dyn} = 8$, $k_{dyc} = 0.1$, $k_{export} = 0.2$, $k_{import} = 0.1$, $p = 2$, $K_m = 0.1$, $eps = 1$ en $sig = 1000$.

De termen k_{export} en k_{import} staan voor de mate waarin export en import van het mRNA / eiwit respectievelijk plaatsvinden. De term eps is een volumecorrectie van de kern ten opzichte van het cytosol V_{nuc}/V_{cyt} . Bij deze vergelijkingen dient vermeld te worden dat ze weliswaar kloppende grafieken opleveren, maar dat de vergelijkingen zelf twijfelachtig

zijn. Zo zien we alleen Michaelis-Menten kinetiek bij $y(4)$ en niet bij $y(3)$, en wordt k_{dyc} toegepast bij twee verschillende reacties. Ook de oorsprong van andere constanten is niet altijd duidelijk.

Opgave 7.22

- Waar staan de pijlen voor die niet naar andere componenten uit het systeem wijzen?

Opgave 7.23

- Simuleer bovenstaand model met behulp van Matlab en maak een plot. Neem voor de beginconcentraties $[0 \ 40 \ 43 \ 28]$. Let op: er is géén sprake van een time-delay in de vergelijkingen.

Opgave 7.24

- Verklaar de grafiek. Hoe kan het dat er oscillaties ontstaan terwijl er geen time-delay is?

Opgave 7.25

- Waarom wordt het mRNA uit de celkern getransporteerd? Is het energetisch niet voordeliger als dit transport niet zou plaatsvinden?

Opgave 7.26

- Waarom wordt het mRNA uit de celkern getransporteerd? Is het energetisch niet voordeliger als dit transport niet zou plaatsvinden?

Opgave 7.27

- Zou de plot er anders uitzien als er in dit model geen negatieve feedback aanwezig was?

Opgave 7.28

- Geef commentaar op de volgende uitspraak: “Oscillatie kan niet plaatsvinden in een systeem bestaande uit 2 componenten met een negatieve feedback loop, maar wel in een systeem bestaande uit 3 componenten met een negatieve feedback loop.”

Voor dat een reactie gaat oscilleren, zal deze aan enkele voorwaarden moeten voldoen. Bijvoorbeeld de halfwaardetijd van mRNA in de nucleus en de halfwaardetijd van het eiwit in het cytoplasma. De halfwaarde tijd van mRNA in het nucleus (T_n) is $0.693/d_{xn}$, de halfwaardetijd van het eiwit in het cytoplasma (T_c) is $0.693/d_{yc}$.

Opgave 7.29

- Hier zijn een aantal factoren die we willen testen. Geef telkens aan wat er gebeurt met de grafiek met het oog op oscillaties. Wat is het verschil t.o.v. de oorspronkelijke plot ($T_n = 0.0693$ en $T_c = 6.93$)?
 - A: plot bij $T_n = 0.1$ $T_c = 0.1$
 - B: plot bij $T_n = 7$ $T_c = 0.1$
 - C: plot bij $T_n = 100$ $T_c = 0.1$
 - D: plot bij $T_n = 0.1$ $T_c = 100$
 - E: plot bij $T_n = 7$ $T_c = 7$
 - F: plot bij $T_n = 100$ $T_c = 100$

Opgave 7.30

- Wat valt er te zeggen over de waarden en uitkomsten van vraag 6.29?

7.6 Oscillatie als gevolg van positive feedback

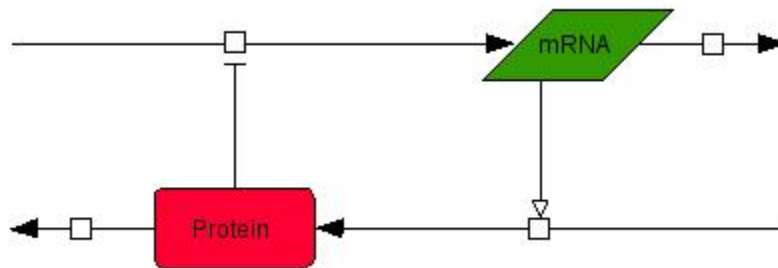
In het model van figuur 7.7 inhibeert een eiwit zijn eigen transcriptie. De differentiaal vergelijkingen zijn als volgt:

$$\frac{dX}{dt} = k_1 S \frac{K_d^p}{K_d^p + Y^p} - k_{dx} X \quad (7.7)$$

$$\frac{dY}{dt} = k_{sy} X - k_2 E_T \frac{K_m}{K_m + Y} \quad (7.8)$$

$$(7.9)$$

met $k_1 = 0.1$, $S = 1$, $K_d = 1$, $K_{dx} = 0.1$, $p = 2$, $k_{sy} = 1$, $k_2 = 1$, $E_T = 1$ en $K_m = 1$.



Figuur 7.7:

Opgave 7.31

- Maak een M-file voor bovenstaand model.

Voor de volgende simulatie zetten we de eiwit concentratie uit op de y -as, en de mRNA concentratie op de x -as. We nemen voor de eiwit concentratie $[0 : 0.1 : 4]$.

We plotten eerst de zogenaamde ‘nullclines’ van eiwit en mRNA. Voor elk punt op de nullcline geldt dat $dy/dt = 0$, dus de synthese is gelijk aan de degradatie. Het punt waar beide nullclines elkaar snijden is weer de evenwichtssituatie. Voer de volgende commandos uit:

```
y = [0:0.01:4];
mRNA = 1./(1+y.^2);
eiwit = (1*y)./(1+y);
```

```
hold on
plot(y,mRNA,'g')
plot(y,eiwit,'r')
```

We kunnen nu weer kijken hoe het systeem als geheel zich gedraagt ten opzichte van deze evenwichtssituatie. Hiervoor solven we het eerder gemaakte M-file. Voer het onderstaande commando uit. De laatste term in de `ode`-functie, (`'RelTol', 1e-5`), verandert de relatieve fouttolerantie die de functie accepteert en verhoogt zo het aantal verkregen meetpunten. Dit draagt bij aan een vloeiende grafiek.

```
sol = ode23(@M-file,0:150,[0.19 2.1],odeset('RelTol',1e-5))
```

`sol.y` bevat nu meetpunten voor zowel mRNA als eiwit. Om deze tegen elkaar te kunnen plotten moeten we `sol.y` omzetten in een kolomvector.

```
col = sol.y';
```

Plot nu als volgt de tweede kolom van `col` (eiwitconcentratie) tegen de eerste (mRNA):

```
plot(col(:,2),col(:,1))
```

Opgave 7.32

- Wat neem je waar?

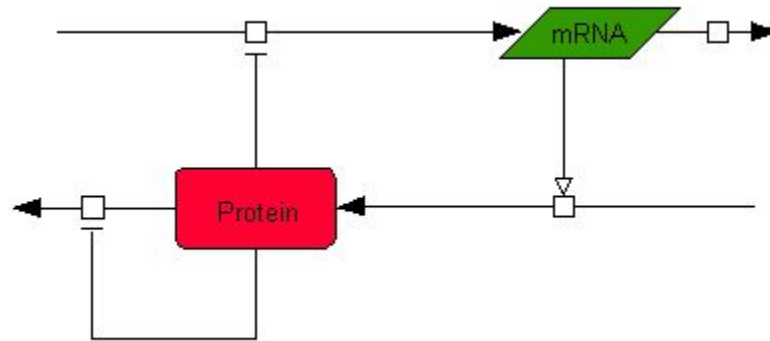
Opgave 7.33

- Herhaal het solven en plotten van je M-file minimaal drie keer met andere beginconcentraties.

Opgave 7.34

- Wat concludeer je?

We voegen nu een positive feedback loop toe aan ons systeem, waarbij het eiwit zijn eigen degradatie door een protease inhibeert. Dit is getekend in figuur 7.8 Hier gelden de volgende



Figuur 7.8:

differentiaalvergelijkingen:

$$\frac{dX}{dt} = k_1 S \frac{K_d^p}{K_d^p + Y^p} - k_{dx} X \quad (7.10)$$

$$\frac{dY}{dt} = k_{sy} X - k_{dy} Y - k_2 E_T \frac{K_m}{K_m + Y + K_I Y^2} \quad (7.11)$$

$$(7.12)$$

met $k_1 = 0.05$, $S = 1$, $K_d = 1$, $k_{dx} = 0.05$, $p = 4$, $k_{sy} = 1$, $k_{dy} = 0.05$, $k_2 = 1$, $E_T = 1$, $K_m = 0.1$ en $K_I = 2$. In deze vergelijkingen staat k_{dy} voor een alternatieve route van eiwit degradatie en K_I is een constante welke de mate van inhibitie van enzym E door zijn substraat Y weergeeft.

Opgave 7.35

- In figuur 7.8 is duidelijk een inhibitie weergeven. Waarom is hier dan toch sprake van positive feedback?

Maak een M-file voor bovenstaand model en maak een plot. Type eerst het commando `clear`, dit om alle voorgaande handelingen te verwijderen. Neem als beginconcentraties `[0.152.5]`, en verzin zelf een `tspan`. Houd rekening met de relatieve tolerantie, het veranderen in een kolomvector en gebruik de volgende commandos voor de mRNA en eiwit nullclines:

```
y = [0:0.01:4]
mRNA = 1./(1+y.^4)
eiwit = 0.05*y + y./(0.1+y+2*y.^2)
hold on
plot(y,eiwit,'r')
plot(y,mRNA,'g')
plot(col(:,2),col(:,1))
```

Opgave 7.36

- Waarom vindt er nu wél oscillatie plaats. Leg het verschil uit met de time-delayed oscillatie.

Opgave 7.37

- Varieer de waarden van p en van $K_I * K_d$ en maak een grafiek waarin je een gebied aan geeft waar hij oscilleert. Zet $K_I * K_d$ van 0 tot 6 op de x -as, zet p van 0 tot 10 op de y -as.

Hoofdstuk 8

Introductie tot Matlab

In het college Modellen van Gezondheid en Ziekte zul je veel moeten rekenen aan modellen. Matlab is een rekenprogramma dat hier zeer geschikt voor is. Het wordt niet alleen veel gebruikt in de systeembioïologie en de bioïnformatica maar ook in natuurkunde, economie, wiskunde en technische vakken. In dit hoofdstuk bieden we een korte introductie in het gebruik van Matlab, echt werken met Matlab leer je door veel te oefenen en te proberen. Als je al eerder met Matlab hebt gewerkt, kun je dit hoofdstuk prima gebruiken als naslag werk.

De naam Matlab komt van **Matrix Laboratory**. Het zal dan ook geen verrassing zijn dat Matlab vooral geschikt is om met matrices te werken. Daarom besteden we eerst wat tijd aan matrices. We leren wat matrices zijn, hoe we matrices noteren en hoe we er in Matlab mee kunnen werken.

8.1 Matrices and notation

Een matrix is een rechthoekige lijst met getallen. We geven een matrix aan met een vetgedrukte hoofdletters. De *elementen* van een matrix noteren we met kleine letters met twee indices. De eerste index geeft het *rijnummer*, de tweede index geeft het *kolomnummer* van het element. Bijvoorbeeld, de matrix

$$\mathbf{A} = \begin{bmatrix} a_{11} & a_{12} & a_{13} & \cdots & a_{1n} \\ a_{21} & a_{22} & a_{23} & \cdots & a_{2n} \\ \vdots & \vdots & \vdots & & \vdots \\ a_{m1} & a_{m2} & a_{m3} & \cdots & a_{mn} \end{bmatrix} \quad (8.1)$$

heeft m rijen en n kolommen. Het element van \mathbf{A} in rij i en kolom j is a_{ij} .

Een matrix die uit slechts één rij of kolom bestaat heeft een eigen naam: *vector*. Een vector wordt aangegeven met een kleine vetgedrukte letter. Onderstaande vector \mathbf{a} is een

voorbeeld van een kolomvector met m elementen.

$$\mathbf{a} = \begin{bmatrix} a_1 \\ a_2 \\ \vdots \\ a_m \end{bmatrix} \quad (8.2)$$

Het overzetten van een kolomvector naar een rijvector heet *transponeren*. De getransponeerde van de kolomvector \mathbf{a} is de rijvector \mathbf{a}^T :

$$\mathbf{a}^T = [a_1 \quad a_2 \cdots a_m] \quad (8.3)$$

Op dezelfde manier waarop we een vector kunnen transponeren kunnen we ook een matrix transponeren. De rijen van de matrix worden kolommen, de kolommen worden rijen. Zo is de getransponeerde van

$$\mathbf{M} = \begin{bmatrix} 16 & 2 & 3 & 13 \\ 5 & 11 & 10 & 8 \\ 9 & 7 & 6 & 12 \\ 4 & 14 & 15 & 1 \end{bmatrix} \quad (8.4)$$

de matrix

$$\mathbf{M}^T = \begin{bmatrix} 16 & 5 & 9 & 4 \\ 2 & 11 & 7 & 14 \\ 3 & 10 & 6 & 15 \\ 13 & 8 & 12 & 1 \end{bmatrix} \quad (8.5)$$

Vermenigvuldigen van twee matrices gaat als volgt. Stel \mathbf{A} is een matrix met i rijen en k kolommen en \mathbf{B} is een $k \times j$ matrix (d.w.z. een matrix met k rijen en j kolommen). Het product van \mathbf{A} en \mathbf{B} is een matrix \mathbf{C} die ontstaat door de rijen van \mathbf{A} te vermenigvuldigen met de kolommen van \mathbf{B} . De elementen van \mathbf{C} vind je als volgt:

$$c_{lm} = \sum_{n=1}^k a_{ln} b_{nm} \quad (8.6)$$

Het \sum -teken betekent 'sommen' over de index onder het \sum -teken, hier over de index n . Een concreet voorbeeld maakt dit duidelijker. We rekenen het volgende product van twee matrices uit.

$$\mathbf{AB} = \begin{bmatrix} 16 & 2 \\ 5 & 11 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} 2 & 7 \\ 3 & 6 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 16 \times 2 + 2 \times 3 & 16 \times 7 + 2 \times 6 \\ 5 \times 2 + 11 \times 3 & 5 \times 7 + 11 \times 6 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 38 & 124 \\ 43 & 101 \end{bmatrix} \quad (8.7)$$

Een gevolg van de definitie van het product van twee matrices is dat je twee matrices alleen kunt vermenigvuldigen als het aantal kolommen van de eerste matrix gelijk is aan het aantal rijen van de tweede matrix. Verder is het belangrijk te weten dat over het algemeen *niet* geldt: $\mathbf{AB} = \mathbf{BA}$.

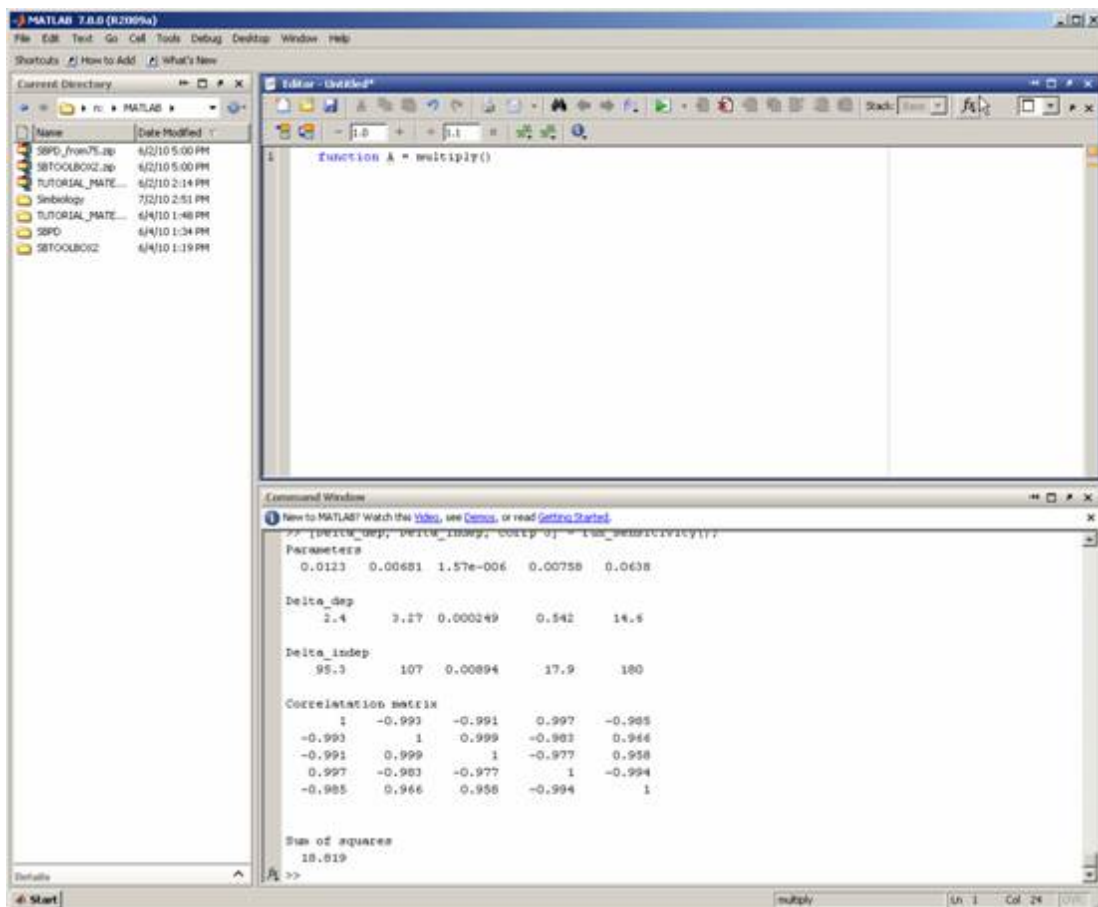
Opgave 8.1

- Bereken van de twee matrices uit het voorbeeld hierboven het product \mathbf{BA} en verifieer dat het niet gelijk is aan \mathbf{AB} .

8.2 Matlab: een eerste kennismaking

Zoals gezegd, Matlab is vooral een programma om met matrices te werken. Dat neemt niet weg dat Matlab ook vele andere toepassingen heeft. Zo kent Matlab vele speciale functies voor verschillende vakgebieden. Functies die betrekking hebben op een bepaald gebied zijn samengevoegd in zogenaamde *tool boxen*. Zo zijn er bijvoorbeeld tool boxen om modellen te bouwen of om statistische analyses uit te voeren. In dit college zul je voor een aantal opgaven Matlab nodig hebben. Deze korte inleiding in het gebruik van Matlab kun je hierbij als startpunt gebruiken.

Als je Matlab opstart zal je scherm er ongeveer uitzien als in figuur 8.1. Met Desktop Layout onder het Desktop menu kun je eventueel voor een andere indeling van de Matlab desktop kiezen.



Figuur 8.1: Matlab scherm.

Wat je op de Matlab desktop in figuur 8.1 ziet is aan de linkerkant een file browser die de bestanden in je huidige map laat zien. Daarnaast zie je boven de **Editor** om bestanden te bewerken en daaronder de **Command Window** waarin je direct Matlab commando's kunt geven.

Als je korte bewerkingen met Matlab moet doen is het handig dit meteen in de **Command Window** te doen. Voor uitgebreide bewerkingen is het beter de commando's in een bestand te zetten, een zogenaamde *m-file*, die je vervolgens in zijn geheel kunt uitvoeren in Matlab. We zullen van beide manieren van werken met Matlab een paar voorbeelden geven.

8.2.1 Matlab Command Window

De **Command Window** kun je gebruiken om direct commando's in Matlab uit te voeren. Zo kun je Matlab twee getallen laten optellen:

```
5 + 7
```

```
ans =
```

```
12
```

Je typt `5 + 7` en Matlab geeft 12. Dit is een simpel voorbeeld dat elke rekenmachine ook wel kan. Interessanter wordt het als we *variabelen* gaan gebruiken. Een variabele geven we aan met een zelf bedachte naam (in de wiskunde worden vaak x en y gebruikt) en we kunnen een er een waarde aan toekennen. Bijvoorbeeld, we hebben een variabele `cijfer` die we de waarde 5 geven:

```
cijfer = 5
```

```
cijfer =
```

```
5
```

Matlab maakt een variabele `cijfer` en geeft er de waarde 5 aan. We kunnen de waarde van de variabele `cijfer` eenvoudig veranderen:

```
cijfer = 5 + cijfer
```

```
cijfer =
```

```
10
```

De variabele `cijfer` is hetzelfde gebleven maar de *waarde* van de variabele is veranderd. Je moet goed onderscheid maken tussen de variabele en de waarde van de variabele.

In het volgende stukje Matlab code worden twee variabelen `a` en `b` gemaakt die ieder een waarde krijgen. De waarden worden vervolgens bij elkaar opgeteld en het resultaat in een derde variabele `som` gezet.

```
a = 5
```

```
a =
```

```
5
```

```
>> b = 7
```

```
b =
```

```
7
```

```
>> som = a + b
```

```
som =
```

```
12
```

Je ziet dat Matlab steeds herhaalt wat je typt. Dat kan op den duur wat vervelend worden (en kost veel ruimte). Je kunt de uitvoer van Matlab wat beperken door een commando af te sluiten met een punt-komma:

```
>> a = 5;
```

```
>> b = 7;
```

```
>> som = a + b
```

```
som =
```

```
12
```

Behalve optellen kun je in Matlab natuurlijk vermenigvuldigen, delen, machtsverheffen, sinussen en cosinussen uitrekenen en vele, vele andere ingebouwde functies gebruiken. Het aanroepen van deze functies gaat op de voor de hand liggende manier, vermenigvuldigen met een $*$, machtsverheffen met een \wedge en een sinus uitrekenen met $\sin(x)$.

Vaak zul je in Matlab met matrices werken. Je kunt op verschillende manieren een matrix aan een variabele toekennen. Enkele voorbeelden:

```
A = [1 2 3 4; 5 6 7 8]
```

```
A = [1:4; 5:8]
```

In beide gevallen wordt de matrix

```
1 2 3 4
```

```
5 6 7 8
```

aan de variabele **A** toegekend. In de eerste toekenning zijn de elementen in een rij gescheiden door spaties, rijen worden gescheiden door een punt-komma of door op een nieuwe

regel verder te gaan. De eerste rij in de matrix bestaat uit de getallen 1 t/m 4, de tweede rij uit de getallen 5 t/m 8. In de tweede toekenning zie je de notatie 1 : 4. Dit betekent een rij (vector) bestaande uit de getallen 1 t/m 4. Je kunt ook eenvoudig rijen maken met grotere sprongen tussen de getallen, 1:10:100 geeft de rij 1 11 21 31 41 51 61 71 81 91. Verder zie je in het voorbeeld dat een matrix geopend en gesloten wordt door blokhaken: [].

Omdat Matlab vooral geschreven is om met matrices te werken, is het uitvoeren van bewerkingen met matrices in Matlab erg eenvoudig. Zo hoef je bij het vermenigvuldigen van twee matrices niet alle termen in formule (8.6) uit te werken maar doet Matlab dat automatisch als je variabelen matrices zijn. Als we het product van twee matrices dat we eerder uitrekenen in Matlab willen uitrekenen, gaat dit op dezelfde manier waarop we het product van twee getallen uitrekenen. Bijvoorbeeld:

```
>> A = [16  2
        5  11]
```

```
A =
```

```
    16     2
     5    11
```

```
>> B = [1  7; 3  6]
```

```
B =
```

```
     1     7
     3     6
```

```
>> A*B
```

```
ans =
```

```
    22    124
    38    101
```

Matlab heeft een aantal functies die speciaal voor matrices gemaakt zijn. Zo kunnen we de getransponeerde van een matrix **A** maken door er een ' achter te zetten:

```
>> A'
```

```
A =
```

```
    16     2
     5    11
```

```
>> A'
```

```
ans =
```

```
    16     5  
     2    11
```

De functie `ones(m,n)` maakt een $m \times n$ matrix waarvan alle elementen 1 zijn:

```
>> One = ones(3,1)
```

```
One =
```

```
    1  
    1  
    1
```

```
>> Een = ones(1,3)
```

```
Een =
```

```
    1    1    1
```

De functies `sum` and `mean` werken op de kolommen van een matrix. `sum(A)` geeft een vector waarvan de elementen de som van iedere kolom van (**A**) zijn, `mean(A)` geeft een vector met de gemiddelden van de kolommen van (**A**):

```
>> A = [ 4 5 6 ; 1 2 3 ; 7 8 9]
```

```
A =
```

```
    4    5    6  
    1    2    3  
    7    8    9
```

```
>> sum(A)
```

```
ans =
```

```
    12    15    18
```

```
>> mean(A)
```

```
ans =
```

```
4 5 6
```

Als je op het antwoord nog een keer de `sum` functie loslaat wordt de som van de elementen van de vector gegeven:

```
>> sum(sum(A))
```

```
ans =
```

```
45
```

Je kunt het resultaat van een functie ook direct toekennen aan een variabele:

```
>> gemiddelde = mean(A)
```

```
gemiddelde =
```

```
4 5 6
```

Om data te visualiseren en grafieken te maken heeft Matlab de `plot` functie. Het gebruik van deze functie kun je zien aan onderstaand voorbeeld.

```
>> x = 0:10
```

```
x =
```

```
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
```

```
>> y = x^2
```

```
??? Error using ==> mpower
Matrix must be square.
```

```
>> y = x.^2
```

```
y =
```

```
0 1 4 9 16 25 36 49 64 81 100
```

```
>> plot (x,y)
```

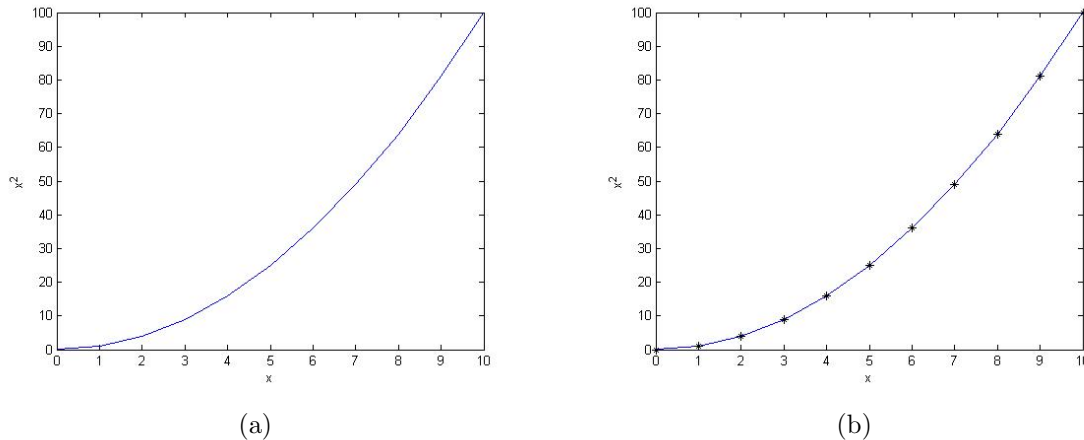
```
>>hold
```

```
Current plot held
```

```
>> plot (x,y, '*k')
```

Eerst wordt een vector `x` gemaakt met de getallen 0 tot 10. Deze willen we vervolgens kwadrateren maar dit levert een foutmelding op. Hier lopen we aan tegen het ‘matrix denken’ van Matlab. Het kwadrateren van `x` betekent voor Matlab de vector vermenigvuldigen met zichzelf, maar zoals we eerder gezien hebben, kan dat alleen als het

aantal rijen van de eerste factor gelijk is aan het aantal kolommen van de tweede factor. Dat is hier duidelijk niet het geval, \mathbf{x} heeft 1 rij en 11 kolommen. Vandaar de foutmelding “Matrix must be square”. Wat we willen is dat elk element van \mathbf{x} gekwadrateerd wordt. Dit bereiken we door een punt, `.` voor de operator voor machtsverheffen te zetten. Nu wordt elk element van \mathbf{x} afzonderlijk gekwadrateerd en in de vector \mathbf{y} gezet. Het resultaat van de plot staat in figuur 8.2. In de tweede plot zijn de punten waarop de kwadraten zijn



Figuur 8.2: Plot van $y = x^2$ zonder (a) en met punten (b).

uitgerekend toegevoegd. Dit is gedaan door eerst met het commando `hold` de plot vast te houden. Dat wil zeggen dat Matlab de bestaande plot gebruikt om verder mee te werken. Standaard overschrijft Matlab de bestaande plot. In het tweede `plot` commando is een extra argument gebruikt. Dit vertelt Matlab de punten als `*` in zwart, aangegeven door de letter `k`, weer te geven. Er zijn vele opties en mogelijkheden met de `plot` functie, de `help` functie van Matlab biedt een uitgebreid overzicht, ook van andere functies in Matlab.

8.2.2 Matlab scripts

Voor korte berekeningen werkt de 'Command Window' van Matlab prima maar als er een programma dat uit vele commando's achter elkaar bestaat, ingevoerd moeten worden is de 'Command Window' minder geschikt. Voor langere programma's, ook wel *scripts* genoemd, is het beter een bestand aan te maken waar het programma in staat. Dergelijke Matlab bestanden worden m-files genoemd, naar de file extensie `.m`. Je kunt eenvoudig een nieuwe m-file aanmaken via het File menu. Je hebt daar de mogelijkheid een 'Blank M-File' of een 'Function M-File' aan te maken. Een function m-file ziet er bijvoorbeeld zo uit:

```
function [ a ] = som( x )
    a = sum(x);
end
```

De filenaam moet gelijk zijn aan de functie naam, in dit voorbeeld `som.m`. De functie in dit voorbeeld doet precies hetzelfde als de Matlab functie `sum` en wordt op dezelfde manier aangeroepen, namelijk als `som(x)`. De variabele `x` in `som(x)` heet het argument van de functie `som`.

In een 'Blank M-File' kun je Matlab commando's kwijt zoals je die anders in de Command Window zou typen. Om de commando's uit te voeren typ je de naam van de m-file (zonder de `.m` extensie). Als voorbeeld staat hieronder de inhoud van de m-file `kwadrateer.m`

```
x = 1:10;
y = x.^2;
plot(x,y, '-k')
```

hold

```
plot(x,y, '*k')
```

De commando's in de file worden uitgevoerd door de naam van de file in de Command Window te typen (ook weer zonder `.m` extensie) met als resultaat figuur 8.2 (b).

8.2.3 Gebruik van functies

Scripts gebruik je als je meerdere malen een serie Matlab commando's achterelkaar moet uitvoeren. Functies gebruik je als eenzelfde bewerking steeds weer opnieuw moet worden uitgevoerd. Bijvoorbeeld, je hebt een programma waarin je steeds het gemiddelde van een aantal getallen moet uitrekenen. Je kunt dan een functie `gemiddelde` maken die als argument de getallen waarvan het gemiddelde berekend moet worden krijgt en als resultaat het gemiddelde teruggeeft. Bij het oplossen van differentiaalvergelijkingen met behulp van Matlab zullen we uitgebreid gebruik maken van functies. Een goede reden hier alvast kort te laten zien hoe dat gaat. In de Matlab handleiding kun je uitgebreidere voorbeelden vinden.

Om stelsels van differentiaalvergelijkingen op te lossen heeft Matlab een aantal zogenaamde *solvers* die je kunt gebruiken. Deze solvers hebben namen als 'ode45', 'ode15s' enzovoort. Elk van deze solvers is geschikt voor een bepaald type probleem. Voor de meeste problemen kun je `ode45` gebruiken. Voor wat lastiger problemen is `ode15s` vaak een goede keus. Een goede strategie is te beginnen met `ode45` en als dat moeizaam gaat (lang duurt) over te schakelen op `ode15s`. Wat een solver doet is vanaf de beginconditie van de differentiaalvergelijkingen de waarde van dy/dt uitrekenen door t in kleine stapjes toe te laten nemen. Een concreet voorbeeld maakt dit duidelijker. Stel we willen een solver gebruiken om een eerste orde differentiaal vergelijking op te lossen:

$$\frac{dC(t)}{dt} = -5C(t) \quad C(0) = 1 \quad (8.8)$$

We gebruiken nu de definitie van afgeleide:

$$\frac{dC(t)}{dt} = \lim_{\Delta t \rightarrow 0} \frac{C(t + \Delta t) - C(t)}{\Delta t} \quad (8.9)$$

Hier staat dat de afgeleide van $C(t)$ gelijk is aan de verandering in $C(t)$ gedeeld door de verandering in t . Hierbij verandert t in stapjes Δt waarbij de stapjes in t heel klein worden, in de limiet gaat Δt naar 0. Als we het voorbeeld uitschrijven krijgen we

$$\frac{C(t + \Delta t) - C(t)}{\Delta t} = -5t \quad (8.10)$$

We hebben nu de limiet voor $\Delta t \rightarrow 0$ weggelaten omdat de stapjes in Δt die de computer kan maken niet ongelimiteerd klein kunnen worden. Maar we kunnen de stapjes wel zo klein maken dat ze voor ons doel een voldoende nauwkeurig resultaat geven. Verder uitwerken geeft:

$$C(t + \Delta t) = C(t) - 5t\Delta t \quad (8.11)$$

De solvers in Matlab starten nu op het op het begintijdstip, hier $t = 0$ met itereren. We hebben de beginvoorwaarde $C(0) = 1$. Vervolgens bepalen de solvers een stapgrootte Δt zodanig dat de nauwkeurigheid binnen een door ons op te geven waarde blijft en berekenen ze $C(0 + \Delta t) = 1 - 5 \times 0 \times \Delta t = 1$. De volgende iteratie wordt

$$C(\Delta t + \Delta t) = C(\Delta t) - 5 \times \Delta t \times \Delta t = 1 - 5(\Delta t)^2$$

en zo verder tot de eindwaarde voor t is bereikt. Je ziet hier al dat de solver voor iedere volgende stap weer de berekening $C(t + \Delta t) = C(t) - 5t\Delta t$ moet uitvoeren. Het is daarom handig een functie te maken waarin die berekening steeds wordt uitgevoerd. De solver roept dan de functie aan met de goede argumenten om de volgende stap in de iteratie uit te voeren. We werken dit voorbeeld verder uit door een functie te schrijven in Matlab die de afgeleide van $C(t)$ uitrekent:

```
function dy = C(t , y)
```

```
    dy = -5.*y;
```

```
end
```

en het script waarin de solver wordt gestart:

```
options = odeset('RelTol', 1e-5);
y0 = [1];           % begin waarde
tspan = [0 1];     % integratietijd
```

```
[T Y] = ode45(@(t,y)C(t,y), tspan, y0, options);
plot (T, Y, '-b')
```

De variabele `y0` is een array met de beginwaarde(n) (hier maar één element), `tspan` is een array met de begin- en eindwaarde van het integratieinterval, hier van $t = 0$ tot $t = 1$. De solver bepaald aan de hand van de gewenste nauwkeurigheid (bepaald door de variabele `options`) waarmee de berekeningen gedaan moeten worden hoeveel stappen Δt nodig zijn. De resultaten komen in de arrays `T` en `Y`. `T` bevat de tijden die de solver gebruikt heeft, `Y`

bevat de waarden van de geïntegreerde functie. In het voorbeeld zie je dat de solver `ode45` wordt aangeroepen met als argumenten de functie waarin de differentiaalvergelijkingen staan. Het `@` staat voor een zogenaamde 'handle naar een anonieme functie'. Het is een manier waarop Matlab efficiënt de functie `C` kan aanroepen. Tenslotte wordt het resultaat geplot met de `plot` functie van Matlab.

Opgave 8.2

- Bouw het voorbeeld na in Matlab.

In het voorbeeld hebben we de solver `ode45` gebruikt om een eenvoudige differentiaalvergelijking die we ook al met CellDesigner hadden opgelost te integreren. De Matlab solvers kunnen ook gebruikt worden om stelsels van gekoppelde differentiaalvergelijkingen op te lossen.

Opgave 8.3

- In het hoofdstuk over reactiekinetiek heb je in CellDesigner de evenwichtsreactie



gesimuleerd. Simuleer nu, met behulp van het voorbeeld en de helpfiles van Matlab dezelfde evenwichtsreactie in Matlab. Let op, je hebt nu twee gekoppelde differentiaalvergelijkingen. Neem weer $S_0 = 1 \text{ mol/l}$, $C_P(0) = 0$, $k_{12} = 2 \text{ s}^{-1}$ en $k_{21} = 5 \text{ s}^{-1}$. Bepaal ook weer de evenwichtsconcentraties S_e en C_{P_e} uit de simulatie en vergelijk het resultaat dat je met Matlab hebt gevonden met je eerdere resultaten met CellDesigner.

Hoofdstuk 9

Introductie tot CellDesigner

CellDesigner is één van de programma's die we in dit college zullen gebruiken. Het is gratis beschikbaar op <http://www.celldesigner.org/>. Het programma is ook thuis te installeren met de onderstaande instructies.

9.1 Installatie van CellDesigner

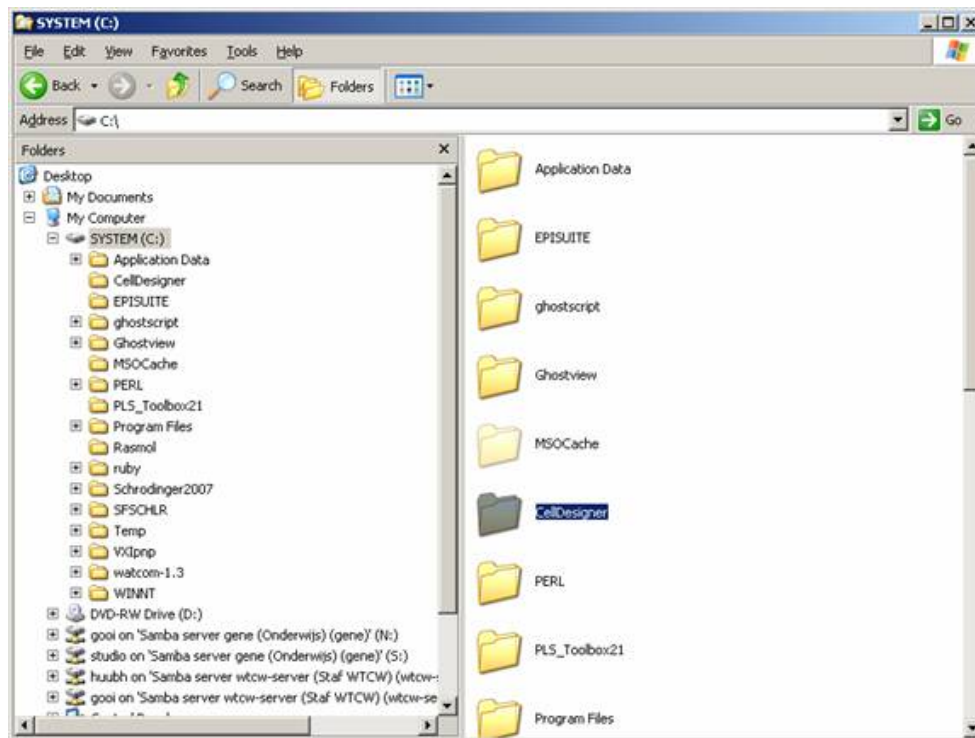
Je kunt CellDesigner downloaden van de Blackboard site voor deze cursus. Sla het bestand dat je download op je bureaublad op. Let op, de naam van het bestand op je bureaublad moet zijn: `CellDesigner-41-windows-installer.exe`. Als je Internet Explorer gebruikt kan het zijn dat de extensie `.exe` ontbreekt. In dat geval moet je die met het `rename` commando toevoegen aan de naam. Maak nu eerst een map aan met de naam CellDesigner, bijvoorbeeld op de C: schijf (figuur 9.1).

Vervolgens dubbelklik je het bestand dat je van Blackboard hebt gehaald. Er verschijnt een venster waarin je Run kiest. In het License Agreement venster kies je I accept the agreement en klikt Next. Het installatieprogramma zal je nu vragen waar het programma geïnstalleerd moet worden. Neem hiervoor de map CellDesigner die je eerder hebt aangemaakt (figuur 9.2). Het programma wordt nu geïnstalleerd en op je bureaublad zal een icoontje voor CellDesigner verschijnen. Als het programma goed geïnstalleerd is, kun je het installatiebestand dat je hebt gedownload van Blackboard weggooien (vergeet niet daarna je prullenbak te legen).

9.2 Werken met CellDesigner

Als je CellDesigner opstart zie je een groot leeg scherm geflankeerd door twee vensters. Het lege scherm is de plaats waarin je componenten en reacties tussen componenten kunt modelleren. In de werkbalk zie je verschillende icoontjes die verschillende componenten (eiwitten, DNA) en reacties verbeelden.

Opgave 9.1

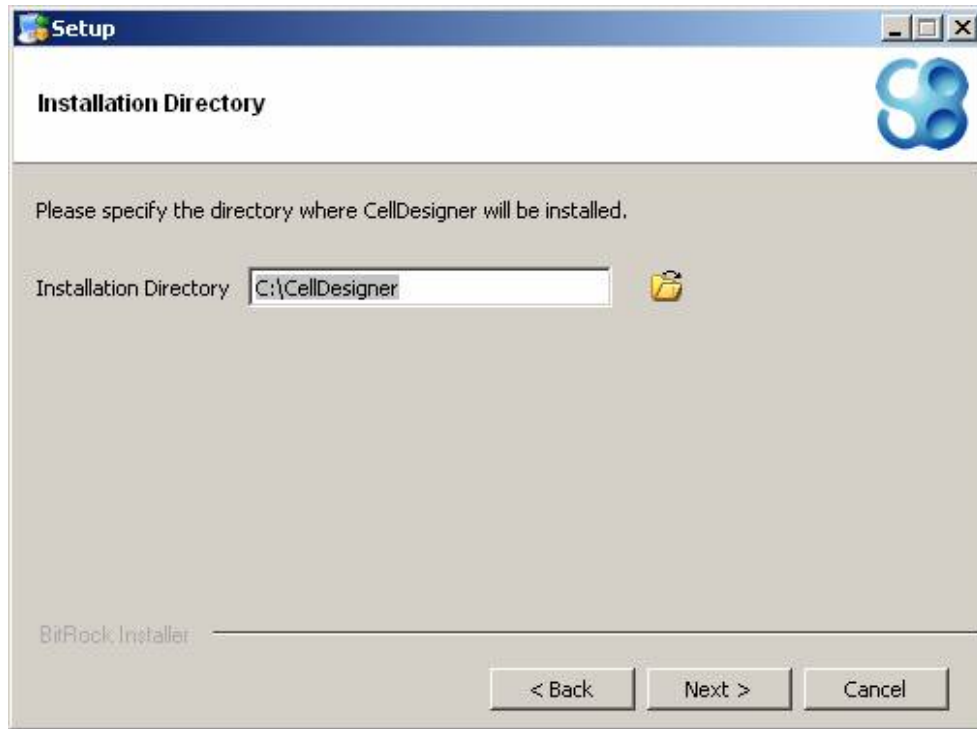


Figuur 9.1: Aanmaken van de map CellDesigner op de C: schijf

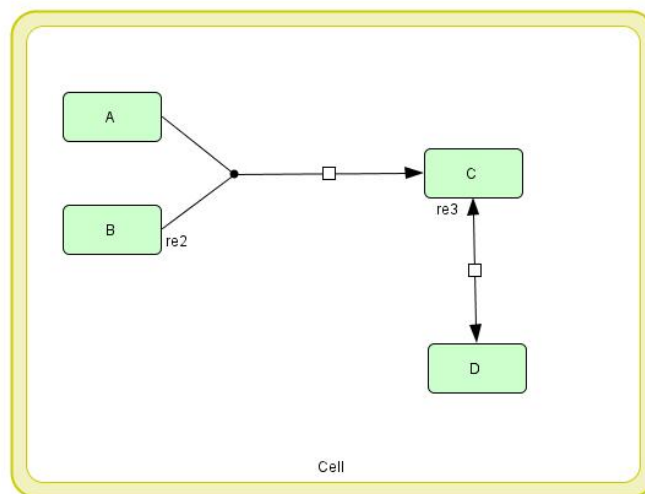
- Op Blackboard vind je de “CellDesigner Startup Guide”. Met deze handleiding kun je jezelf wegwijzen in het gebruik van CellDesigner. In hoofdstuk 2 van de handleiding vind je hoe je een eenvoudig model in CellDesigner kunt maken. Lees dit hoofdstuk om een idee te krijgen van de opties en mogelijkheden van CellDesigner. Probeer het model in figuur 9.3 te maken. Sla het model en de figuur die je gemaakt hebt op op je computer.
- Voeg nu de volgende kinetiek toe aan het model.

$$\frac{dC}{dt} = k_1 * A * B - k_2 * C + k_3 * D$$

en simuleer het model met beginvoorwaarden $A(0) = B(0) = 1$ en $C(0) = D(0) = 0$. Voor de reactiesnelheidsconstanten kun je nemen $k_1 = 0.1$, $k_2 = 0.5$ en $k_3 = 0.3$. Sla het resultaat van je simulatie op in .jpg formaat.



Figuur 9.2: Installatie map voor CellDesigner op de C-schijf



Figuur 9.3: Eenvoudig model in CellDesigner

Hoofdstuk 10

Bibliografie

Onderstaand zijn de referenties naar artikelen waarnaar verwezen wordt. De artikelen staan ook in de cursusmap op blackboard.

- S. Eskandari, E.M. Wright, D.D.F. Loo *Kinetics of the Reverse Mode of the Na⁺/Glucose Cotransporter*, J. Membrane Biol. 204, 23-32 (2005)
- Ernst M. Wright, Donald D.F. Loo, Mariana Panayotova-Heiermann, M. Pilar Losato, Bruce E. Hirayama, Bryan Mackenzie, Kathryn Boorer and Guido Zampighi *'Active' sugar transport in Eukaryotes*, J. Exp. Biol. 196, 197-212 (1994)
- Daniel Wüstner *Mathematical Analysis of Hepatic High Density Lipoprotein Transport Based on Quantitative Imaging Data*, J. Bio. Chem., 280, 6766 - 6779 (2005)