



Univerza v Mariboru

---

Fakulteta za naravoslovje  
in matematiko

**Maksimalna produkcija entropije in  
Shannonova informacijska entropija v encimski  
kaskadi in encimskem kompleksu**

**Diplomski seminar na študijskem programu 1. stopnje Fizika**

Tina Blažević

Mentor: doc. dr. Andrej Dobovišek

Maribor, 2023

BLAŽEVIČ, T.: Maksimalna produkcija entropije in Shannonova informacijska entropija v encimski kaskadi in encimskem kompleksu  
Diplomski seminar, Univerza v Mariboru, Fakulteta za naravoslovje in matematiko, Oddelek za fiziko, 2023.

#### POVZETEK

V diplomskem seminarju predstavimo podrobno termodinamsko analizo encimske kaskade (zaporedja encimskih reakcij), ki jo regulirata dva ločena encima, in reakcije, ki jo regulira tako imenovan encimski kompleks (encima, združena v eno biološko molekulo). Za oba obravnavana sistema na osnovi principa maksimalne produkcije entropije najprej poiščemo najverjetnejše termodinamsko stanje in tako določimo najverjetnejše vrednosti reakcijskih konstant v obeh sistemih. Iz termodinamske analize ugotovimo, da so v kaskadi, ki jo regulirata ločena encima, hitrost reakcije, Shannonova informacijska entropija in stabilnost reakcije odvisne od vmesnega produkta kaskade. Za reakcijo, ki jo katalizira encimski kompleks, ugotovimo, da navedene spremenljivke od koncentracije vmesnega produkta niso odvisne. Z ustreznimi teoretičnimi modeli preučujemo, ali v odvisnosti od sprememb v koncentraciji vmesnega produkta obstaja spontan prehod med obema vrstama regulacije in pod kakšnimi pogoji je določena vrsta regulacije termodinamsko ugodnejša.

Ključne besede: encimska kinetika, encimska reakcija, encimska kaskada, encimski kompleks, Shannonova informacijska entropija, produkcija entropije, stabilnost reakcije

#### ABSTRACT

In this seminar we present a detailed thermodynamic analysis of an enzyme cascade (a sequence of enzymatic reactions) regulated by two separate enzymes and a reaction regulated by a so-called enzyme complex (enzymes combined into a single biological molecule). For both systems considered, we first search for the most probable thermodynamic state based on the principle of maximum entropy generation and thus determine the most probable values of the reaction parameters in both systems. From the thermodynamic analysis, we find that for the cascade regulated by separate enzymes, the reaction rate, Shannon information entropy, and reaction stability depend on the intermediate product of the cascade. For the reaction catalyzed by an enzyme complex, we find that these variables are independent of the concentration of the intermediate product. Using appropriate theoretical models, we investigate whether a spontaneous transition between the two types of regulation occurs as a function of changes in the concentration of the intermediate product, and under what conditions a particular type of regulation is thermodynamically favorable.

Keywords: enzyme kinetics, enzyme reaction, enzymatic cascade, enzymatic complex, Shannon information entropy, entropy production, reaction stability

## **Kazalo vsebine**

1 Uvod.....	3
2 Termodinamika encimskih reakcij .....	5
3 Kinetični modeli .....	8
4 Rezultati .....	13
4.1 Določanje parametrov modela.....	13
4.2 Termodinamske spremenljivke.....	16
5 Zaključek .....	19

# 1 Uvod

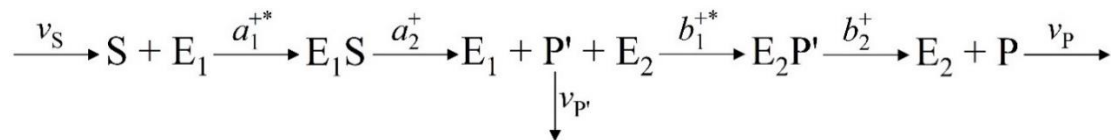
V bioloških sistemih encime uvrščamo med najpomembnejše proteine v celicah. Zgrajeni so iz aminokislin, njihova fiziološka funkcija pa je regulacija in pospeševanje oziroma kataliza biokemijskih reakcij v celicah [1]. Biokemijske reakcije v celici so med seboj tesno prepletene v kompleksne biokemijske mreže, ki tvorijo celični metabolizem. Encimi kot katalizatorji in regulatorji biokemijskih reakcij vstopajo v praktično vsako od teh reakcij in imajo tako pomembno fiziološko vlogo v regulaciji celičnega metabolizma. Kinetična shema preproste encimske reakcije je prikazana na sliki 1.

Encimska reakcija se prične z vezavo substrata  $S$  na encim  $E$ . Substrat priteka v reakcijo in se veže na aktivno mesto encima. Encim tako iz prostega stanja  $E$  preide v vezano stanje  $ES$ . Encim nato substrat pretvori v produkt  $P$  ( $S \rightarrow P$ ), produkt pa se sprostí iz vezavnega mesta encima in difundira v okolico. Ker je reakcija krožen proces, se encim po končani reakciji vrne v začetno stanje in je ponovno na razpolago za pretvorbo substrata v produkt. Pri pretvorbi substrata v produkt se v okolico reakcijskega sistema lahko sprošča energija v obliki toplote, v kolikor je reakcija eksotermna. Hitrost prehajanja encima med posameznimi stanji opišemo s hitrostnimi konstantami, ki so specifične za vsako reakcijo in za so večino reakcij izmerjene. Za večjo aktivnost encima so potrebni čim hitrejši prehodi med stanji, kar hkrati prispeva k večji hitrosti reakcije in večji disipaciji energije v okolico [2].



Slika 1. Kinetična shema dvostanjske ireverzibilne encimske reakcije.  $S$  je substrat, ki v reakcijo priteka s tokom  $v_s$  in se veže na aktivno mesto encima  $E$ . Pri tem nastane produkt  $P$ , ki odteka s tokom  $v_p$ .  $ES$  je vezano stanje encima in substrata,  $a_1^{+*}$  in  $a_2^+$  pa sta hitrostni konstanti posameznih korakov encimske reakcije.

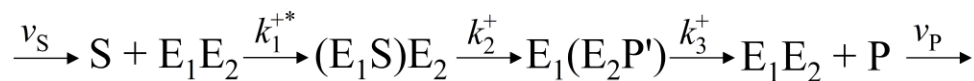
Kot že omenjeno, so biokemijske reakcije v celici med seboj povezane. Te povezave se lahko tvorijo na različne načine. Primer najpreprostejše povezave med dvema encimskima reakcijama je denimo kaskada, ki jo ponazorimo z dvema ali več zaporednimi reakcijami, kot je prikazano na sliki 2. Ta prikazuje dve zaporedni encimski reakciji, ki potekata enako kot reakcija na sliki 1. Pri tem produkt prve reakcije  $P'$ , ki predstavlja vmesni produkt v kaskadi, vstopa kot substrat v drugo reakcijo. V celici tak prehod metabolita  $P'$  med dvema zaporednima reakcijama ni neposreden. Pogosto se dogaja, da se v okolici encima  $E_1$  nahaja veliko drugih encimov, ki niso del dotične encimske kaskade, a lahko interagirajo z metabolitom  $P'$ . Vmesni produkt po izhodu iz prve reakcije naključno difundira po citoplazmi celice in zato ne vstopa nujno v reakcijo z encimom  $E_2$ , ampak tudi z drugimi encimi. To ima podoben učinek, kot če bi vmesni produkt odtekal iz encimske kaskade, kar je na sliki 2 označeno z izhodnim tokom  $v'_p$ . Takšno dogajanje lahko močno vpliva na potek kaskade. Tvorba končnega produkta kaskade ( $P$ ) je lahko prepočasna, njegova koncentracija je lahko prenizka ali pa se kaskada v celoti prekine. Celica lahko tako ostane brez produkta, ki je nujno potreben za normalno delovanje organizma [3].



Slika 2. Kinetična shema kaskade dveh encimskih reakcij. Substrat  $S$  v reakcijo priteka s tokom  $v_S$  in vstopa v reakcijo s prvim encimom  $E_1$ . Pri tem nastane produkt  $P'$ . Del molekul produkta lahko iz kaskade izteka z izhodnim tokom  $v_{P'}$ , preostanek pa z encimom  $E_2$  vstopa v drugo reakcijo, v kateri se tvori končni produkt ( $P$ ) kaskade reakcij. Ta odteka s tokom  $v_P$ . Hitrostne konstante reakcij pri prehodih encimov med stanji so  $a_1^{+*}$ ,  $a_2^+$ ,  $b_1^{+*}$  in  $b_2^+$ .  $E_1 S$  in  $E_2 P'$  sta vezani stanji prvega in drugega encima.

Iztekanje vmesnega produkta vpliva tudi na stabilnost, hitrost in učinkovitost kaskade. Slednja je povezana s hitrostjo prehoda vmesnega produkta iz aktivnega mesta prvega encima do aktivnega mesta drugega encima. Učinkovitost pa je hkrati povezana tudi s količino vmesnega produkta v citoplazmi, če je strupen ali radioaktiven, kar je v živem organizmu nezaželeno [4]. Izkaže se, da je difuzija vmesnega produkta po citoplazmi iz vezavnega mesta enega encima, do vezavnega mesta drugega encima za celico precej neugodna. Celica najde rešitev v tvorbi posebne encimske povezave, imenovane encimski kompleks.

Encimski kompleks je poimenovanje za večjo biološko molekulo, v kateri je združenih več encimov. Posebnost takega sistema je, da se produkt  $P'$ , ki ga tvori prvi encim, iz aktivnega mesta prvega encima prenese neposredno na aktivno mesto drugega encima. Pri tem se vmesni produkt ne sprosti v citoplazmo celice, kjer bi lahko prosto difundiral iz reakcijskega sistema in tako vplival na hitrost in stabilnost reakcije. S tvorbo encimskega kompleksa je vmesnemu produktu onemogočeno iztekanje iz kaskade. Kinetična shema preprostega modelnega encimskega kompleksa je prikazana na sliki 3. S takšno encimsko povezavo si celica z veliko verjetnostjo zagotovi končni produkt, saj vmesni produkt ne more prosto difundirati po citoplazmi celice in tako nekontrolirano iztekati iz reakcijskega sistema [4, 5].



Slika 3. Kinetična shema reakcije, ki jo katalizira encimski kompleks. Substrat  $S$  v reakcijo priteka s tokom  $v_S$  in vstopa v reakcijo s kompleksom. V prvem koraku se s prostim encimskim kompleksom  $E_1 E_2$  veže v stanje  $(E_1 S) E_2$ , kjer je substrat vezan na prvi encim kompleksa, drugi encim pa je prost. Temu sledi neposreden prehod v stanje  $E_1 (E_2 P')$ , ki predstavlja vezavo substrata na aktivno mesto drugega encima v kompleksu. Reakcija se zaključi z nastankom končnega produkta  $P$ , ki odteče s tokom  $v_P$ . Hitrostne konstante posameznih korakov reakcije pri prehodih kompleksa med stanji so  $k_1^{+*}$ ,  $k_2^+$  in  $k_3^+$ .

Encimske reakcije v celici obravnavamo kot odprte in neravnovesne reakcijske sisteme, ki z okolico izmenjujejo snov in toploto. Za takšne sisteme je značilno, da so izmaknjeni iz termodinamskega ravnovesja s konstantno gonilno silo v smeri končnega produkta [6]. V najpreprostejšem približku so neravnovesni procesi stacionarni, zanje pa je značilna nenehna disipacija proste energije oziroma konstantna produkcija entropije [7]. Raziskave kažejo [8], da

se odprti reakcijski sistemi po dovolj dolgem času spontano organizirajo v neravnovesno stacionarno stanje z maksimalno produkcijo entropije oziroma maksimalno disipacijo proste energije [9]. Pri termodinamski obravnavi takšnih sistemov se raziskovalci pogosto sklicujejo na princip maksimalne produkcije entropije [2, 8, 10–14]. V diplomskem seminarju obravnavamo primere, kjer reakcijski sistem z okolico izmenjuje le metabolite (substrate in produkte reakcij), ne pa tudi encimov. Tudi slednji bi se lahko transportirali s tokovi ali bili pod vplivom drugih procesov, kot je denimo inhibicija.

Cilj diplomskega seminarja je ugotoviti, kolikšna je kritična koncentracija vmesnega produkta, pri kateri se odvije spontan prehod med obema opisanimi vrstama regulacije encimskih reakcij v kaskadi. Za oba primera razvijemo kinetična modela in ju obravnavamo po principu maksimalne produkcije entropije. Določimo optimalne hitrostne konstante reakcij in pokažemo, da so ključne termodinamske spremenljivke odvisne od koncentracije vmesnega produkta.

V nadaljevanju v 2. poglavju najprej predstavimo termodinamiko encimskih reakcij. V 3. poglavju zapišemo ustrezne kinetične modele ter izpeljemo hitrost encimske reakcije, Shannonovo informacijsko entropijo ter stabilnost reakcije. V 4. poglavju predstavimo rezultate.

## 2 Termodinamika encimskih reakcij

Produkcija entropije ( $\sigma$ ) v encimski reakciji je podana z enačbo:

$$\sigma = \frac{vX}{T}, \quad (1)$$

pri čemer je  $v$  hitrost encimske reakcije,  $X$  termodinamska sila za reakcijo in  $T$  absolutna temperatura, za katero privzamemo, da je konstantna. Hitrost reakcije je odvisna od kinetičnega mehanizma reakcije in jo je potrebno podrobneje obravnavati glede na podan kinetični mehanizem. Odvisna je tudi od koncentracije substrata, koncentracije encima in kinetičnih parametrov. Natančnejše izpeljave hitrosti reakcij so za oba primera, prikazana na slikah 2 in 3, predstavljene v naslednjem poglavju. Termodinamsko silo reakcije splošno definiramo kot negativno spremembo Gibbsove proste energije ( $X \equiv -\Delta G$ ) [15]. Prosto Gibbsovo energijo pri pretvorbi substrata v produkt izračunamo po enačbi

$$\Delta G = \Delta G_{eq} - RT \ln \frac{[S]}{[P]}, \quad (2)$$

pri čemer je  $R$  je splošna plinska konstanta,  $[S]$  koncentracija substrata,  $[P]$  koncentracija produkta,  $\Delta G_{eq}$  pa standardna Gibbsova energija, ki je enaka:

$$\Delta G_{eq} = -RT \ln(K^*). \quad (3)$$

Parameter  $K^*$  je ravnotežna konstanta reakcije in je po definiciji podana kot razmerje med koncentracijama produkta ( $[P]_{eq}$ ) in substrata ( $[S]_{eq}$ ) v ravnovesju:  $K^* = [P]_{eq}/[S]_{eq}$ . Ko združimo enačbi (2) in (3), dobimo končen izraz za termodinamsko silo encimske reakcije:

$$X \equiv -\Delta G = RT \ln \left( K^* \frac{[S]}{[P]} \right). \quad (4)$$

Ob upoštevanju pogoja  $K^* = [P]_{eq}/[S]_{eq}$  iz enačbe (4) sledi, da je v ravnovesju termodinamska sila za reakcijo enaka 0. Ker je v stacionarnem stanju gonilna sila reakcije konstantna, sledi, da je produkcija entropije največja takrat, ko se pri stalni termodinamski sili vzpostavi najvišja hitrost reakcije. Takšno stanje je v skladu s principom maksimalne produkcije entropije tudi statistično najbolj verjetno stanje reakcije, za katerega je značilna maksimalna Shannonova informacijska entropija [2, 12]. Shannonova informacijska entropija ( $H$ ) je podana z enačbo:

$$H = - \sum_i P_i \ln P_i, \quad (5)$$

pri čemer je  $P_i$  verjetnost, da se encim ali kompleks encimov nahaja v enem od možnih funkcionalnih stanj. Pri tem velja:

$$P_i = \frac{[E_i]}{[E^{TOT}]}, \quad (6)$$

kjer je  $[E_i]$  koncentracija encima ali kompleksa v  $i$ -tem funkcionalnem stanju in  $[E^{TOT}]$  skupna koncentracija encima ali kompleksa v reakcijskem sistemu.  $[E^{TOT}]$  je konstanten parameter. Vrednost Shannonove informacijske entropije je največja, ko so verjetnosti  $P_i$  enake, pri čemer je  $\sum_i P_i = 1$ .

Kinetične sheme encimskih reakcij opišemo s sistemi diferencialnih enačb oziroma tako imenovanimi kinetičnimi modeli, s katerimi opišemo časovne poteke vseh modelnih spremenljivk reakcije. V splošnem lahko sistem diferencialnih enačb zapišemo v vektorski obliki:

$$\dot{X} = f(X), \quad X \in \mathbb{R}^n, \quad (7)$$

kjer je  $X$   $n$  - dimenzionalen vektor stanja,  $\dot{X}$  njegov časovni odvod,  $f(X)$  pa nelinearna funkcija. Stacionarno stanje sistema je podano s pogojem

$$\dot{X}_{X=X^*} = f(X^*) = 0. \quad (8)$$

Pri tem je  $X^*$  stacionarna rešitev sistema enačb (7). S stabilnostno analizo preučujemo stabilnost stacionarne rešitve  $X^*$ . V ta namen funkcijo  $f(X)$  lineariziramo v okolici stacionarne rešitve  $X^*$  in skonstruiramo Jacobijevo matriko ( $J$ ) dinamičnega sistema:

$$J = \begin{bmatrix} \frac{\partial f_1}{\partial x_1} & \dots & \frac{\partial f_1}{\partial x_m} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{\partial f_m}{\partial x_1} & \dots & \frac{\partial f_m}{\partial x_m} \end{bmatrix}. \quad (9)$$

Pri tem je  $f$  vektorska funkcija,  $m$  pa število funkcij, ki opisujejo sistem, in hkrati število spremenljivk, po katerih funkcije parcialno odvajamo, saj imamo v obravnavanih primerih vedno kvadratno matriko. Stabilnost stacionarnega stanja je podana s sledjo Jacobijeve matrike  $\text{Tr}(J)$ , ki je enaka vsoti diagonalnih elementov matrike:

$$\text{Tr}(J) = \sum_i \frac{\partial f_i}{\partial x_i}. \quad (10)$$

Za zelo stabilne rešitve, ki predstavljajo toga stanja, je značilno, da je sled močno negativna  $\text{Tr}(J) \ll 0$ . Z zmanjševanjem absolutne vrednosti sledi Jacobijeve matrike so stanja še vedno stabilna, povečuje pa se njihova fleksibilnost.

Za encimske reakcije, tako reverzibilne in ireverzibilne, velja, da pod določenimi pogoji obstajata maksimalna produkcija entropije in maksimalna Shannonova informacijska entropija [2, 11, 12]. Osnovni pogoj, ki ga moramo pri tem upoštevati, je, da je ravnovesna konstanta reakcije konstanten parameter. Ravnovesno konstanto  $K^*$  lahko izrazimo tudi s kinetičnimi parametri reakcije kot:

$$K^* = \frac{k_1^{+*} k_2^+ k_3^+ \dots k_q^+}{k_1^{-*} k_2^- k_3^- \dots k_q^-}. \quad (11)$$

Pri tem so  $k_1^{+*}, k_2^+, k_3^+$  in  $k_q^+$  hitrostne konstante posameznih korakov encimske reakcije v smeri pretvorbe substrata v produkt ter  $k_1^{-*}, k_2^-, k_3^-$  in  $k_q^-$  v smeri pretvorbe produkta v substrat,  $q$  pa je število korakov v reakciji. Veljati mora tudi, da sta števec in imenovalec enačbe (11) konstantna [2, 11–13]. Ker v diplomskem seminarju analiziramo reakcije, ki so močno izmaknjene iz ravnovesja (so ireverzibilne), bomo v nadaljevanju govorili le o hitrostnih konstantah v smeri pretvorbe substrata v produkt, katerih zmnožek označimo s  $K^+$ :

$$K^+ = k_1^{+*} k_2^+ k_3^+ \dots k_q^+. \quad (12)$$

Enačba (12) predstavlja osnovni optimizacijski pogoj za določanje ustreznih termodinamskih spremenljivk encimskih reakcij, ki jih obravnavamo v nadaljevanju. Zapišemo kinetični model ter izpeljemo Shannonovo informacijsko entropijo, hitrost in stabilnost encimske reakcije, ki poteka v obliki kaskade, in reakcije, ki jo katalizira encimski kompleks.



### 3 Kinetični modeli

Najprej obravnavajmo kaskado encimskih reakcij v stacionarnem stanju, ki jo prikazuje kinetična shema na sliki 2. Encimska kaskada je določena s sistemom sedmih diferencialnih enačb, ki opisujejo časovno spreminjanje koncentracij substrata ( $[S]$ ), prvega encima ( $[E_1]$ ), kompleksa prvega encima in substrata ( $[E_1S]$ ), vmesnega produkta ( $[P']$ ), drugega encima ( $[E_2]$ ), kompleksa drugega encima in vmesnega produkta ( $[E_2P']$ ) ter produkta ( $[P]$ ):

$$\frac{d[S]}{dt} = v_s - a_1^{+*}[S][E_1], \quad (13)$$

$$\frac{d[E_1]}{dt} = -a_1^{+*}[S][E_1] + a_2^+[E_1S], \quad (14)$$

$$\frac{d[E_1S]}{dt} = a_1^{+*}[S][E_1] - a_2^+[E_1S], \quad (15)$$

$$\frac{d[P']}{dt} = a_2^+[E_1S] - b_1^{+*}[P'][E_2] - v_{p'}, \quad (16)$$

$$\frac{d[E_2]}{dt} = -b_1^{+*}[P'][E_2] + b_2^+[E_2P'], \quad (17)$$

$$\frac{d[E_2P']}{dt} = b_1^{+*}[P'][E_2] - b_2^+[E_2P'] \quad (18)$$

in

$$\frac{d[P]}{dt} = b_2^+[E_2P'] - v_p. \quad (19)$$

Pri tem je  $v_s$  tok substrata v reakcijo encimske kaskade,  $a_1^{+*}$  in  $a_2^+$  sta hitrostni konstanti prve encimske reakcije,  $v_{p'}$  je tok vmesnega produkta iz reakcije,  $b_1^{+*}$  in  $b_2^+$  sta hitrostni konstanti druge encimske reakcije ter  $v_p$  tok končnega produkta iz encimske kaskade. Za tokove  $v_s$ ,  $v_{p'}$  in  $v_p$  predpostavimo, da so konstantni. Vmesni produkt pri izstopu iz prve reakcije difundira do drugega encima.

Skupni koncentraciji prvega ( $[E_1^{TOT}]$ ) in drugega ( $[E_2^{TOT}]$ ) encima v kaskadi sta konstantni in enaki vsotam koncentracij teh dveh encimov v posameznih encimskih stanjih:

$$[E_1^{TOT}] = [E_1] + [E_1S] \quad (20)$$

in

$$[E_2^{TOT}] = [E_2] + [E_2P']. \quad (21)$$

Ker je sistem v stacionarnem stanju, so časovni odvodi na levi strani enačb (13) do (19) enaki nič. Z združitvijo enačb (14), (17), (19), (20) in (21) izračunamo hitrost prve ( $v_a$ ) in druge ( $v_b$ ) reakcije, upoštevajoč, da velja  $v_a = a_2^+[E_1S]$  in  $v_b = b_2^+[E_2P']$ :

$$v_a(a_2^+) = \frac{K_a^+[S][E_1^{TOT}]}{a_2^+ + \frac{K_a^+}{a_1^{+*}}[S]} \quad (22)$$

in

$$v_b(b_2^+) = \frac{K_b^+[P'][E_2^{TOT}]}{b_2^+ + \frac{K_b^+}{b_1^{+*}}[P']} . \quad (23)$$

$K_a^+ = a_1^{+*}a_2^+$  in  $K_b^+ = b_1^{+*}b_2^+$  sta produkta hitrostnih konstant prve in druge reakcije v encimski kaskadi v smeri pretvorbe substrata v produkt. Produkta morata biti konstantna, splošno pa sta definirana z enačbo (12). Enačbi (22) in (23) smo izpeljali z upoštevanjem zvez  $a_1^{+*} = K_a^+/a_2^+$  in  $b_1^{+*} = K_b^+/b_2^+$ , ki sledita iz zgoraj omenjenega optimizacijskega pogoja. Enačbi (22) in (23) lahko zapišemo tudi kot:

$$v_a(a_2^+) = \frac{v_a^{max}[P']}{K_{Ma} + [P']} \quad (24)$$

in

$$v_b(b_2^+) = \frac{v_b^{max}[S]}{K_{Mb} + [S]} , \quad (25)$$

kjer sta  $v_a^{max}$  in  $v_b^{max}$  maksimalni hitrosti prve in druge reakcije ter  $K_{Ma}$  in  $K_{Mb}$  konstanti polovične zasičenosti (Michaelis-Mentenovi konstanti) prve in druge reakcije. S primerjavo enačb (22) in (23) z enačbama (24) in (25) ugotovimo, da velja  $v_a^{max} = a_2^+[E_1^{TOT}]$  in  $v_b^{max} = b_2^+[E_2^{TOT}]$  ter

$$K_{Ma} = \frac{a_2^+}{a_1^{+*}} \quad (26)$$

in

$$K_{Mb} = \frac{b_2^+}{b_1^{+*}} . \quad (27)$$

Z združitvijo enačb (5), (6), (16), (19), (22) in (23) izračunamo Shannonovo informacijsko entropijo prve ( $H_a(a_2^+)$ ) in druge ( $H_b(b_2^+)$ ) reakcije:

$$H_a(a_2^+) = -\frac{a_2^+}{a_2^+ + \frac{K_a^+}{a_1^{+*}}[S]} \ln \left( \frac{a_2^+}{a_2^+ + \frac{K_a^+}{a_1^{+*}}[S]} \right) - \frac{\frac{K_a^+}{a_2^+}[S]}{a_2^+ + \frac{K_a^+}{a_1^{+*}}[S]} \ln \left( \frac{\frac{K_a^+}{a_2^+}[S]}{a_2^+ + \frac{K_a^+}{a_1^{+*}}[S]} \right) \quad (28)$$

in

$$H_b(b_2^+) = -\frac{b_2^+}{b_2^+ + \frac{K_b^+}{b_2^+}[P']} \ln \left( \frac{b_2^+}{b_2^+ + \frac{K_b^+}{b_2^+}[P']} \right) - \frac{\frac{K_b^+}{b_2^+}[P']}{b_2^+ + \frac{K_b^+}{b_2^+}[P']} \ln \left( \frac{\frac{K_b^+}{b_2^+}[P']}{b_2^+ + \frac{K_b^+}{b_2^+}[P']} \right). \quad (29)$$

Shannonova informacijska entropija celotne kaskade  $H(a_2^+, b_2^+)$  pa je podana kot vsota informacijskih entropij obeh posameznih reakcij, ki tvorita kaskado:

$$H(a_2^+, b_2^+) = H_a(a_2^+) + H_b(b_2^+). \quad (30)$$

Jacobijevo matriko  $J_{ab}$  (enačba (9)) encimske kaskade izpeljemo iz enačb (13) do (19) ob upoštevanju stacionarnih pogojev:

$$J_{ab} = \begin{bmatrix} -a_1^{++}[E_1] & -a_1^{++}[S] & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ -a_1^{++}[E_1] & -a_1^{++}[S] & a_2^+ & 0 & 0 & 0 & 0 \\ a_1^{++}[E_1] & a_1^{++}[S] & -a_2^+ & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & a_2^+ & -b_1^{++}[E_2] & -b_1^{++}[P'] & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & -b_1^{++}[E_2] & -b_1^{++}[P'] & b_2^+ & 0 \\ 0 & 0 & 0 & b_1^{++}[E_2] & b_1^{++}[P'] & -b_2^+ & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & b_2^+ & 0 \end{bmatrix}. \quad (31)$$

Stabilnost kaskade določimo z izračunom sledi ( $\text{Tr}(J_{ab})$ ) matrike (31):

$$\text{Tr}(J_{ab}) = -(a_1^{++}[S] + a_2^+ + b_1^{++}[P'] + b_2^+). \quad (32)$$

V enačbi (32) smo upoštevali, da je koncentracija encima v celici običajno veliko nižja od koncentracije substrata in produkta, zato smo koncentraciji prostih encimov zanemarili.

Encimsko reakcijo, ki jo katalizira encimski kompleks (kinetična shema je prikazana na sliki 3), opišemo s sistemom petih diferencialnih enačb. Te opisujejo časovno spreminjanje koncentracij substrata ( $[S]$ ) in produkta ( $[P]$ ) ter časovno spreminjanje koncentracij stanj encimskega kompleksa ( $[E_1E_2]$ ),  $[(E_1S)E_2]$  in  $[E_1(E_2P')]$ ):

$$\frac{d[S]}{dt} = v_s - k_1^{++}[S][E_1E_2], \quad (33)$$

$$\frac{d[E_1E_2]}{dt} = -k_1^{++}[S][E_1E_2] + k_3^+[E_1(E_2P')], \quad (34)$$

$$\frac{d[(E_1S)E_2]}{dt} = k_1^{++}[S][E_1E_2] - k_2^+[(E_1S)E_2], \quad (35)$$

$$\frac{d[E_1(E_2P')]}{dt} = k_2^+[(E_1S)E_2] - k_3^+[E_1(E_2P')] \quad (36)$$

in

$$\frac{d[P]}{dt} = k_3^+[E_1(E_2P')] - v_P. \quad (37)$$

Skupna koncentracija kompleksa  $[(E_1E_2)^{TOT}]$  je konstantna in velja:

$$[(E_1E_2)^{TOT}] = [E_1E_2] + [(E_1S)E_2] + [E_1(E_2P')]. \quad (38)$$

Z združitvijo enačb (34), (36) in (38) izračunamo hitrost reakcije ( $v$ ):

$$v(k_2^+, k_3^+) = \frac{K^+[S][E^{TOT}]}{k_2^+k_3^+ + \frac{K^+}{k_2^+}[S] + \frac{K^+}{k_3^+}[S]}, \quad (39)$$

pri čemer je  $K^+$  produkt vseh treh hitrostnih konstant, definiran v enačbi (12). Kot pri kaskadni reakciji lahko tudi tukaj enačbo (39) preoblikujemo v:

$$v(k_2^+, k_3^+) = \frac{v^{\max}[S]}{K_M + k_3^+[S] + k_2^+[S]}, \quad (40)$$

kjer je  $v^{\max}$  maksimalna hitrost reakcije in  $K_M$  konstanta polovične zasičenosti (Michaelis-Mentenova konstanta). S primerjavo enačb (39) in (40) ugotovimo, da velja  $v^{\max} = k_2^+k_3^+[E^{TOT}]$  in

$$K_M = \frac{k_2^+k_3^+}{k_1^{+*}}. \quad (41)$$

Iz enačb (5), (6), (34) do (36) in (38) sledi, da je Shannonova informacijska entropija ( $H$ ) reakcije, ki jo katalizira kompleks, enaka

$$\begin{aligned} H(k_2^+, k_3^+) = & -\frac{k_2^+k_3^+}{k_2^+k_3^+ + \frac{K^+}{k_2^+}[S] + \frac{K^+}{k_3^+}[S]} \ln \left( \frac{k_2^+k_3^+}{k_2^+k_3^+ + \frac{K^+}{k_2^+}[S] + \frac{K^+}{k_3^+}[S]} \right) \\ & - \frac{\frac{K^+}{k_2^+}[S]}{k_2^+k_3^+ + \frac{K^+}{k_2^+}[S] + \frac{K^+}{k_3^+}[S]} \ln \left( \frac{\frac{K^+}{k_2^+}[S]}{k_2^+k_3^+ + \frac{K^+}{k_2^+}[S] + \frac{K^+}{k_3^+}[S]} \right) \\ & - \frac{\frac{K^+}{k_3^+}[S]}{k_2^+k_3^+ + \frac{K^+}{k_2^+}[S] + \frac{K^+}{k_3^+}[S]} \ln \left( \frac{\frac{K^+}{k_3^+}[S]}{k_2^+k_3^+ + \frac{K^+}{k_2^+}[S] + \frac{K^+}{k_3^+}[S]} \right). \end{aligned} \quad (42)$$

V tem primeru je Jacobijeva matrika:

$$J = \begin{bmatrix} -k_1^{+*}[E_1E_2] & -k_1^{+*}[S] & 0 & 0 & 0 \\ -k_1^{+*}[E_1E_2] & -k_1^{+*}[S] & 0 & k_3^+ & 0 \\ k_1^{+*}[E_1E_2] & k_1^{+*}[S] & -k_2^+ & 0 & 0 \\ 0 & 0 & k_2^+ & -k_3^+ & 0 \\ 0 & 0 & 0 & k_3^+ & 0 \end{bmatrix}, \quad (43)$$

njena sled  $\text{Tr}(J)$  pa je:

$$\text{Tr}(J) = -(k_1^{+*}[S] + k_2^+ + k_3^+). \quad (44)$$

Kot v primeru reakcije, ki poteka v obliki encimske kaskade, smo tudi v enačbi (44) zanemarili skupno koncentracijo encimskega kompleksa v primerjavi s koncentracijo substrata.

Iz enačbe (3) sledi, da so produkti hitrostnih konstant encimskih reakcij povezani s standardno Gibbsovo energijo in temperaturo podani na sledeč način:

$$K_a^+ \propto e^{\frac{-\Delta G_{eqa}}{RT}}, \quad (45)$$

$$K_b^+ \propto e^{\frac{-\Delta G_{eqb}}{RT}} \quad (46)$$

in

$$K^+ \propto e^{\frac{-\Delta G_{eq}}{RT}}. \quad (47)$$

Pri tem je  $\Delta G_{eqa}$  standardna Gibbsova energija prve reakcije v encimski kaskadi,  $\Delta G_{eqb}$  je standardna Gibbsova energija druge reakcije v kaskadi,  $\Delta G_{eq}$  pa standardna Gibbsova energija reakcije, ki jo katalizira encimski kompleks. Skupna sprememba proste Gibbsove energije pri pretvorbi substrata v produkt je neodvisna od katalizatorja (odvisna je samo od substrata in produkta) [6, 15]. Sledi, da morata biti enaki tudi spremembi standardne Gibbsove energije pri obeh reakcijah:

$$\Delta G_a + \Delta G_b = \Delta G_k. \quad (48)$$

$\Delta G_a$  je sprememba Gibbsove proste energije pri prvi reakciji v kaskadi,  $\Delta G_b$  pri drugi,  $\Delta G_k$  pa je sprememba Gibbsove proste energije pri reakciji, ki jo katalizira encimski kompleks. Iz enačb (45) do (48) sledi sorazmerje med produkti hitrostnih konstant:

$$K^+ \propto K_a^+ K_b^+. \quad (49)$$

## 4 Rezultati

V tem poglavju predstavimo Shannonovo informacijsko entropijo, hitrost ter stabilnost reakcije, ki poteka v obliki encimske kaskade, in reakcije, ki jo katalizira encimski kompleks. Z izračunom zvez med optimalnimi hitrostnimi konstantami in koncentracijo substrata najprej določimo statistično najverjetnejše stanje reakcijskega sistema, ki ustreza stanju z maksimalno produkcijo entropije. Ob upoštevanju optimizacijskih pogojev določimo vrednosti hitrostnih konstant, nato pa primerjamo termodinamske spremenljivke obeh reakcij v optimalnem stanju.

### 4.1 Določanje parametrov modela

Za modela encimske kaskade in encimskega kompleksa, ki smo ju predstavili v prejšnjem poglavju, določimo najprej statistično najverjetnejše stanje. To naredimo z optimizacijo hitrosti reakcij v odvisnosti od hitrostnih konstant obeh reakcij. Hitrostne konstante prve reakcije kaskade v optimalnem stanju izpeljemo iz enačbe (22). V enačbi (22) vidimo, da je hitrost reakcije podana kot ulomek, pri čemer v števcu nastopajo samo konstantni parametri, imenovalc pa je odvisen od kinetičnega parametra  $a_2^+$ . Hitrost reakcije bo po enačbi (22) maksimalna, ko bo imenovalc zavzel minimalno vrednost, od koder sledi:

$$a_{2\,op.}^+ = \sqrt{K_a^+[S]}, \quad (50)$$

kjer je  $a_{2\,op.}^+$  optimalna vrednost parametra  $a_2^+$ , ki ustreza stanju z maksimalno produkcijo entropije. Iz optimizacijskega pogoja  $K_a^+ = a_1^{+*} a_2^+$  (enačba (12)) in enačbe (50) sledi tudi:

$$a_{1\,op.}^{+*}[S] = a_{2\,op.}^+, \quad (51)$$

kjer je  $a_{1\,op.}^{+*}$  vrednost parametra  $a_1^{+*}$  v optimalnem stanju. Podobno iz enačbe (23) izpeljemo optimalne reakcijske parametre za drugo reakcijo v kaskadi:

$$b_{1\,op.}^{+*}[P'] = b_{2\,op.}^+, \quad (52)$$

pri čemer je  $b_{1\,op.}^{+*}$  vrednost parametra  $b_1^{+*}$  v optimalnem stanju ter  $b_{2\,op.}^+$  vrednost parametra  $b_2^+$  v tem stanju. Enačbi (51) in (52) definirata globalni optimizacijski pogoj za določitev stanja z maksimalno produkcijo entropije v reakciji, ki poteka v obliki kaskade. Optimalno stanje v tem primeru pomeni, da sta oba reakcijska koraka v prvi in drugi reakciji v kaskadi enako hitra, hkrati pa morata biti enaki tudi hitrosti obeh reakcij.

Določiti moramo še optimalne hitrostne konstante v reakciji, ki jo katalizira encimski kompleks. Podobno kot pri kaskadi izhajamo iz pogoja, da mora biti hitrost reakcije, enačba (39), maksimalna. Imenovalc enačbe (39) je funkcija dveh spremenljivk, zato ga odvajamo najprej po spremenljivki  $k_2^+$ , nato pa po  $k_3^+$ . Dobljeni enačbi primerjamo in dobimo:

$$k_{1\,op.}^{+*}[S] = k_{2\,op.}^+ = k_{3\,op.}^+. \quad (53)$$

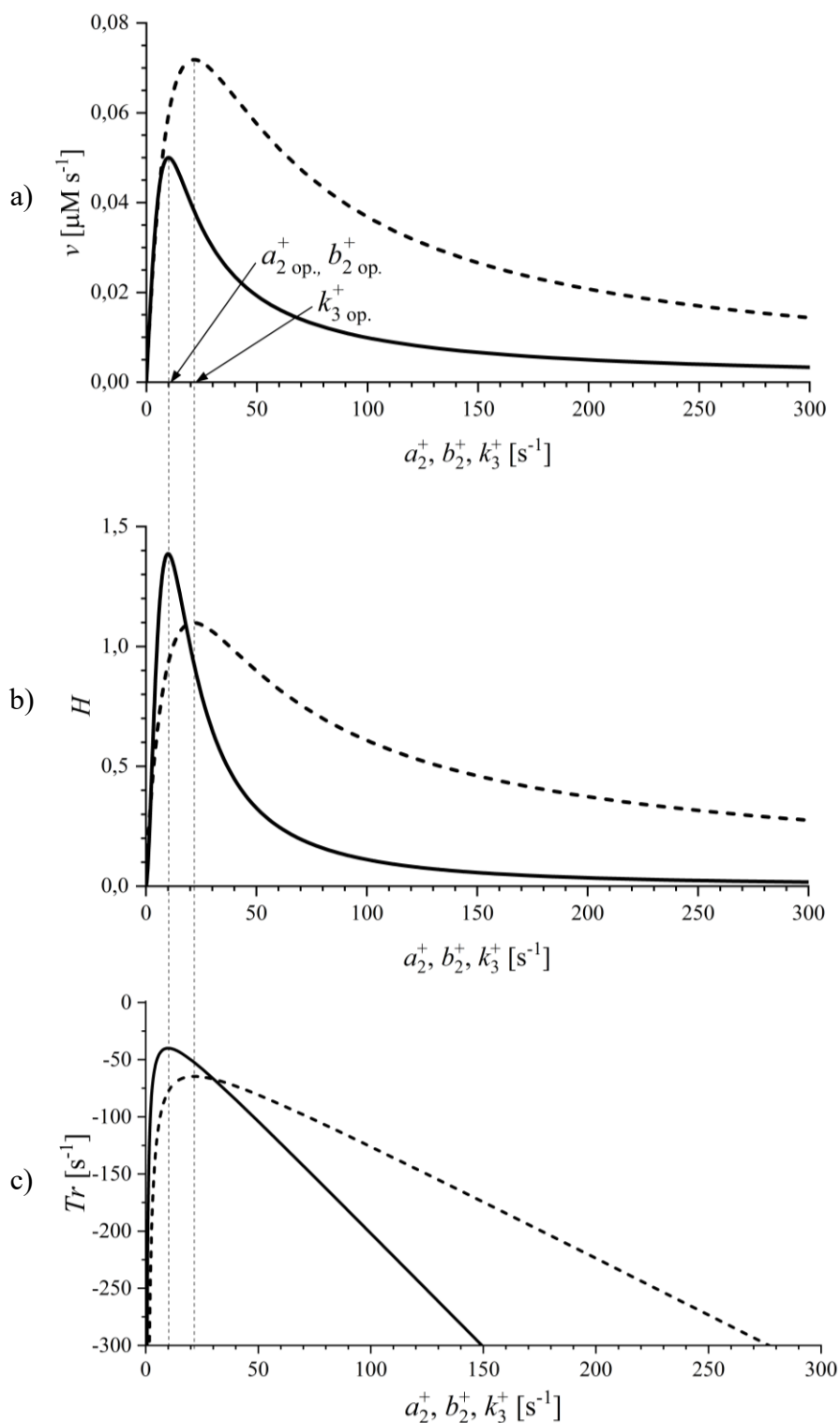
Pri tem so  $k_{1op}^{+*}$ ,  $k_{2op}^+$  in  $k_{3op}^+$  vrednosti konstant  $k_1^{+*}$ ,  $k_2^+$  in  $k_3^+$  v optimalnem stanju.

Da lahko izračunamo optimalne hitrostne konstante obeh encimskih reakcij, moramo poznati vrednosti ostalih modelnih parametrov (preglednica 1). Upoštevamo, da sta koncentraciji substrata in produkta enaki ( $1 \mu\text{M}$ ), prav tako so enake skupne koncentracije encimov ( $0,01 \mu\text{M}$ ) in produkta hitrostnih konstant encimskih reakcij v kaskadi ( $10^2 \mu\text{M}^{-1}\text{s}^{-2}$ ). Produkt hitrostnih konstant v reakciji, ki jo katalizira encimski kompleks, izračunamo po enačbi (49) kot produkt konstant reakcij v kaskadi. Vrednosti parametrov in konstant, uporabljene pri izračunu, so zbrane v preglednici 1.

Slika 4 prikazuje hitrost reakcije, Shannonovo informacijsko entropijo in stabilnost reakcije, ki poteka v obliki encimske kaskade, in reakcije, ki jo katalizira encimski kompleks, za izbrane parametre (za poenostavitev  $\text{Tr}(J_{ab})$  in  $\text{Tr}(J)$  nadomestimo z enotno spremenljivko  $Tr$ ). Izkaže se, da vse tri količine dosežejo maksimum pri enakih vrednostih hitrostnih konstant. Iz zvez v enačbah (51), (52) in (53) izračunamo še ostale optimalne hitrostne konstante (preglednica 1). Ker smo s tem določili optimalno stanje sistema, lahko iz enačb (26), (27) in (41) določimo tudi Michaelis-Mentenove konstante reakcij (preglednica 1).

Preglednica 1. Vrednosti skupnih koncentracij encima ( $[E_1^{TOT}]$ ,  $[E_2^{TOT}]$  in  $[(E_1E_2)^{TOT}]$ ) in kinetičnih konstant ter njihovih produktov za reakcijo, ki poteka v obliki encimske kaskade ( $a_{1op}^{+*}$ ,  $a_{2op}^+$ ,  $K_a^+$ ,  $b_{1op}^{+*}$ ,  $b_{2op}^+$ ,  $K_b^+$ ), in reakcijo, ki jo katalizira encimski kompleks ( $k_{1op}^{+*}$ ,  $k_{2op}^+$ ,  $k_{3op}^+$ ,  $K^+$ ), v stanju, ki je, v skladu s principom maksimalne produkcije entropije, najverjetnejše.

Skupne koncentracije encimov	$[E_1^{TOT}] = [E_2^{TOT}] = [(E_1E_2)^{TOT}] = 0,01 \mu\text{M}$
Koncentraciji substrata in produkta	$[S] = [P] = 1 \mu\text{M}$
Kinetične konstante	$a_{1op}^{+*} = b_{1op}^{+*} = 10 \mu\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ $a_{2op}^+ = b_{2op}^+ = 10 \text{s}^{-1}$ $K_a^+ = K_b^+ = 10^2 \mu\text{M}^{-1}\text{s}^{-2}$ $k_{1op}^{+*} = 21,54 \mu\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ $k_{2op}^+ = k_{3op}^+ = 21,54 \text{s}^{-1}$ $K^+ = 10^4 \mu\text{M}^{-1}\text{s}^{-3}$
Michaelis-Mentenove konstante reakcij	$K_{Ma} = K_{Mb} = 1 \mu\text{M}$ $K_M = 21,54 \mu\text{M} \text{s}^{-1}$



Slika 4. Odvisnost a) hitrosti reakcije  $v$  (enačbi (22) in (23) za reakcijo, ki poteka v obliki kaskade, in enačba (39) za reakcijo, ki jo katalizira encimski kompleks), b) Shannonove informacijske entropije  $H$  (enačba (30) za reakcijo, ki poteka v obliki kaskade, in enačba (42) za reakcijo, ki jo katalizira encimski kompleks) in c) stabilnosti reakcije  $Tr$  (enačba (32) za reakcijo, ki poteka v obliki kaskade, in enačba (44) za reakcijo, ki jo katalizira encimski kompleks) od kinetičnih konstant  $a_2^+, b_2^+$  in  $k_3^+$ . Na vsaki od slik neprekinjena krivulja prikazuje rezultat, izračunan za encimsko kaskado z ločenima encimoma, prekinjena krivulja pa rezultat, izračunan za reakcijo, ki jo regulira encimski kompleks. Optimalne vrednosti hitrostnih konstant so  $a_{2\text{op}}^+, b_{2\text{op}}^+$  in  $k_{3\text{op}}^+$ . Skupne koncentracije encimov in produkti hitrostnih konstant so za oba reakcijska sistema navedeni v preglednici 1.

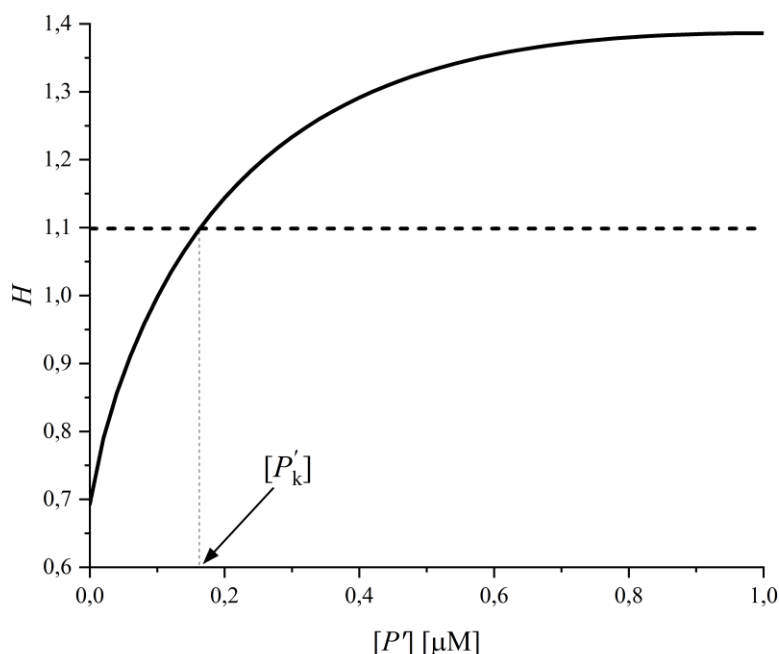


## 4.2 Termodinamske spremenljivke

Optimalne vrednosti hitrostnih konstant vstavimo v enačbi za Shannonovo informacijsko entropijo (enačbi (30) in (42)), enačbi za hitrost encimske reakcije (enačbi (22) in (39)) in enačbo za stabilnost encimske reakcije (enačbi (32) in (44)). Ker sta hitrosti obeh reakcij v encimski kaskadi v optimalnem stanju enaki, lahko za izračun hitrosti uporabimo enačbo (22) ali (23). Analiziramo, kako se te fizikalne količine spreminjajo v odvisnosti od koncentracije vmesnega produkta  $P'$  (slike 5, 6 in 7).

Pri zapisu kinetičnega modela reakcije, ki jo katalizira encimski kompleks, opazimo, da so hitrost reakcije, Shannonova informacijska entropija ter stabilnost reakcije od koncentracije vmesnega produkta neodvisne. To je ob iztekanju vmesnega produkta iz kaskade prva očitna prednost reakcije, ki jo katalizira encimski kompleks, saj vmesni produkt pri tej reakciji na omenjene termodinamske spremenljivke ne vpliva. Reakcija z encimskim kompleksom je od koncentracije vmesnega produkta neodvisna. To pomeni, da se ob tvorbi encimskega kompleksa organiziranost bioloških reakcij v celici spremeni tako, da koncentracija vmesnega produkta ni parameter, ki bi vplival oziroma določal pogoje za potek reakcij. Na sliki 5 sta prikazana poteka Shannonove informacijske entropije za kaskado (neprekinjena krivulja) in encimski kompleks (prekinjena krivulja). Shannonova informacijska entropija je odvisna od koncentracije vmesnega produkta in zavzame različne vrednosti v odvisnosti od parametra  $[P']$ . To pomeni, da se kaskada encimskih reakcij s spreminjanjem parametra  $[P']$  pomika skozi različna termodinamska stanja, med tem ko je Shannonova informacijska entropija kompleksa od koncentracije vmesnega produkta neodvisna. Hkrati moramo omeniti, da vodoravna prekinjena krivulja na sliki 5 predstavlja maksimalno možno vrednost Shannonove entropije za kompleks,  $\ln(3)$ , kar sledi iz enačbe (5) in predpostavke, da je verjetnost nahajanja encima v posameznem stanju za vsa funkcionalna stanja enaka. Nad vrednostjo  $\ln(3)$  za encimski kompleks ni na razpolago možnih termodinamskih stanj, ki bi jih ta lahko zavzel. Pod vrednostjo  $\ln(3)$  obstajajo stanja, ki jih kompleks lahko zavzame, a ta stanja lahko dosežemo le s spreminjanjem drugih reakcijskih parametrov.

V nadaljevanju se osredotočimo na dogajanje v kaskadi pri iztekanju vmesnega produkta. Ker je začetna koncentracija substrata  $1 \mu\text{M}$ , je koncentracija vmesnega produkta v encimski kaskadi pred iztekanjem prav tako enaka  $1 \mu\text{M}$ , saj se ves substrat sproti pretvarja v vmesni produkt. Opazujemo spreminjanje Shannonove informacijske entropije v odvisnosti od vmesnega produkta (slika 5), pri čemer za lažje razumevanje opazujemo graf z desne proti levi, torej v smeri nižanja koncentracije vmesnega produkta.

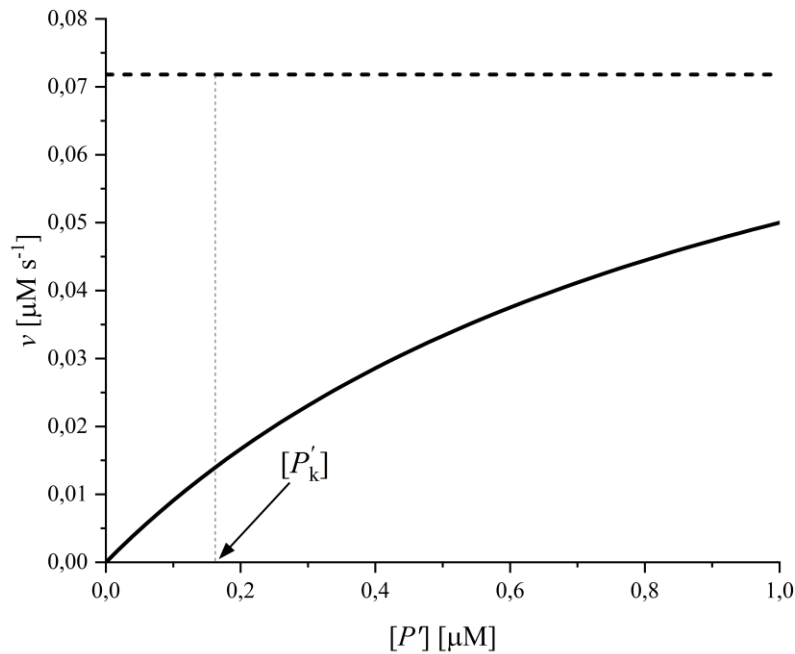


Slika 5. Odvisnost Shannonove informacijske entropije ( $H$ ) od koncentracije vmesnega produkta ( $[P']$ ) pri encimski reakciji, ki poteka v obliki kaskade (polna črta, enačba (30)), in reakciji, ki jo katalizira encimski kompleks (prekinjena črta, enačba (42)).  $[P'_k] = 0,163 \mu\text{M}$  je kritična koncentracija vmesnega produkta. Optimalne hitrostne konstante, ki smo jih pri izračunu uporabili, so zapisane v preglednici 1.

Iz slike 5 vidimo, da se z iztekanjem vmesnega produkta  $P'$  Shannonova informacijska entropija v kaskadi niža, saj s tem kaskado izmaknemo iz termodinamsko najverjetnejšega, torej optimalnega, stanja. Osredotočimo se na koncentracijo vmesnega produkta, kjer sta Shannonovi entropiji kaskade in kompleksa enaki – to je kritična koncentracija  $[P'_k] = 0,163 \mu\text{M}$ . Z iztekanjem vmesnega produkta iz kaskade in zniževanjem koncentracije do kritične vrednosti se Shannonova informacijska entropija reakcije, ki poteka v obliki encimske kaskade, iz maksimalne vrednosti  $\ln(4)$ , kar ponovno sledi iz enačbe (5) in predpostavke, da je verjetnost nahajanja encima v posameznem stanju za vsa funkcionalna stanja enaka, zniža na vrednost  $\ln(3)$ , ki je značilna za optimalno stanje reakcije, ki jo katalizira encimski kompleks. Pri kritični vrednosti koncentracije lahko kaskada reakcij, prikazana na sliki 2, poteka ali v obliki kaskade ali v obliki kompleksa. Pri tej kritični vrednosti je možen spontan prehod iz organiziranosti v kaskado ali encimski kompleks. Z nadaljnjim iztekanjem vmesnega produkta entropija encimske kaskade še vedno pada in pade pod entropijo kompleksa. Kot smo že zapisali, je obstoj encimskega kompleksa pri nižjih vrednostih entropije od  $\ln(3)$  možen, a kompleks lahko v ta stanja premaknemo s spreminjanjem drugih reakcijskih parametrov. Hkrati je pa možno, da bi katera druga nižja vrednost entropije ustrezala tako entropiji kaskade kot kompleksa. Takšnega dogajanja pri podrobni matematični analizi nismo opazili.

Ker odprti reakcijski sistemi v stacionarnem stanju težijo k maksimalni produkciji entropije, smo preverili, kakšni sta hitrosti reakcije za kaskado in kompleks pri kritični koncentraciji. Če je pri tej koncentraciji hitrost reakcije v kompleksu višja kot v kaskadi, bi skladno s principom

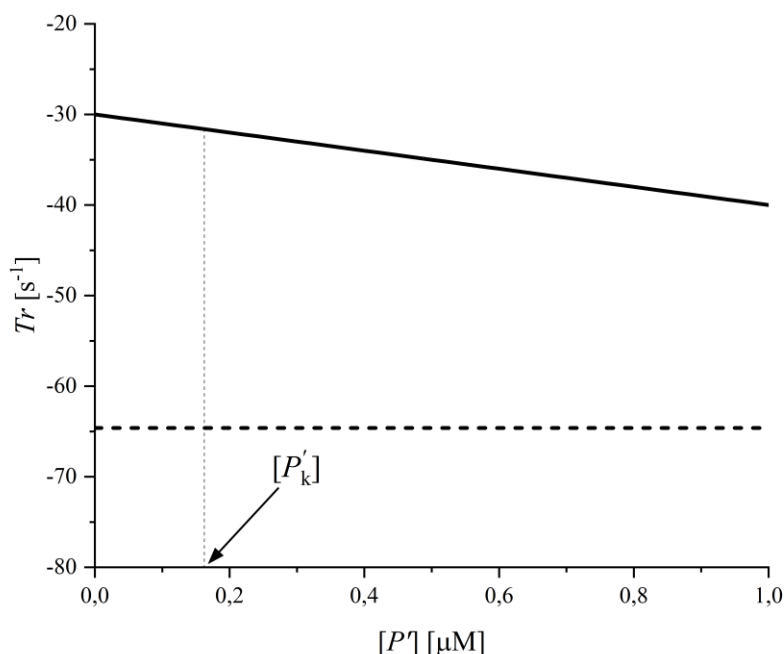
maksimalne produkcije entropije sklepali, da je termodinamsko bolj ugoden kompleks, saj to pomeni višjo produkcijo entropije in s tem višjo disipacijo proste energije. Hitrost reakcije za kaskado in kompleks v okolici kritične koncentracije je prikazana na sliki 6.



Slika 6. Odvisnost hitrosti encimske reakcije ( $v$ ) od koncentracije vmesnega produkta ( $[P']$ ) pri encimski reakciji, ki poteka v obliki kaskade (polna črta, enačba (22) oziroma (23)), in reakciji, ki jo katalizira encimski kompleks (prekinjena črta, enačba (39)).  $[P'_k] = 0,163 \mu\text{M}$  je kritična koncentracija vmesnega produkta. Optimalne hitrostne konstante, ki smo jih pri izračunu uporabili, so zapisane v preglednici 1.

Tako kot Shannonova informacijska entropija, je tudi hitrost reakcije, ki jo katalizira encimski kompleks, neodvisna od vmesnega produkta. Vidimo, da je pri kritični koncentraciji vmesnega produkta  $P'_k$  hitrost reakcije, ki jo katalizira encimski kompleks, višja od hitrosti reakcije, ki poteka v obliki kaskade, kar je v skladu s principom maksimalne produkcije entropije. Če izhajamo iz omenjenega principa, je zaradi višje hitrosti reakcije in posledično višje produkcije entropije reakcija, ki jo katalizira encimski kompleks, verjetnejša in ugodnejša.

Za konec analiziramo še stabilnost reakcij, ki jo računamo kot sled Jacobijeve matrike. V odvisnosti od koncentracije vmesnega produkta za kaskado in encimski kompleks jo prikazuje slika 7. Vidimo, da je tudi stabilnost reakcije pri encimskem kompleksu od vmesnega produkta neodvisna. Stabilnost encimske kaskade z iztekanjem vmesnega produkta pada (z nižanjem koncentracije vmesnega produkta je sled Jacobijeve matrike manj negativna, kar pomeni manjšo stabilnost), hkrati pa je kompleks vedno stabilnejši od kaskade, kar velja tudi pri kritični koncentraciji vmesnega produkta.



Slika 7. Odvisnost stabilnosti encimske reakcije ( $Tr$ ) od koncentracije vmesnega produkta ( $[P']$ ) pri encimski reakciji, ki poteka v obliki kaskade (polna črta, enačba (32)), in reakciji, ki jo katalizira encimski kompleks (prekinjena črta, enačba (44)).  $[P'_k] = 0,163 \mu\text{M}$  je kritična koncentracija vmesnega produkta. Optimalne hitrostne konstante, ki smo jih pri izračunu uporabili, so zapisane v preglednici 1.

## 5 Zaključek

V diplomskem seminarju smo z uporabo principa maksimalne produkcije entropije, maksimalne Shannonove informacijske entropije in stabilnosti obravnavali reakcijo, ki poteka v obliki encimske kaskade, slika 2, in reakcijo, ki jo katalizira encimski kompleks, slika 3. Razvili smo kinetična modela za obe reakciji ter izpeljali hitrost reakcije (enačbe (22), (23) in (39)), Shannonovo informacijsko entropijo (enačbi (30) in (42)) ter stabilnost encimske reakcije (enačbi (32) in (44)). Po principu maksimalne produkcije entropije in maksimalne Shannonove entropije smo določili optimalne vrednosti hitrostnih konstant posameznih reakcij ter tako določili optimalno stanje obeh encimskih reakcij. Hitrost reakcije je pri reakciji, ki jo katalizira encimski kompleks, v optimalnem stanju višja od reakcije, ki poteka v obliki kaskade, prav tako je njeno stanje stabilnejše. Za Shannonovo informacijsko entropijo pa velja ravno nasprotno – v optimalnem stanju obeh reakcijskih sistemov je pri reakciji, ki poteka v obliki kaskade, njena vrednost višja, pri reakciji, ki jo katalizira kompleks, pa nižja. Reakcija, ki jo katalizira encimski kompleks, je termodinamsko boljše urejena struktura kot reakcija, ki poteka v obliki kaskade.

Ugotovili smo, da v kaskadni reakciji, iz katere vmesni produkt izteka, obstaja kritična koncentracija vmesnega produkta, pri kateri je Shannonova informacijska entropija te reakcije enaka kot v reakciji, ki jo katalizira encimski kompleks (slika 5). To pomeni, da lahko pri tej koncentraciji hkrati obstajata obe encimski strukturi, torej lahko potekata obe reakciji. V tem stanju je možen spontan prehod med kaskadno reakcijo in reakcijo, ki jo katalizira encimski

kompleks. Pri kritični vrednosti koncentracije je hitrost reakcije in s tem produkcija entropije pri reakciji, ki jo katalizira encimski kompleks, višja, prav tako je stabilnejša.

Izpostaviti moramo, da princip maksimalne produkcije entropije zaenkrat še ni splošno uveljavljen princip za določanje optimalnih parametrov sistema. Posledično tudi ni natančno določenih pogojev, ki jim mora sistem ustrezati, ter omejitev, ki jih moramo upoštevati, da zanj omenjen princip velja. Kljub temu se povečuje število raziskav, ki teoretični princip maksimalne produkcije entropije potrjujejo in s tem pripomorejo k boljšemu razumevanju encimske kinetike. V prihodnje bi lahko analizirali tudi občutljivost obeh reakcij na zunanje motnje, kot je sprememba koncentracije substrata, zagotovo pa bi bilo zanimivo napovedi teoretičnega modela primerjati z eksperimenti.

## Viri in literatura

- [1] N. V. Bhagavan, *Medical Biochemistry*, 4th ed. (Harcourt/Academic Press, San Diego, 2002).
- [2] A. Dobovišek, R. Markovič, M. Brumen in A. Fajmut, *The Maximum Entropy Production and Maximum Shannon Information Entropy in Enzyme Kinetics*, *Phys. A* **496**, 220 (2018).
- [3] M. Pröschel, R. Detsch, A. R. Boccaccini in U. Sonnewald, *Engineering of Metabolic Pathways by Artificial Enzyme Channels*, *Front. Bioeng. Biotechnol.* **3**, 168 (2015).
- [4] S. Schoffelen in J. C. M. Van Hest, *Multi-Enzyme Systems: Bringing Enzymes Together in Vitro*, *Soft Matter* **8**, 1736 (2012).
- [5] C. C. Hyde, S. A. Ahmed, E. A. Padlan, E. W. Miles in D. R. Davies, *Three-Dimensional Structure of the Tryptophan Synthase Alpha 2 Beta 2 Multienzyme Complex from Salmonella Typhimurium*, *J. Biol. Chem.* **263**, 17857 (1988).
- [6] J. R. Knowles in W. J. Albery, *Perfection in Enzyme Catalysis: The Energetics of Triosephosphate Isomerase*, *Acc. Chem. Res.* **10**, 105 (1977).
- [7] C. Nicolis in I. Prigogine, *Self-Organization in Nonequilibrium Systems* (Wiley, New York, 1977).
- [8] L. M. Martyushev in V. D. Seleznev, *Maximum Entropy Production Principle in Physics, Chemistry and Biology*, *Phys. Rep.* **426**, 1 (2006).
- [9] P. Županović, S. Botrić, D. Juretić in D. Kuić, *Relaxation Processes and the Maximum Entropy Production Principle*, *Entropy* **12**, 473 (2010).
- [10] R. C. Dewar, *Information Theory Explanation of the Fluctuation Theorem, Maximum Entropy Production and Self-Organized Criticality in Non-Equilibrium Stationary States*, *J. Phys. A. Math. Gen.* **36**, 631 (2003).
- [11] A. Dobovišek, M. Vitas, M. Brumen in A. Fajmut, *Energy Conservation and Maximal Entropy Production in Enzyme Reactions*, *Biosyst.* **158**, 47 (2017).
- [12] M. Šterk, R. Markovič, M. Marhl, A. Fajmut in A. Dobovišek, *Flexibility of Enzymatic Transitions as a Hallmark of Optimized Enzyme Steady-State Kinetics and Thermodynamics*, *Comput. Biol. Chem.* **91**, 107449 (2021).
- [13] A. Dobovišek, M. Vitas, T. Blažević, R. Markovič, M. Marhl in A. Fajmut, *Self-Organization of Enzyme-Catalyzed Reactions Studied by the Maximum Entropy Production Principle*, *Int. J. Mol. Sci.* **24**, 8734 (2023).
- [14] R. C. Dewar, C. H. Lineweaver, R. K. Niven in K. Regenauer-Lieb, *Beyond the Second Law: Entropy Production and Non-Equilibrium Systems* (Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2014).
- [15] T. L. Hill, *Free Energy Transduction in Biology* (Academic Press, New York, 1977).