



M Ű E G Y E T E M 1 7 8 2

**OSZCILLÁLÓ (BIO)KÉMIAI MODELLEK
ÉRZÉKENYSÉGÉNEK VIZSGÁLATA**

TDK DOLGOZAT

SIPOS SZABÓ ESZTER

TÉMAVEZETŐK:

TÓTH JÁNOS

EGYETEMI DOCENS

BME MATEMATIKAI INTÉZET

ANALÍZIS TANSZÉK

CSIKÁSZ-NAGY ATTILA

TUDOMÁNYOS FŐMUNKATÁRS

MICROSOFT RESEARCH CENTRE

FOR COMPUTATIONAL AND SYSTEMS BIOLOGY

UNIVERSITY OF TRENTO

BUDAPEST, 2008. OKTÓBER

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés	3
2. A sejtciklus	5
2.1. A sejtciklus	5
2.1.1. A sejtciklusgépezet	6
2.1.2. A sejtciklusgépezet periodikussága	7
2.1.3. Pozitív, illetve negatív visszacsatolási körök	7
2.2. A biokémiai reakciók leírásának kinetikai módszere	9
2.3. Cdh1+Cdc20 modell	11
2.4. APCP/Cdc20 modell	13
2.5. Polo kináz modell	14
2.6. Cdc14 modell	15
3. Érzékenységvizsgálat szimulációval	17
3.1. Lokális érzékenységvizsgálat	19
3.2. Globális érzékenységvizsgálat	20
3.2.1. A szimulációs vizsgálat konklúziója	25
4. Analitikus érzékenységvizsgálat	26
4.1. Az oszcilláló rendszerek analitikus érzékenységvizsgálatának általános elvei	26
4.1.1. A periódusérzékenység meghatározása a Thomas–Edelson-féle módszerrel	28
4.1.2. Szinguláris felbontáson alapuló módszer	29
4.2. A harmonikus oszcillátor példája	31
4.2.1. Periódusérzékenység-számítási módszerek összehasonlítása a harmonikus oszcillátor példáján	34
4.2.2. A modellek paraméterérzékenységének vizsgálata	35
4.2.3. Paraméterérzékenységek modellen belüli összehasonlítása az analitikus érzékenységvizsgálattal	43

TARTALOMJEGYZÉK	2
4.2.4. A modellek összehasonlítása az analitikus érzékenységvizsgálat alapján	43
5. Összefoglalás	46

1. fejezet

Bevezetés

Több, mint száz éve ismert tény, hogy a sejtek osztódással szaporodnak, aminek során önmagukkal azonos utódsejteket hoznak létre. Az első mikroszkópokkal már figyeltek meg osztódó sejteket, és azóta is folyamatosan kutatják a sejtek szaporodási mechanizmusát, ennek ellenére még mindig vannak nyitott kérdések azzal kapcsolatban, hogy pontosan mi és hogyan játszódik le ebben a folyamatban, hogyan lehet szabályozni a sejtosztódást.

A molekuláris biológusok kutatásai alapján ma már sokat tudunk a sejtosztódást szabályozó rendszer elemeinek kölcsönhatásairól, de pusztán ezekből az eredményekből nehéz megjósolni egy sejt osztódásának időbeli viselkedését. Ezért a szabályozó hálózat dinamikájának vizsgálatára érdemes a kémiai reakciókinetika matematikai módszereit alkalmazni.

A matematikai elemzéshez a szabályozó hálózat különböző reakciókinetikai modelljeit használják fel, melyeknek egyrészt biológiailag realiztikusnak, másrészt a különböző külső, illetve belső körülmények perturbációjára robusztusnak kell lenniük. Az utóbbi jellemző különösen fontos a biológiai életképesség szempontjából, mivel csak robusztus rendszerek tudnak alkalmazkodni a különböző környezeti és genetikai mutációkhoz.

Egy biológiai rendszer robusztusságának formális megállapításához *érzékenységvizsgálatot* kell végrehajtani, mely meghatározza, hogy a szabályozó hálózat matematikai modellje mennyire érzékeny a rendszer viselkedését befolyásoló paraméterek változásaira.

Kutatási célkitűzések

Dolgozatomban a sejtosztódást szabályozó hálózat négy kémiai reakciókinetikai modelljét vizsgáltam meg matematikai érzékenységvizsgálati módszerekkel.

A kutatásaim végrehajtásához részcelként fogalmaztam meg a reakciókinetikai modellek

- lokális érzékenységvizsgálatát (lásd 3.1 fejezet), mely során céлом volt felderíteni, hogy a modellekhez tartozó egyes paraméterek milyen fokú változását tűri el a biológiai rendszer.
- globális érzékenységvizsgálatát (lásd 3.2 fejezet), mely általános képet ad arról, hogy a modellekhez tartozó paramétereket egyszerre változtatva hogyan reagál a biológiai rendszer a változásra.
- analitikus érzékenységvizsgálatát (lásd 4 fejezet), melynek segítségével meghatározható, hogy melyik modellben melyik komponense a legérzékenyebb az egyes paraméterváltozásokra.
- a modellek paraméterváltozásokkal szembeni robosztusság alapján történő összehasonlítását (lásd 4.2.4 alfejezet).

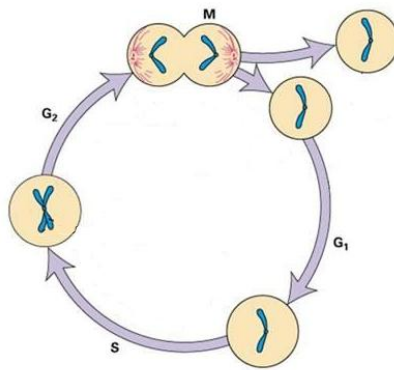
A dolgozatban bemutatott reakciókinetikai modellek más szerzők írásai-ban megtalálhatók. Az érzékenységvizsgálat felhasználásának ötlete konzulenseimtől származik, viszont *az érzékenységvizsgálatok végrehajtása és a modellek összehasonlítása* a saját munkám eredménye.

2. fejezet

Egy oszcilláló biokémiai rendszer: a sejtciklus

2.1. A sejtciklus

A sejtosztódás végétől a következő sejtosztódás végéig tartó folyamatot **sejtciklusnak** nevezzük. A sejtciklus bővebb leírása a ([3]) PhD disszertációban megtalálható, lépéseit az (2.1) ábra ([11]) szemlélteti.



2.1. ábra. A sejtciklus lépései

1. A G_1 fázis az első növekedési szakasz, mely alatt a sejt tömege növekszik, és felkészül a későbbi sejtosztódásra.
2. Az S fázis a DNS-replikáció helye, a sejt megduplázza DNS-ét.

3. A G_2 fázis a második növekedési szakasz, a sejt felkészítése az osztódásra.
4. Az M fázis vagy mitózis során a sejt kettéválk két utódsejtre.

A sejtciklusban megfigyelhető alapvető szabályozási elvek

A sejtciklus egy ciklikusan ismétlődő folyamatsor, melyben megfigyelhetőek bizonyos szabályszerűségek. Ezeket azért fontos felderíteni, mert ezek lesznek azok a kritériumok, amelyek alapján azt mondjuk, hogy a sejtciklusra felállított matematikai modellben sejtosztódás végbemegy, ha ezek a szabályszerűségek ott is megfigyelhetőek, illetve nem megy végbe, ha ezek a szabályszerűségek nem figyelhetőek meg.

- **Az S és az M fázis váltakozása.** Egy sejt akkor szaporodóképes, ha a sejtciklus eseményei a megfelelő sorrendben követik egymást. A sejtciklus során a kromoszómareplikáció (**S** fázis) és -szegregáció (**M** fázis) mindig felváltva kell, hogy bekövetkezzen, és újabb replikációra csak az előző szegregáció befejeződése után kerülhet sor.
- **A méretnövekedés és az S-M alternálás összehangolása.** A sejtciklusban a DNS mellett a többi sejtalkotó (membránok, plazma, stb.) is megduplázódik. A folyamat során, amíg a sejt tömege el nem éri a megfelelő szintet, a sejt nem léphet a következő sejtosztódási szakaszba, mert a sejtekben olyan ellenőrzési mechanizmusok fejlődtek ki, amelyek az ellenőrző pontokon letiltják a sejtciklus folytatását addig, amíg a sejt fel nem készült teljesen, hogy a következő fázisba kerüljön. A G_1 , G_2 fázis ahhoz szükséges, hogy a két osztódás között legyen idő a sejt méret megduplázására, azért hogy a leánysejtek méretei azonosak legyenek az anyasejt születéskori méretével.

2.1.1. A sejtciklusgépezet

A sejtciklust bonyolult, fehérjékből álló, molekuláris biokémiai szabályozó hálózat, a **sejtciklusgépezet** irányítja. A molekuláris biológiai módszerek alkalmazásának köszönhetően ismerjük a sejtciklust szabályozó legfontosabb molekulákat ([14]), melyek a következők:

- a **ciklin**nek nevezett szabályozó fehérjék, melyek
- más fehérjéket foszforilezni képes **protein-kinázokat** aktiválnak (ciklin függő protein-kináz, Cdk), valamint

- a Cdk/ciklin komplexet gátló ún. **Cdk inhibitor** fehérjék, és
- egyéb **foszforilező** (protein-kináz) és **defoszforilező** (foszfatáz) **enzimek**.

A ciklin függő protein-kinázok tehát egy regulációs alegységgel, a ciklinnel való kötődés során aktiválódnak, ciklin+ciklin-függő kináz komplexet alkotva ezzel. A sejtciklus során a ciklin-függő kinázok koncentrációja szinte változatlan, de a ciklinek szintézisének és degradációjának függvényében aktivitásuk jelentősen változik. A Cdk/ciklin komplexek közül az úgynevezett Cdk1 mitózis, B-típusú ciklinnel (CycB) alkotott komplexe, amit **M**-fázis serkentő faktornak (MPF) neveznek lehet a legősibb, mert ez élesztőkben egymagában képes a DNS replikáció és a kromoszómaszegregáció felváltva történő elindítására. [7] Mivel a kizárólag MPF-fel szabályozott sejtciklusokban is a DNS replikáció mindig megelőzi a mitózist, ezért ez egyben arra is utal, hogy az előbbinek kisebb lehet a Cdk/ciklin aktivitás igénye, mint az utóbbinak. [16]

2.1.2. A sejtciklusgépezet periodikussága

Az eukarióta sejtciklusban alapvetően tehát két állapot különböztethető meg:

- a kis MPF aktivitású **G₁** állapot, amikor a replikációs kezdőpontokhoz engedély-fehérjék kapcsolódnak, és felkészülnek a DNS későbbi lemásolására, valamint
- egy növekvő MPF aktivitással jellemezhető **S/G₂/M** állapot, amikor a replikációs kezdőpontok posztreplikációs állapotban vannak az engedélyfehérjék hiánya miatt.

A kromoszómareplikáció és -szegregáció megfelelő sorrendben történő alternálása tehát megkívánja, hogy az MPF aktivitása is kis és nagy értékek között változzon.

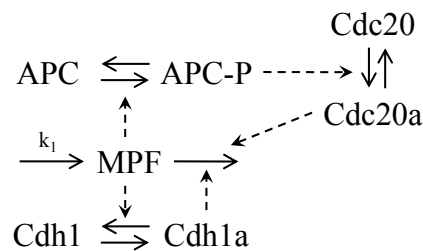
Ez lesz a matematikai modellekben a fő kritérium. Azaz az eddigiek alapján akkor mondjuk egy sejtről, hogy a sejtciklusok végbemennek benne, ha a modellben az MPF aktivitása kis és nagy értékek között periodikusan váltakozik, oszcillál.

2.1.3. Pozitív, illetve negatív visszacsatolási körök

A sejtciklusgépezet robusztusságának növelése szempontjából van még egy kulcsfontosságú szabályozás. Ez a **negatív, illetve a pozitív visszacsatolás**. A legtöbb életképes, robusztus rendszernél megfigyelhető a pozitív,

illetve a negatív visszacsatolás a szabályozásban. A negatív visszacsatolás a szabályozás alapvető része, a rendszert a kis perturbációkkal szemben kevésbé érzékennyé teszi. A pozitív visszacsatolás pedig erősíti az ingerre adott választ, bistabilissá téve a rendszert. Az aktív és inaktív állapot határozottan elkülönül. Ennek fenntartásában alapvető a pozitív visszacsatolási kör.

A két visszacsatolási kör bemutatása szempontjából nézzünk egy példamodellt a sejtciklusra. Ez a 2.2 ábrán látható.

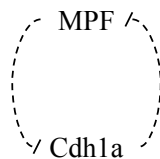


2.2. ábra. Sejtciklusmodell

A szaggatott nyilak azt jelzik, hogy az adott termék (ahonnan indul a nyíl) serkentőleg hat az adott folyamatra (ahova mutat a nyíl).

A modellben az MPF aktivitásának szabályozása két kulcsfontosságú visszacsatolási körön, a pozitív, illetve a negatív visszacsatolási körön alapul. A modellben megfigyelhető pozitív visszacsatolási kör ábrája a 2.3 ábra, a negatív visszacsatolási kör ábrája a 2.4 ábra.

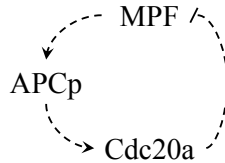
Pozitív visszacsatolási kör



2.3. ábra. Pozitív visszacsatolási kör a sejtciklusmodellben

Az MPF aktivitása gátló molekulákkal való kölcsönhatásban szabályozódik. Az MPF és ellenségei között fennálló kölcsönös gátlás összességében véve pozitív visszacsatolást eredményez: a gátló gátlása révén pozitív hatással vannak önmaguk szintjére, aktivitásukra, azaz a dupla negatív visszacsatolás pozitív visszacsatolást eredményez ([5]).

Negatív visszacsatolási kör



2.4. ábra. Negatív visszacsatolási kör a sejtciklusmodellben

A pozitív visszacsatolással ellentétben a negatív visszacsatolásnál az MPF aktivitása pozitívan hat az ellenség molekulákra. A negatív visszacsatolás általában stabilizál, de itt 3 komponensű a visszacsatolási kör, így késleltetés van beépítve a rendszerbe. A termosztát működésénél is megfigyelhető, hogy ha késleltetést viszünk a rendszerbe, azaz a fűtés csak később kapcsol ki, illetve be, mint ahogy a hőmérséklet elérte a kritikus értéket, akkor a hőmérsékleti függvény ingadozni fog. Tehát a késleltetett negatív visszacsatolás oszcillációt eredményezhet.

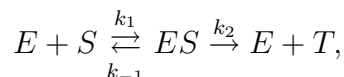
2.2. A biokémiai reakciók leírásának kinetikai módszere

Az 2.1 fejezetben felvázoltuk, hogy a sejtciklusra felállítandó matematikai modelleknek milyen alapvető szabályszerűségeket kell tudniuk. A modellek alapja a sejtciklusgépezet bonyolult, fehérjékből álló, molekuláris biokémiai szabályozó hálózata. A szabályozási hálózatot a biokémiai reakciók kinetikai leírásának módszerével differenciálegyenletekké alakítjuk, és az egyenletek megoldása a szabályozási rendszer viselkedését szolgáltatja. A sejtciklusgépezet működése során keletkező termékek keletkezési és lebomlási sebességére írjuk fel az egyenleteket. Ehhez használjuk a Michaelis–Menten-kinetikát.

A kinetikai vizsgálatokhoz először tekintsük az enzimhatás legegyszerűbb modelljét, amely két egymást követő lépésből áll.

1. Az első lépésben az E -vel jelölt szabad enzim az S -sel jelölt szubsztráttal ES jelű komplexet képez. Ez a komplexképződés megfordítható folyamat.
2. A reakció második lépésében az ES komplex a T -vel jelölt termékre és szabad enzimre bomlik.

A folyamat tehát a következő:



ahol k_i -k reakciósebességi állandók.

Innentől kezdve a koncentrációkra következő jelöléseket alkalmazzuk: $[E]$ a szabad enzim-, $[S]$ a szubsztrát-, $[ES]$ a komplex- és $[T]$ a termékkoncentrációt jelöli. Mivel $[ES]$ általában nem mérhető, ezt az ismert paraméterek függvényében lehet meghatározni.

A termék keletkezési sebessége a fentiek alapján a következőképpen vezethető le:

Első lépésként feltételezzük, hogy $\frac{d[ES]}{dt} = 0$, vagyis a komplex szint egyensúlyi állapotban van, azaz

$$\frac{d[ES]}{dt} = 0 = k_1[E][S] - [ES](k_{-1} + k_2).$$

Ezt átrendezve:

$$[ES] = \frac{k_1[E][S]}{k_{-1} + k_2}$$

Egyszerűsítésképpen vezessük be a J_m Michaelis–Menten-állandót: $J_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$, így az előzőt egyszerűbb alakban írva:

$$[ES] = \frac{[E][S]}{J_m}$$

Az enzimek a reakció során vagy szabad enzimként (E) jelennek meg, vagy a komplexben (ES) egy szubsztráthoz kötődve. Ha a teljes enzimkoncentrációt $[E_0]$ jelöli, akkor tehát $[E_0] = [E] + [ES]$, azaz $[E] = [E_0] - [ES]$.

Ezt visszahelyettesítve az előző egyenletbe:

$$[ES] = \frac{([E_0] - [ES])[S]}{J_m}$$

Átrendezés után:

$$[ES] = [E_0] \frac{1}{1 + \frac{J_m}{[S]}}$$

A termék keletkezési sebessége:

$$V = \frac{d[P]}{dt} = k_2[ES] = k_2[E_0] \frac{1}{1 + \frac{J_m}{[S]}} = k_2[E_0] \frac{[S]}{J_m + [S]}$$

Ez a sebesség a reakciósebesség, mely megmutatja, hogy egy mól enzim egy másodperc alatt hány reakciót katalizál. A reakciósebesség folyamatosan növe aszimptotikusan tart a határértékéhez, amíg a substrátkoncentráció $[S]$ is nő.

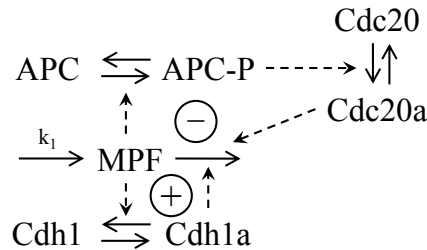
Az egyenlet felírásánál tehát az alábbi feltételezésekkel élünk:

1. $[S] \gg [E]$, azaz a folyamat telített, és a termék képződése folyamatos, továbbá, hogy
2. $\frac{d[ES]}{dt} = 0$, azaz a komplex szintje egyensúlyi állapotban van.

A fenti levezetés matematikailag szigorúvá tehető a szinguláris perturbáció Tyihonovtól származó elmélete alapján ([9, 18]).

2.3. Cdh1+Cdc20 modell

A 2.5 ábrán a Cdh1+Cdc20 sejtciklusmodell látható. Ez lehet a legegyszerűbb, legősibbnek vélt molekuláris szabályozó rendszer ([12]), melynek leírására már készültek matematikai modellek ([13]). A szaggatott nyilak azt



2.5. ábra. A Cdh1+Cdc20 modell sejtciklusmodell

jelzik, hogy az adott termék (ahonnan indul a nyíl) serkentőleg hat az adott folyamatra (ahova mutat a nyíl). A 2.1.3 fejezetben bemutattam a modellben megfigyelhető pozitív, illetve negatív visszacsatolási köröket.

A biokémiai reakciók kinetikai módszere szerint a sejtciklusgépezet komponenseinek keletkezési, illetve elbomlási sebességeire az adott modellben a

[...] típusú tagok	mol	koncentráció
[...tot] típusú tagok	mol	összkoncentráció
$\frac{d[...]}{dt}$ típusú tagok	$\frac{\text{mol}}{\text{s}}$	keletkezési sebesség
k_1	$\frac{\text{mol}}{\text{s}}$	beáramlási sebesség
$k_{21}, k_{42}, k_{52}, k_{72}$	$\frac{1}{\text{s}}$	képződési, illetve elbomlási együttható
k_{22}, k_{23}	$\frac{1}{\text{mols}}$	képződési, illetve elbomlási együttható
$k_3, k_{41}, k_{51}, k_6, k_{71}, k_8$	$\frac{\text{mol}}{\text{s}}$	képződési, illetve elbomlási együttható
$J_{[...]}$ típusú tagok	mol	Michaelis–Menten-állandó

2.1. táblázat. Mértékegységek

következő differenciálegyenletek írhatóak fel:

$$\begin{aligned}
\frac{d[MPF]}{dt} &= k_1 - (k_{21} + k_{22}[Cdc20a] + k_{23}[Cdh1a])[MPF] \\
\frac{d[APCp]}{dt} &= -\frac{k_3[APCp]}{J_3 + [APCp]} + \frac{(k_{41} + k_{42}[MPF])([APCtot] - [APCp])}{J_4 + [APCtot] - [APCp]} \\
\frac{d[Cdh1a]}{dt} &= -\frac{(k_{71} + k_{72}[MPF])[Cdh1a]}{J_7 + [Cdh1a]} + \frac{k_8([Cdh1tot] - [Cdh1a])}{J_8 + [Cdh1tot] - [Cdh1a]} \\
\frac{d[Cdc20a]}{dt} &= -\frac{k_6([Cdh1tot] - [Cdh1a])}{J_6 + [Cdc20a]} \\
&+ \frac{(k_{51} + k_{52}[APCp])([Cdc20tot] - [Cdc20a])}{J_5 + [Cdc20tot] - [Cdc20a]}
\end{aligned} \tag{2.1}$$

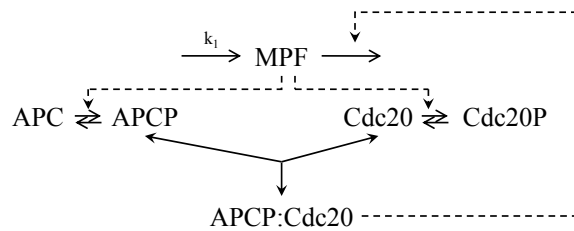
Feltételezzük, hogy az alábbi összkoncentrációk a folyamatban nem változnak:

$$\begin{aligned}
[APCtot] &= [APCp] + [APC] \\
[Cdc20tot] &= [Cdc20] + [Cdc20a] \\
[Cdh1tot] &= [Cdh1] + [Cdh1a]
\end{aligned}$$

Az egyenletek felírásánál használt mennyiségek mértékegységei az 2.1 táblázatban vannak feltüntetve. A k_i és J_i jellemző állandók kísérleti meghatározása nehézkes, számítógépes szimulációval viszont kereshető megfelelő paraméterhalmaz, melyre periodikus megoldásokat kapunk, azaz amelyre a sejtciklusgépezetben a különböző anyagok koncentrációja periodikusan váltakozni fog, így tartva fenn az **S** és **M** fázisok alternálását.

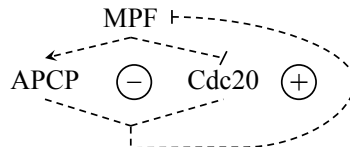
2.4. APCP/Cdc20 modell

A [2] cikkben egy új modellt mutatnak be a szerzők, mert a kutatási eredmények szerint míg az bizonyított, hogy az MPF aktiválja APC-t, az új adatok azt sejtetik, hogy Cdc20 az MPF ellensége, és így kölcsönös gátlás, antagonizmus alakul ki közöttük, ellenben az előzőekben ismertetett modellben feltételezettekhez képest. A cikk szerzői ez alapján egy új modellt állítottak fel. Mi ennek a bonyolult modellnek egy önmagában is tanulmányozható kis részét vizsgáltuk.



2.6. ábra. APCP/Cdc20 modell

A pozitív és a negatív visszacsatolási kör ebben a modellben is megtalálható, lásd a (2.7) ábrát.



2.7. ábra.

A sejtciklusgépezet komponenseinek koncentrációváltozásaira a következő

differenciálegyenletek írhatóak fel:

$$\begin{aligned} \frac{d[MPF]}{dt} &= k_1 - \frac{k_{21} + k_2[APCpCdc20]}{J_2 + [MPF]}[MPF] \\ \frac{d[Cdc20]}{dt} &= k_4[Cdc20p] - k_3[MPF][Cdc20] \\ &+ (k_5 + k_8)[APCpCdc20] - k_9[Cdc20][APCp] \end{aligned} \quad (2.2)$$

$$\begin{aligned} \frac{d[APCp]}{dt} &= k_7[MPF][APC] - k_8[APCp] \\ &+ (k_5 + k_3)[APCpCdc20] - k_9[Cdc20][APCp] \end{aligned} \quad (2.3)$$

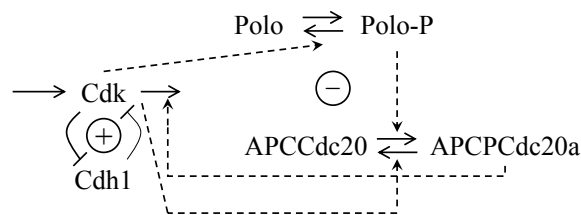
$$\frac{d[APCpCdc20]}{dt} = k_9[APCp][Cdc20] - (k_5 + k_8 + k_3)[APCpCdc20]$$

Most is feltételezzük, hogy az alábbi összkoncentrációk a folyamatban nem változnak:

$$\begin{aligned} [APC] &= [APC_{tot}] - [APCp] - [APCpCdc20] \\ [Cdc20p] &= [Cdc20_{tot}] - [Cdc20] - [APCpCdc20] \end{aligned}$$

2.5. Polo kináz modell

Egyes vizsgálatok rámutattak arra, hogy esetleg a Cdk egy másik kinázon keresztül aktiválja saját lebomlását. Ez az úgynevezett Polo kináz ([8]) feltételezhetőleg aktiválja a Cdc20/APCP komplexet. A modell leírását a [17] cikk tartalmazza. A sejtciklusgépezet komponenseinek koncentrációváltozá-



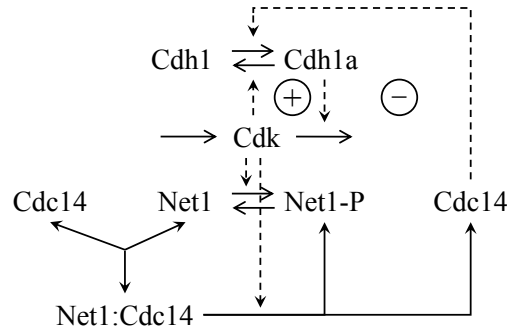
2.8. ábra. Polo kináz modell

saira a következő differenciálegyenletek írhatóak fel:

$$\begin{aligned}
\frac{d[Cdk]}{dt} &= k_1 - (k_{21} + k_{22}[APCPCdc20] + k_{23}([Cdh1tot] - [Cdh1]))[Cdk] \\
\frac{d[Cdh1]}{dt} &= -\frac{(k_{71} + k_{72}[Cdk])([Cdh1tot] - [Cdh1])}{J_7 + ([Cdh1tot] - [Cdh1])} + \frac{k_8[Cdh1]}{J_8 + [Cdh1]} \\
\frac{d[PoloP]}{dt} &= \frac{(k_{41} + k_{42}[Cdk])([Polotot] - [PoloP])}{J_4 + ([Polotot] - [PoloP])} - \frac{k_3[PoloP]}{J_3 + [PoloP]} \\
\frac{d[APCpCdc20]}{dt} &= -\frac{(k_{61} + k_{62}[Cdk])[APCPCdc20]}{J_6 + [APCPCdc20]} \\
&+ \frac{(k_{51} + k_{52}[PoloP])([APCPCdc20tot] - [APCPCdc20])}{J_5 + ([APCPCdc20tot] - [APCPCdc20])}
\end{aligned} \tag{2.4}$$

2.6. Cdc14 modell

A ([19]) cikkben leírtak szerint a Cdc14 foszfatáz segíti a Cdh1 aktiválódását a sejtciklus végén, miközben a Cdk közvetve segíti a Cdc14 aktiválódását. A Cdc14-et a Net1 nevű fehérje gátolja, amelynek lebmlását viszont a Cdk serkenti. A modell leírását a [17] cikk tartalmazza.



2.9. ábra. Cdc14 modell

$$\begin{aligned}
\frac{d[Cdk]}{dt} &= k_1 - (k_{21} + k_{22}[Cdh1])[Cdk] \\
\frac{d[Cdh1]}{dt} &= -\frac{(k_{31} + k_{32}[Cdc14])([Cdh1tot] - [Cdh1])}{J_3 + ([Cdh1tot] - [Cdh1])} \\
&\quad + \frac{(k_{41} + k_{42}[Cdk])[Cdh1]}{J_3 + [Cdh1]}
\end{aligned} \tag{2.5}$$

$$\begin{aligned}
\frac{d[Net1]}{dt} &= -\frac{(k_{51}[Cdc14] + k_{52}[PP2A])[Net1P]}{J_6 + [Net1P]} \\
&\quad + \frac{k_7[CdkNet1]}{J_6 + [Net1]} - l_1[Net1][Cdc14] + l_2[Net1Cdc14] \\
\frac{d[Net1Cdc14]}{dt} &= -\frac{k_{71}[Cdk][Net1Cdc14]}{J_6 + [Net1Cdc14]} + l_1[Net1][Cdc14] - l_2[Net1Cdc14]
\end{aligned} \tag{2.6}$$

Feltételezzük, hogy az összkoncentráció a folyamatban nem változik:

$$\begin{aligned}
[Net1P] &= [Net1tot] - [Net1] - [Net1Cdc14] \\
[Cdc14] &= [Cdc14tot] - [Net1Cdc14]
\end{aligned}$$

Az érzékenységvizsgálatot többféle módon elvégeztem, hogy a módszereket össze lehessen hasonlítani.

3. fejezet

Érzékenységvizsgálat szimulációval

A 2.1.1 fejezetben azt már megállapítottuk, hogy ahhoz, hogy a sejtosztódás végbemenjen, és a sejtciklus-gépezetben az **S** és **M** fázisok felváltva kövessék egymást, szükséges, hogy az MPF koncentrációja időben kis- és nagy értékek között változzon, oszcilláljon. Ez alapján fogjuk eldönteni, hogy egy adott paraméterhalmazzal leírható környezetben végbemegy-e a sejtosztódás, vagy nem. Ha a modellben adott paraméterhalmaz mellett a megoldásgörbék periodikusak, azaz a szubsztrátok koncentrációja oszcilláló, akkor azt feltételezzük, hogy a sejtosztódás végbemegy. Ha a megoldás stabilis egyensúlyi helyzetet ad, akkor azt feltételezzük, hogy a sejtosztódás nem megy végbe.

Az érzékenységvizsgálattal arra keressük a választ, hogy az egyes paraméterek megváltozásai hogyan hatnak a rendszerre. Az érzékenységvizsgálatoknak két fajtája van, a lokális és a globális érzékenységvizsgálat. *(i)* A lokális érzékenységvizsgálat során a kiinduló paraméterhalmaznak egyetlen paraméterét változtatjuk, és azt nézzük, hogy erre hogyan reagálnak a szubsztrátkoncentrációk. *(ii)* A globális érzékenységvizsgálat során egyszerre változtatjuk az összes paramétert, és azt vizsgáljuk, hogy mi történik a szubsztrátkoncentrációkkal, illetve fennmarad-e az MPF koncentrációjának oszcillálása.

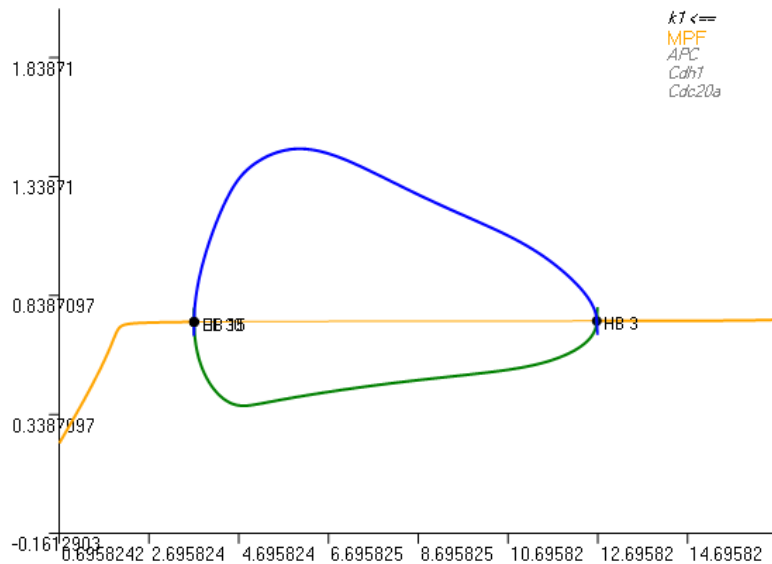
Az érzékenységvizsgálatokhoz szükségünk van egy kiinduló paraméterhalmazra, ezért mindegyik modellhez definiáltunk egy-egy referencia paraméterhalmazt (mértékegységüket lásd az 2.1 táblázatban), amelyre periodikus megoldást kaptunk. A referencia paraméterhalmazt a 3.1 táblázat tartalmazza.

Cdh1 + Cdc20 m.		APCP/Cdc20 m.		Polo kináz m.		Cdc14 modell	
k_1	6	k_1	0.55	k_1	0.35	k_1	0.03
k_{21}	0.2	k_{21}	0.05	k_{21}	5.5	k_{21}	0.03
k_{22}	3	k_2	4.1	k_{22}	0.7	k_{22}	2
k_{23}	3	k_3	17	k_{23}	1	k_{31}	0.01
k_3	6	k_4	12	k_3	1.8	k_{32}	1
k_{41}	0.2	k_5	65	k_{41}	0.0001	k_{41}	0.05
k_{42}	8	k_7	0.06	k_{42}	0.7	k_{42}	0.5
k_{51}	0.3	k_8	0.04	k_{51}	0.001	k_{51}	0.001
k_{52}	2.2	k_9	100	k_{52}	2.2	k_{52}	0.45
k_6	6			k_{61}	0.005	k_7	2
k_{71}	0.1			k_{62}	0.2	l_1	1000
k_{72}	1			k_{71}	0.001	l_2	10
				k_{72}	0.8		
				k_8	4.4		
$Cdh1_{tot}$	1	APC_{tot}	1	$Cdh1_{tot}$	0.2	$Cdh1_{tot}$	1
APC_{tot}	4	$Cdc20_{tot}$	1	$APCCdc20_{tot}$	1.3	$PP2A$	1
$Cdc20_{tot}$	7			$Polotot$	2.5	$Cdc14_{tot}$	0.5
						$Net1_{tot}$	1
J_3	0.01	J_2	0.026	J_3	0.002	J_3	0.001
J_4	0.02			J_4	0.01	J_6	0.02
J_5	0.07			J_5	0.01		
J_6	0.3			J_6	0.7		
J_7	0.05			J_7	0.01		
J_8	0.05			J_8	0.01		

3.1. táblázat. Referencia-paraméterhalmazok

3.1. Lokális érzékenységvizsgálat

A lokális érzékenységvizsgálat adott paraméterek mellett érvényes, és azt vizsgálja, hogyan reagálnak a szubsztrátkoncentrációk az egyes paraméterek megváltozására. A referencia-paraméterhalmazból kiindulva meghatároztam mindegyik paraméterre, hogy milyen határok közt változtatva marad fenn az MPF oszcillációja, miközben a többi paramétert változatlanul hagytam. A referencia-paraméterhalmazt heurisztikusan úgy próbáltam összeállítani, hogy egyszerre minden paraméter megközelítőleg a lokális érzékenységvizsgálat kapott intervallum közepére essen. Az **Oscill8** ([osc]) nevű programot használtam, amelynek a bifurkációs diagramjai voltak segítségemre.



3.1. ábra. Oscill8 program egy bifurkációs diagramja

A 3.1 ábrán például az látható, hogy mi történik a $Cdh1 + Cdc20$ modellben, ha a k_1 paraméter értékét változtatjuk, miközben a többi változatlanul hagyjuk. Leolvasható, hogy amíg $k_1 < 3.05$ vagy $k_1 > 12.69$, addig a rendszer stabilis egyensúlyi helyzetben van. A határciklus, vagyis az oszcilláció akkor jelenik meg, ha $k_1 \in [3.05, 12.69]$.

A 3.2–3.5 logaritmikus léptékű diagramokon azt láthatjuk, hogy a négy modellben az egyes paraméterek a referenciaparaméterük hányszorosára változhatnak, hogy az oszcilláció ne szűnjön meg. A diagramokon megváltoztattam néhány jelölést a modellekben használtakhoz képest, az egyszerűbb kezelhetőség miatt. Ezután a dolgozat többi részében már ezeket a jelöléseket

Cdh1 + Cdc20 m.		APCP/Cdc20 m.		Polo kináz m.		Cdc14 modell	
[MPF]	$x(t)$	[MPF]	$x(t)$	[Cdk]	$x(t)$	[Cdk]	$x(t)$
[APCp]	$y(t)$	[Cdc20]	$y(t)$	[Cdh1]	$y(t)$	[Cdh1]	$y(t)$
[Cdh1a]	$z(t)$	[APCp]	$z(t)$	[PoloP]	$z(t)$	[Net1]	$z(t)$
[Cdc20a]	$w(t)$	[APCpCdc20]	$w(t)$	[APCpCdc20]	$w(t)$	[Net1Cdc14]	$w(t)$
[Cdc20tot]	t_1	[APCtot]	t_1	[Cdh1tot]	t_1	[Cdh1tot]	t_1
[Cdh1tot]	t_2	[Cdc20tot]	t_2	[Polotot]	t_2	[PP2A]	t_2
[APCp]	t_3			[APCPCdc20tot]	t_3	[Net1tot]	t_3
						[Cdc14tot]	t_4
J_3	\dot{j}_3	J_2	\dot{j}_2	J_3	\dot{j}_3	J_3	\dot{j}_3
J_4	\dot{j}_4			J_4	\dot{j}_4	J_6	\dot{j}_6
J_5	\dot{j}_5			J_5	\dot{j}_5		
J_6	\dot{j}_6			J_6	\dot{j}_6		
J_7	\dot{j}_7			J_7	\dot{j}_7		
J_8	\dot{j}_8			J_8	\dot{j}_8		

3.2. táblázat. Jelölések a modellekhez

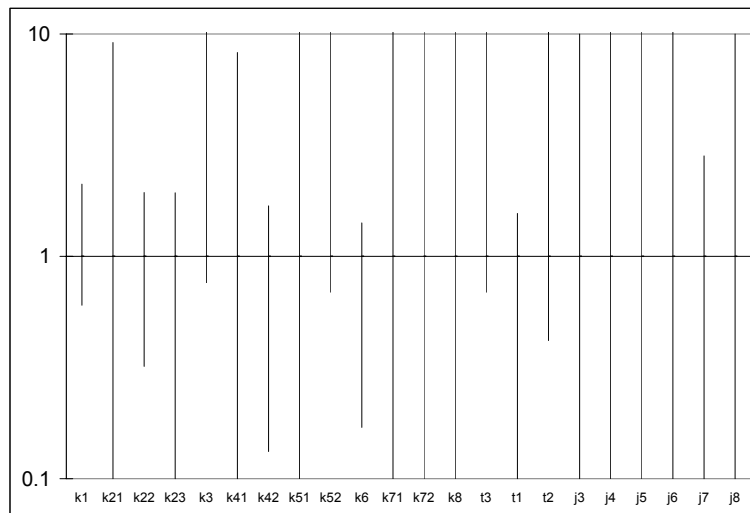
használtam. Azt, hogy melyik modellben melyik változó, paraméter jelölése miről mire változott, a 3.2 táblázat mutatja.

A 3.2–3.5 ábrákon látható, hogy a második modellre kaptuk a legkisebb intervallumokat, azaz a lokális érzékenységvizsgálat alapján ez a modell a legérzékenyebb a paraméterváltozásokra.

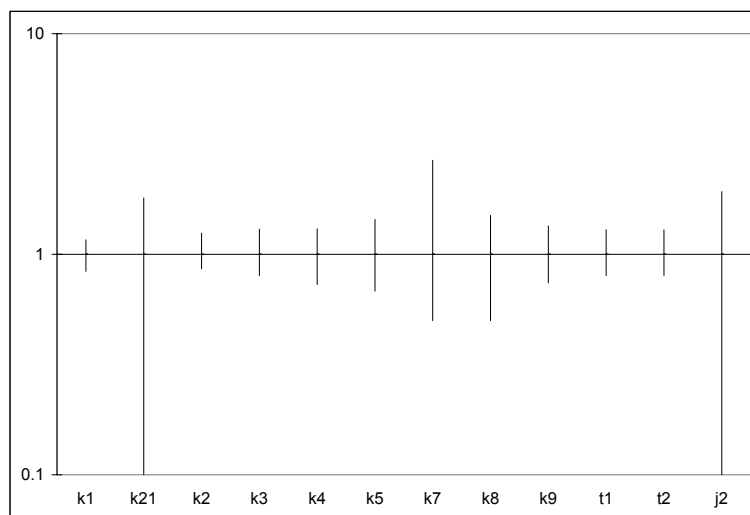
3.2. Globális érzékenységvizsgálat

Mivel a lokális érzékenységvizsgálat adott paraméterhalmazra vonatkozik, ha egyes paraméterek értékét megváltoztatjuk, akkor minden paraméterre változhat a 3.2–3.5 ábrákon látható lokális érzékenységvizsgálattal kapott intervallum. Így érdemes globális érzékenységvizsgálattal feltérképezni, hogy ha minden paramétert egyszerre változtatunk, mit mondhatunk az oszcilláció fennmaradásáról, illetve megszűnéséről. Ezt a vizsgálatot a [1] cikk alapján végeztem.

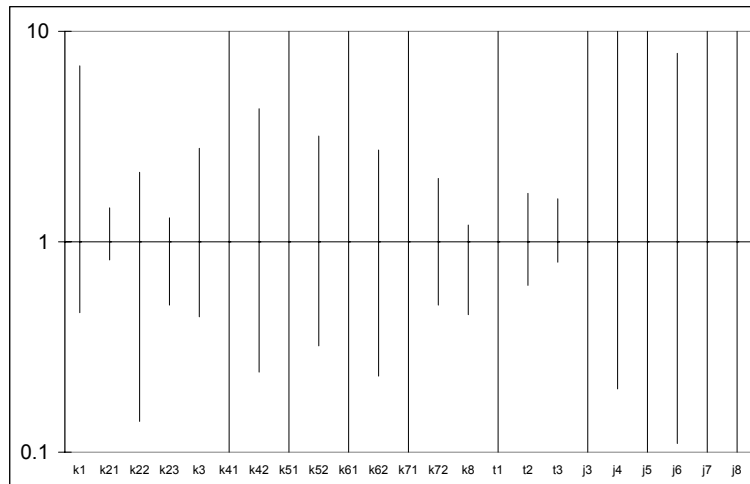
Ezért második lépésként új, véletlen-paraméterhalmazt generáltunk, majd meghatároztuk a referencia- és a véletlen-paraméterhalmazok távolságát az alábbi módon: $k := \sum_{i=1}^{tot.par} \left| \log \frac{p_i}{p_{i,ref}} \right|$ ahol, $tot.par$ a paraméterek számát, $p_{i,ref}$ az i -edik referenciaparamétert, és p_i az i -edik tesztparamétert jelöli, amit úgy kaptunk, hogy $p_{i,ref}$ -t megszoroztuk 10^x -nel, ahol x egy standard normális eloszlásból származó véletlen szám.



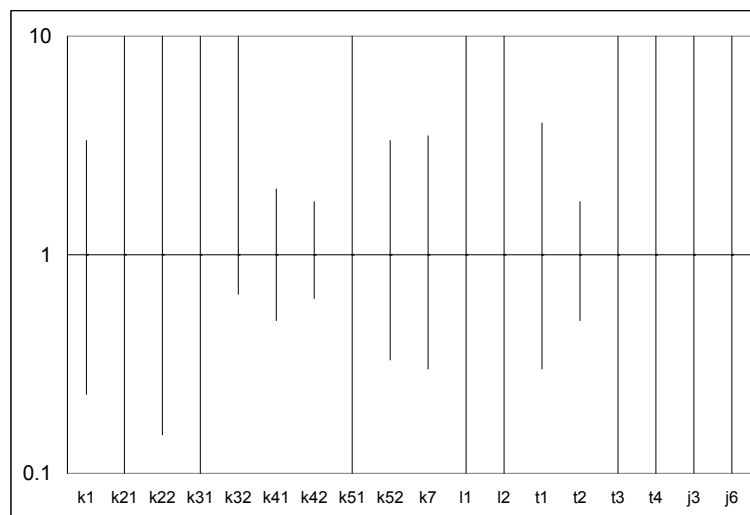
3.2. ábra. A Cdh1 + Cdc20 modell paraméterei



3.3. ábra. Az APCP/Cdc20 modell paraméterei



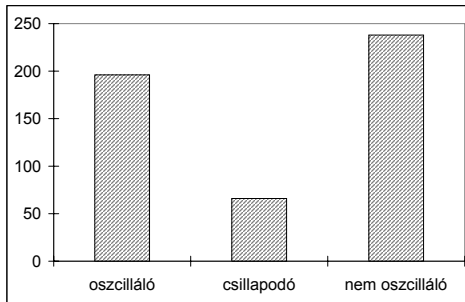
3.4. ábra. A Polo kináz modell paramétereit



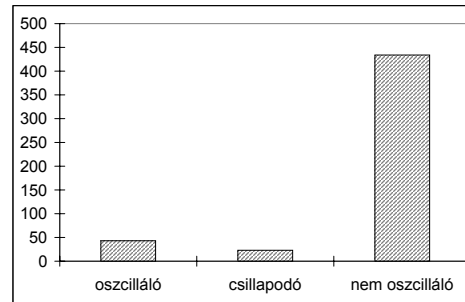
3.5. ábra. A Cdc14 modell paramétereit

A szimulációt 500-szor lefuttatva megvizsgáltuk, hogy az MPF-koncentráció a véletlen paraméterbeállításokra hogyan viselkedik.

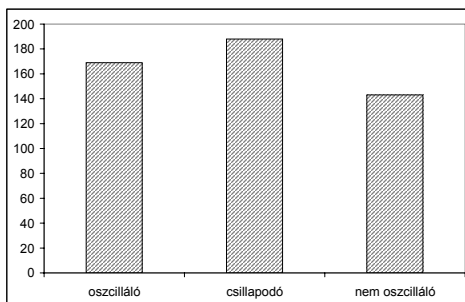
A 3.6 ábra azt mutatja, hogy a lefutásokból milyen számban kaptunk oszcillációt, lecsengést, és nem oszcillálást.



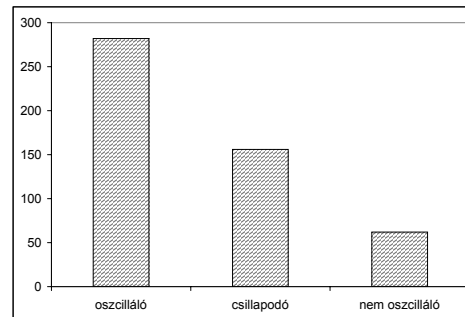
(a) A Cdh1 + Cdc20 modellre a szimuláció eredménye



(b) Az APCP/Cdc20 modellre a szimuláció eredménye



(c) A Polo kináz modellre a szimuláció eredménye



(d) A Cdc14 modellre a szimuláció eredménye

3.6. ábra. Szimulációs eredmények a globális érzékenyvizsgálat során

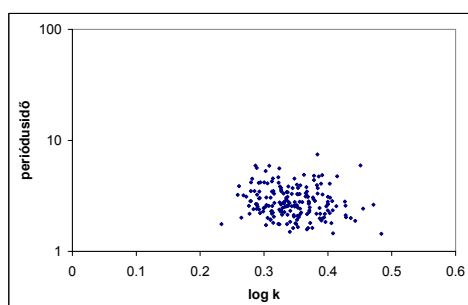
A 3.6 ábráról leolvasható, hogy

1. Míg a Cdh1 + Cdc20 modellnél (3.6(a) ábra) az 500 futás eredményeképp az MPF szint 196 beállításnál oszcillál, 66-nál oszcillál, de lecseng, és 238-nál nem oszcillál.
2. Ez az arány az APCP/Cdc20 modellnél sokkal gyengébb, mindössze 43 beállításnál oszcillál, 23-nál lecseng, és 434-nél nem oszcillál.

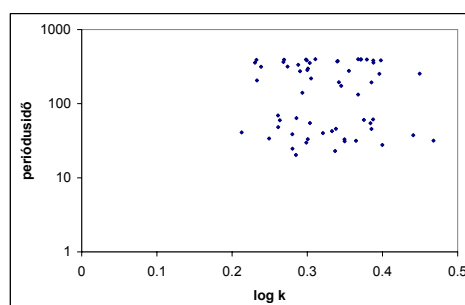
3. A Polo kináz modellnél az 500 lefutásból 169-re lett oszcilláló az MPF koncentrációja, 188-nál csillapodó és 143-nál nem oszcillált.

4. A Cdc14 modellnél pedig 282 lefutás eredményezett oszcilláló MPF koncentrációt, 156 csillapodót és csak 62 nem oszcillált.

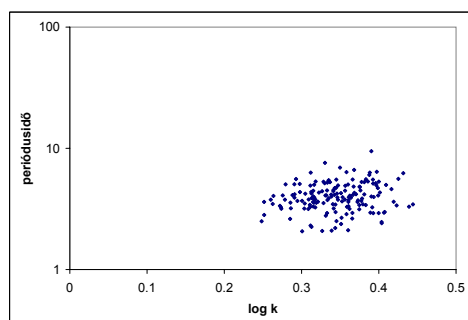
A továbbiakban csak azokat a lefutásokat vizsgáltuk, ahol az MPF oszcillált, ezekre vonatkozik a 3.7 ábra. A 3.7 ábrán az első tengelyen a tesz-



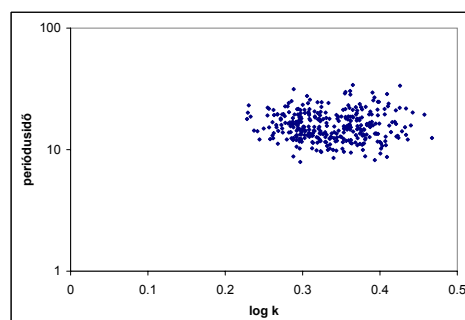
(a) A periódusidő és a $\log k$ kapcsolata a Cdh1 + Cdc20 modellnél



(b) A periódusidő és a $\log k$ kapcsolata az APCP/Cdc20 modellnél



(c) A periódusidő és a $\log k$ kapcsolata a Polo kináz modellnél



(d) A periódusidő és a $\log k$ kapcsolata a Cdc14 modellnél

3.7. ábra. A periódusidő és a $\log k$ kapcsolata az oszcillációt tartalmazó eredményeknél

paraméterhalmaz távolságának logaritmusa ($\log k$) látszik a referencia-paraméterhalmaztól, a második tengely pedig az oszcilláció periódusidejét mutatja. A 3.7 ábrán az látható, hogy a referencia-paraméterhalmaz kis perturbációja hogyan hat a periódusidő változására. Az APCP/Cdc20 modellnél (3.7(b) ábra) megfigyelhető, hogy kis perturbáció esetén is a kapott periódusidők nagyon szóródnak,

míg a többi modellnél a kis pertubráció kevésbé volt hatással a periódusidőre. Azaz az eredmények alapján a periódusidő megváltozása az APCP/Cdc20 modellnél a legérzékenyebb a paraméterek megváltozására.

3.2.1. A szimulációs vizsgálat konklúziója

Mind a lokális, mind a globális érzékenységvizsgálataink alapján elmondható, hogy a Cdh1 + Cdc20 modell robosztusabbnak tűnik a paraméterváltoztatásokra, mint az APCP/Cdc20 modell. Azonban a ([2]) cikk alapján megállapítható, hogy az APCP/Cdc20 modell a realiztikus. Célunk volt, hogy az APCP/Cdc20 modellnél robosztusabb realiztikus modelleket találjunk, és a szimulációk azt sejtetik, hogy mind a Polo kináz, mind a Cdc14 modell robosztusabb az APCP/Cdc20 modellnél, a kettő közül pedig a globális vizsgálatok alapján a Cdc14 modell tűnik robosztusabbnak.

4. fejezet

Analitikus érzékenységvizsgálat

Az 2 fejezetben bemutatott oszcillátormodelleket megvizsgáltuk abból a szempontból, hogy azokban egyes paramétereket megváltoztatva, hogy reagál a rendszer a változásra. A paraméterek meghatározzák mind az oszcilláció létezését, illetve nem létezését, mind az oszcilláció jellemzőit (pl. periódusidő, amplitúdó)

Az analitikus érzékenységvizsgálattal kiszámítható, hogy mely paraméterekre a legérzékenyebb a rendszer és melyekre kevésbé, azaz egy-egy paraméter megváltoztatása hogyan hat az egyes szubsztrátkoncentrációkra. Ez az általunk végzett analitikus érzékenységvizsgálat is lokális vizsgálat, azaz az adott referencia-paraméterhalmaz mellett érvényes.

4.1. Az oszcilláló rendszerek analitikus érzékenységvizsgálatának általános elvei

A modelleket a reakciósebességekre felírt differenciálegyenlet-rendszerekkel jellemezzük. Általánosan:

$$\frac{\partial C_i(t, \alpha, \tau(\alpha))}{\partial t} = R_i(C_1(t, \alpha, \tau(\alpha)), \dots, C_M(t, \alpha, \tau(\alpha)), \alpha) \quad i = 1, \dots, M$$

ahol C_i az i -edik ($i = 1, 2, \dots, M$) anyag koncentrációja, R_i az az algebrai függvény, amely leírja a C_i anyag koncentrációváltozását, azaz a reakciósebességek eredőjét, $\alpha = \alpha_1, \dots, \alpha_N$ a környezetet leíró paraméterek, τ pedig az alapperiódusidő.

Az érzékenységvizsgálat során a paraméterváltozásokra adott modellválaszokból nyerhetünk információkat, szűrhetünk le következtetéseket. Az analitikus érzékenységvizsgálat segíthet meghatározni, mely paraméterek határoz-

zák meg az oszcilláció karakterisztikáját, és melyeknek van kevésbé jelentős hatásuk.

Oszcilláló rendszereknél valamelyik i esetén a paramétereknek létezik olyan α_0 értéke, melyre C_i periodikus függvény.

Ahhoz, hogy kiszámoljuk, hogyan hat a j -edik paraméter az i -edik anyag koncentrációjára, először fejtsük Fourier-sorba C_i -t:

$$C_i(t, \alpha, \tau(\alpha)) = \sum_{n=0}^{\infty} \left[a_n^i \cos\left(\frac{2n\pi t}{\tau(\alpha)}\right) + b_n^i \sin\left(\frac{2n\pi t}{\tau(\alpha)}\right) \right]. \quad (4.1)$$

Deriválva (4.1)-et α_j szerint, kapunk egy úgynevezett **nyers érzékenységmutatót**:

$$\begin{aligned} \frac{\partial C_i}{\partial \alpha_j}(t, \alpha, \tau(\alpha)) &= \frac{2\pi t}{\tau(\alpha)^2} \frac{\partial \tau}{\partial \alpha_j} \sum_{n=0}^{\infty} \left[na_n^i \sin\frac{2n\pi t}{\tau(\alpha)} - nb_n^i \cos\frac{2n\pi t}{\tau(\alpha)} \right] \\ &+ \sum_{n=0}^{\infty} \left[\frac{\partial a_n^i}{\partial \alpha_j} \cos\frac{2n\pi t}{\tau(\alpha)} + \frac{\partial b_n^i}{\partial \alpha_j} \sin\frac{2n\pi t}{\tau(\alpha)} \right] \end{aligned} \quad (4.2)$$

(4.2)-t tömörebb formába felírva:

$$\frac{\partial C_i}{\partial \alpha_j} = \frac{-t}{\tau} \frac{\partial \tau}{\partial \alpha_j} \frac{\partial C_i}{\partial t} + \left(\frac{\partial C_i}{\partial \alpha_j}(t) \right)_{\tau}, \quad (4.3)$$

ahol $\frac{-t}{\tau} \frac{\partial \tau}{\partial \alpha_j} \frac{\partial C_i}{\partial t}$ függ t -től. A t szorzó miatt ennek a tagnak az abszolút értéke általában $+\infty$ -hez tart, ha $t \rightarrow +\infty$.

A (4.3) egyenlet jobb oldalának második tagját nevezzük **tisztított érzékenységnak**. Ezt kiszámítva olyan mennyiséget kapunk, ami meg van „tisztítva” az első, a t -vel arányos tagtól. Így már könnyebben össze tudjuk hasonlítani a többi paraméter érzékenységgel. A 4.3 egyenlet átrendezése után:

$$\left(\frac{\partial C_i}{\partial \alpha_j}(t) \right)_{\tau} = \frac{\partial C_i}{\partial \alpha_j}(t) + \frac{t}{\tau} \frac{\partial \tau}{\partial \alpha_j} \frac{\partial C_i}{\partial t} \quad (4.4)$$

A tisztított érzékenység megmutatja, hogy ha a modellben egy paramétert megváltoztatunk, az hogyan hat az adott szubsztrát koncentrációjára. A tisztított érzékenységi függvények segítségével tehát egy-egy modellen belül egy adott szubsztrát koncentrációjának paramétereiktől való függését tudjuk feltérképezni. Ahhoz, hogy egy-egy modellen belül össze tudjuk hasonlítani azt is, hogy melyik paraméter megváltozása pontosan melyik szubsztrát koncentrációjára van a legnagyobb hatással, bevezettem a **normált tisztított érzékenységeket**. Ezt úgy számítottam ki, hogy a tisztított érzékenységi

függvényeket elosztottam az adott szubsztrát-koncentrációval: $\left(\frac{\partial C_i}{\partial \alpha_j}\right)_\tau$ helyett a $\left(\frac{\partial C_i}{\partial \alpha_j}\right)_\tau \frac{1}{\partial C_i}$ -t vettem. Egy-egy modellen belül ezzel a függvénnyel érdemes a különböző paraméterváltozások hatásait megbecsülni.

A tisztított érzékenység $\left(\left(\frac{\partial C_i}{\partial \alpha_j}(t)\right)_\tau\right)$ kiszámításához első lépésként határozzuk meg a 4.4 egyenlet jobb oldalán szereplő $\frac{\partial \tau}{\partial \alpha_j}$ -t, azaz a **periódusérzékenységet!** A periódusérzékenység megmutatja, hogy a periódusidő hogyan reagál a paraméterváltozásokra.

A periódusérzékenység kiszámítására kettő módszert mutatok be a következő alfejezetekben.

4.1.1. A periódusérzékenység meghatározása a Thomas–Edelson-féle módszerrel

Az ([4]) cikk alapján a periódusérzékenység kiszámítása a következőképpen végezhető el:

- $\frac{\partial C_i}{\partial t}$ periodikus, tehát $\frac{\partial C_i(t)}{\partial t} = \frac{\partial C_i(t+\tau)}{\partial t} = \frac{\partial C_i}{\partial t}$
- $\left(\frac{\partial C_i}{\partial \alpha_j}(t)\right)_\tau$ is periodikus, tehát $\left(\frac{\partial C_i(t)}{\partial \alpha_j}\right)_\tau = \left(\frac{\partial C_i(t+\tau)}{\partial \alpha_j}\right)_\tau$
- (4.3) alapján:

$$\begin{aligned} \frac{\partial C_i}{\partial \alpha_j}(t) + \frac{t}{\tau} \frac{\partial \tau}{\partial \alpha_j} \frac{\partial C_i}{\partial t} &= \frac{\partial C_i(t+\tau)}{\partial \alpha_j} + \frac{t+\tau}{\tau} \frac{\partial \tau}{\partial \alpha_j} \frac{\partial C_i}{\partial t} \\ \frac{\partial C_i(t)}{\partial \alpha_j} - \frac{\partial C_i(t+\tau)}{\partial \alpha_j} &= \left(\frac{t+\tau}{\tau} - \frac{t}{\tau}\right) \frac{\partial \tau}{\partial \alpha_j} \frac{\partial C_i}{\partial t} \\ \frac{\partial \tau}{\partial \alpha_j} &= \frac{\frac{\partial C_i(t)}{\partial \alpha_j} - \frac{\partial C_i(t+\tau)}{\partial \alpha_j}}{\frac{C_i}{\partial t}(t)} \end{aligned} \quad (4.5)$$

Ezt visszahelyettesítve (4.4)-be, $\frac{\partial C_i}{\partial t}$ ismeretében, és $\frac{\partial C_i}{\partial \alpha_j}(t)$ -t numerikusan meghatározva, megkapjuk a tisztított érzékenységet.

A [6]-ban leírtak szerint ez a módszer csak úgy érvényes, ha t -t elegendően nagyoknak választjuk, mert ha a kezdeti értékek nem pontosan úgy vannak megadva, hogy a kezdőpont a határcikluson helyezkedik el, akkor létezik a megoldásnak egy tranzienz szakasza, amíg a megoldás rátekeredik erre a ciklusra.

Fife a cikkben megadja az egyenletet, melynek egyik tagja okozza az érzékenységek kezdeti tranzienst viselkedését. Ehhez az alábbiakat fontoljuk meg!

A kezdetiérték-paraméterek, melyeket β_1, β_2, \dots -vel jelölünk, nem választhatóak meg tetszőlegesen, ha azt szeretnénk, hogy a megoldás a periodikus pályán legyen rajta. β_1, β_2, \dots tehát a többi – nem kezdetiérték-paraméter– függvénye (jelöljük ezeket $\alpha_1, \alpha_2, \dots$ -vel).

A periodikus megoldás:

$$C_i(t, \alpha, \beta(\alpha)) = C_i(t + \tau(\alpha), \alpha, \beta(\alpha))$$

Ha így végezzük el a deriválást, akkor $\frac{\partial \tau}{\partial \alpha_j}$ -re az alábbi kifejezést kapjuk:

$$\frac{\partial \tau}{\partial \alpha_j} = \frac{\frac{\partial C_i(t)}{\partial \alpha_j} - \frac{\partial C_i(t+\tau)}{\partial \alpha_j}}{\frac{\partial C_i}{\partial t}} + \frac{\left(\frac{\partial C_i(t)}{\partial \beta} - \frac{\partial C_i(t+\tau)}{\partial \beta} \right) \frac{\partial \beta}{\partial \alpha_j}}{\frac{\partial C_i}{\partial t}}$$

A fenti egyenlet második tagja okozza az érzékenységek kezdeti tranzienst viselkedését. Bizonyítását nem közli a hozzászólásában, de leírja, hogy az a Floquet-tételen alapul, és ebből következik, hogy stabilis határciklusnál ha $t \rightarrow +\infty$, akkor az első tag egy konstanshoz tart, ezt nevezzük periódusérzékenységnek, a második tag pedig a 0-hoz. Tehát t -t elég nagyra választva az első tag jól közelíti $\frac{\partial \tau}{\partial \alpha_j}$ -t, vagyis azt, hogy a periódusidő mennyire érzékeny az α_j megváltozására.

4.1.2. Szinguláris felbontáson alapuló módszer

A [20] cikkben a szerzők egy másik módszert is javasolnak $\frac{\partial \tau}{\partial \alpha_j}$ kiszámítására, amely mátrix szinguláris felbontásának (singular value decomposition, SVD) segítségével határozza meg a periódusérzékenységeket. Ehhez megint a 4.3 egyenletből indulunk ki. Az egyszerűség kedvéért jelöljük a nyers érzékenységeket (s-sensitivity) az alábbi módon: $\frac{\partial C_i}{\partial \alpha_j} := s_{ij}$, $\left(\frac{\partial C_i}{\partial \alpha_j} \right)_\tau := (s_{ij})_\tau$ és $\frac{\partial \tau}{\partial \alpha_j} := s_{\tau j}$, vagyis mátrixalakban:

$$\mathbf{S} = -\frac{t}{\tau} \mathbf{R} \mathbf{S}_\tau^T + \mathbf{S}_c, \quad (4.6)$$

ahol \mathbf{S} a nyers érzékenységi mátrix, \mathbf{S}_c a tisztított érzékenységi mátrix, \mathbf{R} pedig a (4.1) egyenlet jobb oldala. A módszer azon a megfigyelésen alapul, hogy nagy t -re a (4.6) egyenlet jobb oldalán az első tag dominálni fogja a másodikat, mert az első tag időben növekvő, a második tag (\mathbf{S}_c) periodikus, így nagy t -re:

$$\mathbf{S} \approx -\frac{t}{\tau} \mathbf{R} \mathbf{S}_\tau^T \quad (4.7)$$

Az, hogy mi számít elég nagy t -nek, a rendszer karakterisztikájától, különösen τ -tól, \mathbf{R} -tól és \mathbf{S}_τ -tól függ. Hogy a (4.7)-as közelítés érvényes legyen, kell, hogy $\mathbf{R} \neq 0$ és $\mathbf{S}_\tau \neq 0$ teljesüljön.

Ezek a feltételek azért nem jelentenek erős megszorítást, mert bár $C_i(t) \neq 0$ nem minden pontra teljesül minden komponens trajektóriáján, de a rendszer periodicitása miatt nem lehet \mathbf{R} minden komponense egyszerre 0, mert az egyensúlyi ponthoz vezetne. Kivéve néhány elfajult rendszert [10], τ érzékeny lesz legalább egy paraméterre, és így $\mathbf{S}_\tau \neq 0$.

\mathbf{S} szinguláris felbontása:

$$\mathbf{S} = \mathbf{U}\mathbf{\Sigma}\mathbf{V}^T$$

ahol $\mathbf{\Sigma}$ diagonális mátrix, a diagonális elemeket σ_k jelöli, ezek az $\mathbf{S}^T\mathbf{S}$ mátrix sajátértékeinek a négyzetgyökei. A \mathbf{V} mátrix oszlopai (\mathbf{v}_k) $\mathbf{S}^T\mathbf{S}$ egységnyi hosszúságú sajátvektorai, és az \mathbf{U} mátrix oszlopai (\mathbf{u}_k) az $\mathbf{S}\mathbf{S}^T$ mátrix egységnyi hosszúságú sajátvektorai:

$$\mathbf{S}\mathbf{v}_k = \sigma_k\mathbf{u}_k$$

Felhasználva (4.7)-at:

$$\mathbf{S}^T\mathbf{S} = \frac{t^2}{\tau^2}\mathbf{S}_\tau\mathbf{R}^T\mathbf{R}\mathbf{S}_\tau^T = \varphi^2\frac{t^2}{\tau^2}\mathbf{S}_\tau\mathbf{S}_\tau^T$$

ahol $\varphi(t) = \sqrt{\mathbf{R}^T\mathbf{R}} \neq 0$, mert $\varphi(t) \equiv 0$ egyensúlyi állapotot eredményezne. Tehát:

$$\text{eig}(\mathbf{S}^T\mathbf{S}) = \varphi^2\frac{t^2}{\tau^2}\text{eig}(\mathbf{S}_\tau\mathbf{S}_\tau^T) = \varphi^2\frac{t^2}{\tau^2}\text{eig}(\mathbf{S}_\tau^T\mathbf{S}_\tau) = \lambda,$$

ahol az $\text{eig}(\mathbf{A})$ az \mathbf{A} mátrix sajátértékeit jelöli.

Ismeretes, hogy minden \mathbf{X} mátrixra fennáll, hogy $\mathbf{X}^T\mathbf{X}$ nemnulla sajátértékei megegyeznek $\mathbf{X}\mathbf{X}^T$ sajátértékeivel. Így $\mathbf{S}_\tau\mathbf{S}_\tau^T$ nemnulla sajátértéke egyszerűen az $\mathbf{S}_\tau^T\mathbf{S}_\tau$ skalár.

Ha λ az $\mathbf{S}^T\mathbf{S}$ mátrix sajátértéke, \mathbf{v} pedig hozzá tartozó sajátvektora, akkor

$$\mathbf{S}^T\mathbf{S}\mathbf{v} = \lambda\mathbf{v}.$$

Mivel

$$\mathbf{S}^T\mathbf{S}\alpha\mathbf{S}_\tau = \alpha\varphi^2\frac{t^2}{\tau^2}\text{eig}(\mathbf{S}_\tau^T\mathbf{S}_\tau)\mathbf{S}_\tau = \alpha\lambda\mathbf{S}_\tau = \lambda\mathbf{v}$$

így innen:

$$\mathbf{v} = \alpha\mathbf{S}_\tau, \tag{4.8}$$

ahol α tetszőleges skalár.

Legyen $\alpha := \pm(\sqrt{\mathbf{S}_\tau^T \mathbf{S}_\tau})^{-1}$. Ezáltal a \mathbf{v} normalizált sajátvektor: $\mathbf{v} = \pm \frac{\mathbf{S}_\tau}{\sqrt{\mathbf{S}_\tau^T \mathbf{S}_\tau}}$,

σ a $\sqrt{\lambda}$ -t jelölte, így:

$$\sigma = \sqrt{\lambda} = \varphi \frac{t}{\tau} \sqrt{\mathbf{S}_\tau^T \mathbf{S}_\tau}$$

$$\frac{\sigma\tau}{\varphi t} = \sqrt{\mathbf{S}_\tau^T \mathbf{S}_\tau} \quad (4.9)$$

$$\mathbf{S}_\tau = \pm \frac{\sigma\tau}{\varphi t} \mathbf{v} \quad (4.10)$$

Ez tehát a periódusérzékenység, melyet visszahelyettesítve (4.7)-be meghatározható a tisztított érzékenység.

4.2. A harmonikus oszcillátor példája

Az analitikus érzékenységvizsgálat módszerének szemléltetésére bemutatok egy elemi függvényekkel végigszámolható példát.

A harmonikus oszcillátor modell általunk vizsgált változata egy olyan oszcillátor, melyben az x -szel, ill. y -nal jelölt anyagok koncentrációváltozását az alábbi egyenletek írják le:

$$\frac{\partial x}{\partial t} = p^2 y(t), \quad \frac{\partial y}{\partial t} = -px(t),$$

azaz $\mathbf{R} = \begin{bmatrix} p^2 y \\ -px \end{bmatrix}$ és p egy paraméter.

A kezdeti értékeket jelölje $x(0) = c_1$, $y(0) = c_2$.

Ennek a differenciálegyenlet-rendszernek létezik elemi függvényekkel megadható megoldása:

$$x(t) = c_1 \cos(p^{3/2}t) + c_2 \sqrt{p} \sin(p^{3/2}t), \quad (t \in \mathbb{R})$$

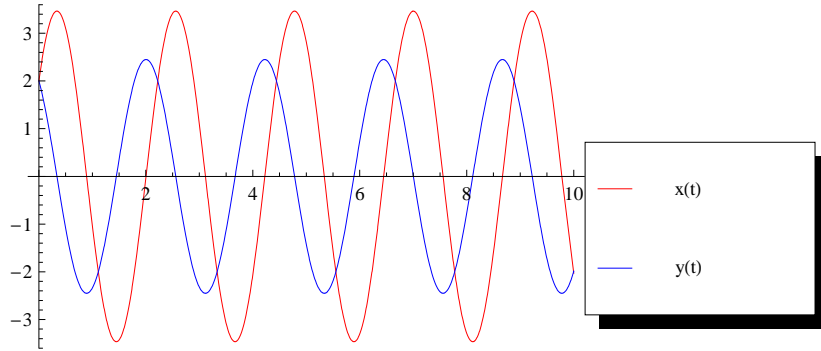
$$y(t) = \frac{1}{\sqrt{p}} (c_2 \sqrt{p} \cos(p^{3/2}t) - c_1 \sin(p^{3/2}t)), \quad (t \in \mathbb{R})$$

A p paramétert és a c_1 , c_2 kezdeti értékeket egyaránt 2-nek választva, az egyenletrendszer megoldásgörbéi a 4.1 ábrán láthatóak.

Az $x(t)$ és $y(t)$ megoldásgörbék periodikusak lesznek, a periódusidő $\tau = \frac{2\pi}{p^{3/2}}$, így a periódusérzékenység $\frac{\partial \tau}{\partial p} = -\frac{3\pi}{p^{5/2}}$. A következő fejezetben a 4.1.1 és a 4.1.2 alfejezetekben bemutatott két módszer alapján ezt az értéket próbálom majd meg numerikusan közelíteni, és amelyik módszer pontosabb eredményt

ad, azt fogom használni a négy sejtciklusmodellnél a periódusérzékenység kiszámítására.

Nézzük most meg, hogy ha tehát már megkaptuk a periódusérzékenységet, azt felhasználva hogyan határozzuk meg a nyers, illetve a tisztított érzékenységet.



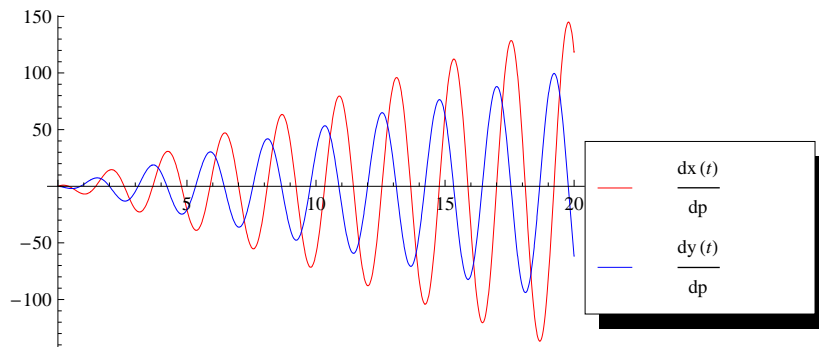
4.1. ábra. Harmonikus oszcillátor megoldásgörbéi

Ezután számítsuk ki a nyers érzékenységeket, azaz a paraméter szerinti deriváltakat, $\frac{\partial x}{\partial p}$ -t és $\frac{\partial y}{\partial p}$ -t.

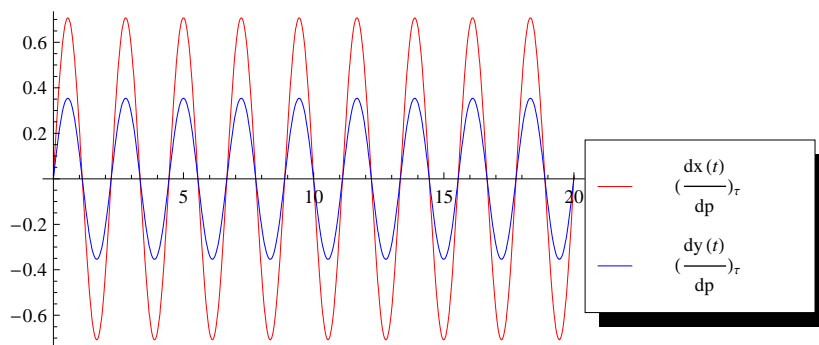
$$\begin{aligned} \frac{\partial x}{\partial p} &= \frac{3}{2}c_2pt \cos(p^{3/2}t) + \frac{c_2 \sin(p^{3/2}t)}{2\sqrt{p}} - \frac{3}{2}c_1\sqrt{pt} \sin(p^{3/2}t) \\ \frac{\partial y}{\partial p} &= -\frac{c_2\sqrt{p} \cos(p^{3/2}t) - c_1 \sin(p^{3/2}t)}{2p^{3/2}} \\ &+ \frac{1}{\sqrt{p}} \left(\frac{c_2 \cos(p^{3/2}t)}{2\sqrt{p}} - \frac{3}{2}c_1\sqrt{pt} \cos(p^{3/2}t) - \frac{3}{2}c_2pt \sin(p^{3/2}t) \right) \end{aligned} \quad (4.11)$$

Mindkét érzékenységi mutatóban szerepel olyan tag, ami t -től nemcsak a periodikus szinusz, illetve koszinusz függvényeken keresztül függ (úgynevezett szekuláris) tag, illetve olyan tag is, amelyekben t csak a periodikus függvények argumentumában jelenik meg. A 4.2 ábrán is jól látszik, hogy a két nyers érzékenységi mutató időfüggő, abszolút értékük végtelenhez tart.

Ha a nyers érzékenységi mutatóknak csak a t -től úgymond megtisztított (azaz csak a szinusz, illetve koszinusz függvényeken keresztül függő) tagjait vesszük, az lesz a tisztított érzékenységi mutató, ami megmutatja, hogy a p paraméter megváltozása hogyan hat az x és az y szubsztrát koncentrációjára (4.3 ábra).



4.2. ábra. Nyers érzékenységek a harmonikus oszcillátorban

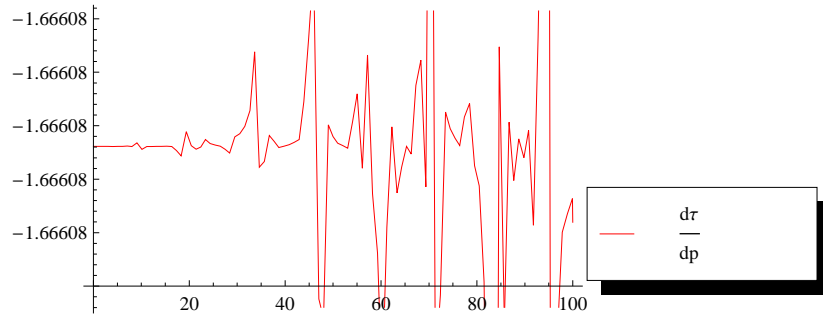
4.3. ábra. Tisztított érzékenységek $\frac{\partial x}{\partial p}$ -re és $\frac{\partial y}{\partial p}$ -re

4.2.1. Periódusérzékenység-számítási módszerek összehasonlítása a harmonikus oszcillátor példáján

Ebben a fejezetben a 4.1.1 és a 4.1.2 fejezetekben bemutatott módszerrel is kiszámítom a periódusérzékenységet a harmonikus oszcillátor példájában, hogy a két módszert összevetve megállapítsuk, melyik szerint lesz érdemes számolni a négy sejtciklusmodellnél.

A Thomas–Edelson-féle módszer

Elsőként a Thomas–Edelson-féle módszert próbáltam ki. A (4.5) összefüggés alapján írtam fel a periódusérzékenységet. A számításokat numerikusan elvégezve a (4.4) függvényt kaptam.



4.4. ábra. Periódusérzékenység számítása a Thomas–Edelson-féle módszerrel: $\frac{\partial \tau}{\partial p}$

A (4.4) ábrán látszik, hogy a függvénygörbe nagyjából a konstans -1.66608 ($\frac{\partial \tau}{\partial p}|_{p=2} = -\frac{3\pi}{p^{5/2}}|_{p=2} \approx -1.66608$) körül helyezkedik el, de néhány helyen a görbe „elszáll” a végtelenbe. Ezért egy középértéket vettem úgy, hogy numerikusan integráltam a függvényt 3 periódus hosszan, majd a kapott értéket elosztottam 3τ -val. Az eredmény -1.66608 lett.

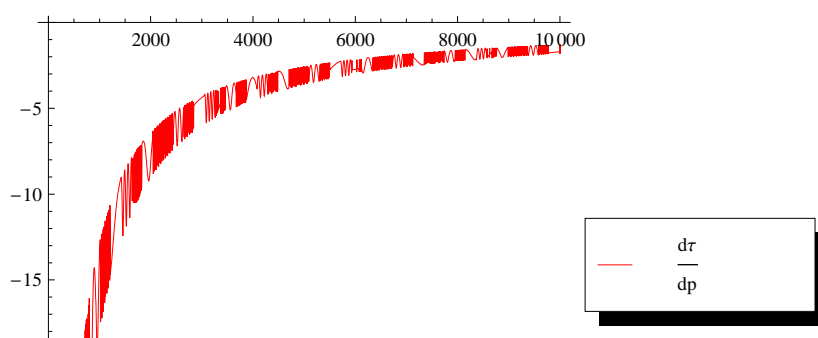
A szinguláris felbontáson alapuló módszer

Ezután megvizsgáltam, hogy mekkora numerikus hibával tudom kiszámítani a periódusérzékenységet a szinguláris felbontáson alapuló módszerrel. A (4.7) közelítés megfelelően nagy t esetén érvényes, így a $t = 10000$ időpontban határoztam meg az \mathbf{S} nyers érzékenységi mátrix elemeit $(\frac{\partial x}{\partial p}, \frac{\partial y}{\partial p})$, majd elvégezve a szinguláris felbontást, rendre az $\mathbf{U}, \mathbf{\Sigma}, \mathbf{V}^T$ mátrixokat kaptam, ahol

a közepső mátrix tartalmazza a sajátértékek (itt: sajátérték) négyzetgyökét:

$$\mathbf{S} = \begin{pmatrix} -0.5569 & 0.8306 \\ 0.8305 & 0.5569 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 56529.1 \\ 0 \end{pmatrix} \quad (1)$$

Innen $\sigma = 56529.1$, a hozzá tartozó sajátvektor pedig $\mathbf{v} = (1)$. Ezeket behelyettesítve (4.10)-be már kiszámítható a periódusérzékenység. Megoldásként a 4.5 ábrán látható függvényt kaptam, aminek a $+\infty$ -ben vett határértéke adja a periódusérzékenységet. A 4.5 ábrán látható függvényt



4.5. ábra. Periódusérzékenység számítása a szinguláris felbontáson alapuló módszerrel: $\frac{\partial r}{\partial p}$

$f(t) = \alpha_1 \frac{1}{t} + \alpha_2$ -vel próbáltam közelíteni, de ez nem volt elég pontos ahhoz, hogy megfelelő eredményt adjon. Közelítés után a periódusérzékenységre $\lim_{t \rightarrow +\infty} f(t) = \alpha_2 \approx -0.233639$ -et kaptam eredményként, ami egy nagyságrenddel nagyobb a tényleges értéknél

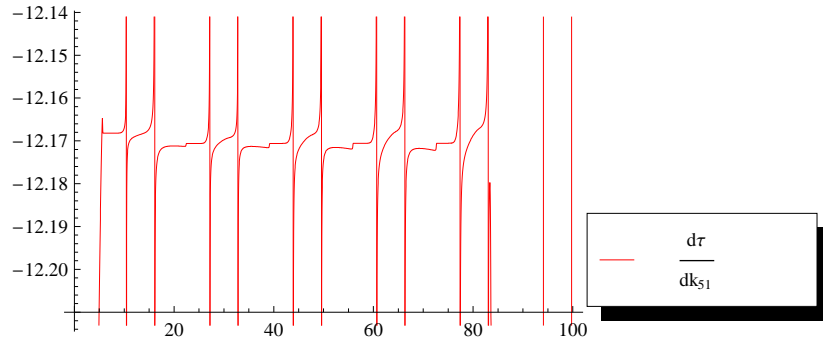
$$\left(\frac{\partial r}{\partial p} \Big|_{p=2} = -\frac{3\pi}{p^{5/2}} \Big|_{p=2} \approx -1.66608 \right).$$

Ezek alapján a Thomas–Edelson-féle módszert választottam a sejtciklus modelleknél a periódusérzékenységek meghatározására.

4.2.2. A modellek paraméterérzékenységének vizsgálata

A 2.3–2.6 fejezetekben bemutatott négy sejtciklusmodellt vizsgáltuk meg az analitikus érzékenységvizsgálat módszerével, a 4.1 fejezetben bemutatott lépések szerint. A számításokat a *Mathematica* programmal végeztem.

Amikor a négy sejtciklusmodellnél a periódusérzékenységet (\mathbf{S}_τ) az [4] cikkben leírt módszer szerint határoztam meg, az sok helyen „elszállt” a végtelenbe. Erre egy jellegzetes példa látható 4.6 ábrán. Ezért \mathbf{S}_τ -ra átlagértéket

4.6. ábra. Periódusérzékenység a Cdc14 modell k_{51} -es paraméterére

vettem, amit úgy kaptam, hogy 3τ hosszúságú intervallumon integráltam a kapott függvényt, majd az eredményt elosztottam 3τ -val, és azzal végeztem a további számításokat. A számítógép azonban a függvény numerikus integrálása során hibaüzenetet adott, amelyben felhívta a figyelmet a szingularitásokra, és hogy emiatt csak nagy numerikus hibával tud dolgozni, eredményt pedig nem adott. Ezért úgy közelítettük a függvényt, hogy felosztottuk a számegeyenest kis szakaszokra, és ezeken harmadfokú polinomokkal approximáltuk, majd a felosztás finomságát közelítettük 0-hoz. Az eredmény lefutása 0.00001-es felosztásnál volt még időben kivárható (20-30 perc között), így végül ezt vettük alapul.

A Cdc14 modellnél az így számolt periódusérzékenységeket visszahelyettesítve a 4.3 egyenletbe, a tisztított érzékenységekre szép, periodikus függvényeket kaptunk, az Cdh1+Cdc20 és a Polo kináz modellnél azonban kis mértékben korrigálni kellett a kapott periódusérzékenységeket, mert a numerikus közelítés hibái miatt nem lettek megfelelő pontosságúak; ezeket visszahelyettesítve 4.3-be, a tisztított érzékenységi függvény időben növekvő maradt, bár a növekedés nagysága jelentősen kisebb lett a kiinduló, a nyers érzékenységi függvény növekedésénél.

A modellek leírása, differenciálegyenletei és a referencia-paraméterek megtalálhatóak a 2.3–2.6, illetve a 3 fejezetekben, de a könnyebb áttekinthetőség kedvéért ebben a fejezetben újra összegyűjtöm őket.

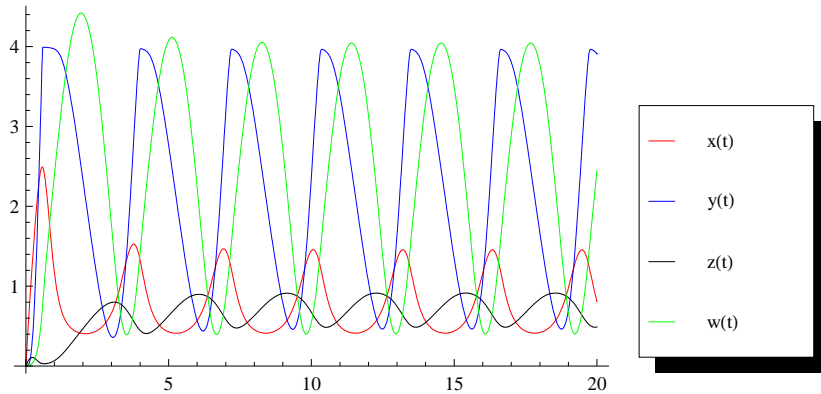
A Cdh1+Cdc20 modell

A Cdh1+Cdc20 modellt az alábbi egyenletek írják le:

$$\begin{aligned}x'(t) &= k_1 - (k_{21} + k_{22}w(t) + k_{23}z(t))x(t) \\y'(t) &= -\frac{k_3y(t)}{j_3 + y(t)} + \frac{(k_{41} + k_{42}x(t))(t_1 - y(t))}{j_4 + t_1 - y(t)} \\z'(t) &= -\frac{(k_{71} + k_{72}x(t))z(t)}{j_7 + z(t)} + \frac{k_8(t_3 - z(t))}{j_8 + t_3 - z(t)} \\w'(t) &= -\frac{k_6w(t)}{j_6 + w(t)} + \frac{(k_{51} + k_{52}y(t))(t_2 - w(t))}{j_5 + t_2 - w(t)}\end{aligned}$$

A referencia-paraméterértékek: $k_1 = 6, k_{21} = 0.2, k_{22} = 3, k_{23} = 3, k_3 = 6, k_{41} = 0.2, k_{42} = 8, k_{51} = 0.3, k_{52} = 2.2, k_6 = 6, k_{71} = 0.1, k_{72} = 1, k_8 = 1, t_3 = 1, t_1 = 4, t_2 = 7, j_3 = 0.01, j_4 = 0.02, j_5 = 0.07, j_6 = 0.3, j_7 = 0.05, j_8 = 0.05$

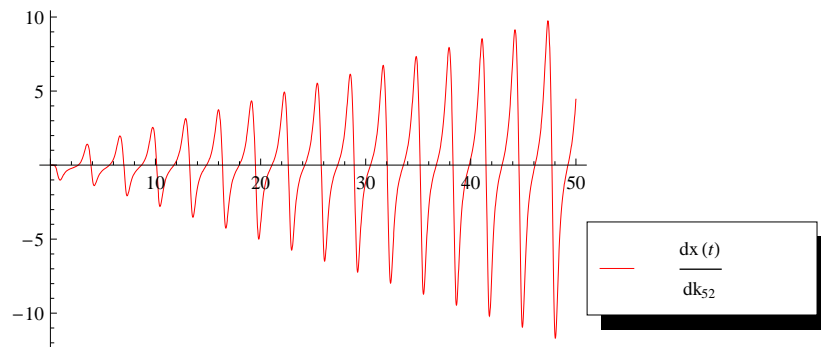
Az egyenletrendszer megoldásgörbéi a 4.7 ábrán láthatóak.



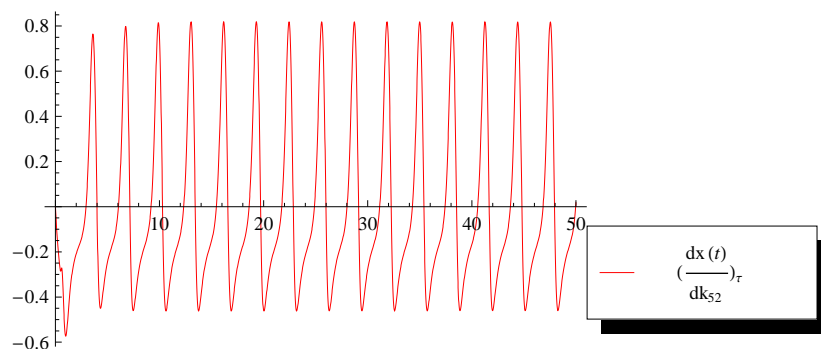
4.7. ábra. A Cdh1+Cdc20 modell megoldásgörbéi

A periódusidő $\tau = 3.1378s$. A 4.1 fejezetben leírt módszer alapján határoztam meg a normált tisztított érzékenységeket. Az összes erre vonatkozó adatot és az ábrákat feltettük az internetre egy Mathematica notebook formájában (lásd [Sipos-Szabó]), mely egy ingyenesen letölthető szoftver segítségével olvasható (lásd [Wolfram]). Itt csak egy jellegzetes ábrát mutatok be. Általánosan elmondható, hogy a Cdh1+Cdc20 modellnél a periódusérzékenységek kicsik, néhány kivételtől eltekintve 10^{-3} és 10^{-1} közötti nagyságrendűek. Ez arra utal, hogy a nyers érzékenységi függvények időfüggő része csekély, a nyers és a tisztított érzékenységek csak kis mértékben különböznek. Például

a k_{52} paraméterre a periódusérzékenység ≈ -0.435012 . A nyers és a normált tisztított érzékenységek görbéi $\frac{\partial x}{\partial k_{52}}$ -re az 4.8 és a 4.9 ábrákon láthatóak.



4.8. ábra. A Cdh1+Cdc20 modell egy nyers érzékenységi görbéje



4.9. ábra. A Cdh1+Cdc20 modell egy tisztított érzékenységi görbéje

Az APCP/Cdc20 modell

Az APCP/Cdc20 modellre nem kaptam értékelhető eredményt, mert a differenciálegyenlet-rendszer megoldása során a legelőször használt WPP program a *Mathematic*tól eltérő megoldást adott. Amíg a WPP programmal a megoldás határciklushoz, addig azonos feltételek mellett a *Mathematic*ban egyensúlyi helyzethez, csomópont-hoz tartott. A Maple programmal is ezt az eredményt kaptam. Egyelőre még nem sikerült kideríteni a különbség okát, talán az alkalmazott megoldómódszerbeli különbség miatt kaptunk más ered-

ményt. Erre a problémára azonban csak nemrég derült fény, a kijavitása a következő időszak feladata lehet.

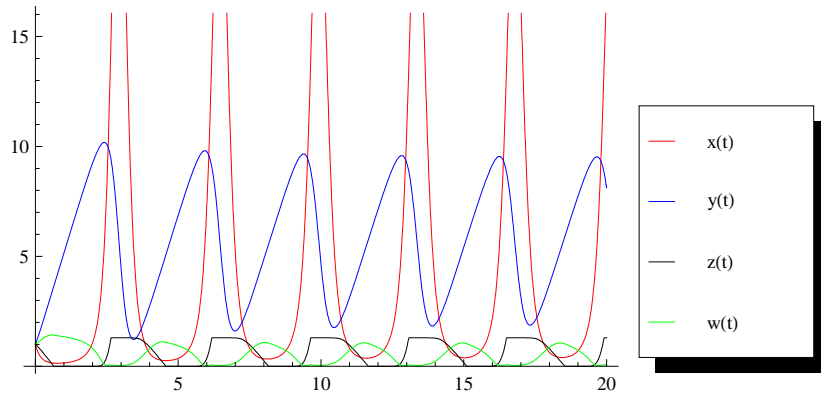
A Polo kináz modell

A Polo kináz modell differenciálegyenletei:

$$\begin{aligned}x'(t) &= k_1 - (k_{21} + k_{22}w(t) + k_{23}(t_1 - y(t)))x(t) \\y'(t) &= -\frac{(k_{71} + k_{72}x(t))(t_1 - y(t))}{j_7 + (t_1 - y(t))} + \frac{k_8 + y(t)}{j_8 + y(t)} \\z'(t) &= -\frac{k_3z(t)}{j_3 + z(t)} + \frac{(k_{41} + k_{42}x(t))(t_2 - z(t))}{j_4 + t_2 - z(t)} \\w'(t) &= -\frac{(k_{61} + k_{62}x(t))w(t)}{j_6 + w(t)} + \frac{(k_{51} + k_{52}z(t))(t_3 - w(t))}{j_5 + t_3 - w(t)}\end{aligned}$$

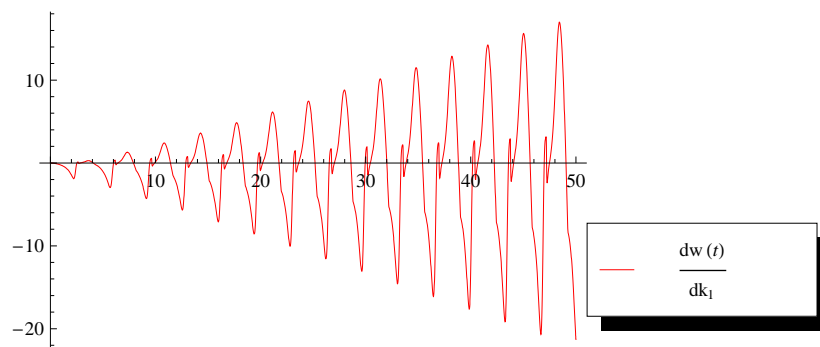
A referencia paraméterértékek: $k_1 = 0.35, k_{21} = 5.5, k_{22} = 0.7, k_{23} = 1, k_3 = 1.8, k_{41} = 0.0001, k_{42} = 0.7, k_{51} = 0.001, k_{52} = 2.2, k_{61} = 0.005, k_{62} = 2.2, k_{71} = 0.001, k_{72} = 0.8, k_8 = 4.4, t_1 = 0.2, t_2 = 1.3, t_3 = 2.5, j_3 = 0.002, j_4 = 0.01, j_5 = 0.01, j_6 = 0.7, j_7 = 0.01, j_8 = 0.01$

Az egyenletrendszer megoldásgörbéi a 4.10 ábrán láthatóak.

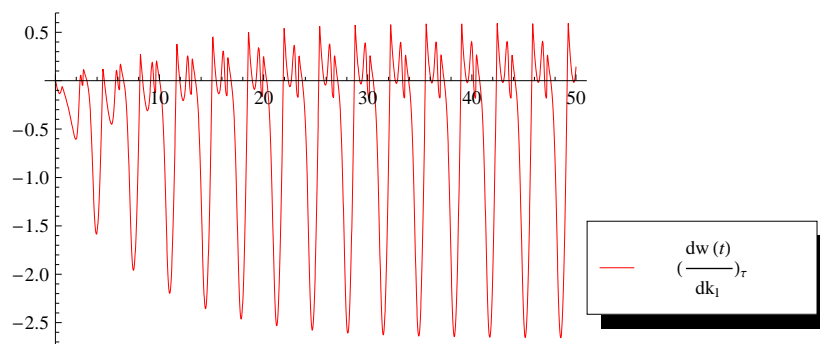


4.10. ábra. A Polo kináz modell megoldásgörbéi

A periódusidő $\tau = 3.468s$. A periódusérzékenységek ennél a modellnél hasonló nagyságrendűek voltak, mint a Cdh1+Cdc20 modellnél, azaz 10^{-3} és 10^{-1} közötti nagyságrendűek. Ez arra utal, hogy a nyers érzékenységi függvények időfüggő része itt is kicsi. Például a k_1 paraméterre a periódusérzékenység ≈ -1.15771 . A nyers és a normált tisztított érzékenységek görbéi $\frac{\partial x}{\partial k_1}$ -re az 4.11 és a 4.12 ábrákon láthatóak, a többi paraméterre kapott ábrákat a [Sipos-Szabó] weblapon lehet megtekinteni.



4.11. ábra. A Polo kináz modell egy nyers érzékenységi görbéje



4.12. ábra. A Polo kináz modell egy tisztított érzékenységi görbéje

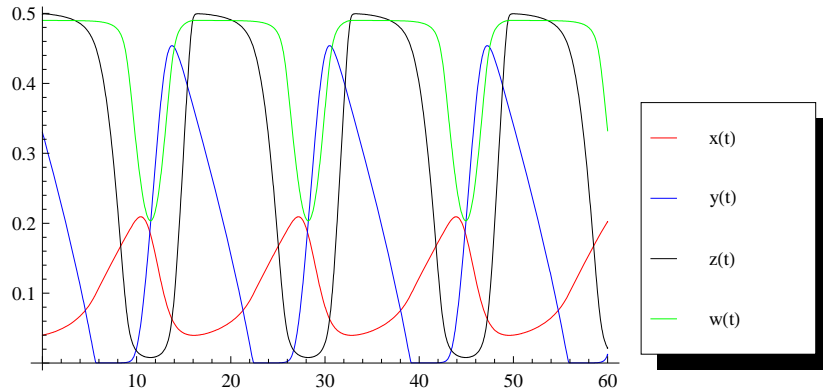
A Cdc14 modell

A Cdc14 modell differenciálegyenletei:

$$\begin{aligned}
 x'(t) &= k_1 - (k_{21} + k_{22}y(t))x(t) \\
 y'(t) &= -\frac{(k_{31} + k_{32}(t_4 - w(t)))(t_1 - y(t))}{j_3 + (t_1 - y(t))} - \frac{(k_{41} + k_{42}x(t))y(t)}{j_3 + y(t)} \\
 z'(t) &= -\frac{(k_{51}(t_4 - w(t)) + k_{52}t_2)(t_3 - z(t) - w(t))}{j_6 + (t_3 - z(t) - w(t))} + \frac{k_7x(t)z(t)}{j_6 + z(t)} \\
 &\quad - l_1z(t)(t_4 - w(t)) + l_2w(t) \\
 w'(t) &= l_1z(t)(t_4 - w(t)) - l_2w(t) - \frac{k_7x(t)z(t)}{j_6 + w(t)}
 \end{aligned} \tag{4.12}$$

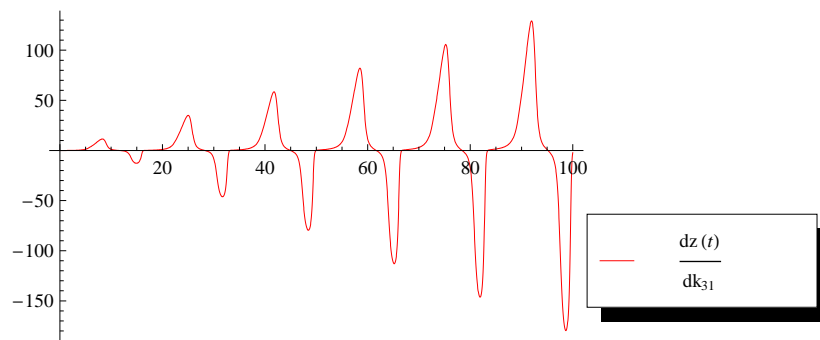
A referencia-paraméterértékek: $k_1 = 0.03, k_{21} = 0.03, k_{31} = 0.01, k_{41} = 0.05, k_{51} = 0.001, k_7 = 2, k_{22} = 2, k_{32} = 1, k_{42} = 0.5, k_{52} = 0.45, l_1 = 1000, l_2 = 10, j_3 = 0.001, j_6 = 0.02, t_1 = 1, t_2 = 1, t_3 = 1, t_4 = 0.5$

Az egyenletrendszer megoldásgörbéi a 4.13 ábrán láthatóak. A periódusi-

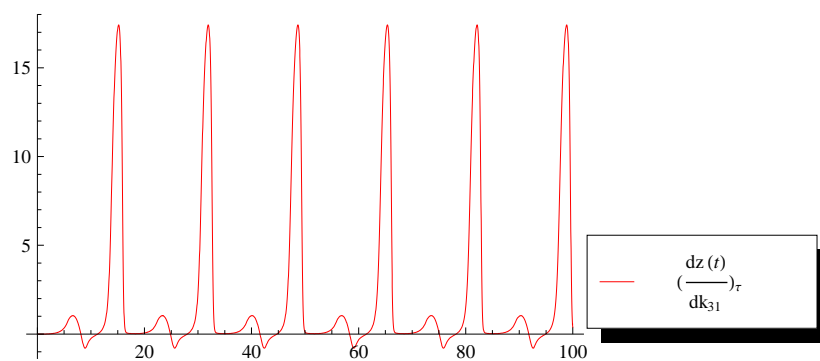


4.13. ábra. A Cdc14 modell megoldásgörbéi

dő $\tau = 16.7346$ s. A periódusérzékenységek egy-egy kivételtől eltekintve 10^{-1} és 10^2 közötti nagyságrendűek. Például a k_{31} paraméterre a periódusérzékenység ≈ 141.603 . A nyers és a normált tisztított érzékenységek görbéi $\frac{\partial z}{\partial k_{31}}$ -re az 4.14 és az 4.15 ábrákon láthatóak, az érzékenységi függvényeket a többi paraméterre a [Sipos-Szabó] weblapon lehet megtekinteni.



4.14. ábra. A Cdc14 modell egy nyers érzékenységi görbéje

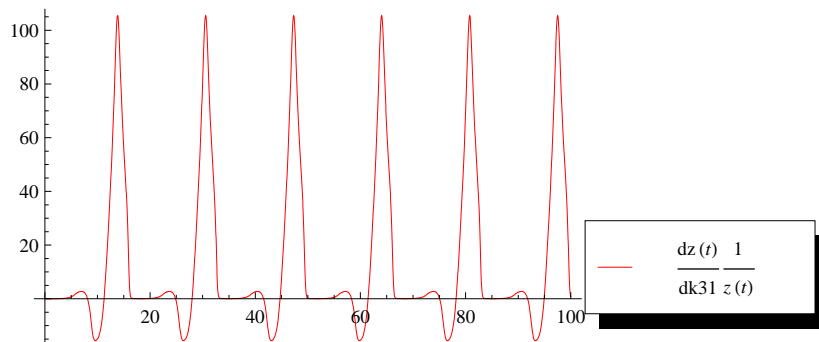


4.15. ábra. A Cdc14 modell egy tisztított érzékenységi görbéje

4.2.3. Paraméterérzékenységek modellen belüli összehasonlítása az analitikus érzékenységvizsgálattal

Ebben a fejezetben egy példán keresztül fogom bemutatni azt, hogyan lehet a normált tisztított érzékenységi függvények alapján összehasonlítani, hogy egy-egy modellen belül melyik paraméter megváltozása hat jobban a szubsztrátkoncentrációk változására. Hasonlóképpen végezhetünk összehasonlítást a többi szubsztrátra és paraméterre is az ehhez szükséges adatokat és táblázatokat a [Sipos-Szabó] weblapon lehet megtekinteni.

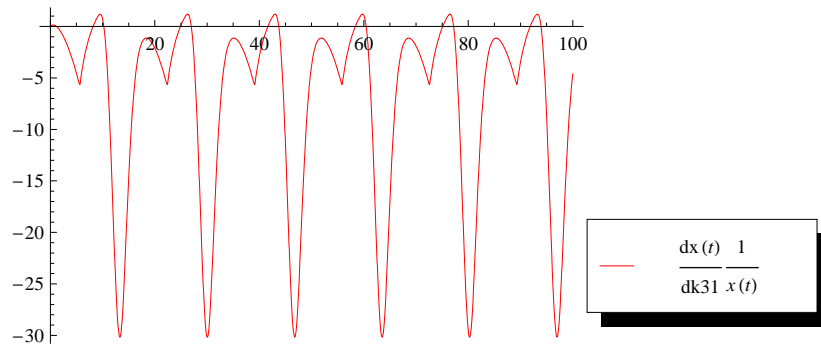
Például nézzük a Cdc14 modellben k_{31} paramétert! A [Sipos-Szabó] weblapon megtalálható a paraméter normált tisztított érzékenységi függvénye az x , illetve az z szubsztrátra vonatkozóan (4.16 és 4.17 ábrák). Az összehasonlítást egy átlagérték, az integrálközép alapján végeztük el. Az integrálközeget úgy kaptuk, hogy két periódushosszan integráltuk a normált tisztított paraméterérzékenységi függvényt, majd a kapott érték abszolútértékét elosztottuk a két periódushosszal. (Az integrálközép-értékek megtalálhatóak a [Sipos-Szabó] weblapon.) Ez az érték x -re vonatkozólag 30.15, z -re vonatkozólag pedig 81.50. Ez alapján tehát a z szubsztrát érzékenyebb a k_{31} paraméter megváltozására, mint az x szubsztrát.



4.16. ábra. A Cdc14 modell egy tisztított érzékenységi görbéje

4.2.4. A modellek összehasonlítása az analitikus érzékenységvizsgálat alapján

Ahhoz, hogy a három modell robusztusságát össze tudjuk hasonlítani a paraméterváltozásokra, meg kell határozni egy robusztusságot jellemző mérőszámot, amit mind a három modellre kiszámolunk.



4.17. ábra. A Cdc14 modell egy tisztított érzékenységi görbéje

Ehhez határozzunk meg mindhárom modellhez egy-egy vektort, úgynevezett **érzékenységi vektort**, ennek a hossza lesz az összehasonlítás alapja. Amelyik modellre kapott vektorhossz nagyobb, e mérőszám alapján arra a modellre nagyobb hatása van a paraméterváltozásnak, azaz az a modell a kevésbé robusztus a paraméterváltozásokra.

Az érzékenységi vektor koordinátáit a normált tisztított paraméterérzékenységekből számítjuk. A vektor tehát $N * M$ dimenziós, ahol N a szubsztrátok számát, M pedig a paraméterek számát jelöli. Az egyes vektorkoordinátákat úgy kapjuk, hogy minden normált tisztított paraméterérzékenységre külön egy-egy átlagértéket veszünk. Ez az átlagérték az integrálközep, amit úgy kapunk, hogy két periódushosszan integráljuk a normált tisztított paraméterérzékenység függvényt, majd a kapott értéket elosztjuk a két periódushosszal. Így tehát mindhárom modellre kapunk egy-egy vektort.

Mivel a három modellben eltérő számú paraméter van, ezeknek a vektoroknak a dimenziója különböző. (A Cdh1+Cdc20 modellnél $4 * 22 = 88$, a Polo kináz modellnél $4 * 23 = 92$, a Cdc14 modellnél pedig $4 * 18 = 72$ dimenziós vektort kapunk.) Annak érdekében, hogy össze tudjuk őket hasonlítani, ágyazzuk be mindhárom vektort a 92 dimenziós térbe úgy, hogy a hiányzó koordinátákat 0-nak vesszük. Így tehát minden modellre kapunk egy 92 dimenziós vektort. Ezek hossza alapján össze tudjuk hasonlítani az egyes modellek paraméterváltozásra való érzékenységét.

A Cdh1+Cdc20 modellre kapott mérőszám 555.996, a Polo kináz modellre kapott mérőszám 508.236, és végül a Cdc14 modellre kapott szám 627.12. Ezek alapján megállapítható, hogy a Polo kináz modell robusztusabb a paraméterváltozásokra, mint a Cdc14 modell.

Az eredmények értékelése

Azt találtam, hogy a dolgozatban bemutatott érzékenységi vizsgálatok alapján az eredeti modell sokkal robusztusabbnak bizonyult, mint az APCP/Cdc20 modell. Mivel azonban az új kutatási eredmények szerint ez biológiailag nem realiztikus modell ([2]), újabb modellek vizsgálatába kezdtünk.

A szimulációs globális érzékenységvizsgálattal azt kaptuk, hogy a Polo kináz modell érzékenyebb a paraméterváltozásokra, mint a Cdc14 modell. Az analitikus érzékenységvizsgálattal pedig ennek az ellenkezője jött ki, vagyis ez alapján a Cdc14 modell az érzékenyebb. Az eltérésnek az az oka, hogy a két módszerrel különböző dolgokat mértünk. Míg a globális érzékenységvizsgálatunk azt mutatta meg, hogy a paramétereket egyszerre kis mértékben megváltoztatva fennmarad-e az oszcilláció a sejtciklusgépezetben, addig az analitikus érzékenységvizsgálatunk arra kereste a választ, hogy egyetlen paraméter megváltoztatása hogyan befolyásolja a sejtciklusgépezet különböző szubsztrátkoncentrációit. Az már a biológusok feladata, hogy a két elemzés közül melyiket részesítik előnyben, melyik alapján mondják az egyik vagy a másik modellt robusztusabbnak.

5. fejezet

Összefoglalás

Munkám során négy különböző sejtciklus modellel dolgoztam. Olyan modellt kerestünk, ami biológiailag realiztikus, és robusztus a paraméterváltozásokra. Ennek érdekében a modelleket többféle érzékenységvizsgálati módszerrel összehasonlítottam:

- **Lokális érzékenységvizsgálattal.** Megnéztem, hogy az egyes modellparamétereket mekkora intervallumon lehet változtatni, hogy az oszcilláció fennmaradjon a rendszerben.
- **Globális érzékenységvizsgálattal.** Különböző véletlen-paraméterhalmazokat generáltam, majd ezekkel szimulációkat futtatam le a négy sejtciklusmodellre, és ez alapján vontam le következtetéseket a modellek robusztusságára.
- **Analitikus érzékenységvizsgálattal.** A dolgozatban definiált normált tisztított érzékenységi függvények segítségével egy-egy modellen belül meghatároztam, hogy melyik modellben melyik szubsztrát a legérzékenyebb az egyes paraméterváltozásokra.
- Majd az érzékenységi vektorok segítségével magukat a modelleket is össze tudtam hasonlítani a robusztusság szempontjából.

Az érzékenységvizsgálat itt bemutatott analitikus módszerét ezeken a modelleken teszteltük, majd egy nagyobb, több változós rendszerre is elvégeztük ezeket a számításokat. Az eredményekből a második FUNCODYN konferenciára poszterünk született ([15]).

További kutatási tervek

További terveink között szerepel a dolgozatban bemutatott érzékenységvizsgálati módszerek továbbfejlesztése, illetve a vizsgálat végrehajtása többváltozós modelleken.

Ezenkívül annak a hibának a feltérképezése, ami miatt a második modellünk a különböző számítógépes programokkal elemezve másképp viselkedett.

Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom:

Tóth János és Csikász-Nagy Attila témavezetőimnek türelmükért és mindenre kiterjedő szakmai segítségükért.

A dolgozat megírását részben támogatta az OTKA NK 63066 számú pályázata.

Irodalomjegyzék

- [osc] Oscill8. freely available from <http://sourceforge.net/projects/oscill8>.
- [1] N. Barkai and S. Leibler. Robustness in simple biochemical networks. *Nature*, 387(913-917), 1997.
- [2] Andrea Ciliberto, Anna Lukács, Attila Tóth, John J. Tyson, and Béla Novák. Rewiring the exit from mitosis. *Cell Cycle*, 4:1107–1112, 2005.
- [3] Attila Csikász-Nagy. *A sarjadzó élesztő sejtciklusának matematikai modellezése*. PhD thesis, Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Mezőgazdasági Kémiai Technológia Tanszék, Budapest, 2000.
- [4] David Edelson and Valerie M. Thomas. Sensitivity analysis of oscillating reactions. *The Journal of Physical Chemistry*, 85:1555–1558, 1981.
- [5] Jr. JE Ferrell. Self-perpetuating states in signal transduction: positive feedback, double-negative feedback and bistability. *Curr Opin Cell Biol*, 14(140-148), 2002.
- [6] Paul C. Fife. Comments on a paper by Edelson and Thomas on sensitivity analysis of oscillating reactions. *The Journal of Physical Chemistry*, 85:2861–2862, 1981.
- [7] DL. Fisher and P. Nurse. A single fission yeast mitotic cyclin b p34cdc2 kinase promotes both s-phase and mitosis in the absence of g1 cyclins. *EMBO J*, 15(850-860), 1996.
- [8] DM Glover, IM Hagan, and AAM Tavares. Polo-like kinases: a team that plays throughout mitosis. *Genes Devl*, 12(3777-3787), 1998.
- [9] F. G. Heineken, H. M. Tschuhiya, and R. Aris. On the mathematical status of pseudo-steady state hypothesis. *Mathematical Biosciences*, 1: 95–113, 1967.

- [10] Raima Larter, Herschel A. Rabitz, and Mark A. Kramer. Sensitivity analysis of limit cycles with application to the brusselator. *The Journal of Physical Chemistry*, 80:4120–4128, 1984.
- [11] A. Murray and T. Hunt. *The Cell Cycle. An introduction*. W. H. Freeman & Co., New York, 1993.
- [12] K. Nasmyth. Evolution of the cell cycle. *Phil Trans R Soc Lond B*, 349 (271-281), 1995.
- [13] B. Novak, A. Csikasz-Nagy, B. Gyorffy, K. Nasmyth, and JJ Tyson. Model scenarios for evolution of the eukaryotic cell cycle. *Phil Trans R Soc Lond B*, 353(2063-2076), 1998.
- [14] Béla Novák. *A sejtszaporodás reakciókinetikai modelljei*. PhD thesis, Budapesti Műszaki Egyetem, Mezőgazdasági Kémiai Technológia Tanszék, Budapest, 1999.
- [Sipos-Szabó] E Sipos-Szabó. www.math.bme.hu/jtoth/indexhu.html#siposzsabotdk.
- [15] E. Sipos-Szabó, I. Pál, J. Tóth, I. Gy. Zsély, T. Turányi, and A. Csikasz-Nagy. Sensitivity analysis of a generic cell-cycle model. 2nd FUNCDYN meeting Rothenburg ob der Tauber, Germany, 15-18 September 2008.
- [16] B. Stern and P. Nurse. A quantitative model for the cdc2 control of s phase and mitosis in fission yeast. *Trends Genet*, 12(345-350), 1996.
- [17] A Toth, E Queralt, F Uhlmann, and B Novak. Mitotic exit in two dimensions. *J Theor Biol*, 248(560-573), 2007.
- [18] T. Turányi and J. Tóth. Comments to an article of Frank-Kamenetskii on the quasi-steady-state approximation. *Acta Chimica Hungarica-Models in Chemistry*, 129(6):903–914, 1992.
- [19] R Visintin, K Craig, ES Hwang, S Prinz, M Tyers, and A Amon. The phosphatase cdc14 triggers mitotic exit by reversal of cdk-dependent phosphorylation. *Mol Cell*, 2(709-718), 1998.
- [Wolfram] Wolfram. <http://www.wolfram.com/products/mathreader/>.
- [20] Daniel E. Zak, Jörg Stelling, and Francis J. Doyle III. Sensitivity analysis of oscillatory (bio)chemical systems. *Computers & Chemical Engineering*, 29:663–673, 2005.