

## **МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ БИОСИНТЕЗА КАУЧУКА**

### **Введение**

В последнее время ведётся большое число исследований по анализу метаболических путей различных растений и организмов. Исследования ведутся в различных областях, таких как: создание информационных баз данных по ферментам, построение метаболических путей, количественный анализ концентраций метаболитов. Возникают новые науки и направления – такие как метаболомика, протеомика и ряд других, которые позволяют моделировать и изменять свойства не только отдельных ферментов, но и свойства метаболических путей. К настоящему времени число микроорганизмов, у которых расшифрованы (просеквенированы) генетические последовательности, составляет несколько сотен или даже тысяч. Достаточно хорошо изучены многие микроорганизмы и накоплен большой объём информации о метаболизме этих организмов. Эта информация даёт возможность для дальнейшего анализа метаболизма клеток, и создания клеток и растений с заданными метаболическими свойствами.

Биоинженерами создан инструментарий для направленного изменения клеточного метаболизма практически всех живых организмов методами генетической трансформации, путем введения одного или нескольких генов, ответственных за синтез специфических ферментов, а также введения генов в антисмысловой ориентации «выключая» таким образом некоторые гены, и удаляя, следовательно, ферменты из метаболизма.

Появляется возможность создать автоматизированную систему для направления клеточного метаболизма, превратив, таким образом, клетку или целое растение в фабрику по производству различных веществ.

Работы по созданию автоматизированных систем указанного типа ведутся различными группами исследователей по всему миру. Отметим следующие комплексы программ и баз данных: Киотская база, проект Селькова, проект Гераси . Такая автоматизированная система должна включать в себя несколько различных блоков:

- База данных по ферментам и метаболитам.
- Модуль для построения метаболического пути по набору ферментов или генов и проецирования его на известные метаболические карты.
- Модуль для расчета концентраций метаболитов в стационарном состоянии.

В проекте Гераси для расчета концентраций промежуточных метаболитов использовался метод Metabolic Control Analysis (MCA). Этот метод позволяет рассчитывать концентрации промежуточных метаболитов

при заданных концентрациях начальных субстратов и конечных продуктов. Но на практике в большинстве случаев концентрация конечного продукта является неизвестной искомой величиной, поэтому практическое применение метода Metabolic Control Analysis весьма ограничено. В связи с этим задача расчета концентраций метаболитов является актуальной.

Одной из задач, стоящих в настоящее время перед биоинженерами, является выведение новых видов растений, содержащих натуральный каучук. Натуральный каучук в промышленных масштабах добывают из бразильской гевеи, но природных ресурсов натурального каучука недостаточно для того, чтобы полностью удовлетворить быстрорастущую потребность в нём. В настоящее время во всё возрастающих масштабах производится синтетический каучук. Методы производства синтетического каучука были разработаны ещё в начале прошлого века. В 1910 году С.В. Лебедеву впервые удалось получить синтетический каучук из бутадиена. Однако, свойства синтетического каучука по многим показателям уступают свойствам природного каучука. Поэтому получение природного каучука всё ещё остаётся актуальной задачей, требующей решения.

Природный каучук встречается в очень многих растениях, не составляющих одного определённого ботанического семейства. Последние исследования обнаружили, что каучук содержится в почти 2000 видах биологических растений. Каучуконосы распространены, главным образом, в тропическом поясе около экватора, то есть в Южной Америке, Африке и на Малайском архипелаге. Лучшим деревом, дающим каучук, является бразильская гевея, обеспечивающая по разным оценкам от 90 до 96% мирового производства натурального каучука. Родиной гевеи является бассейн Амазонки – великой водной магистрали. Отсюда вывозился первый каучук в Европу. Каучук в гевее содержится в млечном соке, распределённом в млечных каналах, которые образуют в стволе концентрические кольца.

Дело в том, что для каучуконосов требуется очень тёплый и влажный климат и плодородная почва. Попытки выращивать бразильскую гевею в других климатических условиях заканчивались неудачей. Поэтому учёные продолжают искать другие источники природного каучука.

В зависимости от того, в каких тканях накапливается каучук, каучуконосные растения делят на:

- паренхимные — каучук в корнях и стеблях;
- хлоренхимные — каучук в листьях и зелёных тканях молодых побегов.
- латексные — каучук в млечном соке

Для примера можно привести данные исследований о содержании каучука в различных растениях.

Растение	Содержание каучука (%)	Молекулярная масса (kD)
Бразильская гевея		
в латексе	32.10 +/- 0.65	1500
<i>F.elastica</i>		
в латексе	6.08 +/- 2.6	590
Фиговое дерево		
в латексе	4.10 +/- 0.35	190
в листьях	0.15 +/- 0.05	
в коре	0.35 +/- 0.10	
Подсолнечник	2	

Как видно из таблицы, содержание каучука в других растениях несравнимо мало по сравнению с содержанием каучука в бразильской гевее. Поэтому в настоящее время ведутся научные работы с целью выведения растений-мутантов с повышенным содержанием каучука. Для этого необходимо детально изучить механизм метаболизма в клетках этих растений, чтобы иметь возможность модифицировать нужные гены и видеть, как замена этих генов будет влиять на растение в целом и на содержание каучука в частности.

Помочь в этом может автоматизированная система позволяющая производить наглядный количественный анализ метаболического пути, просчитывать концентрации конечных продуктов и промежуточных метаболитов по заданным концентрациям субстратов.

Для построения такой системы нужна математическая модель метаболизма, которая позволит просчитать концентрацию конечного продукта в метаболическом пути. Построение такой модели основано на уравнениях кинетики ферментов, получаемых из уравнения Михаэлиса-Ментен.

Данная работа посвящена созданию математической модели для расчёта концентраций конечных продуктов в клетке в стационарном состоянии.

В параграфе 1 даётся общая постановка задачи. Описывается метаболический путь биосинтеза каучука, являющегося частью биосинтеза стерола и витаминов К и Е. Рассматриваются типы реакций, присутствующих в этом пути.

Далее в параграфе 2 детально рассматривается необратимая одно-субстрат-продуктная реакция. Выводится формула для скорости реакции. Для стационарного состояния выводится формула для вычисления концентрации продукта.

В параграфах 3 и 4 рассматриваются соответственно одно- и двух-продуктовые обратимые реакции. Для этих типов реакций также выводится формула для скорости реакции и формула для вычисления концен-

трации продукта в стационарном случае.

В Приложении приводятся подробный вывод формулы для скорости обратимой реакции.

## 1. Постановка задачи

Рассмотрим построение модели метаболизма на примере модели биосинтеза каучука. Известно, что синтез каучука является частью метаболического пути биосинтеза стерола, витамина К, витамина Е и каротиноидов.

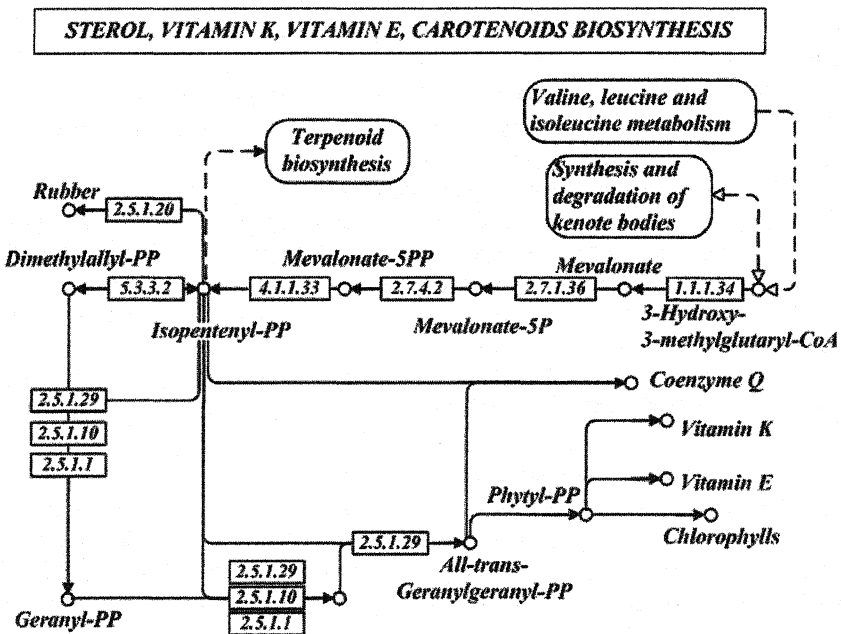


Рис. 1

Упрощенно метаболический путь синтеза каучука выглядит следующим образом.

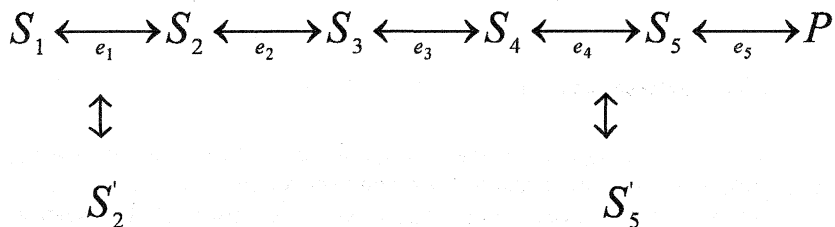


Рис. 2

Здесь  $S_1$  – 3-гидрокси-3метилглутарил-CoA,  $S_2$  – мевалонат,  $S'_2$  – коэнзим (CoA),  $S_3$  – мевалонат-5P,  $S_4$  – мевалонат-5PP,  $S_5$  – изопентинил-PP,  $S'_5$  – ортофосфат, P – каучук,  $e_1, e_2, e_3, e_4, e_5$  – ферменты, участвующие в метаболических преобразованиях.

Фермент  $e_i$  характеризуется константами скорости  $k_{ij}$ , которые показывают, с какой скоростью образуются и распадаются фермент-субстратные и фермент-продуктные комплексы.

Концентрация субстрата предполагается фиксированной.

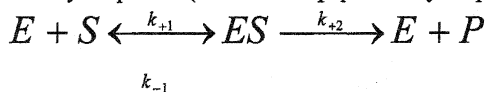
Задача состоит в том, чтобы по начальным концентрациям субстратов рассчитать концентрации продуктов и промежуточных метаболитов в стационарном состоянии. Стационарным состоянием называют то состояние, когда скорость реакции становится равной нулю, т.е. прекращается увеличение концентрации продукта.

В рассматриваемом пути присутствуют реакции разных типов. Рассмотрим типы реакций более подробно.

## 2. Необратимая реакция

Известно, что ферменты, участвуя в биохимических реакциях, формируют комплекс с другими участниками реакции (т.е. с субстратами). Механизм, основанный на уравнении Михаэлиса-Ментен для необратимой односубстратной реакции, выглядит следующим образом:

Фермент+Субстрат  $\leftrightarrow$  (Комплекс фермент-субстрат)  $\rightarrow$  Фермент+Продукт



где  $k_{+1}, k_{-1}$  и  $k_{+2}$  соответствующие константы скорости, обычно имеющие

значения  $10^5$ - $10^8 \text{ M}^{-1}\text{c}^{-1}$ ,  $1 - 10^4 \text{ c}^{-1}$  и  $1 - 10^5 \text{ c}^{-1}$  соответственно. Знак в нижней части показывает направление реакции.

Скорость реакции  $v$  – это скорость, с которой образуется продукт реакции.

$$v = \frac{d[P]}{dt} = k_{+2}[ES], \quad (2.1)$$

где  $[ ]$  обозначает концентрацию вещества стоящего в скобках.

Скорость роста фермент-субстратного комплекса равна скорости его образования минус скорость его распада, как при производстве продукта, так и в случае регенерации субстрата. Следовательно

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_{+1}[E][S] - (k_{-1} + k_{+2})[ES].$$

В течение всего времени реакции суммарное количество фермента в виде свободного фермента( $[E]$ ) и фермента в фермент-субстратном комплексе( $[ES]$ ) не меняется и равно концентрации фермента в начальный момент времени ( $[E]_0$ ), т.е.

$$[E]_0 = [E] + [ES]$$

Следовательно,

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_{+1}([E]_0 - [ES])[S] - (k_{-1} + k_{+2})[ES].$$

Преобразуя, получаем:

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_{+1}[E]_0[S] - k_{+1}[ES][S] - (k_{-1} + k_{+2})[ES],$$

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_{+1}[E]_0[S] - (k_{+1}[S] + k_{-1} + k_{+2})[ES],$$

$$\frac{d[ES]}{dt} + [ES] = \frac{k_{+1}[E]_0[S]}{k_{+1}[S] + k_{-1} + k_{+2}}. \quad (2.2)$$

Дифференциальное уравнение (2.2) можно упростить, предположив, что левая часть равна  $[ES]$ . Поскольку мы рассматриваем ситуацию, близкую к равновесному состоянию, то это предположение справедливо, так как означает, что

$$\frac{d[ES]}{dt} \ll [ES],$$

т.е. что изменение концентрации фермент-субстратного комплекса бесконечно мало.

Из уравнения (2.2) легко получается уравнение Михаэлиса-Ментен. Обозначив

$$K_m = \frac{k_{-1} + k_{+2}}{k_{+1}},$$

имеем

$$v = k_{+2} [ES] = \frac{k_{+2} [E]_0 [S]}{[S] + K_m},$$

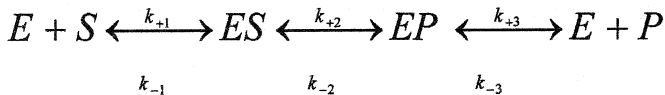
или

$$v = \frac{V_{\max} [S]}{[S] + K_m},$$

где  $V_{\max}$  – максимальная скорость реакции, которая наступает тогда, когда фермент полностью «насытит» субстрат.

### 3. Обратимая реакция

Рассмотрим теперь обратимую односубстратную реакцию. Обратимая односубстратная реакция может быть представлена следующей схемой: фермент и субстрат образуют фермент-субстратный комплекс, затем фермент-субстратный комплекс переходит в фермент-продуктный комплекс, который распадается на фермент и продукт. На любом этапе реакция обратима, т.е. может идти как в одну, так и в другую сторону.



Для этой схемы можно написать дифференциальные уравнения, показывающие изменения концентраций фермент-субстратного комплекса и фермент-продуктного комплекса:

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_{+1} [E][S] + k_{-2} [EP] - (k_{-1} + k_{+2}) [ES]$$

$$\frac{d[EP]}{dt} = k_{-3} [E][P] + k_{+2} [ES] - (k_{+3} + k_{-2}) [EP]$$

Скорость реакции – это скорость, с которой субстрат переходит в продукт минус скорость обратного перехода продукта в субстрат,

другими словами

$$v = k_{+2} [ES] - k_{-2} [EP]$$

Производя выкладки, которые даны в Приложении, мы получим следующее выражение для скорости реакции.

$$v = \frac{V^f [S] - V^r [P]}{1 + \frac{[S]}{K_m^S} + \frac{[P]}{K_m^P}},$$

где:

$$V^f = \frac{k_{+2} k_{+3} [E]_0}{k_{+2} + k_{-2} + k_{+3}},$$

$$V^r = \frac{k_{-2} k_{-1} [E]_0}{k_{+2} + k_{-2} + k_{-1}},$$

$$K_m^S = \frac{k_{-1} k_{-2} + k_{-1} k_{+3} + k_{+2} k_{+3}}{k_{+1} (k_{+2} + k_{-2} + k_{+3})},$$

$$K_m^P = \frac{k_{-1} k_{-2} + k_{-1} k_{+3} + k_{+2} k_{+3}}{k_{-3} (k_{+2} + k_{-2} + k_{-1})}.$$

В состоянии равновесия скорость реакции равна нулю:

$$v = 0$$

Следовательно,

$$\frac{V^f [S]_{eq}}{K_m^S} = \frac{V^r [P]_{eq}}{K_m^P},$$

где  $[S]_{eq}$  и  $[P]_{eq}$  - равновесные концентрации субстрата и продукта.

В этом случае получаем выражение для величины концентрации продукта в состоянии равновесия:

$$[P]_{eq} = \frac{V^f K_m^S}{V^r K_m^P} [S]_{eq} \quad (3.1)$$

Подставляя формулы для  $V^f, V^r, K_m^S, K_m^P$  в (3.1) и упрощая, получим следующее выражение для концентрации продукта в стационарном случае



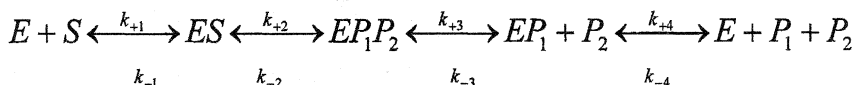
$$[P]_{eq} = \frac{k_{+2}k_{+3}}{k_{-2}k_{-1}} \cdot \frac{k_{-2} + k_{+2} + k_{-1}}{k_{+2} + k_{-2} + k_{+3}} \cdot \frac{k_{+3}k_{+2} + k_{-1}k_{+3} + k_{-2}k_{-1}}{k_{-3}(k_{+2} + k_{-2} + k_{-1})} \cdot \frac{k_{+1}(k_{+2} + k_{-2} + k_{+3})}{k_{-1}k_{-2} + k_{-1}k_{+3} + k_{+3}k_{+2}} [S]_{eq} = \frac{k_{+1}k_{+2}k_{+3}}{k_{-3}k_{-2}k_{-1}} [S]_{eq}$$

Таким образом, доказано

**Утверждение:** Для обратимой реакции концентрация конечного продукта в состоянии равновесия при фиксированной концентрации начального субстрата прямо пропорциональна коэффициентам  $k_{+1}$ ,  $k_{+2}$  и  $k_{+3}$  и обратно пропорциональна коэффициентам  $k_{-1}$ ,  $k_{-2}$  и  $k_{-3}$ .

#### 4. Обратимая односубстратная двухпродуктовая реакция

Теперь рассмотрим обратимую односубстратную двухпродуктовую реакцию. Реакция может быть представлена следующей схемой:



На любом этапе реакция обратима, т.е. может идти как в одну, так и в другую сторону.

Проводя выкладки аналогичные предыдущим, мы получим следующее выражение для скорости реакции:

$$v = \frac{V^f ([S] - \frac{[P_1][P_2]}{K_{eq}})}{K_m^S + [S] + \frac{V^f}{V^r K_{eq}} (K_m^{P_1} [P_1] + K_m^{P_2} [P_2] + [P_1][P_2])}$$

где 
$$K_{eq} = \frac{V^f K_m^{P_1}}{V^r K_m^S}$$

В состоянии равновесия  $v = 0$ .

Следовательно, концентрации субстрата и продуктов в состоянии равновесия связаны следующим образом:

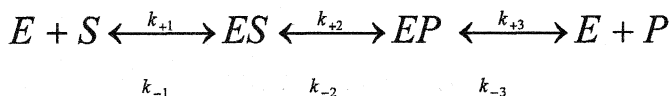
$$[S]_{eq} - \frac{[P_1]_{eq}[P_2]_{eq}}{K_{eq}} = 0,$$

где  $[S]_{eq}$ ,  $[P_1]_{eq}$ ,  $[P_2]_{eq}$  – равновесные концентрации субстрата и продуктов.

## 6. Заключение

В данной работе получены формулы для вычисления концентраций конечных продуктов в стационарном состоянии для некоторых типов реакций, присутствующих в метаболическом пути биосинтеза каучука. Полученные формулы позволяют рассчитать концентрации конечных продуктов в стационарном случае для достаточно большого класса метаболических путей. Решение этой задачи в совокупности с другими блоками автоматизированной системы, о которой шла речь выше, позволит биоинженерам увидеть первые результаты генных изменений в организме, не проводя длительных и дорогих экспериментов.

### Приложение



Для этой схемы можно написать дифференциальные уравнения, показывающие изменения концентраций фермент-субстратного комплекса и фермент-продуктного комплекса:

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_{+1}[E][S] + k_{-2}[EP] - (k_{-1} + k_{+2})[ES] \quad (1)$$

$$\frac{d[EP]}{dt} = k_{-3}[E][P] + k_{+2}[ES] - (k_{+3} + k_{-2})[EP] \quad (2)$$

Как и в случае необратимой реакции предполагаем, что концентрация фермента не меняется со временем:

$$[E] + [ES] + [EP] = [E]_0 \quad (3)$$

Следовательно:

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_{+1}([E]_0 - [ES] - [EP])[S] + k_{-2}[EP] - (k_{-1} + k_{+2})[ES]$$

Вынося [ES], получаем

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_{+1}([E]_0 - [EP])[S] + k_{-2}[EP] - (k_{+1}[S] + k_{-1} + k_{+2})[ES]$$

$$\frac{d[ES]}{dt} + [ES] = \frac{k_{+1}([E]_0 - [EP])[S] + k_{-2}[EP]}{k_{+1}[S] + k_{-1} + k_{+2}} \quad (4)$$

Аналогично преобразуем второе уравнение

$$\frac{d[EP]}{dt} = k_{-3}([E]_0 - [EP] - [ES])[P] + k_{+2}[ES] - (k_{+3} + k_{-2})[EP]$$

Вынося [EP], получаем

$$\frac{d[EP]}{dt} = k_{-3}([E]_0 - [ES])[P] + k_{+2}[ES] - (k_{-3}[P] + k_{+3} + k_{-2})[EP],$$

$$\frac{d[EP]}{dt} + [EP] = \frac{k_{-3}([E]_0 - [ES])[P] + k_{+2}[ES]}{k_{-3}[P] + k_{+3} + k_{-2}} \quad (5)$$

Будем считать, выполненными обычные условия Михаэлиса-Ментен протекания реакции, которые мы обсуждали выше (т.е. что в стационарном состоянии изменение концентраций [ES] и [EP] достаточно мало)

$$\frac{d[ES]}{dt} \ll [ES] \quad (6)$$

и

$$\frac{d[EP]}{dt} \ll [EP] \quad (7)$$

Перепишем уравнение (4) с учётом предположения (6).

$$k_{+1}([E]_0 - [EP])[S] + k_{-2}[EP] = (k_{+1}[S] + k_{-1} + k_{+2})[ES], \quad (8)$$

$$-k_{+1}[EP][S] + k_{-2}[EP] = (k_{+1}[S] + k_{-1} + k_{+2})[ES] - k_{+1}[E]_0[S],$$

$$[EP] = \frac{(k_{+1}[S] + k_{-1} + k_{+2})[ES] - k_{+1}[E]_0[S]}{k_{-2} - k_{+1}[S]}. \quad (9)$$

Аналогично перепишем уравнения (5) с учётом предположения (7),

и преобразуем его к нужному виду.

$$k_{-3}([E]_0 - [ES])[P] + k_{+2}[ES] = (k_{-3}[P] + k_{+3} + k_{-2})[EP], \quad (10)$$

$$-k_{-3}[ES][P] + k_{+2}[ES] = (k_{-3}[P] + k_{+3} + k_{-2})[EP] - k_{-3}[E]_0[P],$$

$$[ES] = \frac{(k_{-3}[P] + k_{+3} + k_{-2})[EP] - k_{-3}[E]_0[P]}{k_{+2} - k_{-3}[P]}. \quad (11)$$

Теперь подставим выражение для [ES] (11) в уравнение (8). Мы получим следующее:

$$k_{+1}([E]_0 - [EP])[S] + k_{-2}[EP] =$$

$$= \frac{(k_{+1}[S] + k_{-1} + k_{+2})\{(k_{-3}[S] + k_{+3} + k_{-2})[EP] - k_{-3}[E]_0[P]\}}{k_{+2} - k_{-3}[P]},$$

$$(k_{+2} - k_{-3}[P])\{k_{+1}([E]_0 - [EP])[S] + k_{-2}[EP]\} =$$

$$= (k_{+1}[S] + k_{-1} + k_{+2})\{(k_{-3}[P] + k_{+3} + k_{-2})[EP] - k_{-3}[E]_0[P]\}^2$$

$$k_{+1}k_{+2}[E]_0[S] - k_{+1}k_{+2}[EP][S] + k_{+2}k_{-2}[EP] - k_{+1}k_{-3}[E]_0[S][P] +$$

$$+ k_{+1}k_{-3}[EP][S][P] - k_{-2}k_{-3}[EP][P] = k_{+1}k_{-3}[EP][S][P] +$$

$$+ k_{+1}k_{+3}[EP][S] + k_{+1}k_{-2}[EP][S] - k_{+1}k_{-3}[E]_0[S][P] + k_{-1}k_{-3}[P][EP] +$$

$$+ k_{-1}k_{+3}[EP] + k_{-1}k_{-2}[EP] - k_{-1}k_{-3}[E]_0[P] + k_{+2}k_{-3}[P][EP] +$$

$$+ k_{+2}k_{+3}[EP] + k_{+2}k_{-2}[EP] - k_{+2}k_{-3}[E]_0[P]$$

Группируя, получим:

$$k_{+1}k_{+2}[E]_0[S] - k_{+1}k_{+2}[EP][S] + k_{+2}k_{-2}[EP] - k_{-2}k_{-3}[EP][P] =$$

$$= k_{+1}k_{+3}[EP][S] + k_{+1}k_{-2}[EP][S] + k_{-1}k_{-3}[P][EP] + k_{-1}k_{+3}[EP] +$$

$$+ k_{-1}k_{-2}[EP] - k_{-1}k_{-3}[E]_0[P] + k_{+2}k_{-3}[P][EP] + k_{+2}k_{+3}[EP] + k_{+2}k_{-2}[EP] -$$

$$- k_{+2}k_{-3}[E]_0[P]$$

$$k_{+1}k_{+2}[EP][S] + k_{+2}k_{-2}[EP] - k_{-2}k_{-3}[EP][P] + k_{+1}k_{+3}[EP][S] +$$

$$k_{+1}k_{-2}[EP][S] + k_{-1}k_{-3}[P][EP] + k_{-1}k_{+3}[EP] + k_{-1}k_{-2}[EP] +$$

$$+ k_{+2}k_{-3}[P][EP] + k_{+2}k_{+3}[EP] + k_{+2}k_{-2}[EP] = k_{-1}k_{-3}[E]_0[P] +$$

$$+ k_{+2}k_{-3}[E]_0[P] + k_{+1}k_{+2}[E]_0[S]$$

$$[EP] =$$

$$= \frac{k_{+1}k_{+2}[E]_0[S] + (k_{-1} + k_{+2})k_{-3}[E]_0[P]}{(k_{-1}k_{+3} + k_{-1}k_{-2} + k_{+2}k_{+3}) + (k_{+2} + k_{-2} + k_{+3})k_{+1}[S] + (k_{+2} + k_{-2} + k_{-1})k_{-3}[P]}$$

(12)

Теперь, подставим выражение для [EP] (9) в уравнение (10). Мы получим следующее:

$$\begin{aligned}
 & k_{-3}([E]_0 - [ES])[P] + k_{+2}[ES] = \\
 & = \frac{(k_{-3}[P] + k_{+3} + k_{-2})\{(k_{+1}[S] + k_{-1} + k_{+2})[ES] - k_{+1}[E]_0[S]\}}{k_{-2} - k_{+1}[S]} \\
 & (k_{-2} - k_{+1}[S])\{k_{-3}([E]_0 - [ES])[P] + k_{+2}[ES]\} = \\
 & = (k_{-3}[P] + k_{+3} + k_{-2})\{(k_{+1}[S] + k_{-1} + k_{+2})[ES] - k_{+1}[E]_0[S]\} \\
 & k_{-3}k_{-2}[E]_0[P] - k_{-3}k_{-2}[ES][P] + k_{-2}k_{+2}[ES] - k_{+1}k_{-3}[E]_0[S][P] + \\
 & + k_{+1}k_{-3}[ES][S][P] - k_{+2}k_{+1}[ES][S] = k_{+1}k_{-3}[ES][S][P] + \\
 & + k_{-3}k_{-1}[ES][P] + k_{-3}k_{+2}[ES][P] - k_{+1}k_{-3}[E]_0[S][P] + k_{+3}k_{+1}[S][ES] + \\
 & + k_{+3}k_{-1}[ES] + k_{+3}k_{+2}[ES] - k_{+3}k_{+1}[E]_0[S] + k_{-2}k_{+1}[S][ES] + \\
 & + k_{-2}k_{-1}[ES] + k_{-2}k_{+2}[ES] - k_{-2}k_{+1}[E]_0[S]
 \end{aligned}$$

Группируя, получим:

$$\begin{aligned}
 & k_{-3}k_{-2}[ES][P] - k_{-2}k_{+2}[ES] + k_{+2}k_{+1}[ES][S] + k_{-3}k_{-1}[ES][P] + \\
 & + k_{-3}k_{+2}[ES][P] + k_{+3}k_{+1}[S][ES] + k_{+3}k_{-1}[ES] + k_{+3}k_{+2}[ES] + \\
 & + k_{-2}k_{+1}[S][ES] + k_{-2}k_{-1}[ES] + k_{-2}k_{+2}[ES] = k_{+3}k_{+1}[E]_0[S] + \\
 & + k_{-2}k_{+1}[E]_0[S] + k_{-3}k_{-2}[E]_0[P]
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 [ES] & = \\
 & = \frac{k_{-3}k_{-2}[E]_0[P] + (k_{+3} + k_{-2})k_{+1}[E]_0[S]}{(k_{-1}k_{+3} + k_{-1}k_{-2} + k_{+2}k_{+3}) + (k_{+2} + k_{-2} + k_{+3})k_{+1}[S] + (k_{+2} + k_{-2} + k_{-1})k_{-3}[P]}
 \end{aligned} \tag{13}$$

Скорость реакции – это скорость, с которой субстрат переходит в продукт минус скорость обратного перехода продукта в субстрат, другими словами

$$v = k_{+2}[ES] - k_{-2}[EP]. \tag{14}$$

Подставим в это уравнение (14), выражения для [ES] (12) и [EP] (13).

Получим уравнение следующего вида.

$$v = \frac{k_{+2} \{k_{-3}k_{-2} [E]_0 [P] + (k_{+3} + k_{-2})k_{+1} [E]_0 [S]\}}{(k_{-1}k_{+3} + k_{-1}k_{-2} + k_{+2}k_{+3}) + (k_{+2} + k_{-2} + k_{+3})k_{+1} [S] + (k_{+2} + k_{-2} + k_{-1})k_{-3} [P]} - \frac{k_{-2} \{k_{+1}k_{+2} [E]_0 [S] + (k_{-1} + k_{+2})k_{-3} [E]_0 [P]\}}{(k_{-1}k_{+3} + k_{-1}k_{-2} + k_{+2}k_{+3}) + (k_{+2} + k_{-2} + k_{+3})k_{+1} [S] + (k_{+2} + k_{-2} + k_{-1})k_{-3} [P]}$$

Упрощая, имеем:

$$v = \frac{k_{+1}k_{+2}k_{+3} [E]_0 [S] - k_{-1}k_{-2}k_{-3} [E]_0 [P]}{(k_{-1}k_{+3} + k_{-1}k_{-2} + k_{+2}k_{+3}) + (k_{+2} + k_{-2} + k_{+3})k_{+1} [S] + (k_{+2} + k_{-2} + k_{-1})k_{-3} [P]}$$

Следовательно,

$$v = \frac{V^f [S] - V^r [P]}{1 + \frac{[S]}{K_m^S} + \frac{[P]}{K_m^P}},$$

где:

$$V^f = \frac{k_{+2}k_{+3} [E]_0}{k_{+2} + k_{-2} + k_{+3}},$$

$$V^r = \frac{k_{-2}k_{-1} [E]_0}{k_{+2} + k_{-2} + k_{-1}},$$

$$K_m^S = \frac{k_{-1}k_{-2} + k_{-1}k_{+3} + k_{+2}k_{+3}}{k_{+1}(k_{+2} + k_{-2} + k_{+3})},$$

$$K_m^P = \frac{k_{-1}k_{-2} + k_{-1}k_{+3} + k_{+2}k_{+3}}{k_{-3}(k_{+2} + k_{-2} + k_{-1})}.$$

Данное исследование выполнено по контракту с Центром «Биоинженерия» РАН в рамках работы по созданию программного комплекса для моделирования метаболизма живой, растительной клетки. Я очень благодарен Александру Алексеевичу Васину за полезные замечания. Я также признателен Гапоненко Александру Константиновичу за важные замечания и некоторую дискуссию при написании этой статьи.

## Литература

1. Дегли С., Никольсон Д., “Метаболические пути”. Москва. Изд-во «Мир». 1973.
2. Ленинджер А. “Биохимия”. Москва. Изд-во «Мир». 1974.
3. Малыгин А. Г. “Симметрия сети реакций метаболизма”. Москва. Изд-во «Наука». 1984.
4. Мушкамбаров Н.Н. Аналитическая биохимия Издательство "Экспедитор" Москва 1996г.
5. Hunseung Kang, Min Young Kang, Kyung-Hwan Han «Identification of Natural Rubber and Characterization of Rubber Biosynthetic Activity in Fig Tree.» Plant Physiol Vol. 123, 2000
6. Selkov, E; Gaasterland, T. “Reconstruction of Metabolic Networks Using Incomplete Information”. 1995