

KOMPIUTERINIS BIOJUTIKLIO SU BESIVARŽANČIAIS SUBSTRATAIS MODELIAVIMAS

Justinas Terešius, Vytautas Ašeris

Vilnius University, Faculty of Mathematics and Informatics
justinast@gmail.com, vytautas.aseris@gmail.com

Anotacija. Darbe nagrinėjamas biojutiklio su dviem besivaržančiais substratais matematinis veikimo modelis, aprašomas reakcijos-difuzijos lygtimis, dalinėmis išvestinėmis. Dėl netiesiškumo reakcijos naryje, modelis sprendžiamas taikant baigtinių skirtumų metodą. Skirtuminių modelių sprendžiančios programinės įrangos patikimumas tikrinamas gautus rezultatus lyginant su žinomu analiziniu sprendiniu konkrečioms modelio parametrų reikšmėms. Darbo tikslas – skaitinių modelių realizuojančia programine įranga nustatyti modelio parametrų reikšmes, kada vieno iš substratų įtaka biojutiklio atsakui gali būti minimizuota.

Pagrindiniai žodžiai: biojutiklis, kompiuterinis modeliavimas, besivaržantys substratai, difuzijos koeficientai.

Įvadas

Biojutikliai yra matavimo įrenginiai, naudojami aptikti chemines reakcijas bei nustatyti tiriamos medžiagos tirpale koncentraciją (Sadana, Sadana, 2010). Jais galima labai tiksliai aptikti biologiškai aktyvius junginius bei nustatyti jų koncentraciją tirpale. Dėl didelio biojutiklių jautrumo ir selektyvumo, jie naudojami maisto kokybei vertinti, pavojingoms medžiagoms aptikti, aplinkosaugoje, žemdirbystėje, medicinoje ir kitur (Scheller, Schubert, 1992). Biojutiklis bendru atveju yra sudarytas iš trijų dalių: biologiškai aktyvios medžiagos (dažniausiai – fermento), keitiklio, kuris biocheminį atsaką paverčia į lengviau matuojamą formą (pvz. elektros srovę) ir šį atsaką atvaizduojančio prietaiso (Mohanty, Kougianos, 2006). Biologiškai aktyvi medžiaga gali būti įvairi: nukleino rūgštis, antikūniai, mikroorganizmai ir kitos medžiagos, tačiau dažniausiai naudojamas fermentas (Sadana, Sadana, 2010).

Šiame darbe nagrinėjami fermentiniai biojutikliai, kurie vertinami dėl savo santykinai mažos kainos ir elementarios konstrukcijos, tačiau pasižymi trumpa tiesine kalibracinės kreivės dalimi ir mažu jautriu (Scheller, Fedrowitz, 1997). Amperometriniame fermentiniame biojutiklyje fermentas biochemiškai reaguoja su nagrinėjamu tirpalu (substratu) ir susidaro reakcijos produktas, kuris daro tiesioginę įtaką biojutiklio atsakui – elektros srovei (Schulmeister, 1990; Chaplin, Bucke, 1990).

Siekiant optimizuoti fermentinių biojutiklių veikimą, jų trūkumai gali būti šalinami naudojant tarpines medžiagas: mediatorius (Baronas, Kulys, 2008), lygiagrečiai reaguojančius substratus arba besivaržančius substratus (Žilinskas, Baronas, 2011). Tam tikri fermentai nepasižymi geru selektyvumu ir reaguoja su keletu skirtingų substratų. Tokiu atveju iš susidariusios bendros produkto koncentracijos negalima nustatyti kokia

buvo vieno ar kito substrato koncentracija tirpale, ir praktinės tokio biojutiklio pritaikymo galimybės yra ribotos (Gordon, 1969).

Galima taikyti įvairius metodus, siekiant panaikinti vieno iš substratų įtaką ir padaryti biojutiklį neselektyviu vienam iš substratų. Fermentinio sluoksnio storio (Baronas, Ivanauskas ir kt., 2003) ar jo kinetinių savybių keitimas (Dabulytė-Bagdonavičienė, Ivanauskas ir kt., 2011) – vieni iš nedaugelio būdų, kuriuos galima taikyti optimizuojant biojutiklių veikimą. Šiame darbe, siekiant nustatyti optimalią biojutiklio su besivaržančiais substratais konfigūraciją, nagrinėjama difuzijos koeficientų įtaka. Analizuojamas biojutiklis gali būti pritaikomas gliukozės aptikimui, kai keli skirtingi substratai (pvz. gliukozė ir deguonis) varžosi dėl vieno fermento ir siekiama sumažinti deguonies įtaką.

Fermentas yra brangi medžiaga, todėl dar prieš biojutiklių gamybos procesą reikia iširti veikimo procesą, o atliekami matavimai turi būti itin tikslūs. Tam jau beveik pusę amžiaus taikomi matematiniai ir skaitiniai biojutiklių veikimo modeliai (Aris, 1975; Baronas, Ivanauskas ir kt., 2010). Bendru atveju biojutiklių modelių galima išspręsti tik pasitelkiant skaitinius metodus, o analitiniai sprendiniai egzistuoja tik ekstremalioms modelių parametrų reikšmėms (Schulmeister, 1990; Britz, 2005). Tokiu atveju reikia sukurti gerą algoritmą ir jį realizuojančią programinę įrangą. Skaitinis biojutiklio veikimo modelis yra sukuriamas pagal matematinį modelį. Tam šiame darbe pasitelkiamas baigtinių skirtumų metodas (Baronas, Ivanauskas ir kt., 2010; Samarskii, 2001).

Darbe nagrinėjamas matematinis modelis, kuris aprašomas diferencialinėmis lygtimis su netiesiniais reakcijos nariais (Gordon, 1969). Bendru atveju tokio pavidalo lygčių nepavyksta išspręsti net su paprasčiausiomis pradinėmis sąlygomis dėl netiesinės reakcijos greičio priklausomybės nuo substrato koncentracijos (Baronas, Ivanauskas ir kt., 2010).

Šiame darbe naudojamas vienasluoksnis matematinis biojutiklio veikimo modelis su dviem substratais besivaržančiais dėl vieno fermento. Biocheminės reakcijos metu pasigamina du produktai, o biojutiklio atsakas yra proporcingas šių produktų koncentracijų sumai. Darbo tikslas – nustatyti su kokiomis modelio parametrų reikšmėmis pirmo substrato įtaka biojutiklio atsakui yra mažiausia. Minimizuojant vieno iš substratų įtaką atsakui, užtikrinamas geras biojutiklio selektyvumas likusiam substratui, taip pagerinant praktines tokio prietaiso pritaikymo galimybes.

1. Matematinis biojutiklio veikimo modelis

Tam, kad galima būtų tyrinėti biojutiklio veikimą kompiuterio pagalba, pirmiausia reikia sudaryti matematinį biojutiklio veikimo modelį. Šiame skyriuje sudaromas amperometrinio biojutiklio, veikiančio vonios režimu, matematinis modelis.

1.1. Pagrindinės lygtys

Biojutikliui veikiant, jo fermento sluoksnyje tiriama medžiaga (substratas), dėka aktyviosios medžiagos, virsta produktu. Vienmatėje erdvėje biojutiklio matematinis modelis išreiškiamas diferencialinėmis lygtimis su dalinėmis išvestinėmis, kurios aprašo abiejų substratų ir produktų koncentracijos pokyčius laike ($t > 0$) ir erdvėje ($0 < x < d$):

$$\frac{\partial S_1}{\partial t} = D_{S1} \frac{\partial^2 S_1}{\partial x^2} - \frac{V_{max1} S_1}{K_{M1} + S_1 + S_2 K_{M1}/K_{M2}}, \quad (1)$$

$$\frac{\partial S_2}{\partial t} = D_{S2} \frac{\partial^2 S_2}{\partial x^2} - \frac{V_{max2} S_2}{K_{M2} + S_2 + S_1 K_{M2}/K_{M1}}, \quad (2)$$

$$\frac{\partial P_1}{\partial t} = D_{P1} \frac{\partial^2 P_1}{\partial x^2} + \frac{V_{max1} S_1}{K_{M1} + S_1 + S_2 K_{M1}/K_{M2}}, \quad (3)$$

$$\frac{\partial P_2}{\partial t} = D_{P2} \frac{\partial^2 P_2}{\partial x^2} + \frac{V_{max2} S_2}{K_{M2} + S_2 + S_1 K_{M2}/K_{M1}}, \quad (4)$$

čia x yra erdvės koordinatė, d – fermento sluoksnio biojutiklyje storis, t – laikas, $S_1 = S_1(x, t)$ ir $S_2 = S_2(x, t)$ – pirmo ir antro substrato koncentracijos, $P_1 = P_1(x, t)$ ir $P_2 = P_2(x, t)$ – pirmo ir antro reakcijos produktų koncentracijos, D_{S1}, D_{S2} ir D_{P1}, D_{P2} yra substratų ir produktų difuzijos koeficientai, K_{M1}, K_{M2} – pirmos ir antros fermentinių reakcijų Michaelio-Menteno konstanta, V_{max1}, V_{max2} – maksimalus pirmos ir antros reakcijos greitis (Michaelis, Menten, 1913).

1.2. Pradinės sąlygos

Kai fermento sluoksnis nėra panardintas į tirpalą ir biojutiklis dar nepradėjęs veikti ($t = 0$), naudojamos šios pradinės sąlygos:

$$S_1(x, 0) = 0, \quad S_2(x, 0) = 0, \quad 0 \leq x < d, \quad (5)$$

$$S_1(d, 0) = S_{10}, \quad S_2(d, 0) = S_{20}, \quad (6)$$

$$P_1(x, 0) = 0, \quad P_2(x, 0) = 0, \quad 0 \leq x \leq d, \quad (7)$$

čia S_{10} ir S_{20} – pirmo ir antro substrato koncentracija analizuojamame tirpale, d – fermento sluoksnio biojutiklyje storis, $x = 0$ atitinka elektrodo paviršių, $x = d$ – išorinį fermento paviršių.

1.3. Kraštinės sąlygos

Analizuojamo vienasluoksnio modelio atveju tariame, jog tirpalas yra pastoviai maišomas, todėl substratų ir produktų koncentracijos išoriniame fermento sluoksnio paviršiuje išlieka pastovios. Substratas yra elektriškai neaktyvi medžiaga, o produkto koncentracija prie elektrodo paviršiaus yra nuolat mažinama iki nulinės dėl elektrodo poliarizacijos. Šios prielaidos aprašomos tokiomis kraštinėmis ($t > 0$) sąlygomis:

$$\left. \frac{\partial S_1}{\partial x} \right|_{x=0} = 0, \quad \left. \frac{\partial S_2}{\partial x} \right|_{x=0} = 0, \quad (8)$$

$$S_1(d, t) = S_{10}, \quad S_2(d, t) = S_{20}, \quad (9)$$

$$P_1(0, t) = P_1(d, t) = 0, \quad P_2(0, t) = P_2(d, t) = 0. \quad (10)$$

1.4. Biojutiklio atsakas

Biojutiklio atsakas yra anodinė srovė, sukeliama elektrocheminės reakcijos. Šios srovės tankis apskaičiuojamas kaip abiejų elektrocheminių reakcijų, aprašomų remiantis Faradėjaus dėsniumi (Scheller, Fedrowitz, 1997) suma:

$$I(t) = F \left(n_1 D_{P1} \frac{\partial P_1}{\partial x} \Big|_{x=0} + n_2 D_{P2} \frac{\partial P_2}{\partial x} \Big|_{x=0} \right), \quad (11)$$

kur n_1, n_2 yra pirmos ir antros reakcijos elektronų, kurie perneša krūvį elektrodo paviršiuje, skaičius, F – Faradėjaus konstanta ($F = 96485 \text{ C/mol}$).

Laikui bėgant biojutiklis pasiekia stacionarią būseną, t.y. stacionarusis atsakas pasiekiamas kai $t \rightarrow \infty$,

$$I_s = \lim_{t \rightarrow \infty} I(t). \quad (12)$$

2. Skaitinis matematinio modelio sprendimas

Sudaryto matematinio modelio stacionaraus atsako analitiniai sprendiniai egzistuoja tik konkrečioms parametrų reikšmėms, o bendru atveju uždavinys sprendžiamas naudojant skaitinius metodus (Samarskii, 2001). Tolydi funkcijų argumentų kitimo sritis yra keičiama diskrečia, o išvestinės keičiamos daliniais skirtumais. Tokiu būdu sudaromos skirtuminės schemos, kurios sprendžiamos skaitiniais metodais (Baronas, Ivanauskas ir kt., 2010).

1.5. Skaitinė aproksimacija

Sudarant skirtuminę schemą reikia pasirinkti diskrečios aibės erdvės ir laiko žingsnius h ir τ . Erdvės žingsnis h apskaičiuojamas pagal šią formulę:

$$h = \frac{d}{N}. \quad (13)$$

čia N – erdvės žingsnių skaičius, kuris nustatomas eksperimentiškai: visas kitas parametrų reikšmes laikant pastoviomis, N palaipsniui didinamas tol, kol skaitiniu būdu apskaičiuotas stacionarus atsakas kinta mažiau nei 1%. Ta pati procedūra pakartojama ir kitoms parametrų reikšmėms, kol nustatomas mažiausias N , tenkinantis minėtą skaičiavimų stabilumą.

Siekiant, kad skaitinis uždavinys turėtų praktinį sprendinį, skirtuminė schema turi konverguoti (Čiegis, 2003). Viena iš konvergavimo būtinųjų sąlygų yra jos stabilumas. Išreikštinės schemos atveju schemai keliamas toks reikalavimas (Press, Teukolsky ir kt., 2007):

$$\tau < c, \text{ kur } c = \min \left\{ \frac{h^2}{2D_{Sk}}, \frac{h^2}{2D_{Pk}} \right\}, k = 1, 2. \quad (14)$$

Skaičiavimuose naudojama ši τ reikšmė:

$$\tau = \frac{c}{2}. \quad (15)$$

Skaičiavimuose naudota hopscotch skirtuminė schema (Gourlay, 1970), kurioje poriniai skaičiavimų tinklelio mazgai apskaičiuojami naudojant jau žinomas koncentracijas iš žemesnio laiko sluoksnio, o neporiniai – naudojant vieną iš ankstesnio, ir du mazgus – iš to paties laiko sluoksnio. Stabilumui keliamas reikalavimas (14) šios schemos atveju yra silpnesnis, todėl skaičiavimai atliekami efektyviau, nei išreikštinės schemos atveju (Gaidamauskaitė, Baronas, 2007).

Vienasluoksnio biojutiklio matematinio modelio lygtys yra išsivedamos iš praitame poskyryje užrašytų matematinių diferencialinių lygčių (1-4). Apibrėžiamas diskretus N erdvės žingsnių (13) tinklas. Pažymėjus $S_{1,i}^j = S_1(x_i, t_j)$,

$S_{2,i}^j = S_2(x_i, t_j)$, $P_{1,i}^j = P_1(x_i, t_j)$, $P_{2,i}^j = P_2(x_i, t_j)$, lygtys aproksimuojamos taip:

$$\frac{S_{1,i}^{j+1} - S_{1,i}^j}{\tau} = D_{S1} \frac{S_{1,i+1}^m - 2S_{1,i}^j + S_{1,i-1}^m}{h^2} - \frac{V_{max1} S_{1,i}^j}{K_{M1} + S_{1,i}^j + S_{2,i}^j K_{M1} / K_{M2}}, \quad (16)$$

$$\frac{S_{2,i}^{j+1} - S_{2,i}^j}{\tau} = D_{S2} \frac{S_{2,i+1}^m - 2S_{2,i}^j + S_{2,i-1}^m}{h^2} - \frac{V_{max2} S_{2,i}^j}{K_{M2} + S_{2,i}^j + S_{1,i}^j K_{M2} / K_{M1}}, \quad (17)$$

$$\frac{P_{1,i}^{j+1} - P_{1,i}^j}{\tau} = D_{P1} \frac{P_{1,i+1}^m - 2P_{1,i}^j + P_{1,i-1}^m}{h^2} + \frac{V_{max1} P_{1,i}^j}{K_{M1} + S_{1,i}^j + S_{2,i}^j K_{M1} / K_{M2}}, \quad (18)$$

$$\frac{P_{2,i}^{j+1} - P_{2,i}^j}{\tau} = D_{P2} \frac{P_{2,i+1}^m - 2P_{2,i}^j + P_{2,i-1}^m}{h^2} + \frac{V_{max2} P_{2,i}^j}{K_{M2} + S_{2,i}^j + S_{1,i}^j K_{M2} / K_{M1}}, \quad (19)$$

čia $0 < i < N$, $j > 0$, kur N yra maksimalus tinklelio vertikalios ašies taškas, $m = j$, kai skaičiuojami poriniai laiko mazgai, $m = j+1$, kai skaičiuojami neporiniai laiko mazgai.

Pradinės sąlygos aproksimuojamos taip:

$$S_{1,i}^0 = 0, \quad S_{2,i}^0 = 0, \quad 0 \leq i < N, \quad (20)$$

$$S_{1,N}^0 = S_{10}, \quad S_{2,N}^0 = S_{20}, \quad (21)$$

$$P_{1,i}^0 = 0, \quad P_{2,i}^0 = 0, \quad 0 \leq i \leq N. \quad (22)$$

Lygtys (16-19) aprašo S_i^j ir P_i^j kitimą vidiniuose analizuojamo diskretaus tinklo taškuose. Matematinio modelio kraštinės sąlygos (5-7) aproksimuojamos tokiomis lygtimis:

$$S_{1,0}^j = S_{1,1}^j, \quad S_{1,N}^j = S_{10}, \quad (23)$$

$$S_{2,0}^j = S_{2,1}^j, \quad S_{2,N}^j = S_{20}, \quad (24)$$

$$P_{1,0}^j = 0, \quad P_{1,N}^j = 0, \quad (25)$$

$$P_{2,0}^j = 0, \quad P_{2,N}^j = 0. \quad (26)$$

Biojutiklio srovės tankis I_j momentu t_j apskaičiuojamas taikant reiškinių (11) skaitinę aproksimaciją:

$$I_j = F(n_1 D_{P1} P_{1,1}^j / h + n_2 D_{P2} P_{2,1}^j / h). \quad (27)$$

1.6. Programinė įranga ir modelio parametrų reikšmės

Sprendžiant modelį skaitiniais metodais, stacionariu biojutiklio atsaku I_S laikomas toks atsakas, kai santykinis pokytis tarp dviejų gretimų atsako reikšmių tampa mažesnis nei norimas dydis ε . Šis atsakas pasiekiamas per laiką t_R ,

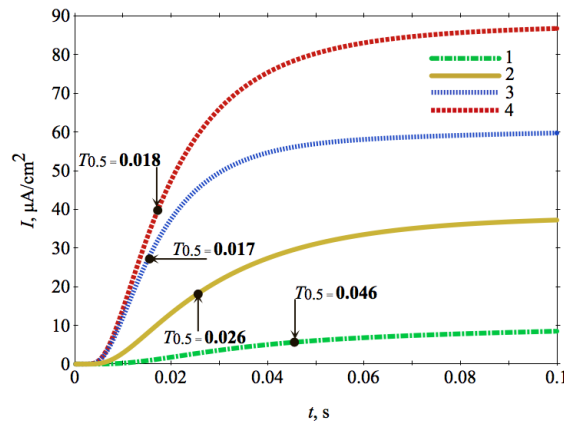
$$t_R = \min_{I(t) > 0} \left\{ t: \frac{t}{I(t)} \left\| \frac{dI(t)}{dt} \right\| < \varepsilon \right\}, \quad I_S \approx I(t_R), \quad (28)$$

skaičiavimuose naudota $\varepsilon = 10^{-6}$.

Norint surasti parametrų reikšmes, prie kurių pirmo substrato įtaka stacionariam atsakui būtų minimali, parašyta programa JAVA kalba sprendžianti (15)-(18) skurtuminių lygčių sistemą, kuri simuliuoja biojutiklio veikimą. Skaičiavimams naudojamos šios pastovios parametrų reikšmės:

$$\begin{aligned} D_{P1} = D_{P2} &= 3 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}, \quad d = 0,001 \text{ cm}, \\ F &= 96485 \text{ C/mol}, \quad N = 100, \\ n_1 = n_2 &= 2. \end{aligned} \quad (29)$$

1 pav. pavaizduota kaip gauta biojutiklio srovė I kinta laike, esant skirtingiems substratų difuzijos koeficientams D_{S1} ir D_{S2} .



1 pav. Srovės I priklausomybė nuo laiko esant skirtingiems substratų difuzijos koeficientams. Naudotos tokios parametrų reikšmės: $D_{S1} = 3 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$ (3, 4), $D_{S1} = 3 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$ (1, 2), $D_{S2} = 3 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$ (2, 4), $D_{S2} = 3 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$ (1, 3).

1 pav. matoma, kad gauta srovė auga ir bėgant laikui nusistovi. Kai $D_{S1} = D_{S2} = 3 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$ (4 kreivė) tuomet gautas srovės tankis yra maždaug 10 kartų didesnis, nei tuo atveju, kai $D_{S1} = D_{S2} = 3 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$ (1 kreivė), todėl galima daryti išvadą, jog didesni substratų difuzijos koeficientai lemia didesnę srovės tankį.

Srovė 1 pav. nusistovi skirtingais greičiais – tai pastebima žiūrint į puslaikius (pažymėta kaip $T_{0.5}$). Puslaikis yra laikas, kai srovės tankis pasiekia pusę maksimalios (stacionarios) reikšmės. Matoma, jog mažinant D_{S1} puslaikis smarkiai didėja (palyginti 1 su 3 ir 4

kreivėmis), o D_{S2} neturi reikšmingos įtakos – puslaidis panašus net esant skirtingiems antriems substratų difuzijos koeficientams (3 ir 4 kreivės).

1.7. Skaitinio modelio patikimumas

Norint įvertinti skaitiniu būdu gautų rezultatų patikimumą, pasitelkiamas analizinis sprendinys, kurį galime taikyti, kai netiesinis reakcijos narys pagrindinėse lygtyse (16-19) tampa tiesiniu. Taip yra, kai vieno substrato koncentracija yra žymiai mažesnė už Michaelio-Menteno konstantą, o kito substrato koncentracija yra nulinė:

$$\begin{cases} S_{i0} \ll K_{Mi} \\ S_{k0}^j = 0 \end{cases}, \text{čia } i = 1, 2, k = 1, 2, i \neq k. \quad (30)$$

Tuomet srovės tankis apskaičiuojamas šia formule (Kulys, 1981):

$$I = n_i F D_{Si} \frac{S_{i0}}{d} \left(1 - \frac{1}{\cosh(\sigma)} \right), \text{čia } i = 1, 2. \quad (31)$$

čia σ yra bedimensinis dydis, difuzijos modulis, kuris vadinamas *Damkohler skaičiumi* ir yra apskaičiuojamas taip (Sadana, Sadana, 2010):

$$\sigma^2 = \frac{v_{maxi} d^2}{D_{Si} K_{Mi}}, \text{čia } i = 1, 2. \quad (32)$$

Analizinį sprendinį galima surasti ir jei vieno substrato koncentracija yra žymiai didesnė už Michaelio-Menteno konstantą, o kito substrato koncentracija – nulinė:

$$\begin{cases} S_{i0} \gg K_{Mi} \\ S_{k0}^j = 0 \end{cases}, \text{čia } i = 1, 2, k = 1, 2, i \neq k. \quad (33)$$

Šiuo atveju srovės tankis apskaičiuojamas šiuo būdu (Carr, Bowers, 1980):

$$I = \frac{n_i F v_{max} d}{2}. \quad (34)$$

Pasinaudojant (31) ir (34) formulėmis apskaičiuojama stacionari srovė analiziniu sprendiniu prie konkrečių parametrų reikšmių. Tuomet abiem atvejais gauti rezultatai, pagal nurodytus duomenis pirmoje lentelėje, palyginami su skaitiniu metodu gautais rezultatais ir nustatoma santykinė paklaida:

1 lentelė. Rezultatų paklaida.

$S_{10}, \text{mol/cm}^3$	$K_{M1}, \text{mol/cm}^3$	$S_{20}, \text{mol/cm}^3$	$K_{M2}, \text{mol/cm}^3$	Paklaida, %
10^{-9}	10^{-6}	0	10^{-8}	0,97
0	10^{-6}	10^{-10}	10^{-7}	0,97
10^{-6}	10^{-9}	0	10^{-8}	1,14
0	10^{-9}	10^{-7}	10^{-10}	1,14

Lentelėje skaičiavimai atlikti naudojant šiuos duomenis: $V_{max1} = 10^{-6} \text{ mol/cm}^3\text{s}$, $V_{max2} = 10^{-7} \text{ mol/cm}^3\text{s}$, $D_{S1} = D_{S2} = 3 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$. Kitų parametų reikšmės nurodytos (29) formulėje.

Gauta apie 1% paklaida baigtinių skirtumų metodui yra pakankamai maža, taigi laikoma, jog šis metodas yra efektyvus. Tokio dydžio paklaidą skaitmeniškai modeliuojant biojutiklių veikimą yra įprasta laikyti pakankamai maža (Baronas, Ivanauskas ir kt., 2003; Baronas, Kulys, 2008).

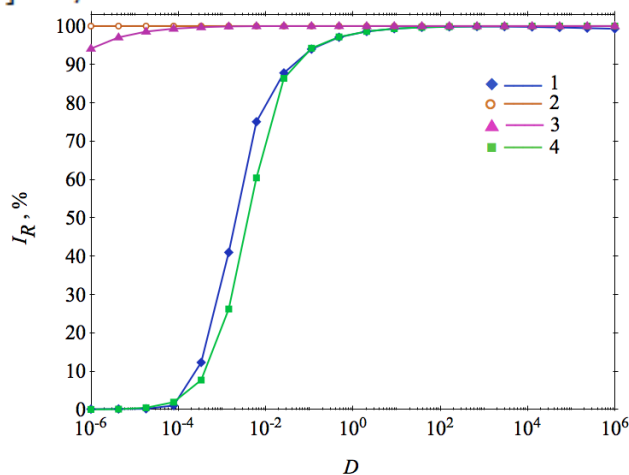
2. Rezultatai

Pirmiausia nagrinėta stacionarios srovės skirtumo priklausomybė nuo substratų difuzijos koeficientų santykio besikeičiant Michaelio-Menteno konstantai ir maksimaliam fermentinės reakcijos greičiui. Tam, jog galima būtų išanalizuoti pirmo substrato įtaką, su kiekviena substratų difuzijos koeficientų reikšme, stacionari srovė apskaičiuota du kartus – pirmą kartą, kai $S_{10,max} = 10^{-3} \text{ mol/cm}^3$ (maksimali fiziškai prasminga substrato koncentracija), antrą kartą – $S_{10,min} = 10^{-12} \text{ mol/cm}^3$ (tokia reikšmė praktiškai atitinka nulinę koncentraciją). Tuomet apskaičiuojamas santykinis skirtumas tarp stacionarių srovių esant skirtingoms pirmo substrato koncentracijoms:

$$I_R = \frac{I_{max} - I_{min}}{I_{max}} \times 100\%, \quad (35)$$

kur $I_{max} = I(S_{10,max})$, $I_{min} = I(S_{10,min})$.

Santykinio skirtumo I_R priklausomybė nuo difuzijos koeficientų santykio ($D = D_{S1}/D_{S2}$) pateikiama 2 pav. Difuzijos koeficientų santykis apskaičiuotas keičiant abiejų substratų difuzijos koeficientų reikšmes: $D_{S1} \in [10^{-12}; 10^{-6}] \text{ cm}^2/\text{s}$, $D_{S2} \in [10^{-6}; 10^{-12}] \text{ cm}^2/\text{s}$.



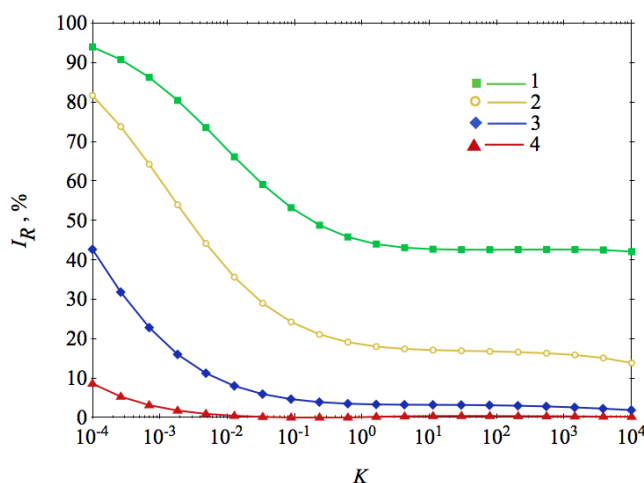
2 pav. Srovių skirtumo priklausomybė nuo substratų difuzijos koeficientų santykio.

Naudotos tokios parametų reikšmės: $S_{20} = 10^{-9} \text{ mol/cm}^3$, $K_{M1} = 10^{-6}$ (3, 4), $10^{-10} \text{ mol/cm}^3$ (1, 2), $V_{max1} = 10^{-6}$ (2, 3), $10^{-10} \text{ mol/cm}^3\text{s}$ (1, 4), $V_{max2} = 10^{-10}$ (2, 3), $10^{-6} \text{ mol/cm}^3\text{s}$ (1, 4), $K_{M2} = 10^{-10}$ (3, 4), 10^{-6} mol/cm^3 (1, 2).

Iš 2 pav. pastebima, jog kai $V_{max1} = 10^{-6} \text{ mol/cm}^3\text{s}$ ir $V_{max2} = 10^{-10} \text{ mol/cm}^3\text{s}$ (kreivės 2 ir 3), srovių skirtumas nuo pat pirmo taško įgyja dideles reikšmes ($I_R > 90\%$) – esant santykinai didelėms V_{max1} reikšmėms, pirmo substrato įtaka atsakui yra didelė, ir jos praktiškai išvengti neįmanoma net parenkant pačius mažiausius pirmo substrato difuzijos koeficientus D_{S1} . Esant santykinai mažam pirmo substrato fermentinės reakcijos greičiui (kreivės 1 ir 4), santykinis atsako skirtumas yra mažesnis nei 10%, kol $D < 10^{-3}$. Taigi, keičiant difuzijos koeficientus galima sėkmingai sumažinti pirmo substrato įtaką galutiniam biojutiklio atsakui.

Santykinio skirtumo I_R priklausomybė nuo Michaelio-Menteno konstantų santykio ($K = K_{M1}/K_{M2}$) pateikiama 3 pav. Skaičiavimai atlikti su keturiais skirtingais maksimaliais fermentinės reakcijos greičiais. Skaičiavimuose naudota tokios D_{S1} ir D_{S2} reikšmės, su kuriomis santykinis skirtumas 1 pav. buvo mažiausias. K apskaičiuotas keičiant abiejų fermentinių reakcijų Michaelio-Menteno konstantų reikšmes:

$$K_{M1} \in [10^{-10}; 10^{-6}] \text{ mol/cm}^3, K_{M2} \in [10^{-6}; 10^{-10}] \text{ mol/cm}^3.$$



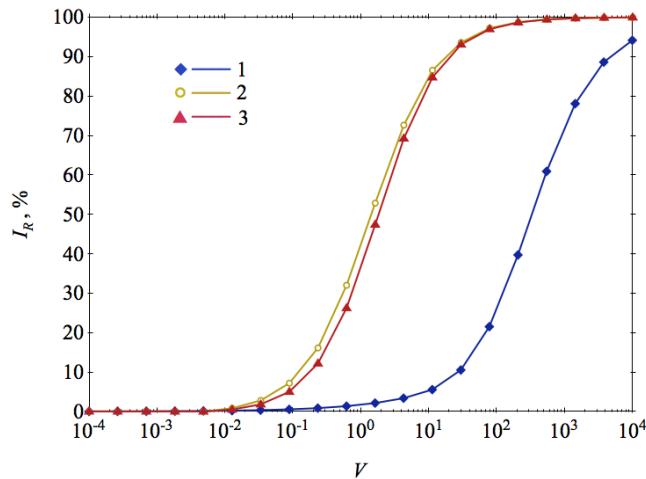
3 pav. Srovių skirtumo priklausomybė nuo Michaelio-Menteno konstantų.

Naudotos tokios parametų reikšmės: $S_{20} = 10^{-9} \text{ mol/cm}^3$, $V_{max2} = 10^{-7} \text{ mol/cm}^3\text{s}$, $D_{S1} = 10^{-12} \text{ cm}^2/\text{s}$, $D_{S2} = 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$, $V_{max1} = 10^{-6}$ (1), 10^{-7} (2), 10^{-8} (3), $10^{-9} \text{ mol/cm}^3\text{s}$ (4).

3 pav. matoma, kad, kaip ir 2 pav., esant santykinai didelėms V_{max1} reikšmėms, santykinis skirtumas yra didelis. Pastebima, jog visais keturiais atvejais I_R mažėja, kai santykis K didėja – santykinis skirtumas yra mažiausias, kai K yra didžiausias. Todėl galima daryti išvadą, jog norint kuo labiau sumažinti pirmo substrato įtaką, verta naudoti kuo mažesnę pirmą Michaelio-Menteno konstantą, ir kuo didesnę antrą.

Santykinio skirtumo I_R priklausomybė nuo maksimalių fermentinės reakcijos greičių santykio ($V = V_{max1}/V_{max2}$) pateikiama 4 pav. Skaičiavimai atlikti su trimis skirtingomis Michaelio-Menteno konstantomis. Skaičiavimuose naudota tokios D_{S1} ir D_{S2} reikšmės, su kuriomis santykinis skirtumas 2 pav. buvo mažiausias bei K_{M1} ir K_{M2} reikšmės (1 kreivėje), su kuriomis santykinis skirtumas 3 pav. buvo mažiausias. V apskaičiuotas keičiant abiejų fermentinių reakcijų maksimalių greičių reikšmes:

$$V_{max1} \in [10^{-10}; 10^{-6}] \text{ mol/cm}^3\text{s}, V_{max2} \in [10^{-6}; 10^{-10}] \text{ mol/cm}^3\text{s}.$$



4 pav. Srovių skirtumo priklausomybė nuo maksimalių fermentinės reakcijos greičių.

Naudotos tokios parametų reikšmės: $S_{20} = 10^{-9} \text{ mol/cm}^3$,
 $D_{S1} = 10^{-12} \text{ cm}^2/\text{s}$, $D_{S2} = 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$, $K_{M1} = 10^{-6}$ (1, 3), 10^{-8} mol/cm^3 (2),
 $K_{M2} = 10^{-7}$ (2, 3), 10^{-8} mol/cm^3 (1).

4 pav. pastebima, jog visais trimis atvejais santykinis skirtumas didėja augant V reikšmei. Tai patvirtina 2 ir 3 pav. apskaičiuotus rezultatus. Pastebima, jog santykinis skirtumas yra mažesnis, kai naudojama 3 pav. gautos K_{M1} ir K_{M2} reikšmės, su kuriomis buvo gauta mažiausias santykinis skirtumas. Tačiau nepaisant K_{M1} ir K_{M2} reikšmių, kai $V_{max1} \ll V_{max2}$ tuomet santykinis skirtumas visais atvejais yra artimas nuliui.

Išvados

1. Darbe nagrinėjamas matematinis biojutiklio veikimo modelis sėkmingai sprendžiamas pristatytu skaitiniu modeliu. Skaitinio modelio pagalba matematinis biojutiklio veikimo modelis gali būti nagrinėjamas kompiuteriu plačiame jo parametų reikšmių intervale.
2. Vieno iš substratų įtaką stacionariam atsakui galima sumažinti iki 1%, kai modelio parametų reikšmės yra tokios
 - a. Substrato difuzijos koeficientų reikšmės yra: $D_{S1} < 10^{-11} \text{ cm}^2/\text{s}$,
 $D_{S2} > 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$;
 - b. Michaelio-Menteno konstantų reikšmės yra: $K_{M1} > 10^{-9} \text{ mol/cm}^3$,
 $K_{M2} < 10^{-7} \text{ mol/cm}^3$;
 - c. Maksimalių fermentinių reakcijų greičių reikšmės yra: $V_{max1} < 10^{-9} \text{ mol/cm}^3\text{s}$,
 $V_{max2} > 10^{-8} \text{ mol/cm}^3\text{s}$.

Padėka

V. Ašerio atlikti tyrimai finansuoti iš Europos socialinio fondo pagal Visuotinės dotacijos priemonę, projekto Nr. VP1-3.1-ŠMM-07-K-01-073/MTDS-110000-583.

Literatūra

- Aris, R. (1975). *The Mathematical Theory of Diffusion and Reaction in Permeable Catalysts: The theory of the steady state*. Oxford: Clarendon Press.
- Baronas, R., Ivanauskas, F., Kulys, J. (2003). „The Influence of the Enzyme Membrane Thickness on the Response of Amperometric Biosensors“, *Sensors* 3(7): 248–262.
- Baronas, R., Ivanauskas, F., Kulys, J. (2010). *Mathematical Modeling of Biosensors*. Dordrecht, Netherlands: Springer.
- Baronas, R., Kulys, J. (2008). „Modelling Amperometric Biosensors Based on Chemically Modified Electrodes“, *Sensors*, 8(8): 4800–4820.
- Britz, D. (2005). *Digital Simulation in Electrochemistry*. Berlin: Springer Berlin Heidelberg.
- Carr, P.W., Bowers, L.D. (1980). *Immobilized enzymes in analytical and clinical chemistry: fundamentals and applications*. John Wiley & Sons.
- Chaplin M., Bucke, C. (1990). *Enzyme Technology*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Čiegis, R. (2003). *Diferencialinių lygčių skaitiniai sprendimo*, Vilnius: Technika.
- Dabulytė-Bagdonavičienė, J., Ivanauskas, F., Razumas, V. (2011). „The Computational Modelling of the Kinetics of Ascorbic Acid Palmitate Hydrolysis by Lipase Considering Diffusion“, *Central European Journal of Chemistry*, 9(4): 712–719.
- Gaidamauskaitė, E., Baronas, R. (2007). „A Comparison of Finite Difference Schemes for Computational Modelling of Biosensors“, *Nonlinear Analysis: Modelling and Control*, 12 (3): 359–369.
- Gordon, P. (1969). „Competition of two substrates for a single enzyme. A simple kinetic theorem exemplified by a hydroxy steroid dehydrogenase reaction“, *Biochemical Journal*, 112(3): 331–334.
- Gourlay, A. R. (1970). „Hopscotch: a fast second-order partial differential equation solver“, *Journal of the Institute of Mathematics and its Applications*, 6: 375–390.
- Kulys, J. (1981). Development of new analytical systems based on biocatalysts. *Enzyme Microbiol. Technol.* 3, 344–352.
- Michaelis, L., Menten, M., 1913. Die kinetik der invertinwirkung (The Kinetics of Invertase Action). *Biochemische Zeitschrift*, 49: 333–369.
- Mohanty, S. P., Kougiannos, E. (2006). „Biosensors: a tutorial review“, *Ieee Potentials*, 25(2):35–40.
- Press, W. H., Teukolsky, S.A., Vetterling, W. T., Flannery, B.P. (2007). *Numerical recipes*. New York: Cambridge University Press.
- Sadana, A., Sadana, N. (2010). *Handbook of biosensors and biosensor kinetics*. Amsterdam: Elsevier.
- Samarskii, A.A. (2001). *The theory of difference schemes*. New York, New York, USA: Marcel Dekker.
- Scheller, F.W., Fedrowitz, J. (1997). *Frontiers in Biosensorics*. Berlin: Birkhauser Varloy.
- Scheller, F., Schubert, F. (1992). *Biosensors*, Amsterdam: Elsevier.
- Schulmeister, T. (1990). „Mathematical modelling of the dynamic behaviour of amperometric enzyme electrodes“, *Selective Electrode Reviews*. 12(2): 203–260.
- Žilinskas, A., Baronas, D. (2011). „Optimization-Based Evaluation of Concentrations in Modeling the Biosensor-Aided Measurement“, *Informatica* 22(4): 589–600.

J. Terešius is a BSc student at the Faculty of Mathematics and Informatics of Vilnius University in the field of Software Engineering.

V. Ašeris obtained PhD degree at the field of Informatics at the Faculty of Mathematics and Informatics of Vilnius University, by defending a dissertation entitled „Computational modelling of biosensors utilizing intermediate substances“. He obtained BSc degree in 2007 and MSc degree in 2009, both in the field of Software Engineering in Vilnius University. His research interests are computational modelling of biosensors.

COMPUTER MODELLING OF BIOSENSORS WITH COMPETITIVE SUBSTRATES CONVERSION

Justinas Terešius, Vytautas Ašeris

Summary

Mathematical model of biosensor with competitive substrates conversion is analysed in this work. Model is described by partial differential reaction-diffusion equations with non-linear reaction term. Because of the non-linearity the analytical solutions exist only for extreme parameter values and thus the model in general case is solved by finite difference methods. The validity of the computational model is checked by comparing numerically obtained results to the known analytical solutions at the mentioned extreme parameter values. The purpose of this work is to determine the values of model parameters at which the impact of one of the substrates on the biosensor response can be minimized.

Key words: biosensor, computer simulation, competitive substrates, diffusion coefficients