



**UNIVERSIDAD
DE SONORA**



DIVISIÓN DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

DEPARTAMENTO DE FÍSICA

MAESTRÍA EN NANOTECNOLOGÍA

Extensión del modelo Michaelis-Menten a
dimensiones nanométricas por medio de física
estadística fuera de equilibrio

Tesis de Maestría

Que para obtener el título de:

MAESTRO EN NANOTECNOLOGÍA

Presenta:

Juan Miguel Castellanos Jaramillo

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



“El saber de mis hijos
hará mi grandeza”



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

Agradecimientos

A mi comité de tesis de Posgrado en Nanotecnología de la Universidad de Sonora por su paciencia y atención oportuna en el desarrollo final de esta tesis. Deseo expresar especial reconocimiento al Doctor Adrián Reyes Cervantes por hacerse del tiempo para brindarnos sus invaluable observaciones y comentarios en los seminarios, y al Doctor Adalberto Corella Madueño por su diligente y solícita participación incluso teniendo asuntos más apremiantes que lo ocupaban.

A mi hermano Alejandro, por su contribución en el proceso de programación del algoritmo de Gillespie, ya que sin su ayuda este trabajo no habría podido salir con la agilidad con que se dio.

Finalmente agradezco al Doctor Mario Enrique Álvarez Ramos, Coordinador del Programa de Maestría en Nanotecnología, por su cortesía y orientación en el desarrollo del posgrado.

Índice

1. Introducción	5
2. Descripción del sistema bioquímico	8
3. Modelo	10
I Herramientas Estocásticas	14
4. Ecuación maestra en dos dimensiones ajustado a la cinética Michaelis-Menten	14
5. Obteniendo las ecuaciones para la parte determinista (parte macroscópica):	24
6. Obtención de la ecuación de Fokker-Planck	27
II Estudio Analítico	30
7. Estudio del estado de equilibrio macroscópico	30
8. Análisis del estado cuasiestacionario	33
9. Análisis de la parte estocástica (microscópica)	37
9.1. Casos particulares fundamentales:	39
9.2. Análisis del caso cuasiestacionario microscópico	40
9.3. Estudio de la conducta en el tiempo de los promedios de los ruidos $\langle q_\mu \rangle (t)$:	42
III Soluciones Numéricas y Análisis de los Resultados	46
10. Soluciones numéricas de las ecuaciones deterministas	46
10.1. Concentración de enzimas mucho menor que la de sustrato. Caso típico en estudios in vitro.	46
10.2. Concentración de enzimas y de sustrato muy similares	50
11. Análisis de la parte estocástica	53
11.1. Propiedades del ruido si la concentración de enzimas es mucho menor que la de sustrato	53
11.1.1. Evolución de las fluctuaciones medias	53
11.1.2. Evolución de las funciones de autocorrelación	53
11.2. Propiedades del ruido cuando la proporción de enzimas y sustrato es muy similar	57

11.2.1. Evolución de las fluctuaciones medias	57
11.2.2. Evolución de las funciones de autocorrelación	59
11.3. Discusión	61
IV Simulación por computadora de la reacción enzimática	63
12. Algoritmo de Gillespie	63
13. Resultados	64
13.1. Simulación con 1 enzima y 400 sustratos	64
13.2. Simulación con 50 enzimas y 5000 sustratos	67
13.3. Simulación con 50 enzimas y 500 sustratos	68
V Conclusiones	70
Referencias	72
VI Apéndice	77
A. Ecuaciones diferenciales macroscópicas para densidad de enzima y producto	77

1. Introducción

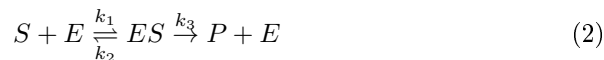
La habilidad para construir nanoestructuras de diversos tipos ha llegado acompañada de la capacidad para realizar experimentos controlados en los que participan cantidades de moléculas cuyo número puede ser desde unos cuantos cientos de miles hasta una sola molécula cuya actividad química puede ser monitoreada. La reducción de los tamaños involucrados también ha dado lugar a que los efectos de volumen ya no sean los únicos relevantes. En su lugar, los efectos de la superficie y la forma de los productos nanométricos han tomado importancia. Por esa razón, también ha requerido revisión teórica la física estadística tradicional, que ha sido formulada sobre la base de que la forma del sistema físico no influye sobre sus propiedades termodinámicas. Lo mismo ocurre con las reacciones químicas que antes se realizaban únicamente en moles o en fracciones de moles. Ahora que la cantidad se puede reducir a millares, a cientos, o a decenas de moléculas participantes, la presencia de las fluctuaciones aleatorias crece en importancia. Éste es el caso del modelo de Michaelis-Menten para la descripción de reacciones enzimáticas.

El objetivo de este trabajo es analizar las fluctuaciones aleatorias en la concentración de sustrato y de enzima-sustrato en el modelo de catálisis de Michaelis-Menten. Éste es de mucha utilidad en bioquímica y describe la velocidad de reacción, V , definida como la derivada temporal del producto. La ecuación que expresa V fue obtenida por Leonor Michaelis y Maud Menten en 1913[1].

$$V = \frac{V_{max} [S_0]}{K_M + [S_0]} \quad (1)$$

con $[S_0]$ siendo la concentración inicial de sustrato, $K_M = \frac{k_2 + k_3}{k_1}$ la constante de Michaelis-Menten, V_{max} la velocidad máxima de formación de producto.

Tiene como antecedente la propuesta de reacción química de Victor Henri[2], quien en 1903 publicó un artículo en el que propuso que la base para explicar los fenómenos de catálisis podría ser una reacción reversible entre enzima (E) y sustrato (S) para producir un compuesto enzima-sustrato (ES), a partir del cual podía resultar una reacción irreversible que daría lugar a un producto (P) más la enzima liberada (E).



con k_1 , k_2 , k_3 las constantes de reacción involucradas.

La validez de la expresión (1) es motivo de análisis incluso en la literatura reciente, por ejemplo, S. Schnell[3] ha publicado en 2014 un artículo de revisión en el cual discute trabajos que han tratado el tema desde 1955 hasta 1996 y concluye que existen dos condiciones distintas para garantizar la aplicación de la ecuación (1) en la estimación de los parámetros V_{max} y K_M . De acuerdo a Schnell, se requieren dos hipótesis discutidas ampliamente por él:

1. La condición de reactantes estacionarios.

2. La condición de estado estacionario (ver Schnell para mayores detalles).

Por otra parte, A. Kolomeisky ha llamado la atención sobre una consecuencia algebraica directa de la expresión (1): el hecho de que para bajas concentraciones de S existen una relación lineal de la velocidad de reacción V y la concentración de S . Afirma que es sorprendente el hecho de que la misma situación experimental ocurre en muchos sistemas enzimáticos cuya conducta es mucho más compleja. Por esa razón, Kolomeisky[4] presenta un método teórico alternativo para analizar redes de complejos enzimáticos mediante una ecuación maestra y encuentra que si las tasas de reacción (turnover rates) pueden ser tomadas como cocientes de funciones polinomiales, entonces la relación de Michaelis-Menten se cumple siempre que esas polinomiales sean funciones lineales de las concentraciones. El modelo de Michaelis-Menten puede ser obtenido a partir de un sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias que son no lineales, tal que en ellas se introduce una condición de estacionariedad en la que la concentración del compuesto enzima-sustrato, ES, casi no cambia en el transcurso del tiempo. Esta no linealidad dificulta el análisis teórico del sistema y hace obligatorio el uso de métodos numéricos para estudiar la dinámica de la reacción[5], por esa razón, G. Dell'Acqua y A. M. Bersani[6] encontraron una solución algebraica basada en un método perturbativo y encontraron relaciones aproximadas para la velocidad de reacción y la concentración del sustrato. Este enfoque ha generado una polémica con D. Vogt[7] quien afirma haber encontrado un método más sencillo. Se recomienda también ver a G. Dell'Acqua y A. M. Bersani[8]. Desde el punto de vista matemático, Bo Li y Banghe Li[9] estudiaron el sistema de ecuaciones del modelo Michaelis-Menten y encontraron que, efectivamente debe cumplirse el requisito de que el complejo enzima-sustrato ES debe permanecer casi constante, después de un periodo inicial, en el que la concentración de sustrato S es muy superior a las enzimas E .

El interés en el estudio de las fluctuaciones aleatorias de las concentraciones de reactantes y producto en las reacciones químicas susceptibles de ser modeladas mediante la expresión de Michaelis-Menten empezó a recibir atención a partir de 1962 cuando A. F. Bartholomay[10] formuló el problema de la reacción química planteada en (2) por medio de una densidad de probabilidad dependiente del tiempo y de las concentraciones de sustrato y de complejo enzima-sustrato. Obtuvo la ecuación maestra correspondiente y demostró que la evolución en el tiempo de los promedios de las concentraciones coincide con las ecuaciones diferenciales no lineales conocidas en los textos de cinética química. En 1978, Sandra Hasstedt[11] estudió el mismo problema pero manejando como variables la concentración de sustrato, S , y una variable bivaluada $\{0, 1\}$, para indicar la presencia o ausencia de una sola molécula de enzima. Estudió situaciones estacionarias y prestó importancia al hecho de que las distribuciones estadísticas obtenidas son normales, lo cual, en su opinión justifica el uso de la teoría estadística estándar para analizar los resultados experimentales. Un año antes Arányi & Thöth[12] desarrollaron un enfoque similar para estados con cero o una molécula de enzima pero un número ilimitado de moléculas de sustrato. Transformaron la ecuación maestra en un conjunto de ecuaciones en derivadas

parciales para la función generadora[13] y calcularon, por medio de derivadas, la densidad de probabilidad conjunta para la cantidad de sustrato S y de enzima E . Obtuvieron las ecuaciones deterministas del modelo Michaelis-Menten y las resolvieron numéricamente. Además hicieron comparaciones entre sus resultados y los del modelo determinista, y notaron que este último se acerca a sus predicciones estocásticas cuando el nivel de ruido tiende a cero. En sus conclusiones dicen que si la enzima cataliza un proceso vital para la célula, las consecuencias de la naturaleza estocástica del proceso y de su varianza podrían jugar un papel importante.

En la década de los años 1990 se hizo necesario estudiar las fluctuaciones aleatorias debido al desarrollo de técnicas de observación sobre lo que ocurre con una sola molécula usando espectroscopía Raman y otros métodos de fotofísica (photophysics) y de fotoquímica (photochemistry). Ver por ejemplo Xie[14], Funatsu[15] y Lu[16]. En el año 2002 Hong Qian y Elliot L. Elson[17] realizaron un análisis estocástico de las reacciones enzimáticas de una sola molécula que sigue la cinética de Michaelis-Menten y demostraron que se presenta una situación no estacionaria fuera de equilibrio que exhibe conducta oscilatoria cuando se presentan concentraciones apropiadas de sustrato. Concluyen que las ecuaciones deterministas aparecen como el límite no estocástico cuando el número de moléculas involucradas es muy grande. Tres años más tarde, en el año 2005, Stéfani et. al.[18] utilizaron una distribución de probabilidad dependiente del tiempo, de la concentración de sustrato (N) y de una variable bivaluada $\{J = 0, 1\}$ para indicar la presencia o ausencia de una molécula de enzima. Encontraron la ecuación maestra correspondiente y estudiaron un experimento pensado en el que el promedio de N es mantenido fijo permitiendo la entrada de moléculas al medio con una tasa constante. Calcularon la relación entre la velocidad de reacción V y N , la cual resultó ser diferente de la expresión de Michaelis-Menten, pero tal que ésta se podía recuperar en un caso límite.

En el año 2008, Bersani et. al.[19] llamaron la atención sobre el hecho de que, en las dimensiones pequeñas de las células, las enzimas en su interior están sujetas a fluctuaciones aleatorias debido al movimiento Browniano, dando por consecuencia un desplazamiento aleatorio de éstas, y por consiguiente, modificaciones en las tasas de interacción. Luego de hacer ver que el número de proteínas también es muy pequeño, pusieron en tela de juicio la descripción de las reacciones químicas en términos de flujos continuos de materia y propusieron una formulación en términos de ecuaciones estocásticas discretas. El comentario de Bersani et. al. se enmarca dentro de una propuesta más general, planteada por Puchalka y Kierzek[20], quienes presentaron un método llamado "maximal time step method", dirigido a la simulación estocástica de sistemas compuestos por reacciones metabólicas y procesos regulatorios que involucran pequeñas cantidades de moléculas.

En el mismo sentido, en el 2004 Turner et. al.[21] revisaron los esfuerzos tendientes a incluir los efectos de las fluctuaciones en la organización estructural del citoplasma y la difusión limitada de moléculas debido a la aglomeración molecular y discutieron la conveniencia de varios de ellos para la modelación de reacciones intracelulares. Uno de los tipos de reacción que tomaron en cuenta fue el

conjunto de ellos que se pueden modelar por medio de la expresión de Michaelis-Menten. En el 2008, Valdur Saks, Nathalie Beraud y Theo Walliman[22] hicieron ver que las células tienen estructuras altamente organizadas por compartimientos, por lo que no se les puede considerar como si se trataran de bolsas con proteínas donde las enzimas se difunden como si fuesen un gas. Por el contrario, sostienen que una sola enzima puede actuar una multitud de veces para inducir conductas oscilatorias en los sustratos y señalan que en ese caso las aplicaciones del modelo de Michaelis-Menten basadas en la hipótesis determinista y en la cuasiestacionariedad son inapropiadas a nivel celular; ofreciendo como alternativa el tratamiento estocástico.

La revisión anterior, sin ser exhaustiva, nos lleva a que el análisis de las fluctuaciones aleatorias de las concentraciones de las sustancias químicas es relevante por varias razones: una de ellas es que los sistemas bioquímicos en la naturaleza son sistemas abiertos, mientras que, con frecuencia, los estudiados en laboratorio *in vitro* no lo son; otro motivo es que, a diferencia de lo que ocurría a principios de los años 1970, en la actualidad los sistemas bajo estudio en laboratorio pueden enfocarse a sistemas tan pequeños que ya no necesariamente cumplen con tener más de 10^{10} moléculas por centímetro cúbico. En consecuencia, en este trabajo se propone reformular el enfoque basado en una ecuación maestra iniciado por Bartholomay[10] para obtener las ecuaciones de evolución temporal de las concentraciones de reactantes y producto, que llamamos parte determinista del problema, además de obtener una ecuación de Fokker-Planck que permite encontrar las ecuaciones diferenciales que describen la conducta en el tiempo de los promedios y la matriz de autocorrelaciones de las fluctuaciones aleatorias de dichas concentraciones (parte estocástica). Resulta que se trata de un sistema no autónomo de ecuaciones diferenciales lineales, lo cual da por consecuencia que las propiedades estadísticas de las fluctuaciones aleatorias dependen de la conducta determinista. Esto es importante porque es un ejemplo más de que para estudiar las conductas estocásticas no basta con tomar las ecuaciones deterministas y agregarles un ruido blanco. Se investiga la tendencia al equilibrio de las soluciones a las ecuaciones a la parte determinista y la estabilidad de dicho estado. De este modo se logra diferenciarlo con claridad del estado cuasiestacionario al que se refieren cuando usan el modelo Michaelis-Menten. Se presentan algunas soluciones numéricas para ubicar el intervalo de tiempo en el que se cumple la condición de cuasiestacionariedad y se resuelven las ecuaciones algebraicas para la parte estocástica en este caso.

Debido a que la formulación basada en la ecuación de Fokker-Planck deja de ser válida cuando las moléculas involucradas son pocas centenas[23], en este trabajo se ofrece la simulación en computadora del proceso planteado en la ecuación 2. Para este propósito se usa el algoritmo de Gillespie.

2. Descripción del sistema bioquímico

Descripción del sistema bioquímico Las enzimas son catalizadores biológicos capaces de acelerar reacciones químicas dentro de las células. Estas reacciones

pueden ser la respiración, fotosíntesis, síntesis de proteínas, replicación de ADN (ácido desoxirribonucleico), digestión, entre muchas otras. Los procesos dentro de seres vivos se componen casi en su totalidad de reacciones bioquímicas, por lo que en ausencia de enzimas, estas reacciones no serían lo suficientemente rápidas para mantener la vida.

En la química se entiende como catalizadores a aquellas sustancias capaces de impulsar reacciones sin sufrir alteraciones estructurales permanentes, es decir, no son consumidas en el proceso. Esto lo hacen al disminuir la energía de activación requerida para que ocurra la reacción.

La energía de activación es la cantidad de energía requerida para que los reactantes formen productos. Si las moléculas de reactante no poseen suficiente energía para reaccionar, entonces no se formará ningún producto. Al disminuir la energía de activación, un catalizador permite que las moléculas ganen suficiente energía para sobrepasar la barrera y formar productos. La consecuencia de esto es que las velocidades de reacción aumentan.

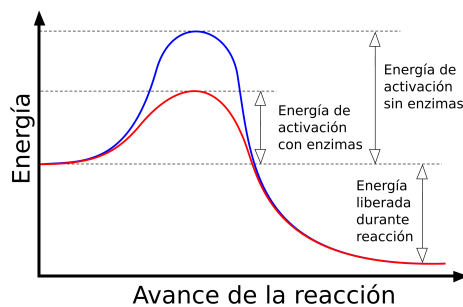


Figura 1: Energía de activación.

La mayoría de las enzimas están formadas por cadenas de aminoácidos llamados proteínas; sin embargo, se ha comprobado que hay varias moléculas de ARN (ácido ribonucleico) con capacidades catalíticas. En el caso de las enzimas de naturaleza proteica, debido a sus estructuras complejas, es posible regularlas; lo que resulta especialmente importante en los seres vivos, que deben conservar energía y materia prima.

Las enzimas poseen en su superficie un punto de unión llamado "sitio activo", donde los sustratos (las moléculas que se transforman en producto en la reacción) se unen. Además tienen otro punto llamado "sitio alostérico", en este sitio se unen cofactores o coenzimas responsables de regular el funcionamiento de la enzima; ya sea activándola o desactivándola.

Las enzimas son sensibles a la temperatura. A temperaturas bajas las reacciones enzimáticas son lentas, pero éstas se aceleran a medida que la temperatura aumenta hasta un punto óptimo. Más allá de este punto la velocidad de reacción disminuirá hasta detenerse por completo, debido a que ocurrirá un proceso de desnaturalización, en el que se pierde la estructura que le permite a la enzima catalizar reacciones.

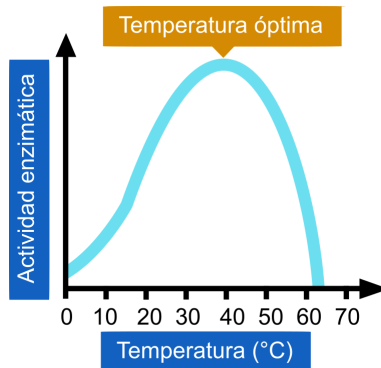


Figura 2: Temperatura óptima.

La mayoría de las enzimas trabajan mejor bajo condiciones de acidez neutra, por lo que estar en un ambiente altamente alcalino o ácido causará que la reacción se dé de manera más lenta. En casos extremos la reacción puede detenerse por completo. Hay algunos casos en los que requieren condiciones de pH altos, como los relacionados con la digestión.

Otro de los factores capaces de afectar el funcionamiento de la enzima es la concentración de enzimas y sustratos en el sistema. A medida que la concentración de alguno de ellos aumente o decrezca, también lo hará la velocidad de reacción.

Una de las propiedades más importantes y características de las enzimas es su especificidad. Esto significa que únicamente moléculas que tengan la forma correcta pueden ajustarse en el sitio específico de la enzima. Esto es fácil de entender si se le considera a la enzima como una puerta cerrada con seguro, y el sustrato es la llave capaz de abrirla. La idea es que, de manera similar en que únicamente la llave con la forma correcta podrá entrar en la cerradura, únicamente el sustrato con la forma correcta podrá unirse al sitio activo de la enzima. Este modelo es llamado "llave y cerradura".

3. Modelo

La ecuación que representa la reacción enzimática del tipo Michaelis-Menten se representa en la Figura 3. Como puede verse en la figura, la enzima libre se une al sustrato libre y forma el complejo enzima-sustrato; una vez en este punto puede disociarse de modo que se recupera la enzima y sustrato en sus estados libres, o puede darse la reacción en la que se forma un producto y la enzima vuelve a su estado libre, lista para catalizar otra reacción.

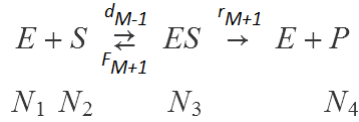


Figura 3: Esquema Michaelis-menten.

Se hace un cambio de nomenclatura de las variables que se muestran en la Figura 3 por las siguientes:

N_1	Concentración de enzimas (E)
N_2	Concentración de sustrato (S)
N_3	Concentración de complejo enzima-sustrato (ES)
N_4	Concentración de producto (P)
N_{10}	Concentración inicial de enzimas
N_{20}	Concentración inicial de sustrato

A primera vista es posible pensar que hay 4 variables independientes, pero considerando que se tienen concentraciones iniciales de enzima y de sustrato, pueden obtenerse las ecuaciones de conservación (3) y (4). Con éstas podemos escribir N_1 y N_4 en términos de N_2 y N_3 , de modo que únicamente N_2 y N_3 serán las variables independientes.

$$N_{10} = N_1 + N_3 \quad (3)$$

$$N_{20} = N_2 + N_3 + N_4 \quad (4)$$

El modelo Michaelis-Menten supone que la concentración inicial de sustrato es mucho mayor que la de enzima, de modo que se deben establecer ciertos rangos que los parámetros deben de seguir:

$$N_{20} \gg N_{10}, N_1 \leq N_{10}, N_3 \leq N_{10} \quad (5)$$

La ecuación enzimática en la Figura 3 puede representarse de otra forma en un espacio llamado "espacio de estados", donde cada punto representa un estado diferente del sistema bajo estudio. Para facilitar la representación en éste, se hace un cambio de notación: $N_2 \rightarrow N$, $N_3 \rightarrow M$. Esto es con el propósito de obtener una ecuación llamada *ecuación maestra* con la que se modela la evolución en el tiempo de un proceso enzimático descrito por la cinética Michaelis-Menten.

El que estemos considerando solo dos variables de las cuatro trae como consecuencia el hecho de que estamos considerando un subsistema dentro de un sistema más grande. Para entender esto considérese un sistema cerrado de volumen V que dentro contiene un subsistema de volumen V_0 como se muestra en la Figura 4. Si las fronteras de V_0 son permeables a las partículas que se encuentran fuera de éste, se tiene un sistema abierto que intercambia partículas y energía. Cuando el sistema se encuentra en equilibrio puede describirse mediante el ensemble de Gibbs. En éste la función fundamental es el potencial Ω_L , conocido como *potencial Omega* o *potencial de Landau* (7), que se calcula

a partir de la gran función de partición (6).

$$Z = \sum_N \sum_j e^{-\frac{(E_j - \mu N)}{k_B T}} \quad (6)$$

$$\Omega_L = -k_B T \ln(Z) \quad (7)$$

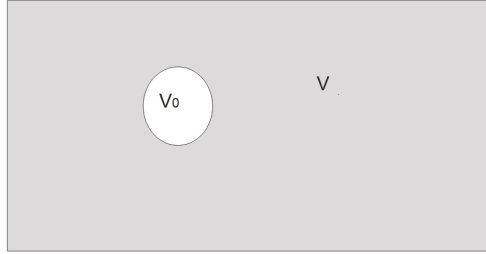


Figura 4: Sistema cerrado de volumen V con subsistema abierto de volumen V_0

A partir de Z puede calcularse el promedio de las partículas dentro de V_0 mediante la expresión (8), además de calcular la varianza del número de partículas N con (9)

$$\langle N \rangle = - \left(\frac{\partial \Omega_L}{\partial \mu} \right)_{V,T} \quad (8)$$

$$\sigma_N^2 = \langle N^2 \rangle - \langle N \rangle^2 = -k_B T \left(\frac{\partial^2 \Omega_L}{\partial \mu^2} \right)_{V,T} = k_B T \left(\frac{\partial \langle N \rangle}{\partial \mu} \right)_{V,T} \quad (9)$$

A partir de (8) y (9) es posible demostrar que en equilibrio se cumple que la fluctuación relativa $\frac{\sigma_N}{\langle N \rangle}$ de la densidad de partículas es del orden de $\langle N \rangle^{-\frac{1}{2}}$, o

$$\begin{aligned} \frac{\sigma_N}{\langle N \rangle} &\sim \frac{1}{\sqrt{\langle N \rangle}} \\ \Rightarrow \sigma_N &\sim \sqrt{\langle N \rangle} \end{aligned}$$

La propuesta de Nico van Kampen, que es la base sobre la que descansa este trabajo, consiste en proponer que fuera del equilibrio existe una relación similar.

Sea Ω una cantidad característica del tamaño del sistema y N es la cantidad de partículas (o cualquier variable aleatoria), entonces su densidad n debe cumplir con la relación

$$N = \Omega n$$

de tal modo que n puede separarse en una parte con comportamiento determinista más una parte con comportamiento estocástico, entonces

$$n = \psi + \frac{1}{\sqrt{\Omega}} \eta$$

donde η es una variable aleatoria. Esto lleva a que N sea una variable aleatoria tal que

$$N = \Omega n = \Omega \left(\psi + \frac{1}{\sqrt{\Omega}} \eta \right) = \Omega \psi + \sqrt{\Omega} \eta$$

$$\Rightarrow N = \Omega \psi + \sqrt{\Omega} \eta$$

Si se conoce ψ y η entonces es posible calcular N .

Este intervalo es sumamente estrecho a nivel macroscópico y se ensancha cuando se trabaja con experimentos a nivel nanométrico. Más adelante en este trabajo se presentarán simulaciones en computadora del sistema bajo estudio, donde N se ubicará en el intervalo $N \in (N - \sqrt{N}, N + \sqrt{N})$.

En el Cuadro 1 se muestran algunos ejemplos con valores involucrados en pequeñas cantidades de sustancias, esto es con propósitos ilustrativos. Es importante hacer notar que, debido a las leyes de conservación, la columna de $N + \frac{1}{\sqrt{N}}$ resulta no ser relevante en las simulaciones del modelo Michaelis-Menten.

N	$\frac{1}{\sqrt{N}}$	\sqrt{N}	$N - \frac{1}{\sqrt{N}}$	$N + \frac{1}{\sqrt{N}}$
200	0.0707107	14.1421	185.858	214.142
1000	0.0316228	31.6228	968.377	1031.62
2000	0.0223607	44.7214	1955.28	2044.72
5000	0.0141421	70.7107	4929.29	5070.71

Cuadro 1: Ejemplo ilustrativo.

Capítulo I

Herramientas Estocásticas

4. Ecuación maestra en dos dimensiones ajustado a la cinética Michaelis-Menten

En esta sección se obtiene una ecuación maestra ya ajustada al estudio de una reacción enzimática tipo Michaelis-Menten. Ésta será útil para describir la evolución en el tiempo de la reacción como si se tratara de un punto que se mueve en un espacio bidimensional, donde cada posición representa un estado diferente del sistema, este espacio recibe el nombre de *espacio de estados*. Un punto que se mueva en este espacio tiene tres tipos de movimientos permitidos, donde cada uno de estos movimientos tiene asociado un paso en el proceso enzimático en todo el sistema. Este espacio y los movimientos pueden verse en la siguiente Figura.

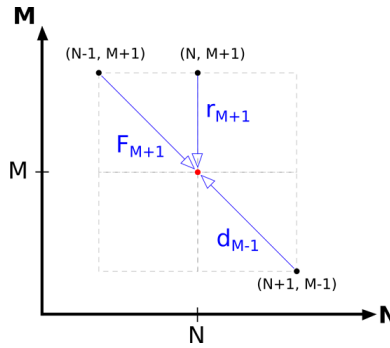


Figura 5: Espacio de estados.

Más adelante, a partir de la *ecuación maestra* (10), se obtendrán un par de ecuaciones diferenciales, no lineales y acopladas que describen la parte macroscópica de naturaleza determinista (75) y (76), y una *ecuación de Fokker-Planck* (EFP) (90) que describirá la parte estocástica del sistema. Si el lector prefiere omitir el procedimiento con las que se obtuvieron, puede pasar al capítulo 2.

Ecuación maestra		
	$\frac{\partial P(N, M, t)}{\partial t} = P(N + 1, M - 1, t) d_{M-1} + P(N, M + 1, t) r_{M+1} + P(N - 1, M + 1, t) F_{M+1} - P(N, M, t) (d_M + r_M + F_M)$	(10)
Ecuaciones deterministas		
Sustrato	$\dot{\psi} = -k'_1 (n_{10} - \phi) \psi + k_2 \phi$	(75)
Complejo enzima-sustrato	$\dot{\phi} = -k'_1 (n_{10} - \phi) \psi - (k_2 + k_3) \phi$	(76)

Ecuación de Fokker-Planck

$$\frac{\partial \Pi}{\partial t} = -\frac{\partial}{\partial q_\mu} [A_\mu \Pi] + \frac{1}{2} \frac{\partial^2 [D_{\mu\nu} \Pi]}{\partial q_\mu \partial q_\nu} \quad (90)$$

Considérese un sistema formado por un número de elementos N y M capaces de reproducirse o desaparecer de manera aleatoria con tasas de reproducción o muerte por unidad de tiempo. Debido a que N y M son variables de naturaleza estocástica, es necesario hacer uso de una descripción probabilística de este fenómeno, por tanto se emplea una probabilidad de que existan N y M elementos en un instante t :

Sea

$P(N, M, t)$ Probabilidad de que ocurra N y M en t .

$I = [t, t + \Delta t]$ Intervalo de tiempo entre t y $t + \Delta t$

Se consideran 4 eventos que pueden ocurrir en I . Cada evento está compuesto por dos eventos específicos.

1^{er} evento Al tiempo t las variables aleatorias están en $(N - 1, M + 1)$ y pasan a (N, M) en I .

$$P(N - 1, M + 1, t) F_{M+1} \Delta t$$

Esto modela cuando «nace» un sustrato y «muere» un complejo ES.

2^o evento Al tiempo t las variables aleatorias están en $(N, M + 1)$ y pasan a (N, M) en I .

$$P(N, M + 1, t) r_{M+1} \Delta t$$

Esto modela cuando «muere» un ES y S queda igual.

3^{er} evento Al tiempo t las variables aleatorias están en $(N + 1, M - 1)$ y pasan a (N, M) en I .

$$P(N + 1, M - 1, t) d_{M-1} \Delta t$$

Esto modela cuando «muere» un S y «nace» un ES .

4^o evento Al tiempo t las variables aleatorias están en (N, M) y permanecen en el mismo punto en I .

$$P(N, M, t) [1 - (d_M + r_M + F_M) \Delta t]$$

Esto modela cuando el proceso no avanza.

La probabilidad de que la variable aleatoria tome el valor (N, M) en $t + \Delta t$ se denota $P(N, M, t + \Delta t)$. Por conservación de la probabilidad, debe de ser la suma de los 4 eventos

$$\begin{aligned}
P(N, M, t + \Delta t) &= P(N + 1, M - 1, t) d_{M-1} \Delta t + P(N, M + 1, t) r_{M+1} \Delta t \\
&\quad + P(N - 1, M + 1, t) F_{M+1} \Delta t \\
&\quad + P(N, M, t) [1 - (d_M + r_M + F_M) \Delta t] \\
\Rightarrow P(N, M, t + \Delta t) - P(N, M, t) &= P(N + 1, M - 1, t) d_{M-1} \Delta t + P(N, M + 1, t) r_{M+1} \Delta t \\
&\quad + P(N - 1, M + 1, t) F_{M+1} \Delta t \\
&\quad - P(N, M, t) (d_M + r_M + F_M) \Delta t \\
\Rightarrow [P(N, M, t + \Delta t) - P(N, M, t)] \frac{1}{\Delta t} &= P(N + 1, M - 1, t) d_{M-1} + P(N, M + 1, t) r_{M+1} \\
&\quad + P(N - 1, M + 1, t) F_{M+1} \\
&\quad - P(N, M, t) (d_M + r_M + F_M)
\end{aligned}$$

Tomando el límite cuando $\Delta t \rightarrow 0$

$$\begin{aligned}
\frac{\partial P(N, M, t)}{\partial t} &= P(N + 1, M - 1, t) d_{M-1} + P(N, M + 1, t) r_{M+1} \quad (10) \\
&\quad + P(N - 1, M + 1, t) F_{M+1} - P(N, M, t) (d_M + r_M + F_M)
\end{aligned}$$

La ecuación 10 es la *ecuación maestra*, describe la evolución temporal de $P(N, M, t)$. Para representarla de una manera más útil matemáticamente, se definen los «operadores de paso».

$$\varepsilon_N f(N, M, t) = f(N + 1, M, t) \quad (11)$$

$$\varepsilon_N^{-1} f(N, M, t) = f(N - 1, M, t) \quad (12)$$

$$\varepsilon_M f(N, M, t) = f(N, M + 1, t) \quad (13)$$

$$\varepsilon_M^{-1} f(N, M, t) = f(N, M - 1, t) \quad (14)$$

Usando los operadores, la ecuación (10) queda como:

$$\begin{aligned}
\frac{\partial P(N, M, t)}{\partial t} &= \varepsilon_N \varepsilon_M^{-1} P(N, M, t) d_M + \varepsilon_M P(N, M, t) r_M \\
&\quad + \varepsilon_N^{-1} \varepsilon_M P(N, M, t) F_M - P(N, M, t) (d_M + r_M + F_M) \\
\Rightarrow \frac{\partial P(N, M, t)}{\partial t} &= [\varepsilon_N \varepsilon_M^{-1} - 1] P(N, M, t) d_M \quad (15) \\
&\quad + [\varepsilon_N^{-1} \varepsilon_M - 1] P(N, M, t) F_M \\
&\quad + [\varepsilon_M - 1] P(N, M, t) r_M
\end{aligned}$$

Una manera más compacta de escribir la ecuación (15) puede obtenerse al definir el operador (16):

$$\hat{\mathcal{L}} = (\varepsilon_N \varepsilon_M^{-1} - 1) d_M + (\varepsilon_M - 1) r_M + (\varepsilon_N^{-1} \varepsilon_M - 1) F_M \quad (16)$$

de modo que la ecuación (15) puede reescribirse como:

$$\frac{\partial P(N, M, t)}{\partial t} = \hat{\mathcal{L}}P(N, M, t)$$

La ecuación (15) está en términos de variables extensivas, esto quiere decir que depende del tamaño del sistema, en este caso la cantidad de enzimas y sustrato en el medio. Los bioquímicos trabajan con concentraciones de estas cantidades dadas en $\frac{mol}{cm^3}$ o unidades similares, por lo que para ellos son variables intensivas; por lo tanto conviene pasar de variables extensivas a intensivas. Esto se hace dividiendo una variable extensiva entre otra variable extensiva, y definiendo este resultado como una nueva variable, ahora intensiva. Con ese propósito se define $\Omega \equiv$ tamaño del sistema, considerando que las unidades de Ω son también *moles*. Entonces

$$\begin{aligned} \Omega &= N_{10} + N_{20} \\ \Rightarrow N_{10} &= \Omega - N_{20} = \Omega - N_2 - N_3 - N_4 \end{aligned} \quad (17)$$

Subsecuentemente

$$n = \frac{N}{\Omega} \quad (18)$$

$$m = \frac{M}{\Omega} \quad (19)$$

donde se tiene que n y m son ahora variables aleatorias, adimensionales e intensivas.

La transformación de variables extensivas a intensivas modifica tanto el lado izquierdo como el derecho de la ecuación maestra. Esto significa que la función $P(N, M, t)$, así como su derivada temporal, deben ser analizadas. El resultado lleva a un conjunto de términos proporcionales a Ω^0 y otro a $\Omega^{\frac{1}{2}}$ a ambos lados de la ecuación. Uno de los méritos de Nico van Kampen es haber captado que tratando por separado estos conjuntos se llega a las ecuaciones deterministas y estocásticas que describen el sistema. El análisis detallado, como se adelantó en la sección anterior, se presenta enseguida haciendo una aproximación de ruido lineal, la cual consiste en descomponer n y m en una parte macroscópica (o parte determinista) y parte microscópica que fluctúa al azar:

$$n = \psi + \frac{1}{\sqrt{\Omega}}\eta \quad (20)$$

$$m = \phi + \frac{1}{\sqrt{\Omega}}\xi \quad (21)$$

donde ξ y η son variables aleatorias cuyas densidades de probabilidad son gaussianas.

Como los operadores (11), (12), (13) y (14) están dados en términos de N y M , es posible reescribirlos en términos de n y m separados en partes determinista y estocástica. Si los valores de N y M son lo suficientemente grandes, sus cambios por unidad de tiempo pueden ser aproximados con un desarrollo en serie de Taylor como si fuesen variables continuas. En ese caso puede seguirse un procedimiento no riguroso con $f(N \pm 1, M, t)$ y $f(N, M \pm 1, t)$:

$$f(n+1, m, t) = \varepsilon_N f(n, m, t) = f + \frac{1}{\sqrt{\Omega}} \frac{\partial}{\partial \eta} f + \frac{1}{2\Omega} \frac{\partial^2}{\partial \eta^2} f + \dots$$

Esto sugiere aproximar el operador ε_N como

$$\varepsilon_N = 1 + \frac{1}{\sqrt{\Omega}} \frac{\partial}{\partial \eta} + \frac{1}{2\Omega} \frac{\partial^2}{\partial \eta^2} \quad (22)$$

El procedimiento previo puede extenderse para los demás operadores de paso, tal que

$$\varepsilon_N^{\pm 1} = 1 \pm \frac{1}{\sqrt{\Omega}} \frac{\partial}{\partial \eta} + \frac{1}{2\Omega} \frac{\partial^2}{\partial \eta^2} \quad (23)$$

$$\varepsilon_M^{\pm 1} = 1 \pm \frac{1}{\sqrt{\Omega}} \frac{\partial}{\partial \xi} + \frac{1}{2\Omega} \frac{\partial^2}{\partial \xi^2} \quad (24)$$

De igual modo pueden trabajarse los diferentes términos del operador (16). Primer término:

$$\begin{aligned} (\varepsilon_N \varepsilon_M^{-1} - 1) &= \left[1 + \frac{1}{\sqrt{\Omega}} \frac{\partial}{\partial \eta} + \frac{1}{2\Omega} \frac{\partial^2}{\partial \eta^2} \right] \left[1 - \frac{1}{\sqrt{\Omega}} \frac{\partial}{\partial \xi} + \frac{1}{2\Omega} \frac{\partial^2}{\partial \xi^2} \right] - 1 \\ &= -1 + 1 - \frac{1}{\sqrt{\Omega}} \frac{\partial}{\partial \xi} + \frac{1}{2\Omega} \frac{\partial^2}{\partial \xi^2} + \frac{1}{\sqrt{\Omega}} \frac{\partial}{\partial \eta} - \frac{1}{\Omega} \frac{\partial}{\partial \eta} \frac{\partial}{\partial \xi} \\ &\quad + \frac{1}{2\Omega^{\frac{3}{2}}} \frac{\partial}{\partial \eta} \frac{\partial^2}{\partial \xi^2} + \frac{1}{2\Omega} \frac{\partial^2}{\partial \eta^2} - \frac{1}{2\Omega^{\frac{3}{2}}} \frac{\partial^2}{\partial \eta^2} \frac{\partial}{\partial \xi} + \frac{1}{4\Omega^2} \frac{\partial^2}{\partial \eta^2} \frac{\partial^2}{\partial \xi^2} \end{aligned}$$

Cortando la aproximación hasta términos cuadráticos

$$(\varepsilon_N \varepsilon_M^{-1} - 1) = -\frac{1}{\sqrt{\Omega}} \left(\frac{\partial}{\partial \xi} - \frac{\partial}{\partial \eta} \right) + \frac{1}{2\Omega} \left(\frac{\partial^2}{\partial \xi^2} - 2 \frac{\partial}{\partial \eta} \frac{\partial}{\partial \xi} + \frac{\partial^2}{\partial \eta^2} \right) \quad (25)$$

Segundo término:

$$\begin{aligned} (\varepsilon_N^{-1} \varepsilon_M - 1) &= \left[1 - \frac{1}{\sqrt{\Omega}} \frac{\partial}{\partial \eta} + \frac{1}{2\Omega} \frac{\partial^2}{\partial \eta^2} \right] \left[1 + \frac{1}{\sqrt{\Omega}} \frac{\partial}{\partial \xi} + \frac{1}{2\Omega} \frac{\partial^2}{\partial \xi^2} \right] - 1 \\ &= 1 + \frac{1}{\sqrt{\Omega}} \frac{\partial}{\partial \xi} + \frac{1}{2\Omega} \frac{\partial^2}{\partial \xi^2} - \frac{1}{\sqrt{\Omega}} \frac{\partial}{\partial \eta} - \frac{1}{\Omega} \frac{\partial}{\partial \eta} \frac{\partial}{\partial \xi} \\ &\quad - \frac{1}{2\Omega^{\frac{3}{2}}} \frac{\partial}{\partial \eta} \frac{\partial^2}{\partial \xi^2} + \frac{1}{2\Omega} \frac{\partial^2}{\partial \eta^2} + \frac{1}{2\Omega^{\frac{3}{2}}} \frac{\partial^2}{\partial \eta^2} \frac{\partial}{\partial \xi} + \frac{1}{4\Omega^2} \frac{\partial^2}{\partial \eta^2} \frac{\partial^2}{\partial \xi^2} - 1 \end{aligned}$$

Una vez más, cortando la aproximación hasta términos cuadráticos

$$(\varepsilon_N^{-1} \varepsilon_M - 1) = \frac{1}{\sqrt{\Omega}} \left(\frac{\partial}{\partial \xi} - \frac{\partial}{\partial \eta} \right) + \frac{1}{2\Omega} \left(\frac{\partial^2}{\partial \xi^2} - 2 \frac{\partial}{\partial \eta} \frac{\partial}{\partial \xi} + \frac{\partial^2}{\partial \eta^2} \right) \quad (26)$$

Tercer término:

$$\begin{aligned} (\varepsilon_M - 1) &= 1 + \frac{1}{\sqrt{\Omega}} \frac{\partial}{\partial \xi} + \frac{1}{2\Omega} \frac{\partial^2}{\partial \xi^2} - 1 \\ \Rightarrow (\varepsilon_M - 1) &= \frac{1}{\sqrt{\Omega}} \frac{\partial}{\partial \xi} + \frac{1}{2\Omega} \frac{\partial^2}{\partial \xi^2} \end{aligned} \quad (27)$$

De aquí se tiene que la *ecuación maestra* puede reescribirse como

$$\frac{\partial}{\partial t} P(N, M, t) = \hat{\mathcal{L}} P(N, M, t) \quad (28)$$

con

$$\begin{aligned} \hat{\mathcal{L}} &= \left\{ -\frac{1}{\sqrt{\Omega}} \left(\frac{\partial}{\partial \xi} - \frac{\partial}{\partial \eta} \right) + \frac{1}{2\Omega} \left(\frac{\partial^2}{\partial \xi^2} - 2 \frac{\partial}{\partial \eta} \frac{\partial}{\partial \xi} + \frac{\partial^2}{\partial \eta^2} \right) \right\} d_M \\ &+ \left\{ \frac{1}{\sqrt{\Omega}} \left(\frac{\partial}{\partial \xi} - \frac{\partial}{\partial \eta} \right) + \frac{1}{2\Omega} \left(\frac{\partial^2}{\partial \xi^2} - 2 \frac{\partial}{\partial \eta} \frac{\partial}{\partial \xi} + \frac{\partial^2}{\partial \eta^2} \right) \right\} F_M \\ &+ \left\{ \frac{1}{\sqrt{\Omega}} \frac{\partial}{\partial \xi} + \frac{1}{2\Omega} \frac{\partial^2}{\partial \xi^2} \right\} r_M \end{aligned} \quad (29)$$

Para conocer la forma que tienen las tasas de transición d_M , F_M y r_M es posible recurrir a la ley de acción de masas, con las que se obtienen las siguientes ecuaciones:

$$d_M = k_1 N_1 N_2 = k_1 (N_{10} - N_3) N_2 = k_1 (N_{10} - M) N \quad (30)$$

$$F_M = k_2 N_3 = k_2 M \quad (31)$$

$$r_M = k_3 N_3 = k_3 M \quad (32)$$

donde k_1 , k_2 , k_3 son las llamadas *velocidades de reacción* o *tasas de reacción* en bioquímica. Puede verse que d_M es una tasa de transición no lineal, por lo tanto, haber hecho la aproximación lineal anteriormente era un paso necesario para poder obtener más adelante una EFP. Cabe mencionar que esta aproximación limita la aplicabilidad del método, pues descansa en el supuesto de que las fluctuaciones van como $\Omega^{-\frac{1}{2}}$. En otras palabras, la aproximación de ruido lineal es aplicable cuando los individuos de la población disminuye, sin embargo, ese proceso de disminución de reactantes tiene una cota inferior, de modo que más abajo de ella la aproximación deja de ser útil. Es por esta razón que más

adelante se recurre a una simulación por computadora usando el algoritmo de Gillespie.

Como d_M , F_M y r_M están escritas en términos de N y M , es necesario pasarlas a n y m como están dadas en (20) y (21). Trabajando el factor que acompaña a k_1 en la ecuación (30)

$$\begin{aligned} (N_{10} - M) N &= \left\{ \Omega n_{10} - \Omega \phi - \sqrt{\Omega} \xi \right\} \left\{ \Omega \psi + \sqrt{\Omega} \eta \right\} \\ &= \Omega^2 n_{10} \psi - \Omega^2 \phi \psi - \Omega^{\frac{3}{2}} \xi \psi + \Omega^{\frac{3}{2}} n_{10} \eta - \Omega^{\frac{3}{2}} \phi \eta - \Omega \xi \eta \end{aligned}$$

Como el término $\Omega \xi \eta$ es no lineal, no se toma en cuenta ya que son pequeñas, y $\xi \eta$ es todavía más pequeño. Entonces

$$(N_{10} - M) N = \Omega^2 (n_{10} \psi - \phi \psi) + \Omega^{\frac{3}{2}} (n_{10} \eta - \phi \eta - \psi \xi) \quad (33)$$

Sustituyendo la ecuación (33) en (30)

$$d_M = \Omega^2 k_1 (n_{10} - \phi) \psi + \Omega^{\frac{3}{2}} k_1 [(n_{10} - \phi) \eta - \psi \xi] \quad (34)$$

Tomando $k'_1 = \Omega k_1$ y escribiendo N y M en su forma intensiva separada en parte determinista y estocástica, se tiene que las ecuaciones (33), (34) y (35) quedan como

$$d_M = \Omega k'_1 (n_{10} - \phi) \psi + \sqrt{\Omega} k'_1 [(n_{10} - \phi) \eta - \psi \xi] \quad (35)$$

$$F_M = k_2 \left(\Omega \phi + \sqrt{\Omega} \xi \right) \quad (36)$$

$$r_M = k_3 \left(\Omega \phi + \sqrt{\Omega} \xi \right) \quad (37)$$

Volviendo al operador (29), se puede reescribir como

$$\hat{\mathcal{L}} = \hat{\mathcal{L}}_1 + \hat{\mathcal{L}}_2 + \hat{\mathcal{L}}_3 \quad (38)$$

donde

$$\hat{\mathcal{L}}_1 = (\varepsilon_N \varepsilon_M^{-1}) d_M = \left[-\frac{1}{\sqrt{\Omega}} \hat{D}_1 + \frac{1}{2\Omega} \hat{D}_2 \right] d_M \quad (39)$$

$$\hat{\mathcal{L}}_2 = (\varepsilon_M - 1) r_M = \left[\frac{1}{\sqrt{\Omega}} \frac{\partial}{\partial \xi} + \frac{1}{2\Omega} \frac{\partial^2}{\partial \xi^2} \right] r_M \quad (40)$$

$$\hat{\mathcal{L}}_3 = (\varepsilon_N^{-1} \varepsilon_M - 1) F_M = \left[\frac{1}{\sqrt{\Omega}} \hat{D}_1 + \frac{1}{2\Omega} \hat{D}_2 \right] F_M \quad (41)$$

siendo

$$\hat{D}_1 = \frac{\partial}{\partial \xi} - \frac{\partial}{\partial \eta} \quad (42)$$

$$\hat{D}_2 = \frac{\partial^2}{\partial \xi^2} + \frac{\partial^2}{\partial \eta^2} - 2 \frac{\partial}{\partial \eta} \frac{\partial}{\partial \xi} \quad (43)$$

Para seguir el cálculo con mayor facilidad es útil hacer un cambio de notación también en las tasas de transición (35), (36) y (37)

$$d_M = \Omega d_\xi^{(1)} + \Omega^{\frac{1}{2}} d_\xi^{(0)} \quad (44)$$

$$F_M = \Omega F_\xi^{(1)} + \Omega^{\frac{1}{2}} F_\xi^{(0)} \quad (45)$$

$$r_M = \Omega r_\xi^{(1)} + \Omega^{\frac{1}{2}} r_\xi^{(0)} \quad (46)$$

con

$$d_\xi^{(1)} = k_1' (n_{10} - \phi) \psi \quad (47)$$

$$d_\xi^{(0)} = k_1' [(n_{10} - \phi) \eta - \psi \xi] \quad (48)$$

$$F_\xi^{(1)} = k_2 \phi \quad (49)$$

$$F_\xi^{(0)} = k_2 \xi \quad (50)$$

$$r_\xi^{(1)} = k_3 \phi \quad (51)$$

$$r_\xi^{(0)} = k_3 \xi \quad (52)$$

Las nuevas formas para d_M , F_M y r_M pueden susrtituirse en el operador $\hat{\mathcal{L}}$, de modo que sus componentes pueden recalcularse

Cálculo de $\hat{\mathcal{L}}_1$

$$\begin{aligned} \hat{\mathcal{L}}_1 &= \left[-\frac{1}{\sqrt{\Omega}} \hat{D}_1 + \frac{1}{2\Omega} \hat{D}_2 \right] \left[\Omega d_\xi^{(1)} + \Omega^{\frac{1}{2}} d_\xi^{(0)} \right] \\ &= -\Omega^{\frac{1}{2}} \hat{D}_1 d_\xi^{(1)} - \Omega^0 \hat{D}_1 d_\xi^{(0)} + \Omega^0 \frac{1}{2} \hat{D}_2 d_\xi^{(1)} + \frac{1}{2\sqrt{\Omega}} \hat{D}_2 d_\xi^{(0)} \end{aligned}$$

Como $\Omega^{-\frac{1}{2}} \ll 1$ se puede ignorar el término que lo acompaña, entonces

$$\hat{\mathcal{L}}_1 = -\Omega^{\frac{1}{2}} \hat{D}_1 d_\xi^{(1)} + \Omega^0 \left[-\hat{D}_1 d_\xi^{(0)} + \frac{1}{2} \hat{D}_2 d_\xi^{(1)} \right] \quad (53)$$

Se calcula $\hat{\mathcal{L}}_2$

$$\begin{aligned}
\hat{\mathcal{L}}_2 &= \left[\frac{1}{\sqrt{\Omega}} \frac{\partial}{\partial \xi} + \frac{1}{2\Omega} \frac{\partial^2}{\partial \xi^2} \right] \left[\Omega r_\xi^{(1)} + \Omega^{\frac{1}{2}} r_\xi^{(0)} \right] \\
&= \Omega^{\frac{1}{2}} \frac{\partial}{\partial \xi} r_\xi^{(1)} + \Omega^{(0)} \frac{\partial}{\partial \xi} r_\xi^{(0)} + \frac{1}{2} \Omega^0 \frac{\partial^2}{\partial \xi^2} r_\xi^{(1)} + \dots \\
\Rightarrow \hat{\mathcal{L}}_2 &\simeq \Omega^{\frac{1}{2}} \frac{\partial}{\partial \xi} r_\xi^{(1)} + \Omega^{(0)} \left[\frac{\partial}{\partial \xi} r_\xi^{(0)} + \frac{1}{2} \frac{\partial^2}{\partial \xi^2} r_\xi^{(1)} \right] \tag{54}
\end{aligned}$$

Ahora se calcula $\hat{\mathcal{L}}_3$

$$\begin{aligned}
\hat{\mathcal{L}}_3 &= \left[\frac{1}{\sqrt{\Omega}} \hat{D}_1 + \frac{1}{2\Omega} \hat{D}_2 \right] \left[\Omega F_\xi^{(1)} + \Omega^{\frac{1}{2}} F_\xi^{(0)} \right] \\
&= \Omega^{\frac{1}{2}} \hat{D}_1 F_\xi^{(1)} + \Omega^0 \hat{D}_1 F_\xi^{(0)} + \frac{1}{2} \Omega^0 \hat{D}_2 F_\xi^{(1)} + \dots \\
\Rightarrow \hat{\mathcal{L}}_3 &= \Omega^{\frac{1}{2}} \hat{D}_1 F_\xi^{(1)} + \Omega^0 \left[\hat{D}_1 F_\xi^{(0)} + \frac{1}{2} \hat{D}_2 F_\xi^{(1)} \right] \tag{55}
\end{aligned}$$

Entonces se tiene que el operador $\hat{\mathcal{L}}$ tiene la forma

$$\begin{aligned}
\hat{\mathcal{L}} &= \Omega^{\frac{1}{2}} \left[-\hat{D}_1 d_\xi^{(1)} + \frac{\partial}{\partial \xi} r_\xi^{(1)} + \hat{D}_1 F_\xi^{(1)} \right] \\
&\quad + \Omega^0 \left[-\hat{D}_1 d_\xi^{(0)} + \frac{\partial}{\partial \xi} r_\xi^{(0)} + \hat{D}_1 F_\xi^{(0)} \right] \\
&\quad + \frac{1}{2} \left(\hat{D}_2 d_\xi^{(1)} + \frac{\partial^2}{\partial \xi^2} r_\xi^{(1)} + \hat{D}_1 F_\xi^{(1)} \right) \tag{56}
\end{aligned}$$

Volviendo a la *ecuación maestra* (28), es necesario también cambiar el lado izquierdo de la igualdad para que su dependencia sea n y m como están dadas en (20) y (21). Trabajando el lado izquierdo de la igualdad:

$$P(N, M, t) = P\left(\Omega\psi(t) + \sqrt{\Omega}\eta(t), \Omega\phi(t) + \sqrt{\Omega}\xi(t), t\right)$$

Se define

$$\Pi(\eta, \xi, t) = P\left(\Omega\psi(t) + \sqrt{\Omega}\eta(t), \Omega\phi(t) + \sqrt{\Omega}\xi(t), t\right) \tag{57}$$

tal que

$$\frac{\partial \Pi}{\partial t} = \frac{\partial P(N, M, t)}{\partial t} + \frac{\partial P(N, M, t)}{\partial N} \frac{dN}{dt} + \frac{\partial P(N, M, t)}{\partial M} \frac{dM}{dt} \tag{58}$$

El lado derecho de la ecuación (58) contiene derivadas temporales de N y M , que se calculan para η y ξ fijas en el espacio de fluctuaciones dejando variar ψ y ϕ , entonces resulta:

$$N = \Omega\psi(t) + \sqrt{\Omega}\eta(t) \Rightarrow \frac{dN}{dt} = \Omega \frac{d\psi}{dt} \quad (59)$$

$$M = \Omega\phi(t) + \sqrt{\Omega}\xi(t) \Rightarrow \frac{dM}{dt} = \Omega \frac{d\phi}{dt} \quad (60)$$

Entonces la ecuación (58) puede reescribirse como

$$\frac{\partial \Pi}{\partial t} = \frac{\partial P(N, M, t)}{\partial t} + \Omega \frac{d\psi}{dt} \frac{\partial P(N, M, t)}{\partial N} + \Omega \frac{d\phi}{dt} \frac{\partial P(N, M, t)}{\partial M} \quad (61)$$

Por otro lado, se tiene que para el caso de un estado cuasiestacionario, es decir, donde ψ y ϕ se encuentran fijas (casi no cambian en el tiempo), y solo cambian los ruidos η y ξ , se tiene que $\Pi = \Pi(\eta, \xi, t)$

$$\frac{\partial P}{\partial N} = \frac{\partial \Pi}{\partial \eta} \frac{\partial \eta}{\partial N} = \frac{\partial \Pi}{\partial \eta} \frac{\partial}{\partial N} \left[\Omega^{-\frac{1}{2}} (N - \Omega\psi) \right] = \Omega^{-\frac{1}{2}} \frac{\partial \Pi}{\partial \eta} \quad (62)$$

$$\frac{\partial P}{\partial M} = \frac{\partial \Pi}{\partial \xi} \frac{\partial \xi}{\partial M} = \frac{\partial \Pi}{\partial \xi} \frac{\partial}{\partial M} \left[\Omega^{-\frac{1}{2}} (M - \Omega\phi) \right] = \Omega^{-\frac{1}{2}} \frac{\partial \Pi}{\partial \xi} \quad (63)$$

entonces la ecuación (61) queda como

$$\frac{\partial \Pi}{\partial t} = \frac{\partial P(N, M, t)}{\partial t} + \Omega \frac{d\psi}{dt} \Omega^{-\frac{1}{2}} \frac{\partial \Pi}{\partial \eta} + \Omega \frac{d\phi}{dt} \Omega^{-\frac{1}{2}} \frac{\partial \Pi}{\partial \xi} \quad (64)$$

Por lo tanto, el lado izquierdo de la *ecuación maestra* tiene la forma siguiente

$$\frac{\partial P(N, M, t)}{\partial t} = \frac{\partial \Pi}{\partial t} - \Omega^{\frac{1}{2}} \frac{d\psi}{dt} \frac{\partial \Pi}{\partial \eta} - \Omega^{\frac{1}{2}} \frac{d\phi}{dt} \frac{\partial \Pi}{\partial \xi} \quad (65)$$

Hasta aquí ya se tiene la forma del operador $\hat{\mathcal{L}}$ en términos de n y m haciendo uso del desarrollo de van Kampen, y $P(N, M, t)$ de modo tal que esté en términos de los ruidos η y ξ . Ahora se sustituyen (65) y (56) en (28), entonces la *ecuación maestra* toma la forma:

$$\begin{aligned} \frac{\partial \Pi}{\partial t} - \Omega^{\frac{1}{2}} \left[\dot{\psi} \frac{\partial \Pi}{\partial \eta} + \dot{\phi} \frac{\partial \Pi}{\partial \xi} \right] &= \Omega^{\frac{1}{2}} \left[-\hat{D}_1 d_\xi^{(1)} + \frac{\partial}{\partial \xi} r_\xi^{(1)} + \hat{D}_1 F_\xi^{(1)} \right] \\ &+ \Omega^0 \left[-\hat{D}_1 d_\xi^{(0)} + \frac{\partial}{\partial \xi} r_\xi^{(0)} + \hat{D}_1 F_\xi^{(0)} \right] \\ &+ \frac{1}{2} \left(\hat{D}_2 d_\xi^{(1)} + \frac{\partial^2}{\partial \xi^2} r_\xi^{(1)} + \hat{D}_1 F_\xi^{(1)} \right) \Pi(\eta, \xi, t) \end{aligned} \quad (66)$$

Se pueden comparar coeficientes en ambos lados de la ecuación. Empezando con los que acompañan a $\Omega^{\frac{1}{2}}$ se tiene que

$$\hat{D}_1 \left[-d_\xi^{(1)} + F_\xi^{(1)} \right] \Pi + \frac{\partial}{\partial \xi} r_\xi^{(1)} \Pi = -\dot{\psi} \frac{\partial \Pi}{\partial \eta} - \dot{\phi} \frac{\partial \Pi}{\partial \xi} \quad (67)$$

Seguido de los coeficientes que acompañan a Ω^0

$$\hat{D}_1 \left[-d_\xi^{(0)} + F_\xi^{(0)} \right] \Pi + \frac{\partial}{\partial \xi} r_\xi^{(0)} \Pi + \frac{1}{2} \left[\hat{D}_2 \left(d_\xi^{(1)} + F_\xi^{(1)} \right) + \frac{\partial^2}{\partial \xi^2} r_\xi^{(1)} \right] \Pi = \frac{\partial \Pi}{\partial t} \quad (68)$$

5. Obteniendo las ecuaciones para la parte determinista (parte macroscópica):

En esta sección se obtienen las ecuaciones para la parte determinista del problema a partir de la parte que acompaña a $\Omega^{\frac{1}{2}}$ de la *ecuación maestra*. Éstas serán útiles para estudiar la parte macroscópica del fenómeno, además se obtendrá como caso particular el modelo de Michaelis-Menten que se usa en bioquímica.

Se trabaja la ecuación (67), se multiplica por una $G(\eta, \xi)$ arbitraria y se integra en $-\infty < \xi < \infty$ y $-\infty < \eta < \infty$, en el instante t .

$$\begin{aligned} & \int_{-\infty}^{\infty} d\eta \int_{-\infty}^{\infty} d\xi G(\eta, \xi) \hat{D}_1 \left[-d_\xi^{(1)} + F_\xi^{(1)} \right] \Pi + \int_{-\infty}^{\infty} d\eta \int_{-\infty}^{\infty} d\xi G(\eta, \xi) \frac{\partial}{\partial \xi} \left[r_\xi^{(1)} \Pi \right] \\ = & - \left\{ \int_{-\infty}^{\infty} d\eta \int_{-\infty}^{\infty} d\xi \dot{\psi} G(\eta, \xi) \frac{\partial \Pi}{\partial \eta} + \int_{-\infty}^{\infty} d\eta \int_{-\infty}^{\infty} d\xi \dot{\phi} G(\eta, \xi) \frac{\partial \Pi}{\partial \xi} \right\} \quad (69) \end{aligned}$$

Se trabaja la primera integral del lado izquierdo de la igualdad de (69)

$$\begin{aligned} & \int_{-\infty}^{\infty} d\eta \int_{-\infty}^{\infty} d\xi G(\eta, \xi) \hat{D}_1 \left[-d_\xi^{(1)} + F_\xi^{(1)} \right] \Pi \\ = & \int_{-\infty}^{\infty} d\eta \int_{-\infty}^{\infty} d\xi G(\eta, \xi) \left[-d_\xi^{(1)} + F_\xi^{(1)} \right] \left(\frac{\partial}{\partial \xi} - \frac{\partial}{\partial \eta} \right) \Pi \\ = & \int_{-\infty}^{\infty} d\eta \int_{-\infty}^{\infty} d\xi G(\eta, \xi) \left[-d_\xi^{(1)} + F_\xi^{(1)} \right] \frac{\partial \Pi}{\partial \xi} \\ & - \int_{-\infty}^{\infty} d\eta \int_{-\infty}^{\infty} d\xi G(\eta, \xi) \left[-d_\xi^{(1)} + F_\xi^{(1)} \right] \frac{\partial \Pi}{\partial \eta} \\ = & I_1 - I_2 \end{aligned}$$

Se trabaja I_1

$$I_1 = \int_{-\infty}^{\infty} d\eta \int_{-\infty}^{\infty} d\xi G(\eta, \xi) \left[-d_\xi^{(1)} + F_\xi^{(1)} \right] \frac{\partial \Pi}{\partial \xi}$$

Se resuelve integrando por partes de la siguiente manera

$$\begin{aligned}
u &= \left[-d_\xi^{(1)} + F_\xi^{(1)} \right] G(\eta, \xi) \\
v &= \Pi \\
du &= \frac{\partial}{\partial \xi} \left(\left[-d_\xi^{(1)} + F_\xi^{(1)} \right] G(\eta, \xi) \right) \\
dv &= \frac{\partial \Pi}{\partial \xi} d\xi
\end{aligned}$$

entonces

$$\begin{aligned}
I_1 &= \int_{-\infty}^{\infty} d\eta G(\eta, \xi) \left[-d_\xi^{(1)} + F_\xi^{(1)} \right] \Pi \Big|_{-\infty}^{\infty} \\
&\quad - \int_{-\infty}^{\infty} d\eta \int_{-\infty}^{\infty} d\xi \frac{\partial G(\eta, \xi)}{\partial \xi} \left[-d_\xi^{(1)} + F_\xi^{(1)} \right] \Pi
\end{aligned}$$

Debido a que $\Pi(\eta, \pm\infty) = \Pi(\pm\infty, \xi) = 0$, ya que Π es una distribución de probabilidad, la integral queda como

$$I_1 = - \int_{-\infty}^{\infty} d\eta \int_{-\infty}^{\infty} d\xi \frac{\partial G(\eta, \xi)}{\partial \xi} \left[-d_\xi^{(1)} + F_\xi^{(1)} \right] \Pi$$

Ahora se trabaja I_2 de manera análoga

$$\begin{aligned}
I_2 &= \int_{-\infty}^{\infty} d\eta \int_{-\infty}^{\infty} d\xi G(\eta, \xi) \left[-d_\xi^{(1)} + F_\xi^{(1)} \right] \frac{\partial \Pi}{\partial \xi} \\
&= \int_{-\infty}^{\infty} d\xi G(\eta, \xi) \left[-d_\xi^{(1)} + F_\xi^{(1)} \right] \Pi \Big|_{-\infty}^{\infty} \\
&\quad - \int_{-\infty}^{\infty} d\eta \int_{-\infty}^{\infty} d\xi \frac{\partial G(\eta, \xi)}{\partial \eta} \left[-d_\xi^{(1)} + F_\xi^{(1)} \right] \Pi \\
&= - \int_{-\infty}^{\infty} d\eta \int_{-\infty}^{\infty} d\xi \frac{\partial G(\eta, \xi)}{\partial \eta} \left[-d_\xi^{(1)} + F_\xi^{(1)} \right] \Pi
\end{aligned}$$

Entonces, la primera integral queda como

$$- \int_{-\infty}^{\infty} d\eta \int_{-\infty}^{\infty} d\xi \frac{\partial G(\eta, \xi)}{\partial \xi} \left[-d_\xi^{(1)} + F_\xi^{(1)} \right] \Pi \quad (70)$$

$$\begin{aligned}
&+ \int_{-\infty}^{\infty} d\eta \int_{-\infty}^{\infty} d\xi \frac{\partial G(\eta, \xi)}{\partial \eta} \left[-d_\xi^{(1)} + F_\xi^{(1)} \right] \Pi \\
= & - \left\langle \frac{\partial G(\eta, \xi)}{\partial \xi} \left[-d_\xi^{(1)} + F_\xi^{(1)} \right] \right\rangle + \left\langle \frac{\partial G(\eta, \xi)}{\partial \eta} \left[-d_\xi^{(1)} + F_\xi^{(1)} \right] \right\rangle \quad (71)
\end{aligned}$$

La segunda integral del lado izquierdo de la igualdad de (69) se trabaja de manera similar a la primera

$$\begin{aligned} \int_{-\infty}^{\infty} d\eta \int_{-\infty}^{\infty} d\xi G(\eta, \xi) r_{\xi}^{(1)} \frac{\partial \Pi}{\partial \xi} &= - \int_{-\infty}^{\infty} d\eta \int_{-\infty}^{\infty} d\xi \frac{\partial G(\eta, \xi)}{\partial \eta} r_{\xi}^{(1)} \Pi \\ &= - \left\langle \frac{\partial G(\eta, \xi)}{\partial \xi} r_{\xi}^{(1)} \right\rangle \end{aligned} \quad (72)$$

Subsecuentemente, se trabaja el lado derecho de (69)

$$\begin{aligned} &- \int_{-\infty}^{\infty} d\eta \int_{-\infty}^{\infty} d\xi \dot{\psi} \frac{\partial \Pi}{\partial \eta} G(\eta, \xi) - \int_{-\infty}^{\infty} d\eta \int_{-\infty}^{\infty} d\xi \dot{\phi} \frac{\partial \Pi}{\partial \xi} G(\eta, \xi) \\ &= \int_{-\infty}^{\infty} d\eta \int_{-\infty}^{\infty} d\xi \dot{\psi} \Pi \frac{\partial G(\eta, \xi)}{\partial \eta} + \int_{-\infty}^{\infty} d\eta \int_{-\infty}^{\infty} d\xi \dot{\phi} \Pi \frac{\partial G(\eta, \xi)}{\partial \xi} \\ &= \left\langle \dot{\psi} \frac{\partial G(\eta, \xi)}{\partial \eta} \right\rangle + \left\langle \dot{\phi} \frac{\partial G(\eta, \xi)}{\partial \xi} \right\rangle \end{aligned} \quad (73)$$

Sustituyendo las ecuaciones (71), (72) y (73) en (69), se obtiene:

$$\begin{aligned} &- \left\langle \frac{\partial G(\eta, \xi)}{\partial \xi} \left[-d_{\xi}^{(1)} + F_{\xi}^{(1)} \right] \right\rangle + \left\langle \frac{\partial G(\eta, \xi)}{\partial \eta} \left[-d_{\xi}^{(1)} + F_{\xi}^{(1)} \right] \right\rangle - \left\langle \frac{\partial G(\eta, \xi)}{\partial \xi} r_{\xi}^{(1)} \right\rangle \\ &= \left\langle \dot{\psi} \frac{\partial G(\eta, \xi)}{\partial \eta} \right\rangle + \left\langle \dot{\phi} \frac{\partial G(\eta, \xi)}{\partial \xi} \right\rangle \end{aligned} \quad (74)$$

Se toma el caso particular en el que $G(\eta, \xi) = \eta \Rightarrow \frac{\partial G(\eta, \xi)}{\partial \xi} = 0$, entonces la ecuación (74) toma la forma

$$\left\langle \dot{\psi} \right\rangle = \left\langle -d_{\xi}^{(1)} + F_{\xi}^{(1)} \right\rangle = \langle -k_1' (n_{10} - \phi) \psi + k_2 \phi \rangle$$

pero como la parte aleatoria se encuentra separada como se indicó en (20) y (21), entonces

$$\dot{\psi} = -k_1' (n_{10} - \phi) \psi + k_2 \phi \quad (75)$$

Ahora considerando el caso en el que $G(\eta, \xi) = \xi \Rightarrow \frac{\partial G(\eta, \xi)}{\partial \eta} = 0$, entonces la ecuación (74) toma la forma

$$\begin{aligned} - \left\langle \frac{\partial G(\eta, \xi)}{\partial \xi} \left[-d_{\xi}^{(1)} + F_{\xi}^{(1)} \right] \right\rangle - \left\langle \frac{\partial G(\eta, \xi)}{\partial \xi} r_{\xi}^{(1)} \right\rangle &= \left\langle \dot{\phi} \frac{\partial G(\eta, \xi)}{\partial \xi} \right\rangle \\ \Rightarrow - \left\langle -d_{\xi}^{(1)} + F_{\xi}^{(1)} + r_{\xi}^{(1)} \right\rangle &= \left\langle \dot{\phi} \right\rangle \\ \Rightarrow \dot{\phi} = k_1' (n_{10} - \phi) \psi - (k_2 + k_3) \phi \end{aligned} \quad (76)$$

La ecuación de evolución temporal del sustrato es $\dot{\phi}$ (76), y la ecuación de evolución para el complejo enzima-sustrato es $\dot{\psi}$ (75), sus unidades son $\frac{1}{s}$. En la sección 7 se verá que el model de Michaelis-Menten resulta ser un caso particular de estas dos ecuaciones.

6. Obtención de la ecuación de Fokker-Planck

En esta sección se obtiene la *ecuación de Fokker-Planck* que será útil para describir la parte de las fluctuaciones estocásticas del problema, para ello se parte de los términos que acompañan a Ω^0 en la *ecuación maestra* (66).

Se trabaja (68). Es importante notar que $d_\xi^{(1)}$, $F_\xi^{(1)}$ y $r_\xi^{(1)}$ no depende de η o ξ ; pero $d_\xi^{(0)}$, $F_\xi^{(0)}$ y $r_\xi^{(0)}$ sí. Sustituyendo (42) y (43) en (68)

$$\begin{aligned} \left(\frac{\partial}{\partial \xi} - \frac{\partial}{\partial \eta} \right) \left\{ \left[-d_\xi^{(0)} + F_\xi^{(0)} \right] \Pi \right\} + \frac{\partial}{\partial \xi} \left[r_\xi^{(0)} \Pi \right] + \frac{1}{2} \left\{ \left(\frac{\partial^2}{\partial \eta^2} + \frac{\partial^2}{\partial \xi^2} \right. \right. \\ \left. \left. - 2 \frac{\partial}{\partial \eta} \frac{\partial}{\partial \xi} \right) \left(d_\xi^{(1)} + F_\xi^{(1)} \right) + \frac{\partial^2}{\partial \xi^2} r_\xi^{(1)} \right\} \Pi = \frac{\partial \Pi}{\partial t} \end{aligned} \quad (77)$$

La ecuación de Fokker-Planck está dada por la ecuación (77), pero es conveniente darle una forma más familiar.

El término de convección sale de las primeras derivadas

$$\begin{aligned} \left(\frac{\partial}{\partial \xi} - \frac{\partial}{\partial \eta} \right) \left\{ \left[-d_\xi^{(0)} + F_\xi^{(0)} \right] \Pi \right\} + \frac{\partial}{\partial \xi} \left[r_\xi^{(0)} \Pi \right] \\ = \frac{\partial}{\partial \xi} \left[\left(-d_\xi^{(0)} + F_\xi^{(0)} + r_\xi^{(0)} \right) \Pi \right] - \frac{\partial}{\partial \eta} \left[\left(-d_\xi^{(0)} + F_\xi^{(0)} \right) \Pi \right] \end{aligned} \quad (78)$$

Sustituyendo de (47) a (52) en (78), y haciendo un cambio de notación simple de $q_1 = \eta$ y $q_2 = \xi$

$$\begin{aligned} \frac{\partial}{\partial \xi} \left\{ \left[-k'_1 (n_{10} - \phi) \eta + k'_1 \psi \xi + k_2 \xi + k_3 \xi \right] \Pi \right\} \\ - \frac{\partial}{\partial \eta} \left\{ \left[-k'_1 (n_{10} - \phi) \eta + k'_1 \psi \xi + k_2 \xi \right] \Pi \right\} \end{aligned} \quad (79)$$

Entonces, sea

$$\frac{\partial (A_\mu \Pi)}{\partial q_\mu} = \frac{\partial (A_1 \Pi)}{\partial q_1} + \frac{\partial (A_2 \Pi)}{\partial q_2} \quad (80)$$

con $\mu = 1, 2$, donde

$$A_1 = -k'_1 (n_{10} - \phi) \eta + (k'_1 \psi + k_2) \xi \quad (81)$$

$$A_2 = k'_1 (n_{10} - \phi) \eta + [-k'_1 \psi - (k_2 + k_3)] \xi \quad (82)$$

Puede resultar conveniente escribir la ecuación de Fokker-Planck en forma matricial:

$$\begin{aligned}
\begin{bmatrix} A_1 \\ A_2 \end{bmatrix} &= \begin{bmatrix} -k'_1(n_{10} - \phi) & k'_1\psi + k_2 \\ k'_1(n_{10} - \phi) & -k'_1\psi - (k_2 + k_3) \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \eta \\ \xi \end{bmatrix} \\
&= \begin{bmatrix} L_{11} & L_{12} \\ L_{21} & L_{22} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} q_1 \\ q_2 \end{bmatrix}
\end{aligned} \tag{83}$$

siendo $L = \begin{bmatrix} -k'_1(n_{10} - \phi) & k'_1\psi + k_2 \\ k'_1(n_{10} - \phi) & -k'_1\psi - (k_2 + k_3) \end{bmatrix}$ la matriz de convección. El término de difusión se obtiene de las segundas derivadas de (77)

$$\begin{aligned}
&\frac{1}{2} \left\{ \left(\frac{\partial^2}{\partial \eta^2} + \frac{\partial^2}{\partial \xi^2} - 2 \frac{\partial}{\partial \eta} \frac{\partial}{\partial \xi} \right) \left(d_\xi^{(1)} + F_\xi^{(1)} \right) + \frac{\partial^2}{\partial \xi^2} r_\xi^{(1)} \right\} \Pi \\
&= \frac{1}{2} \frac{\partial^2}{\partial \eta^2} \left[\left(d_\xi^{(1)} + F_\xi^{(1)} \right) \Pi \right] + \frac{1}{2} \frac{\partial^2}{\partial \xi^2} \left[\left(d_\xi^{(1)} + F_\xi^{(1)} + r_\xi^{(1)} \right) \Pi \right] \\
&\quad - \frac{\partial^2}{\partial \eta \partial \xi} \left[\left(d_\xi^{(1)} + F_\xi^{(1)} \right) \Pi \right]
\end{aligned} \tag{84}$$

Para escribir de manera más compacta el término anterior es posible hacer lo siguiente:

$$\begin{aligned}
\frac{1}{2} \frac{\partial^2}{\partial q_\mu \partial q_\nu} [D_{\mu\nu} \Pi] &= \frac{1}{2} \left\{ \frac{\partial^2 D_{\mu 1} \Pi}{\partial q_\mu \partial q_1} + \frac{\partial^2 D_{\mu 2} \Pi}{\partial q_\mu \partial q_2} \right\} \\
&= \frac{1}{2} \left\{ \frac{\partial^2 D_{11} \Pi}{\partial q_1 \partial q_1} + \frac{\partial^2 D_{21} \Pi}{\partial q_2 \partial q_1} + \frac{\partial^2 D_{12} \Pi}{\partial q_1 \partial q_2} + \frac{\partial^2 D_{22} \Pi}{\partial q_2 \partial q_2} \right\} \\
\Rightarrow \frac{1}{2} \frac{\partial^2}{\partial q_\mu \partial q_\nu} [D_{\mu\nu} \Pi] &= \frac{1}{2} \left\{ \frac{\partial^2 D_{11} \Pi}{\partial q_1 \partial q_1} + 2 \frac{\partial^2 D_{12} \Pi}{\partial q_1 \partial q_2} + \frac{\partial^2 D_{22} \Pi}{\partial q_2 \partial q_2} \right\}
\end{aligned} \tag{85}$$

con $\mu = 1, 2$ y $\nu = 1, 2$. Considerando que $D_{12} = D_{21}$, se compara (84) y (85) y sustituye de (47) a (52), entonces puede verse que

$$D_{11} = d_\xi^{(1)} + F_\xi^{(1)} = k'_1(n_{10} - \phi)\psi + k_2\phi \tag{86}$$

$$D_{22} = d_\xi^{(1)} + F_\xi^{(1)} + r_\xi^{(1)} = k'_1(n_{10} - \phi)\psi + (k_2 + k_3)\phi \tag{87}$$

$$D_{12} = -d_\xi^{(1)} - F_\xi^{(1)} = -k'_1(n_{10} - \phi)\psi - k_2\phi \tag{88}$$

Siendo la matriz de difusión

$$D = \begin{bmatrix} D_{11} & D_{12} \\ D_{12} & D_{22} \end{bmatrix} \tag{89}$$

Usando las expresiones anteriores podemos escribir la *ecuación de Fokker-Planck* en una forma que es familiar en los textos

$$\frac{\partial \Pi}{\partial t} = - \frac{\partial}{\partial q_\mu} [A_\mu \Pi] + \frac{1}{2} \frac{\partial^2}{\partial q_\mu \partial q_\nu} [D_{\mu\nu} \Pi] \tag{90}$$

Con el término de convección dado como $A_\mu = L_{\mu\nu}q_\nu$ y la matriz de convección L dada como se indica en la ecuación (83).

La solución general[13] de (90) toma la forma siguiente:

$$\Pi(\vec{q}, t) = \frac{1}{2\pi\sqrt{\det(\Xi(t))}} e^{-\frac{1}{2}(q_\mu - \langle q_\mu(t) \rangle)\Xi^{-1}(t)(q_\nu - \langle q_\nu(t) \rangle)} \quad (91)$$

donde $\Xi(t) = \langle q_\mu q_\nu \rangle - \langle q_\mu \rangle \langle q_\nu \rangle$ es la matriz de autocorrelación y $\Xi^{-1}(t)$ es su inversa.

Cuando los experimentos con enzimas y sustratos involucran cantidades del orden de micromoles la distribución gaussiana es extremadamente aguda, de tal modo que los promedios resultan suficientes para la descripción del sistema y el ruido se puede considerar irrelevante. En cambio conforme el número de moléculas participantes se reduce a miles, centenares o hasta una enzima actuando, la anchura de la distribución gaussiana toma importancia y con ella los ruidos que son materia de este trabajo.

En la física estadística, la entropía se define de la siguiente manera[13]:

$$S(t) = -\langle \ln \Pi(\vec{q}, t) \rangle = - \int_{-\infty}^{\infty} dq_1 \int_{-\infty}^{\infty} dq_2 \Pi(\vec{q}, t) \ln [\Pi(\vec{q}, t)] \quad (92)$$

Sustituyendo la solución general en la expresión para la entropía resulta[24]:

$$S(t) = \frac{1}{2} \ln [\det(\Xi(t))] + \ln(2\pi e) \quad (93)$$

Dados dos instantes de tiempo $t_1 < t_2$, el cambio en la entropía es:

$$\Delta S = S(t_2) - S(t_1) = \frac{1}{2} \ln \left[\frac{\det(\Xi(t_2))}{\det(\Xi(t_1))} \right]$$

de modo que la condición $\Delta S \geq 0$ se traduce en que se debe cumplir que

$$\frac{\det(\Xi(t_2))}{\det(\Xi(t_1))} \geq 1$$

Capítulo II

Estudio Analítico

7. Estudio del estado de equilibrio macroscópico

Ahora se estudia el comportamiento de las ecuaciones macroscópicas para el caso en equilibrio, para analizar si este es estable o no. Este estado se alcanza una vez que la reacción ha terminado, es decir, todo el sustrato se ha convertido en producto y la concentración de complejo enzima-sustrato ha vuelto a cero.

Se considera que $k'_1 = k_2 = k_3 = 1$, y se resuelven las ecuaciones (75) y (76) para el estado de equilibrio, el cual se denota como (ψ_e, ϕ_e) y es tal que

$$\dot{\psi}_e = 0, \dot{\phi}_e = 0 \quad (94)$$

Entonces las ecuaciones (75) y (76) quedan:

$$-k'_1 (n_{10} - \phi_e) \psi_e + k_2 \phi_e = 0 \quad (95)$$

$$k'_1 (n_{10} - \phi_e) \psi_e - (k_2 + k_3) \phi_e = 0 \quad (96)$$

Sumando (95) y (96), se tiene:

$$k_3 \phi_e = 0 \Rightarrow \phi_e = 0 \quad (97)$$

Sustituyendo (97) en (95):

$$-k'_1 n_{10} \psi_e = 0 \Rightarrow \psi_e = 0 \quad (98)$$

Como se había adelantado, el equilibrio se alcanza en $(\psi_e, \phi_e) = 0$. De la ecuación de conservación del número de enzimas result

$$\begin{aligned} n_{10} &= n_1 + n_3 \Rightarrow n_{10} = n_1^e + n_3^e = n_1^e + \left(\phi_e + \frac{1}{\sqrt{\Omega}} \xi \right) \\ \Rightarrow n_{10} &= n_1^e + \frac{1}{\sqrt{\Omega}} \xi \end{aligned} \quad (99)$$

De la ecuación (99) se concluye que, salvo el ruido, todas las enzimas regresan al estado n_{10}

También, de manera similar, a partir de la conservación del número de moléculas de sustrato se obtiene

$$\begin{aligned} n_{20} &= n_2 + n_3 + n_4 = \psi_e + \frac{\eta}{\sqrt{\Omega}} + \phi_e + \frac{\xi}{\sqrt{\Omega}} + n_4 \\ \Rightarrow n_{20} &= \frac{1}{\sqrt{\Omega}} (\eta + \xi) + n_4 \end{aligned} \quad (100)$$

De (100) se tiene que, salvo el ruido, todo el sustrato se convierte en producto. En el capítulo 4 se verá que las simulaciones en computadora de la ecuación (2) respaldan esta conclusión.

Todavía hace falta analizar si el estado de equilibrio que alcanzan las ecuaciones (95) y (96) es estable. La técnica estándar consiste en linealizar las ecuaciones de evolución temporal para estudiar su conducta muy cerca del equilibrio, para ello se lleva a cabo un desarrollo en serie de Taylor de las ecuaciones (75) y (76). Sea el lado izquierdo de (95) y (96):

$$f_1(\psi, \phi) = -k'_1(n_{10} - \phi_e)\psi_e + k_2\phi_e \quad (101)$$

$$f_2(\psi, \phi) = k'_1(n_{10} - \phi_e)\psi_e - (k_2 + k_3)\phi_e \quad (102)$$

Para $f_1(\psi, \phi)$ se obtiene:

$$f_1(\psi, \phi) = f_1 \Big|_{(0,0)} + \frac{\partial f_1}{\partial \psi} \Big|_{(0,0)} \psi_e + \frac{\partial f_1}{\partial \phi} \Big|_{(0,0)} \phi_e + \dots \quad (103)$$

Analizando cada uno de los componentes de (103)

$$\begin{aligned} f_1 \Big|_{(0,0)} &= 0 \\ \frac{\partial f_1}{\partial \psi} \Big|_{(0,0)} &= [-k'_1 n_{10} + k'_1 \phi]_{(0,0)} = -k'_1 n_{10} \\ \frac{\partial f_1}{\partial \phi} \Big|_{(0,0)} &= [k'_1 \psi + k_2]_{(0,0)} = k_2 \end{aligned}$$

Entonces

$$f_1(\psi, \phi) = 0 - k'_1 n_{10} \psi_e + k_2 \phi_e + \dots \quad (104)$$

Ahora se sigue con $f_2(\psi, \phi)$

$$f_2(\psi, \phi) = f_2 \Big|_{(0,0)} + \frac{\partial f_2}{\partial \psi} \Big|_{(0,0)} \psi_e + \frac{\partial f_2}{\partial \phi} \Big|_{(0,0)} \phi_e + \dots \quad (105)$$

Analizando cada uno de los componentes de (105)

$$\begin{aligned} f_2 \Big|_{(0,0)} &= 0 \\ \frac{\partial f_2}{\partial \psi} \Big|_{(0,0)} &= [k'_1 n_{10} - k'_1 \phi]_{(0,0)} = k'_1 n_{10} \\ \frac{\partial f_2}{\partial \phi} \Big|_{(0,0)} &= [-k'_1 \psi - (k_2 + k_3)]_{(0,0)} = -(k_2 + k_3) \end{aligned}$$

Entonces

$$f_2(\psi, \phi) = 0 + k'_1 n_{10} \psi_e - (k_2 + k_3) \phi_e + \dots \quad (106)$$

De (104) y (106) puede concluirse que las ecuaciones macroscópicas (75) y (76) toman la forma siguiente muy cerca del equilibrio

$$\dot{\psi} = -k'_1 n_{10} \psi + k_2 \phi \quad (107)$$

$$\dot{\phi} = k'_1 n_{10} \psi - (k_2 + k_3) \phi \quad (108)$$

O en forma de matriz

$$\frac{d}{dt} \begin{bmatrix} \psi \\ \phi \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} -k'_1 n_{10} & k_2 \\ k'_1 n_{10} & -(k_2 + k_3) \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \psi \\ \phi \end{bmatrix} \quad (109)$$

El análisis de estabilidad se realiza mediante la obtención de los eigenvalores que aparece en la ecuación (109). Si los eigenvalores de la matriz son reales negativos, entonces $\psi(t)$ y $\phi(t)$ decaen exponencialmente al estado de equilibrio y se podrá decir que hay estabilidad. Los eigenvalores de la matriz $\begin{bmatrix} -k'_1 n_{10} & k_2 \\ k'_1 n_{10} & -(k_2 + k_3) \end{bmatrix}$ son

$$\lambda_1 = \frac{1}{2} \left[-k'_1 n_{10} - k_2 - k_3 - \sqrt{-4k'_1 k_3 n_{10} + (k'_1 n_{10} + k_2 + k_3)^2} \right] \quad (110)$$

$$\lambda_2 = \frac{1}{2} \left[-k'_1 n_{10} - k_2 - k_3 + \sqrt{-4k'_1 k_3 n_{10} + (k'_1 n_{10} + k_2 + k_3)^2} \right] \quad (111)$$

Ahora se prosigue a hacer un análisis de λ_1 y λ_2 , yendo término por término. Se tiene que por definición

$$k'_1 n_{10} > 0, k_2 > 0, k_3 > 0$$

Además

$$4k'_1 k_3 n_{10} > 0 \Rightarrow -4k'_1 k_3 n_{10} < 0$$

También

$$(k'_1 n_{10} + k_2 + k_3)^2 > 0$$

Entonces se tiene que

$$-4k'_1 k_3 n_{10} + (k'_1 n_{10} + k_2 + k_3)^2 < (k'_1 n_{10} + k_2 + k_3)^2$$

Sacando raíz

$$\begin{aligned} \pm \sqrt{-4k'_1 k_3 n_{10} + (k'_1 n_{10} + k_2 + k_3)^2} &< k'_1 n_{10} + k_2 + k_3 \\ -(k'_1 n_{10} + k_2 + k_3) \pm \sqrt{-4k'_1 k_3 n_{10} + (k'_1 n_{10} + k_2 + k_3)^2} &< 0 \end{aligned} \quad (112)$$

Entonces

$$\lambda_1 < 0 \quad (113)$$

$$\lambda_2 < 0 \quad (114)$$

Por lo tanto, si $\lambda_1 < 0$ y $\lambda_2 < 0$ entonces se tiene que las soluciones linealmente independientes $\{e^{\lambda_1 t}, e^{\lambda_2 t}\}$ se van a 0, entonces $(\psi_e, \phi_e) = (0, 0)$ es un estado atractor[25].

Los resultado se van a $(0, 0)$ sin oscilar, debido a que $-4k'_1 k_3 n_{10} + (k'_1 n_{10} + k_2 + k_3)^2 > 0$. Esto puede verse haciendo un desarrollo algebraico sencillo. Suponiendo que

$$\begin{aligned} -4k'_1 k_3 n_{10} + (k'_1 n_{10} + k_2 + k_3)^2 &< 0 \\ \Rightarrow (k'_1 n_{10} - k_3)^2 + k_2^2 + 2k_2 (k'_1 n_{10} + k_3) &< 0 \end{aligned} \quad (115)$$

Pero como $k'_1, k_2, k_3, n_{10} > 0$ se tiene que (115) es imposible. Por lo tanto, es un estado de equilibrio estable. En la parte final de esta tesis se verá que las simulaciones en computadora de la ecuación (2) respaldan este resultado.

Este sistema de ecuaciones diferenciales no se limita a los casos en los que la concentración de enzimas es mucho menor al de sustrato, como suele tomarse el modelo de Michaelis-Menten, sino también cuando se encuentran en concentraciones similares. Sin embargo tiene la limitante, como se mencionó en una de las secciones anteriores, que si el número de moléculas actuantes desciende demasiado el enfoque comienza a fallar.

8. Análisis del estado cuasiestacionario

En esta sección se demostrará que las ecuaciones diferenciales deterministas que se obtuvieron reproducen las expresiones algebraicas utilizadas en la química.

Los textos de cinética enzimática que suelen encontrarse en los libros de bioquímica descansan sobre la suposición de que la velocidad de reacción inicial refleja un estado estacionario en el cual la concentración de complejo enzima-sustrato permanece constante, es decir, la tasa de formación de complejo es igual que la tasa de disociación. La evolución temporal puede verse esquematizada en la figura 6[26].

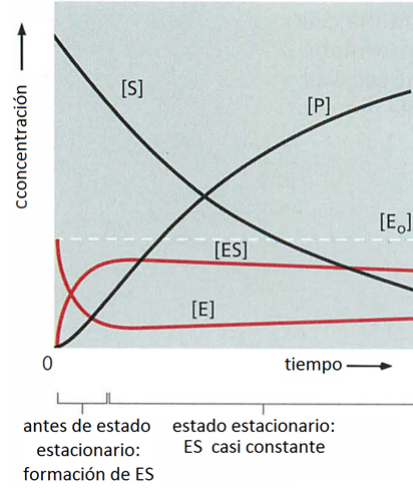


Figura 6: Evolución temporal de concentraciones.

Al estado que se alcanza cuando el cambio de concentración de complejo es casi cero lo llamamos *estado cuasiestacionario*. De la ecuación determinista para $\dot{\phi}$ (76), se tiene que; cuando se cumple que $\dot{\phi} \simeq 0$, entonces queda como

$$k'_1 (n_{10} - \phi_s) \psi_s - (k_2 + k_3) \phi_s \simeq 0 \quad (116)$$

Sea $e_s \equiv$ densidad estacionaria de enzimas, donde e_s está dado por la ecuación de conservación

$$e_s = n_{10} - \phi_s \quad (117)$$

Reescribiendo (116)

$$\phi_s \simeq \frac{e_s \psi_s}{\frac{k_2 + k_3}{k'_1}} = \frac{e_s \psi_s}{K_M} \quad (118)$$

con

$$K_M = \frac{k_2 + k_3}{k'_1} \quad (119)$$

Definiendo la velocidad de reacción V como

$$V \equiv \frac{dP}{dt} = k_3 \phi \quad (120)$$

Ahora se intenta obtener la ecuación para V en términos de la concentración de sustrato ψ_s :

Sustituyendo (117) en (118)

$$\phi_s \simeq \frac{(n_{10} - \phi_s) \psi_s}{K_M} \Rightarrow K_M \phi_s + \psi_s \phi_s \simeq n_{10} \psi_s$$

Resulta

$$\phi_s \simeq \frac{n_{10}\psi_s}{K_M + \psi_s} \quad (121)$$

Sustituyendo (121) en (120) se tiene

$$V = \frac{dP}{dt} = k_3 \frac{n_{10}\psi_s}{K_M + \psi_s} \quad (122)$$

Como $k_3 n_{10}$ es la velocidad cuando todas las enzimas se encuentran en estado de complejo enzima-sustrato catalizando una reacción, puede definirse la velocidad máxima de reacción como

$$V_{\text{máx}} = k_3 n_{10} \quad (123)$$

Reescribiendo (122) como

$$\frac{dP}{dt} = V = V_{\text{máx}} \frac{\psi_s}{K_M + \psi_s} \quad (124)$$

Esta es la expresión usual que se encuentra en los textos de cinética química, llamada la ecuación de Michaelis-Menten, la ecuación de velocidad para una reacción catalizada con una enzima que se adhiere a un sustrato. Haciendo el cambio de notación a una más usual que se encuentra en estos textos:

$$\begin{aligned} P &\rightarrow [P] \\ \psi_s &\rightarrow [S] \\ n_{10} &\rightarrow [E]_0 \\ \phi_s &\rightarrow [ES] \end{aligned}$$

Las ecuaciones (122) y (124) pueden reescribirse de la forma siguiente. Su gráfica se representa en la Figura 7[27].

$$V = k_3 \frac{[E]_0 [S]}{K_M + [S]} \quad (125)$$

$$\frac{dP}{dt} = V = V_{\text{máx}} \frac{[S]}{K_M + [S]} \quad (126)$$

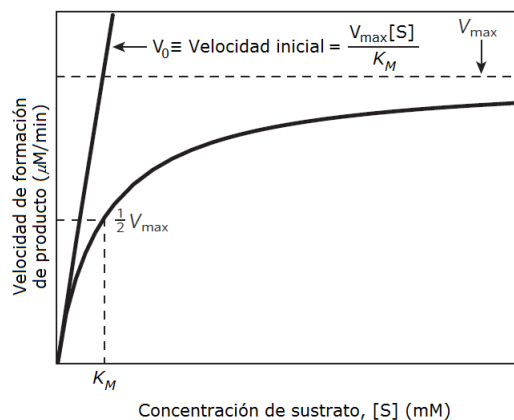


Figura 7: Una relación numérica importante para los bioquímicos se observa en el caso cuando $V = \frac{1}{2}V_{max}$ en la ecuación (126). Ésta es importante ya que es la que les ayuda a los bioquímicos a determinar el valor de K_M para cada reacción.

El valor de k_3 puede obtenerse experimentalmente midiendo la pendiente de una gráfica como la que se muestra en la Figura 8[27], esto se logra al discretizar la ecuación (187) del Apéndice A:

$$\Delta P = k_3 (n_{10} - e) \Delta t$$

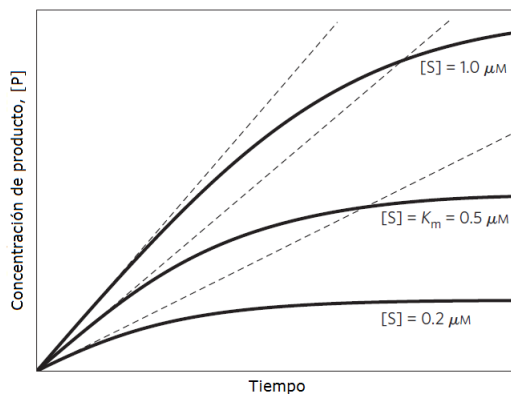


Figura 8: Una enzima teórica cataliza una reacción con $V_{max} = 1 \frac{\mu M}{min}$ con distintas concentraciones de sustrato. La velocidad de reacción catalizada por la enzima decrece a medida que el sustrato se convierte en producto.

De la física estadística puede obtenerse la fórmula de Arrhenius, según la cual

$$k_3 \sim e^{-\frac{\Delta E}{RT}}$$

con $\Delta E \equiv$ energía de activación, $R \equiv$ constante universal de los gases y $T \equiv$ temperatura. Entonces

$$k_3 = ce^{-\frac{\Delta E}{RT}} \Rightarrow \ln k_3 = \ln c - \frac{\Delta E}{RT} \Rightarrow \Delta E = RT \ln \left[\frac{c}{k_3} \right]$$

Se tiene que, si se conoce la constante c , puede conocerse la energía de activación.

Es importante hacer notar que en casos para tiempos muy largos, es decir, $t \rightarrow \infty$, se trata del caso en que $\phi(t)$ se acerca asintóticamente a 0. En este caso $\psi(t)$ también se acerca a 0 asintóticamente y la descripción aproximada es la del régimen en equilibrio, dada en base a (109). En este caso, puede calcularse el tiempo de vida media que tiene el estado cuasiestacionario; esto se hace con base en las soluciones fundamentales $\{e^{\lambda_1 t}, e^{\lambda_2 t}\}$

Sean

$$y_1(t) = e^{\lambda_1 t} = e^{-\frac{t}{\tau_1}}, \quad y_2(t) = e^{-\frac{t}{\tau_2}}$$

con

$$\tau_1 = \frac{1}{|\lambda_1|}, \quad \tau_2 = \frac{1}{|\lambda_2|}$$

El tiempo que predomine es el menor de los dos, entonces puede definirse la *vida media del estado estacionario* como τ_r , es decir

$$\tau_r = \text{mín} \{ \tau_1, \tau_2 \}$$

donde λ_1 y λ_2 están dados por (110) y (111), respectivamente.

En secciones más adelante se presentarán y discutirán los resultados de las soluciones numéricas de las ecuaciones diferenciales (75) y (76), al igual que la simulación.

9. Análisis de la parte estocástica (microscópica)

En esta sección se hace uso de la *ecuación de Fokker-Planck* (90) que se obtuvo anteriormente para estudiar las fluctuaciones que se presentan en este fenómeno, las cuales podrían cobrar importancia cuando se trata de volúmenes más pequeños que con los que se trabaja comúnmente en los laboratorios. Este es el caso de los compartimientos que se encuentran dentro de las células.

Debido a la naturaleza de este enfoque, es apropiado trabajar en términos de promedios. Para ello se parte de la ecuación (90)

$$\frac{\partial \Pi}{\partial t} = -\frac{\partial}{\partial q_\mu} [A_\mu \Pi] + \frac{1}{2} \frac{\partial^2}{\partial q_\mu \partial q_\nu} [D_{\mu\nu} \Pi]$$

Ahora se considera una magnitud física $f = f(q_1, q_2)$ que contribuye a la descripción del sistema

Multiplicando la EFP (96) por f e integrando en los intervalos $-\infty < q_1 < \infty$ y $-\infty < q_2 < \infty$

$$\begin{aligned}
\int_{-\infty}^{\infty} d\eta \int_{-\infty}^{\infty} d\xi f \frac{\partial \Pi}{\partial t} &= - \int_{-\infty}^{\infty} d\eta \int_{-\infty}^{\infty} d\xi f \frac{\partial}{\partial q_\mu} [A_\mu \Pi] \\
&+ \frac{1}{2} \int_{-\infty}^{\infty} d\eta \int_{-\infty}^{\infty} d\xi f \frac{\partial}{\partial q_\mu} \frac{\partial}{\partial q_\nu} (D_{\mu\nu} \Pi)
\end{aligned} \tag{127}$$

Trabajando el lado izquierdo de (127):

$$\begin{aligned}
\int_{-\infty}^{\infty} d\eta \int_{-\infty}^{\infty} d\xi f \frac{\partial \Pi}{\partial t} &= \frac{d}{dt} \int_{-\infty}^{\infty} d\eta \int_{-\infty}^{\infty} d\xi f \Pi = \frac{d}{dt} \langle f \rangle \\
\Rightarrow \int_{-\infty}^{\infty} d\eta \int_{-\infty}^{\infty} d\xi f \frac{\partial \Pi}{\partial t} &= \frac{d}{dt} \langle f \rangle
\end{aligned} \tag{128}$$

Ahora se trabaja la primera integral del lado derecho de (127):

$$\begin{aligned}
- \int_{-\infty}^{\infty} d\eta \int_{-\infty}^{\infty} d\xi f \frac{\partial}{\partial q_\mu} [A_\mu \Pi] &= \int_{-\infty}^{\infty} d\eta \int_{-\infty}^{\infty} d\xi \left(\frac{\partial}{\partial q_\mu} f \right) A_\mu \Pi = \left\langle \left(\frac{\partial}{\partial q_\mu} f \right) A_\mu \right\rangle \\
\Rightarrow - \int_{-\infty}^{\infty} d\eta \int_{-\infty}^{\infty} d\xi f \frac{\partial}{\partial q_\mu} [A_\mu \Pi] &= \left\langle \left(\frac{\partial}{\partial q_\mu} f \right) A_\mu \right\rangle
\end{aligned} \tag{129}$$

Sigue la segunda integral del lado derecho de (127):

$$\begin{aligned}
\frac{1}{2} \int_{-\infty}^{\infty} d\eta \int_{-\infty}^{\infty} d\xi \left[f \frac{\partial}{\partial q_\mu} \frac{\partial}{\partial q_\nu} (D_{\mu\nu} \Pi) \right] &= \frac{1}{2} \int_{-\infty}^{\infty} d\eta f \frac{\partial}{\partial q_\nu} (D_{\mu\nu} \Pi) \Big|_{-\infty}^{\infty} \\
&- \frac{1}{2} \int_{-\infty}^{\infty} d\eta \int_{-\infty}^{\infty} d\xi \left(\frac{\partial}{\partial q_\mu} f \right) \left[\frac{\partial}{\partial q_\nu} D_{\mu\nu} \Pi \right] \\
&= - \frac{1}{2} \int_{-\infty}^{\infty} d\xi \left(\frac{\partial}{\partial q_\mu} f \right) [D_{\mu\nu} \Pi] \Big|_{-\infty}^{\infty} \\
&+ \frac{1}{2} \int_{-\infty}^{\infty} d\eta \int_{-\infty}^{\infty} d\xi \left(\frac{\partial}{\partial q_\mu} \frac{\partial}{\partial q_\nu} f \right) [D_{\mu\nu} \Pi] \\
\Rightarrow \frac{1}{2} \int_{-\infty}^{\infty} d\eta \int_{-\infty}^{\infty} d\xi \left[f \frac{\partial}{\partial q_\mu} \frac{\partial}{\partial q_\nu} (D_{\mu\nu} \Pi) \right] &= \frac{1}{2} \left\langle D_{\mu\nu} \left(\frac{\partial}{\partial q_\mu} \frac{\partial}{\partial q_\nu} f \right) \right\rangle
\end{aligned} \tag{130}$$

Sustituyendo (128), (129) y (130) en (127):

$$\frac{d}{dt} \langle f \rangle = \left\langle A_\mu \left(\frac{\partial}{\partial q_\mu} f \right) \right\rangle + \frac{1}{2} \left\langle D_{\mu\nu} \left(\frac{\partial}{\partial q_\mu} \frac{\partial}{\partial q_\nu} f \right) \right\rangle \quad (131)$$

Esta es la ecuación de evolución temporal del promedio de cualquier magnitud física del sistema.

9.1. Casos particulares fundamentales:

Ahora que se tiene la evolución temporal del promedio para cualquier magnitud física, se toman dos casos especiales, cuando $f = q_\lambda$, $f = \vec{q}$ y $f = q_\lambda q_\gamma$, de modo que podamos conocer la evolución del promedio de los ruidos, sus desviaciones estándar y su covarianza. Estos últimos son especialmente importantes para conocer más adelante la matriz de autocorrelación, necesaria para calcular la entropía.

Sea

$$f = q_\lambda \quad , \quad \lambda = 1, 2$$

con $\eta = q_1$ y $\xi = q_2$, se revisa

$$\begin{aligned} \frac{\partial}{\partial q_\mu} f &= \frac{\partial}{\partial q_\mu} q_\lambda = \delta_{\mu\lambda} \\ \frac{\partial}{\partial q_\mu} \frac{\partial}{\partial q_\nu} q_\lambda &= \frac{\partial}{\partial q_\mu} \delta_{\mu\lambda} = 0 \end{aligned}$$

De (131) se tiene que

$$\begin{aligned} \frac{d \langle q_\lambda \rangle}{dt} &= \langle A_\mu \delta_{\mu\lambda} \rangle = \langle A_\lambda \rangle \\ \Rightarrow \frac{d \langle q_\lambda \rangle}{dt} &= \langle A_\lambda \rangle \end{aligned} \quad (132)$$

Sea $\vec{q} = (q_1, q_2)$, entonces la matriz de Fokker-Planck (83) puede reescribirse como

$$\vec{A} = L \vec{q} \quad (133)$$

donde que L es la matriz de convección, que depende de ψ y ϕ .

La ecuación (132) queda para este caso como

$$\frac{d \langle \vec{q} \rangle}{dt} = L \langle \vec{q} \rangle \quad (134)$$

Esta es la *ecuación de evolución de los promedios* de η y ξ

Otro caso. Sea

$$f = q_\lambda q_\gamma \quad , \quad \lambda, \gamma = 1, 2$$

$$\begin{aligned}
\frac{\partial}{\partial q_\mu} f &= \frac{\partial}{\partial q_\mu} (q_\lambda q_\gamma) = \left(\frac{\partial}{\partial q_\mu} q_\lambda \right) q_\gamma + q_\lambda \left(\frac{\partial}{\partial q_\mu} q_\gamma \right) \\
\Rightarrow \frac{\partial}{\partial q_\mu} f &= \delta_{\mu\lambda} q_\gamma + q_\lambda \delta_{\mu\gamma}
\end{aligned} \tag{135}$$

$$\begin{aligned}
\frac{\partial}{\partial q_\mu} \frac{\partial}{\partial q_\nu} f &= \frac{\partial}{\partial q_\mu} \frac{\partial}{\partial q_\nu} (q_\lambda q_\gamma) = \frac{\partial}{\partial q_\mu} \{ \delta_{\nu\lambda} q_\gamma + q_\lambda \delta_{\nu\gamma} \} \\
\Rightarrow \frac{\partial}{\partial q_\mu} \frac{\partial}{\partial q_\nu} f &= \delta_{\mu\lambda} \delta_{\nu\gamma} + \delta_{\mu\lambda} \delta_{\nu\gamma}
\end{aligned} \tag{136}$$

Sustituyendo (135) y (136) en (131)

$$\begin{aligned}
\frac{d}{dt} \langle q_\lambda q_\gamma \rangle &= \langle A_\mu (\delta_{\mu\lambda} q_\gamma + q_\lambda \delta_{\mu\gamma}) \rangle + \frac{1}{2} \langle D_{\mu\nu} (\delta_{\nu\lambda} \delta_{\mu\gamma} + \delta_{\mu\lambda} \delta_{\nu\gamma}) \rangle \\
\Rightarrow \frac{d}{dt} \langle q_\lambda q_\gamma \rangle &= \langle A_\lambda q_\gamma \rangle + \langle A_\gamma q_\lambda \rangle + \frac{1}{2} \langle D_{\gamma\lambda} \rangle + \frac{1}{2} \langle D_{\lambda\gamma} \rangle
\end{aligned} \tag{137}$$

Para el tercer y cuarto término de (137) se aprovecha que $D_{\gamma\lambda} = D_{\lambda\gamma}$, entonces

$$\frac{1}{2} \langle D_{\gamma\lambda} \rangle + \frac{1}{2} \langle D_{\lambda\gamma} \rangle = \langle D_{\gamma\lambda} \rangle \tag{138}$$

Aprovechando (138), se tiene que (137) resulta

$$\frac{d}{dt} \langle q_\lambda q_\gamma \rangle = \langle A_\lambda q_\gamma \rangle + \langle A_\gamma q_\lambda \rangle + \langle D_{\lambda\gamma} \rangle \tag{139}$$

La expresión (139) es la ecuación de evolución temporal para las *funciones de autocorrelación* no centradas. Un cálculo similar para las funciones de autocorrelación centradas

$$\Xi_{\lambda\gamma} = \langle q_\lambda q_\gamma \rangle - \langle q_\lambda \rangle \langle q_\gamma \rangle \tag{140}$$

lleva a la ecuación (141)

$$\frac{d\Xi}{dt} = L\Xi + (L\Xi)^T + D \tag{141}$$

9.2. Análisis del caso cuasiestacionario microscópico

La situación de interés usual en el laboratorio es el caso estacionario que en este trabajo se ha discutido al nivel de las ecuaciones deterministas. En esta subsección se lleva a cabo el mismo análisis, pero en el ámbito de las fluctuaciones aleatorias.

En el uso cotidiano del modelo de Michaelis-Menten se realizan mediciones experimentales que detectan lo que en este trabajo se ha venido llamando la

parte macroscópica, o determinista, del problema; pero así como en la física estadística en equilibrio es posible añadir el estudio de las desviaciones estándar de la concentración de partículas, o de la energía (entre otras magnitudes físicas), así también es factible revisar las propiedades del ruido en las concentraciones de sustrato y de complejo enzima-sustrato en el modelo de Michaelis-Menten para el caso cuasiestacionario. Las ecuaciones que se necesitan se obtienen imponiendo la condición $\frac{d\Xi}{dt} = 0$ en la ecuación (141).

Yendo término a término de la ecuación (141), y aprovechando que Ξ y D son simétricas:

$$L\Xi = \begin{bmatrix} L_{11} & L_{12} \\ L_{21} & L_{22} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \Xi_{11} & \Xi_{12} \\ \Xi_{12} & \Xi_{22} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} L_{11}\Xi_{11} + L_{12}\Xi_{12} & L_{11}\Xi_{12} + L_{12}\Xi_{22} \\ L_{21}\Xi_{11} + L_{22}\Xi_{12} & L_{21}\Xi_{12} + L_{22}\Xi_{22} \end{bmatrix} \quad (142)$$

$$(L\Xi)^T = \begin{bmatrix} L_{11}\Xi_{11} + L_{12}\Xi_{12} & L_{21}\Xi_{11} + L_{22}\Xi_{12} \\ L_{11}\Xi_{12} + L_{12}\Xi_{22} & L_{21}\Xi_{12} + L_{22}\Xi_{22} \end{bmatrix} \quad (143)$$

$$L\Xi + (L\Xi)^T = \begin{bmatrix} 2(L_{11}\Xi_{11} + L_{12}\Xi_{12}) & L_{11}\Xi_{12} + L_{12}\Xi_{22} + L_{21}\Xi_{11} + L_{22}\Xi_{12} \\ L_{11}\Xi_{12} + L_{12}\Xi_{22} + L_{21}\Xi_{11} + L_{22}\Xi_{12} & 2(L_{21}\Xi_{12} + L_{22}\Xi_{22}) \end{bmatrix} \quad (144)$$

La ecuación (141) produce

$$\dot{\Xi}_{11} = 2L_{11}\Xi_{11} + 2L_{12}\Xi_{12} + D_{11} \quad (145)$$

$$\dot{\Xi}_{21} = \dot{\Xi}_{12} = L_{11}\Xi_{12} + L_{12}\Xi_{22} + L_{21}\Xi_{11} + L_{22}\Xi_{12} + D_{12} \quad (146)$$

$$\dot{\Xi}_{22} = 2L_{21}\Xi_{12} + 2L_{22}\Xi_{22} + D_{22} \quad (147)$$

Entonces se tiene que (141) puede reacomodarse como sigue

$$\frac{d}{dt} \begin{bmatrix} \Xi_{11} \\ \Xi_{12} \\ \Xi_{22} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 2L_{11} & 2L_{12} & 0 \\ L_{21} & L_{11} + L_{22} & L_{12} \\ 0 & 2L_{21} & 2L_{22} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \Xi_{11} \\ \Xi_{12} \\ \Xi_{22} \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} D_{11} \\ D_{12} \\ D_{22} \end{bmatrix} \quad (148)$$

Para el caso cuasiestacionario, cuando se cumple $\frac{d\Xi_{\lambda\gamma}^s}{dt} = 0$, se tiene que la ecuación (148) toma la siguiente forma resumida

$$0 = M\vec{Y} + \vec{D}_s \quad (149)$$

donde el superíndice s en los términos de (149) indica el estado cuasiestacionario

$$\vec{Y} = \begin{bmatrix} \Xi_{11}^s \\ \Xi_{12}^s \\ \Xi_{22}^s \end{bmatrix} \quad (150)$$

$$M = \begin{bmatrix} 2L_{11}^s & 2L_{12}^s & 0 \\ L_{21}^s & L_{11}^s + L_{22}^s & L_{12}^s \\ 0 & 2L_{21}^s & 2L_{22}^s \end{bmatrix} \quad (151)$$

$$\vec{D}_s = \begin{bmatrix} D_{11}^s \\ D_{12}^s \\ D_{22}^s \end{bmatrix} \quad (152)$$

Es importante hacer notar que, debido a que se está en el estado estacionario, en (151) y (152) deben usarse ψ_s y ϕ_s fijas.

Partiendo de (149) se puede llegar a

$$\vec{Y} = -M^{-1}\vec{D}_s \quad (153)$$

(153) es útil ya que permite conocer los elementos de la matriz de correlación Ξ . Como se verá en las soluciones numéricas más adelante, para el caso cuasiestacionario $\langle \eta \rangle$ y $\langle \xi \rangle$ son muy pequeñas, por lo tanto se hace el siguiente estudio sobre la base de que $\langle \eta \rangle \langle \xi \rangle$ son de tamaño irrelevante, tal que

$$\Xi_{11} = \langle \eta^2 \rangle_s \quad (154)$$

$$\Xi_{22} = \langle \xi^2 \rangle_s \quad (155)$$

$$\Xi_{12} = \langle \eta \xi \rangle_s \quad (156)$$

Ahora se obtiene la forma general de la matriz de convección y de la matriz de difusión para el caso estacionario.

Partiendo de la ecuación (83) se obtiene

$$L_{11}^s = -k_1' (n_{10} - \phi_s) \quad (157)$$

$$L_{12}^s = k_1' \psi_s + k_2 \quad (158)$$

$$L_{21}^s = k_1' (n_{10} - \phi_s) \quad (159)$$

$$L_{22}^s = -k_1' \psi_s - k_2 - k_3 \quad (160)$$

De las ecuaciones (86), (87) y (88) se obtienen las componentes de la matriz de difusión D

$$D_{11}^s = k_1' (n_{10} - \phi_s) \psi_s + k_2 \phi_s \quad (161)$$

$$D_{12}^s = -k_1' (n_{10} - \phi_s) \psi_s - k_2 \phi_s \quad (162)$$

$$D_{22}^s = k_1' (n_{10} - \phi_s) \psi_s + (k_2 + k_3) \phi_s \quad (163)$$

9.3. Estudio de la conducta en el tiempo de los promedios de los ruidos $\langle q_\mu \rangle (t)$:

Las familia de soluciones de la ecuación diferencial (134) son de la forma $\{e^{\lambda_1 t}, e^{\lambda_2 t}\}$, donde

$$\lambda_1 = -a - R$$

$$\lambda_2 = -a + R$$

con

$$a = \frac{1}{2} [k_2 + k_3 + k_1' (n_{10} - \phi) + k_1' \psi] = -\frac{1}{2} [L_{11} + L_{22}]$$

$$\begin{aligned}
R &= \frac{1}{2} \sqrt{(k'_1)^2 (n_{10} - \phi)^2 + 4k'_1 (n_{10} - \phi) (k_2 + \psi k'_1) - 2k'_1 (n_{10} - \phi) (k_2 + k_3 + k'_1 \psi) + (k_2 + k_3 + k'_1 \psi)^2} \\
&= \frac{1}{2} \sqrt{L_{11}^2 + 4L_{12}L_{21} - 2L_{11}L_{22} + L_{22}^2}
\end{aligned}$$

Estas soluciones no son oscilatorias si se cumple que

$$L_{11}^2 + 4L_{12}L_{21} - 2L_{11}L_{22} + L_{22}^2 > 0 \quad (164)$$

Se puede ver que (164) se cumple debido a las siguientes razones:

1. Por definición $k'_1 > 0$, $k_2 > 0$, $k_3 > 0$ y $n_{10} - \phi > 0$, este último debido a la conservación del número de enzimas.
2. Entonces $L_{11} < 0$, por lo que puede escribirse como $L_{11} = -|L_{11}|$.
3. Por definición $\psi > 0$, $\phi > 0$.
4. Por el segundo punto, debido a que todos los sumandos de R son mayores a cero, puede reescribirse como

$$R = L_{11}^2 + 4L_{12}L_{21} + 2|L_{11}|L_{22} + L_{22}^2 > 0 \quad (165)$$

Por los puntos anteriores, se concluye que la solución no solo es no oscilatoria, además; debido a que $a > 0$ se sigue manteniendo, la solución con λ_1 se va exponencialmente a cero porque $\lambda_1 < 0$.

Falta conocer el comportamiento de la solución acompañada de λ_2 . Si se cumple que

$$k'_1 \psi + k_3 > \psi \quad (166)$$

Sumando $k_2 > 0$ a ambos lados y k_3 al lado izquierdo

$$k'_1 \psi + k_2 + k_3 > k_2 + \psi$$

Multiplicando por $k'_1 (n_{10} - \phi) > 0$ en ambos lados

$$k'_1 (n_{10} - \phi) (k'_1 \psi + k_2 + k_3) > (k_2 + \psi) (k'_1) (n_{10} - \phi)$$

Multiplicando por $(-1)^2$ en el lado izquierdo

$$\begin{aligned}
-k'_1 (n_{10} - \phi) (-1) (k'_1 \psi + k_2 + k_3) &> (k_2 + \psi) k'_1 (n_{10} - \phi) \\
\Rightarrow L_{11}L_{22} &> L_{12}L_{21}
\end{aligned}$$

Multiplicando por 4 en ambos lados

$$4L_{11}L_{22} > 4L_{12}L_{21}$$

Sumando $L_{11}^2 + L_{22}^2$ a ambos lados

$$L_{11}^2 + L_{22}^2 + 4L_{11}L_{22} > 4L_{12}L_{21} + L_{11}^2 + L_{22}^2$$

Restando $2L_{11}L_{22}$ a ambos lados

$$L_{11}^2 + L_{22}^2 + 2L_{11}L_{22} > L_{11}^2 + L_{22}^2 + 4L_{12}L_{21} - 2L_{11}L_{22}$$

Multiplicando por $\frac{1}{4}$ a ambos lados

$$\frac{1}{4} [L_{11}^2 + L_{22}^2 + 2L_{11}L_{22}] > \frac{1}{4} [L_{11}^2 + L_{22}^2 + 4L_{12}L_{21} - 2L_{11}L_{22}]$$

Puede verse que los corchetes de la izquierda son a^2 y los de la derecha son R^2 , entonces

$$\begin{aligned} a^2 > R^2 &\Rightarrow a > R \Rightarrow -a < -R \Rightarrow -a + R < 0 \\ &\Rightarrow \lambda_2 < 0 \end{aligned}$$

Por lo tanto, si se cumple la desigualdad (166), entonces $\lambda_2 < 0$. Esto significa que $e^{\lambda_2 t}$ también converge a cero. Por lo tanto $\langle q_1 \rangle$ y $\langle q_2 \rangle$ convergen a cero.

Los resultados anteriores muestran que el sistema físico avanza al estado de equilibrio, que se alcanzará en el momento en que el sustrato se agote, con lo cual también se acaba el complejo enzima-sustrato. En ese caso el sistema se queda exclusivamente con enzimas y producto. Por lo tanto, las propiedades del ruido en equilibrio también forman parte del objeto de estudio. Estas propiedades se pueden obtener como caso particular del estado de equilibrio, esto es cuando

$$\psi_e = 0, \phi_e = 0$$

Las componentes de la matriz de convección L toman los siguientes valores:

$$\begin{aligned} L_{11}^s \Big|_{(0,0)} &= -k'_1 (n_{10} - \phi_s) \Big|_{(0,0)} = -k'_1 n_{10} \\ \Rightarrow L_{11}^s \Big|_{(0,0)} &= -k'_1 n_{10} \end{aligned} \quad (167)$$

$$\begin{aligned} L_{12}^s \Big|_{(0,0)} &= (k_2 + \psi_s k'_1) \Big|_{(0,0)} = k_2 \\ \Rightarrow L_{12}^s \Big|_{(0,0)} &= k_2 \end{aligned} \quad (168)$$

$$\begin{aligned} L_{21}^s \Big|_{(0,0)} &= k'_1 (n_{10} - \phi_s) \Big|_{(0,0)} = k'_1 n_{10} \\ \Rightarrow L_{21}^s \Big|_{(0,0)} &= k'_1 n_{10} \end{aligned} \quad (169)$$

$$\begin{aligned}
L_{22}^s \Big|_{(0,0)} &= (-k_1' \psi_s - k_2 - k_3) \Big|_{(0,0)} = -(k_2 + k_3) \\
\Rightarrow L_{22}^s \Big|_{(0,0)} &= -(k_2 + k_3)
\end{aligned} \tag{170}$$

Por lo tanto, la matriz L queda como:

$$L \Big|_{(0,0)} = \begin{bmatrix} -k_1' n_{10} & k_2 \\ k_1' n_{10} & -(k_2 + k_3) \end{bmatrix} \tag{171}$$

De manera similar, los componentes de la matriz de difusión D toman los valores cuando $\psi_s = 0$ y $\phi_s = 0$:

$$\begin{aligned}
D_{11}^s \Big|_{(0,0)} &= k_1' (n_{10} - \phi_s) \psi_s + k_2 \phi_s = 0 \\
D_{12}^s \Big|_{(0,0)} &= -k_1' (n_{10} - \phi_s) \psi_s - k_2 \phi_s = 0 \\
D_{22}^s \Big|_{(0,0)} &= k_1' (n_{10} - \phi_s) \psi_s + (k_2 + k_3) \phi_s = 0
\end{aligned}$$

De esto resulta que la matriz D toma la forma

$$D = \begin{bmatrix} 0 & 0 \\ 0 & 0 \end{bmatrix} \tag{172}$$

Algo que puede concluirse de (171) y (172), es que debido a la dependencia de M (151) se llega a que $M \neq 0$. Esto lleva a que la ecuación (153) siga siendo válida debido a que M^{-1} existe. Por otra parte, a causa de la forma que toma D en la ecuación (172), la ecuación (153) dice que $\vec{Y} = 0$. Por lo tanto, en el estado de equilibrio se tiene que los segundos momentos estadísticos son:

$$\begin{aligned}
\langle \eta^2 \rangle &= 0 \\
\langle \xi^2 \rangle &= 0 \\
\langle \eta \xi \rangle &= 0
\end{aligned} \tag{173}$$

Los resultados anteriores indican que, de acuerdo al modelo de Michaelis-Menten, el sustrato y el complejo enzima-sustrato desaparecen por completo sin dejar rastro, ni siquiera a nivel de ruido. Este resultado es muy interesante porque indica que existe alguna clase de reordenamiento en el sistema. Esto se refleja en el estudio de la entropía del sistema físico.

Capítulo III

Soluciones Numéricas y Análisis de los Resultados

10. Soluciones numéricas de las ecuaciones deterministas

10.1. Concentración de enzimas mucho menor que la de sustrato. Caso típico en estudios in vitro.

La condición de estado cuasiestacionario del modelo Michaelis-Menten se cumple cuando la concentración de enzimas es mucho menor a la concentración de sustrato. El sistema de ecuaciones deterministas fue resuelto numéricamente por el método de Runge-Kutta de grado 4, y son capaces de mostrar cuándo aparece ese estado.

La densidad de enzimas y de complejo enzima-sustrato tienden a un estado cuasiestacionario como se indica en la Figura 9:

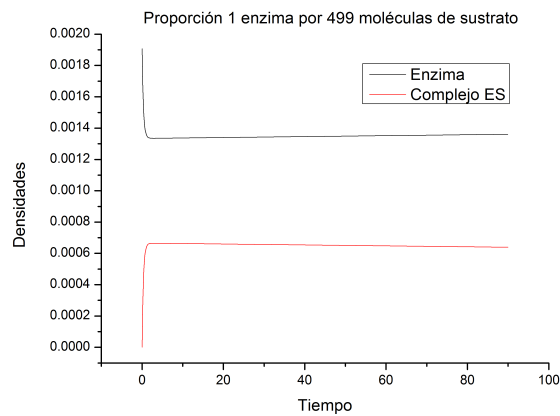


Figura 9: El comportamiento de E y ES es similar al que se muestra en el esquema en la Figura 6.

El cambio en el tiempo del complejo enzima-sustrato es muy pequeño. Las ecuaciones deterministas también permiten hacer un estudio comparativo de la evolución temporal del producto para diversos valores del cociente $\frac{k_1}{k_2}$, como puede verse en la Figura 10.

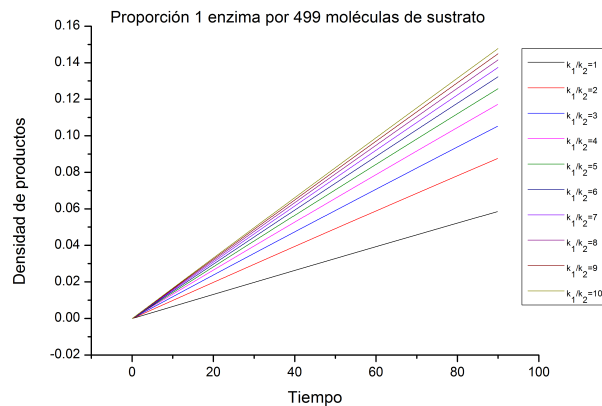


Figura 10: Evolución temporal de la densidad de productos contra el tiempo.

Es evidente que la pendiente de creación de producto crece a medida que la velocidad de formación de complejo ES k_1 aumenta con respecto a la tasa de descomposición de ES k_2 . La velocidad crece asintóticamente a un valor límite, después del cual el aumento de k_1 ya no impacta sobre el aumento de la creación de producto. Esto queda más claro en la Figura 11, donde se hace variar el cociente $\frac{k_1}{k_2}$ hasta un instante de tiempo $t = 90$.

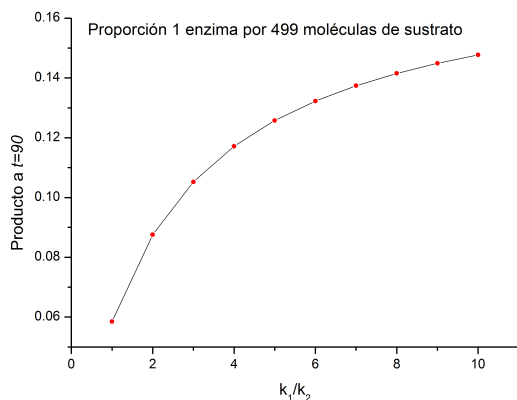


Figura 11: Producto al instante $t = 90$ contra razón de $\frac{k_1}{k_2}$.

Si se considera el caso cuando las velocidades de reacción $k_1 = k_2 = k_3 = 1$, las ecuaciones deterministas, una vez que alcanzan el estado cuasiestacionario, pueden ser parametrizadas mediante las siguientes funciones

$$\psi(t) = \psi_0 - a_1 t \quad (174)$$

$$\phi(t) = \phi_0 \quad (175)$$

donde las constantes de (174) y (175) tienen los valores

$$\psi_0 = 0.9981286$$

$$a_1 = 1.288 \times 10^{-4}$$

$$\phi_0 = 6.647 \times 10^{-4}$$

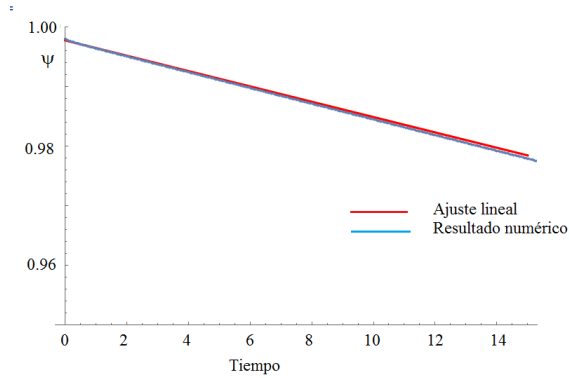
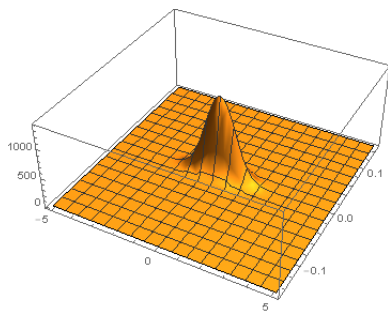


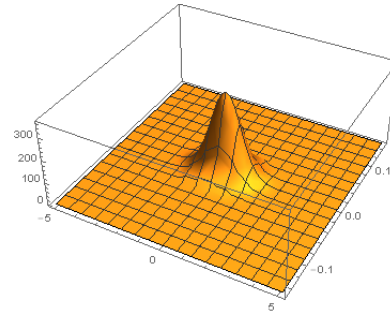
Figura 12: La curva en azul es la solución numérica. La curva roja es el ajuste analítico.

Más adelante se estudia la evolución temporal del promedio de las fluctuaciones. Para el caso cuando $n_{10} = \frac{1}{500}$, $n_{20} = \frac{499}{500}$ y velocidades de reacción $k_1 = k_2 = k_3 = 1$.

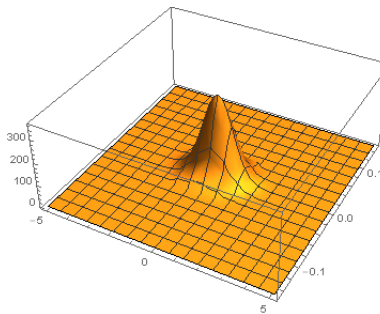
Con las expresiones (174) y (175) pueden construirse los elementos de las matrices de convección L y de correlación Ξ . Se calculó la inversa Ξ^{-1} y se graficó la densidad de probabilidad para tres etapas del periodo cuasiestacionario. Éstas son llamadas etapas inicial, intermedia y final. Las gráficas en el espacio $\{q_1, q_2\}$ se presentan en la Figura 13. Cabe mencionar que en la realización de la gráfica en la Figura 13 no se utilizaron los términos $\langle q_\mu \rangle \langle q_\nu \rangle$, esto es porque su producto resulta muy pequeño y se consideraron irrelevantes.



(a) Densidad inicial.



(b) Densidad intermedia.



(c) Densidad final.

Figura 13: Etapas de la densidad de probabilidad.

Los cambios son más evidentes en las gráficas de los contornos de las densidades de probabilidad, éstas se encuentran en la Figura 14.

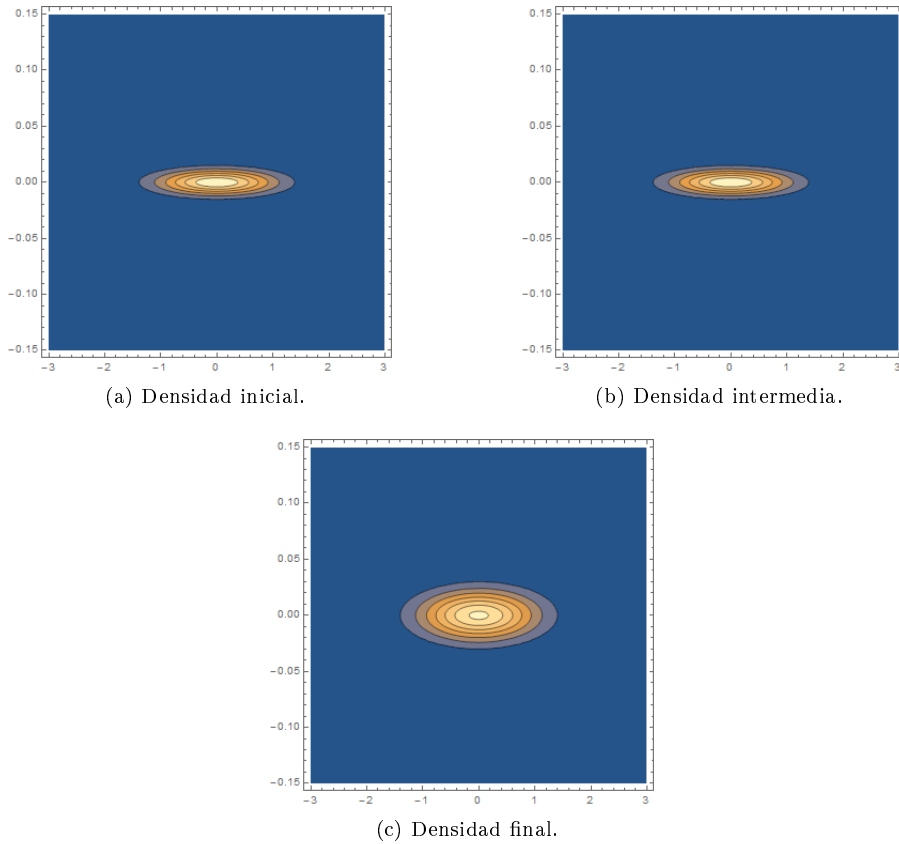


Figura 14: Contornos de las etapas de la densidad de probabilidad.

10.2. Concentración de enzimas y de sustrato muy similares

Éste es un caso estudiado a detalle por Albe et. al.[28], quienes estudiaron el caso en que la concentración de enzimas excede a la concentración de metabolitos. Su estudio fue motivado por el conocimiento de que el interior de la célula no es un medio acuoso en el que enzimas y metabolitos se mezclan al azar, sino una estructura organizada en la que las enzimas con sitios múltiples de interacción pueden exceder el número de metabolitos.

El sistema de ecuaciones diferenciales presentados en este trabajo también permite estudiar este caso, pero presenta la limitación de que si desciende demasiado el número de reactantes, el enfoque empieza a fallar. Cuando se presenta este caso, se ofrece un tratamiento basado en simulaciones numéricas mediante el método de Gillespie, el cual es estudiado más adelante.

La evolución temporal de sustrato y complejo enzima-sustrato en concentraciones similares de los reactantes no presenta un intervalo cuasiestacionario,

como puede verse en la Figura 15.

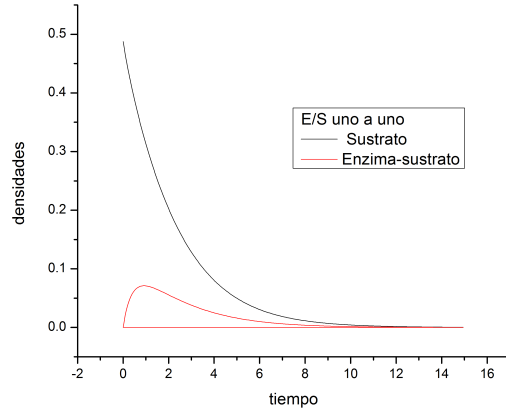


Figura 15: Producto al instante $t = 90$ contra razón de $\frac{k_1}{k_2}$.

Estos resultados para la evolución temporal de la concentración de enzimas y de complejo enzima-sustrato reproducen los que fueron obtenidos por Tzafiriri[29] para el caso de altas concentraciones de enzimas.

El enfoque que se presenta aquí permite estudiar este caso, siempre y cuando la cantidad de moléculas involucradas sea lo suficientemente grande como para mantener válida la condición (176).

$$\frac{1}{\sqrt{\Omega}} = \frac{1}{\sqrt{N_{10} + N_{20}}} \ll 1 \quad (176)$$

La evolución del producto tiene el comportamiento de una función sigmoide, las cuales se caracterizan por tener inicialmente una conducta lineal para después tender asintóticamente a un valor de saturación. Ver figura 16.

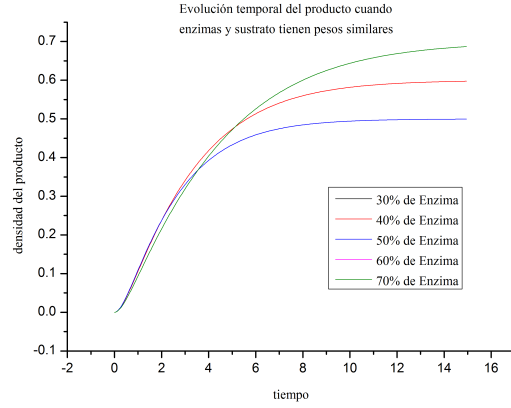


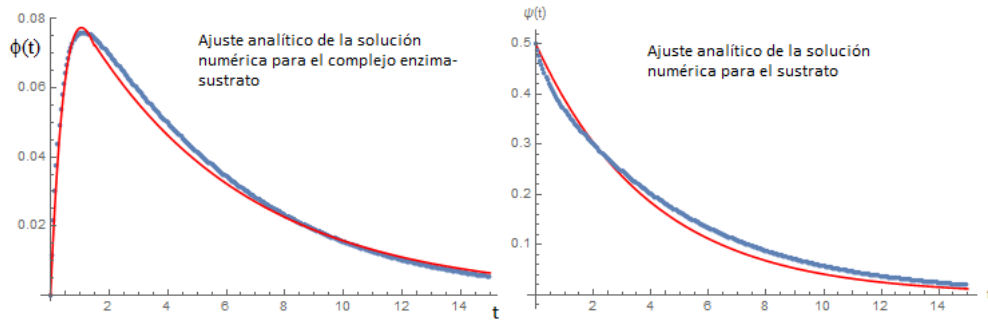
Figura 16: Evolución del producto a diferentes concentraciones de enzima.

Si se considera el caso cuando las velocidades de reacción $k_1 = k_2 = k_3 = 1$, las ecuaciones deterministas pueden ser parametrizadas mediante las siguientes funciones:

$$\phi(t) = \begin{cases} 0.2te^{-0.95t} & 0 \leq t \leq 1.5 \\ 0.0951e^{-0.18t} & 1.5 \leq t \leq 15 \\ 0 & t > 15 \end{cases} \quad (177)$$

$$\psi(t) = 0.5e^{-0.25t} \quad (178)$$

La concordancia entre el ajuste y el resultado numérico, presentadas en las Figuras 17a y 17b se consideraron aceptables



(a) Ajuste a la solución del complejo enzima-sustrato.

(b) Ajuste a la solución del sustrato.

Figura 17: Ajustes analíticos. La curva en azul es la solución numérica, la roja es el ajuste.

Debido a la gran cantidad de enzimas, prácticamente una por cada molécula de sustrato, el sustrato se agota rápidamente sin pasar antes por un estado cuasiestacionario como en el caso anterior, alcanzando el estado de equilibrio que fue predicho analíticamente:

$$\psi(t_{eq}) = 0, \phi(t_{eq}) = 0$$

donde $t_{eq} > 15$ en este caso.

11. Análisis de la parte estocástica

11.1. Propiedades del ruido si la concentración de enzimas es mucho menor que la de sustrato

11.1.1. Evolución de las fluctuaciones medias

Se hace un análisis de la evolución temporal de las fluctuaciones estocásticas medias cuando se tiene una proporción inicial de enzima $n_{10} = \frac{1}{500}$ y de sustrato $n_{20} = \frac{499}{500}$ con velocidades de reacción $k_1 = k_2 = k_3 = 1$. Se hace uso de las parametrizaciones (174) y (175) para el estado cuasiestacionario.

Anteriormente se obtuvieron los eigenvalores con los que los promedios de η y ξ evolucionan en el tiempo. Puede hacerse un desarrollo en serie de Taylor de estas λ_1 y λ_2 , y quedan de la siguiente forma:

$$\begin{aligned}\lambda_1 &= \lambda_1^{(0)} + \lambda_1^{(1)}t + \mathcal{O}(t^2) \\ \lambda_2 &= \lambda_2^{(0)} + \lambda_2^{(1)}t + \mathcal{O}(t^2)\end{aligned}$$

En el caso bajo estudio, el valor de los coeficientes de primeros términos son

$$\begin{aligned}\lambda_1^{(0)} &= -1.001312 \\ \lambda_1^{(1)} &= 6.436 \times 10^{-4} \\ \lambda_2^{(0)} &= 1.3335 \times 10^{-3} \\ \lambda_2^{(1)} &= 8.5717 \times 10^{-7}\end{aligned}$$

A partir de estas aproximaciones en serie resulta evidente que los cambios en el tiempo de las fluctuaciones medias será muy lento. Esto trae como consecuencia que $\langle q_\mu \rangle(t) = \langle q_\mu \rangle(0)$. Por esta razón no se incluirán las expresiones para las fluctuaciones medias en la densidad de probabilidad $\Pi(q_1, q_2, t)$.

11.1.2. Evolución de las funciones de autocorrelación

Si la desviación estándar tiene valor unidad, debido al desarrollo de van Kampen, se cumple que la fluctuación aleatoria de la concentración de moléculas

se traduce en un cambio del orden de $\frac{1}{\sqrt{N}}$. Con estas consideraciones puede concluirse que es posible proponer las correlaciones iniciales:

$$\Xi_{11}(0) = 1, \Xi_{12}(0) = 0, \Xi_{22}(0) = 0$$

Inicialmente el complejo enzima-sustrato tiene una población de cero moléculas, de modo que su correlación con el sustrato es nula, y lo mismo sucede con su desviación estándar. También se supone que, en el momento en que inicia la reacción, el sustrato está sujeto a un ruido térmico como el predicho en la física estadística en equilibrio.

En el caso donde hay una proporción de 1 enzima por 499 moléculas de sustrato, las soluciones deterministas en la etapa cuasiestacionaria pueden ser parametrizadas con las ecuaciones (174) y (175). Esta parametrización se utiliza en la solución numérica por el método de Runge-Kutta de 4º grado para las ecuaciones diferenciales de la matriz de autocorrelación (145), (146) y (147). La gráfica de estas soluciones puede verse en la Figura 18.

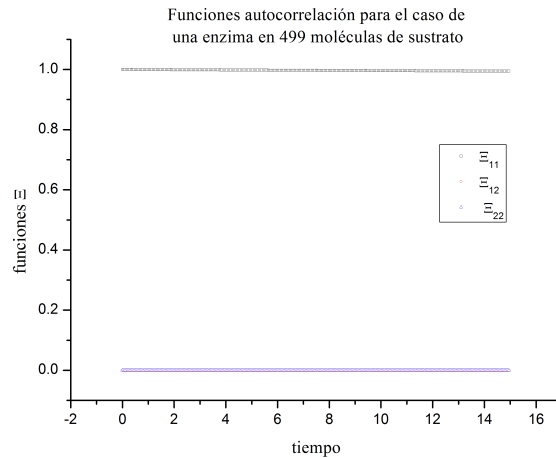


Figura 18: Evolución de funciones de autocorrelación en el estado cuasiestacionario.

La conducta de las funciones Ξ muestra una conducta casi invariable en el tiempo, como era de esperarse para el caso cuasiestacionario a nivel macroscópico. En la Figura 19 se ven con más detalle las funciones Ξ_{12} y Ξ_{22} , y es más evidente que no hay cambios temporales. El intervalo inicial cuando se elevan desde cero hasta estacionarse en una recta puede considerarse irrelevante, debido a que en este contexto las parametrizaciones de $\psi(t)$ y $\phi(t)$ no son válidas, ya que no se ha alcanzado el estado cuasiestacionario.

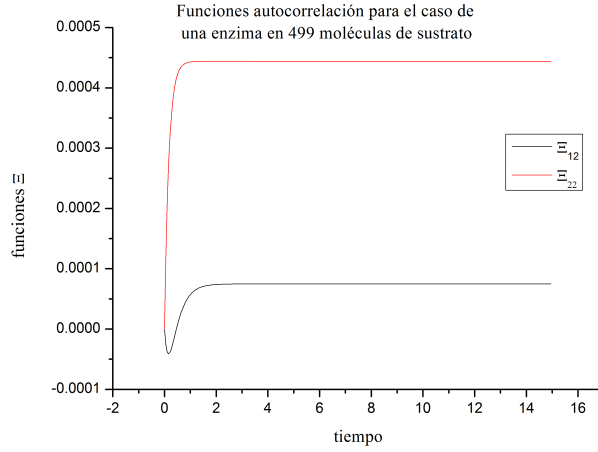


Figura 19: Evolución de funciones Ξ_{12} y Ξ_{22} en el estado cuasiestacionario.

Se vio anteriormente en el estudio analítico que cuando se alcanza el estado en equilibrio se cumple que $\langle \eta^2 \rangle = \langle \xi^2 \rangle = \langle \eta \xi \rangle = 0$. Por esta razón es conveniente analizar el comportamiento del ruido en el proceso en que el sistema pasa del estado cuasiestacionario al estado en equilibrio.

Conocida la matriz Ξ para cada instante t , se puede calcular su determinante para saber si la entropía del sistema crece o no durante un intervalo de tiempo. En la Figura 20 se aprecia la evolución en el tiempo del $\det(\Xi)$ para el caso bajo estudio.

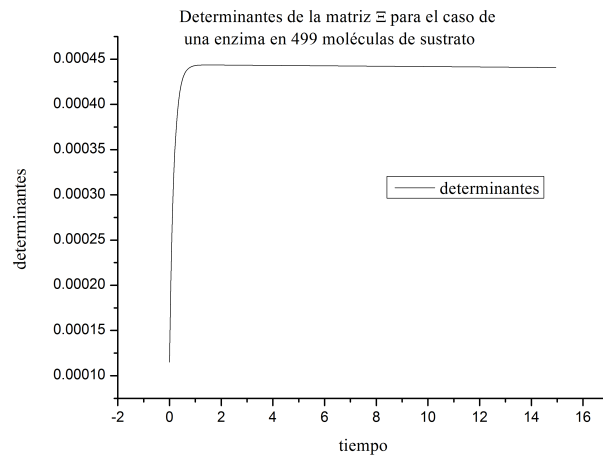


Figura 20: Evolución del determinante de la matriz de autocorrelación Ξ en el estado cuasiestacionario.

Aunque en la Figura 20 el sistema se encuentre en el estado cuasiestacionario, puede alcanzarse a notar un ligero descenso a medida que pasa el tiempo, lo cual indica que la entropía disminuye muy lentamente. Esto es muestra de que avanza hacia la situación en equilibrio y sin ruido en la parte del sistema formada por moléculas de sustrato y de complejo enzima-sustrato.

La ecuación (93) permite calcular la evolución temporal de la entropía, ésta puede verse en la Figura 21. Llama la atención que la entropía tome valores negativos. A esto se le llama en la literatura «negentropía», y será discutida más adelante.

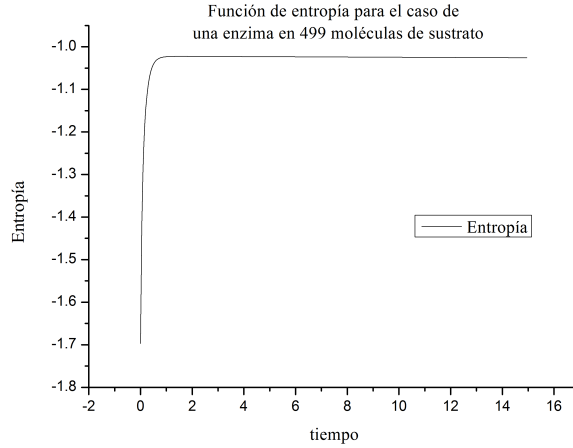


Figura 21: Evolución de la entropía en el estado cuasiestacionario.

Debido a que las Figuras 20 y 21 no son concluyentes para comprender qué está sucediendo con la entropía, es necesario estudiar el sistema físico en el cual la proporción inicial de enzima y de sustrato es muy parecida. Esto se hace en la siguiente subsección.

11.2. Propiedades del ruido cuando la proporción de enzimas y sustrato es muy similar

11.2.1. Evolución de las fluctuaciones medias

Cuando se tiene que la proporción de enzimas y de sustrato son iguales, la evolución de las fluctuaciones estadísticas medias con velocidades de reacción $k_1 = k_2 = k_3 = 1$, se hace uso de las parametrizaciones (177) y (178) para este análisis.

Haciendo uso de los eigenvalores de las soluciones para la ecuación (134), se conocen los elementos de la matriz de convección L . La evolución temporal de los eigenvalores λ_1 y λ_2 se encuentran en las Figuras 22a y 22b. Debido a que varían muy rápido en el tiempo, en comparación con el caso cuasiestacionario, no conviene hacer un desarrollo en serie de Taylor como se hizo anteriormente.

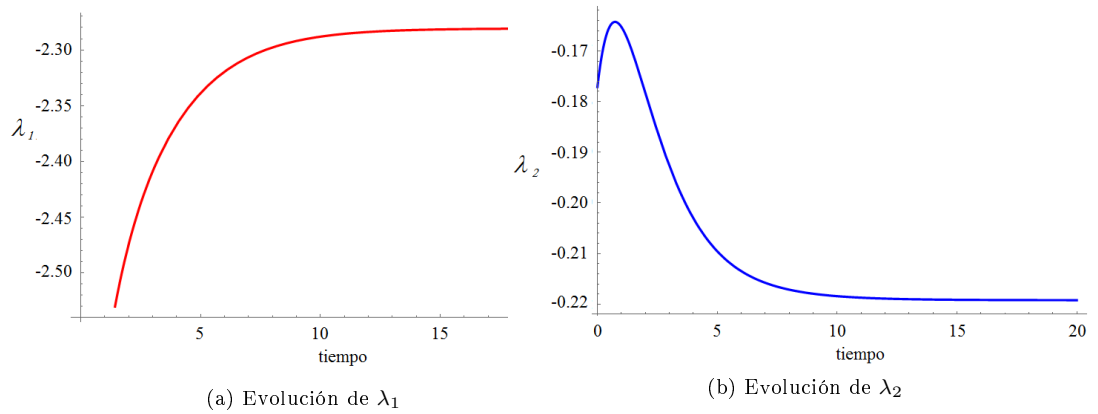


Figura 22: Eigenvalores de la matriz de convección en el régimen de concentraciones de E y S iguales.

Para valores de tiempos grandes, los eigenvalores tienden a los siguientes valores:

$$\begin{aligned} \lim_{t \rightarrow \infty} \lambda_1 &= -2.28078 \\ \lim_{t \rightarrow \infty} \lambda_2 &= -0.219224 \end{aligned}$$

Debido a que las soluciones de (134) son exponenciales, los valores para tiempos muy grandes de $\langle q_1 \rangle$ y $\langle q_2 \rangle$ tenderán a cero. Para obtener un resultado para todo instante de tiempo t se resolvió la ecuación diferencial usando el método Runge-Kutta de 4º orden, y graficando los resultados en la Figura 23 se obtiene el espacio fase del promedio de los ruidos ($\langle q_1 \rangle, \langle q_2 \rangle$). La gráfica es consistente con el estudio analítico del estado de equilibrio, indicando que para tiempos grandes el resultado final es $(0, 0)$.

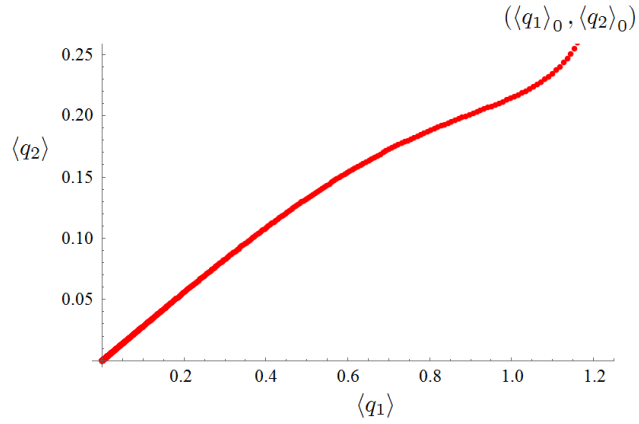


Figura 23: Evolución del promedio de los ruidos $\langle q_1 \rangle$ y $\langle q_2 \rangle$ en el régimen de concentraciones de E y S iguales.

11.2.2. Evolución de las funciones de autocorrelación

Haciendo uso de las parametrizaciones (177) y (178) de las ecuaciones deterministas, se resolvieron numéricamente las ecuaciones diferenciales para las funciones de autocorrelación (145), (146) y (147) con el método de Runge-Kutta de 4^o orden tomando como condiciones iniciales (179). Los resultados se aprecian en la Figura 24.

$$\Xi_{11}(0) = 1, \Xi_{12}(0) = 0, \Xi_{22}(0) = 0 \quad (179)$$

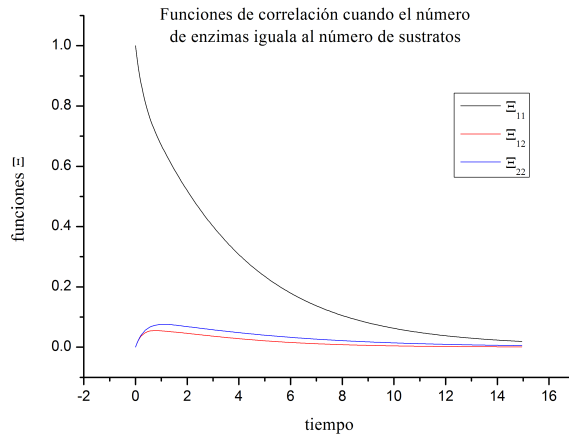


Figura 24: Evolución de funciones de autocorrelación en proporciones de enzima y sustrato muy parecidos.

Todas las curvas tienden a cero, como se había predicho por métodos analíticos para el caso de equilibrio en las ecuaciones (173)

El determinante de la matriz de autocorrelación Ξ fue calculado para cada instante de tiempo t discreto, y el resultado está en la Figura 25. El determinante crece inicialmente, pero poco después desciende hasta un valor casi constante. La condición para que se presente un aumento de entropía es que el $\det(\Xi) > 0$, pero se observa que ocurre lo contrario. Entonces se dice que el proceso que tiende al equilibrio involucra un decrecimiento de la entropía, como se había adelantado en el estudio del estado cuasiestacionario. El resultado del cálculo de la entropía está en la Figura 21 y, como era de esperarse, decrece con el tiempo.

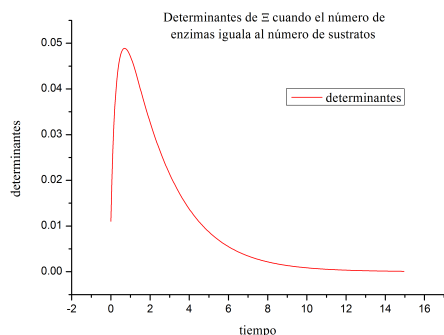


Figura 25: Evolución del determinante de la matriz de autocorrelación Ξ en proporciones de enzima y sustrato muy parecidos.

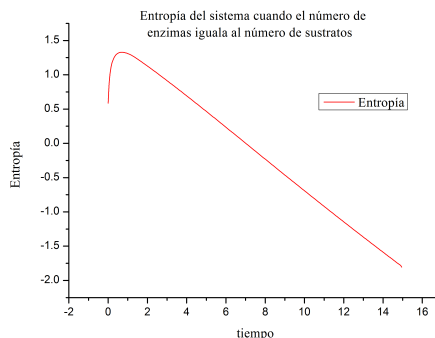


Figura 26: Evolución de la entropía en proporciones de enzima y sustrato muy parecidos.

El sistema formado por el sustrato y complejo enzima-sustrato es un subsistema contenido dentro de uno más grande, que es el que comprende a las enzimas, sustrato, complejo enzima-sustrato y producto. Esto lleva a catalogar a nuestro subsistema como uno abierto, por lo que no es motivo de preocupación el detectar un decrecimiento en la entropía. No obstante, la entropía negativa, llamada «negentropía» en la literatura, ha sido analizada cuidadosamente por varios autores, aunque a primera vista aparente tratarse de una situación afísica. Con base en ellos se ofrece como conclusión que el modelo Michaelis-Menten es un buen descriptor de una gran cantidad de fenómenos naturales que ocurren en la biología, debido a que contempla un proceso de reordenamiento que Sungchul Ji[30] enuncia de la siguiente manera:

La negentropía catalítica almacenada en la enzima puede regular la tasa de reacción enzimática modulando la magnitud del cambio en la entropía.

11.3. Discusión

Según Yi-Fang Chang[31] la entropía puede disminuir en las reacciones químicas. En la sección 4 de la referencia citada, discute que la catálisis podría disminuir de manera sustancial la energía de activación y hacer crecer las tasas de algunas reacciones químicas, controlando la dirección de la reacción. En estos procesos, escribe Chang, aparecen fenómenos de reordenamiento espontáneo, como es el caso del amoníaco NH_3 y el cloruro de hidrógeno HCl , dos gases que forman cloruro de amonio NH_4Cl , un sólido cristalino, cuando son mezclados. Hace ver también que el decrecimiento de entropía podría estar involucrado en la termodinámica de las reacciones catalizadas mediante enzimas y recalca

que en biología hay autoorganización y autoensamblaje, como es el caso de las moléculas anfifílicas que forman micelas cuando se encuentran suspendidas en un fluido polar después de sobrepasar una concentración crítica, lo cual indica que la naturaleza no tiende siempre al desorden, de modo que los procesos de ordenamiento irían acompañados de decrecimiento de la entropía. De acuerdo a Chang[32], una condición necesaria y suficiente para el decrecimiento de la entropía en sistemas aislados es la existencia de interacciones internas.

Por su parte, Sungchul Ji[30] afirma que la negentropía juega un papel en la catálisis enzimática y discute el caso de la síntesis de proteínas a partir de aminoácidos con la presencia de energía libre disponible y de un código genético que es seguido en el proceso de formación de cada proteína. Hace ver que hay dos clases de orden en la naturaleza, uno que es sensible a la temperatura y otro que es insensible a ésta. Como ejemplo del primero menciona los patrones de interacción de elementos individuales de un sistema físico sujeto a movimiento térmico. Como ejemplo de orden insensible a la temperatura menciona los acomodos improbables de elementos en un sistema físico, como es el caso del orden intrínseco de un escrito en una página impresa, o la estructuración del ADN. De acuerdo a Sungchul Ji hay negentropía térmica y negentropía no térmica. Postula, además, ver pag. 435, que la negentropía catalítica almacenada en la enzima puede regular la tasa de reacción enzimática modulando la magnitud del cambio en la entropía.

Capítulo IV

Simulación por computadora de la reacción enzimática

12. Algoritmo de Gillespie

Para la simulación se hace uso del algoritmo de Gillespie. Este consiste en la consideración de un sistema químico confinado dentro de un volumen V y que evoluciona en el tiempo, de modo tal que puede ser especificado por un número M de variables de estado: h_1, h_2, \dots, h_M ; donde h_μ (con $\mu = 1, \dots, M$) es el número de tipos distintos de combinaciones de moléculas reactantes para cada reacción R_μ , donde cada reacción debe tener especificada una tasa de transición[33].

El enfoque de Gillespie considera una función de densidad de probabilidad $P(\tau, \mu)$ tal que $P(\tau, \mu) d\tau$ es la probabilidad en un instante de tiempo τ en que la reacción ocurrirá en el intervalo $(t + \tau, t + \tau + d\tau)$. Siguió un razonamiento similar al que se encuentra expresado en el estudio de la probabilidad de colisiones en gases[34], en el que consideró una serie de eventos diferentes:

Evento 1: Existe una probabilidad $P_0(\tau)$ en el que no ocurre ninguna reacción en el intervalo $(t, t + \tau)$.

Evento 2: Toma en cuenta que existe la probabilidad a primer orden en $d\tau$ de que ocurra una reacción R_μ en el intervalo $(t + \tau, t + \tau + d\tau)$, y está dada por $h_\mu c_\mu d\tau$, donde c_μ es la fracción de colisiones con energía suficiente para reaccionar.

Si los intervalos que no se traslapan son estadísticamente independientes, la probabilidad de que no ocurra reacción en el intervalo $(t, t + \tau)$, pero sí ocurra una reacción en el intervalo $(t + \tau, t + \tau + d\tau)$, está dado por:

$$P(\tau, \mu) d\tau = P_0(\tau) h_\mu c_\mu d\tau$$

Después encontró que la densidad de probabilidad $P(\tau, \mu)$ está dada por:

$$P(\tau, \mu) d\tau = h_\mu c_\mu e^{-\sum_{\nu=1}^M h_\nu c_\nu \tau}$$

Como consecuencia, un proceso estocástico descrito por la ecuación (10) puede ser simulado, dice Gillespie, con un algoritmo similar al siguiente.

Etapa 1: Inicialización

1. Especificar el número inicial de sustrato $N_A(0)$ y de complejo enzima-sustrato $N_B(0)$.
2. Especificar el número de realizaciones N_0 .

3. Introducir las tasas de transición σ_i , donde $i = 1, \dots, M$, siendo M el número de interacciones entre dos especies. En nuestro caso $M = 3$.
4. Marcar el tiempo inicial como $t = 0$.
5. Inicializar la variable $sigma_sum=0$.

Etapa 2: Iteración

1. Producir una actualización de la variable $sigma_sum$ de la siguiente manera:

$$sigma_sum = \sum_{i=1}^M \sigma(i)$$

2. Generar dos números aleatorios r_1 y r_2 , con probabilidad uniforme dentro del intervalo $[0, 1]$
3. Generar el incremento temporal aleatorio con distribución exponencial τ :

$$\tau = \frac{1}{sigma_sum} \ln\left(\frac{1}{r_1}\right)$$

4. Actualizar el tiempo $t \rightarrow t + \tau$.
5. El número aleatorio r_2 se utiliza para escoger una de las M interacciones diferentes.
6. Acutalizar N_A y N_B de acuerdo al evento escogido en el punto 5.
7. Guardar $(t + \tau, N_A, N_B)$ y volver al punto 1.

13. Resultados

13.1. Simulación con 1 enzima y 400 sustratos

Partiendo de los valores iniciales $N_1(0) = 1$ y $N_2 = 400$, se generaron 200 realizaciones para guardar resultados cada $\Delta t = 2$ hasta agotar la existencia de moléculas de sustrato. El resultado del producto para una sola realización se muestra en la Figura 27a.

La conducta aleatoria del sistema es evidente, pero es aun más fácil de notar cuando se muestran cuatro realizaciones. En la Figura 27b se muestra el resultado para el sustrato y en la Figura 27c para el producto. De las dos gráficas se evidencia que la desviación estándar crece con el transcurso del tiempo.

En la Figura 27d se presenta la evolución del complejo enzima-sustrato, pero no es muy interesante, ya que desaparece de inmediato cuando solo existe una sola enzima.

De los resultados anteriores es claro que es necesario un estudio estadístico de estos resultados. Para abundar sobre la conducta del sustrato y del producto

en el intervalo de tiempo $2 \leq t \leq 106$, se hizo una selección de 50 realizaciones para agrupar los datos por tiempo y calcular sus propiedades estadísticas. Los resultados para el promedio del sustrato y del producto se muestran en las Figuras 28a y 28b.

Los resultados de la evolución en el tiempo de las desviaciones estándar del sustrato y el producto se muestran en las Figuras 28c y 28d. Estos indican cuantitativamente un comportamiento que ya se había adelantado anteriormente, que la desviación estándar crece con el tiempo.

El resultado analítico del modelo Michaelis-Menten lleva a que, al llegarse al estado de equilibrio, únicamente permanecen enzimas y producto en el sistema.

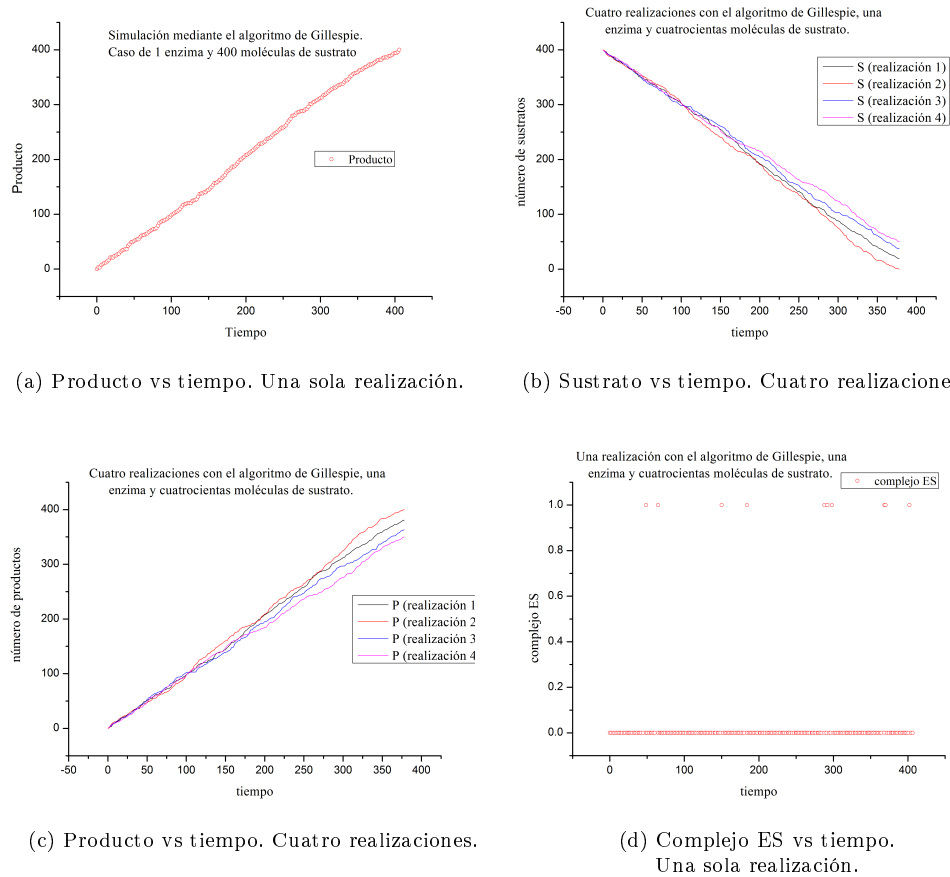
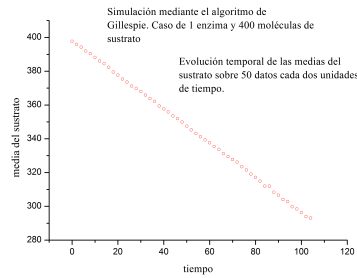
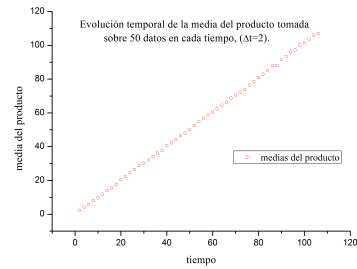


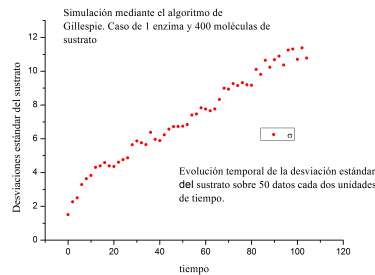
Figura 27: Evolución temporal de reactantes. Una y cuatro realizaciones



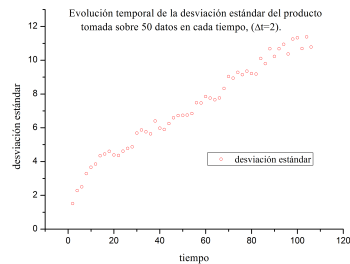
(a) Evolución temporal del promedio del sustrato. 50 realizaciones.



(b) Evolución temporal del promedio del producto. 50 realizaciones.



(c) Evolución temporal de la desviación estándar del sustrato. 50 realizaciones.



(d) Evolución temporal de la desviación estándar del producto. 50 realizaciones.

Figura 28: Evolución temporal de reactantes. Cincuenta realizaciones

Inicialmente puede parecer que el resultado de que la desviación estándar crezca es contradictorio con el resultado anterior, pero debido a que se trata de un sistema finito, lo que se tiene en la simulación es que llega a su fin en tiempos diferentes. Es decir, el crecimiento de las desviaciones estándar solo se manifiesta en que el tiempo que tarda en agotarse el sustrato cambia de manera aleatoria.

Se hizo un estudio con 31 realizaciones y se encontraron los tiempos de agotamiento que se encuentran en el Cuadro 2. El Histograma de estos datos se encuentra en la Figura 29.

Según la Figura 29, el tiempo de agotamiento del sustrato tiene una media y desviación estándar de

$$\begin{aligned}\langle t \rangle &= 410.4 \\ \sigma_t &= 21.6\end{aligned}$$

La contradicción se resuelve si se considera que, al final de cada realización en la simulación, el producto llega a 400 moléculas, pero esto ocurre en tiempos diferentes.

440	406	394	416	368	402	390	428	440	446
432	400	398	404	412	448	426	368	424	424
394	406	404	394	416	448	402	406	410	376
400									

Cuadro 2: Tiempos de agotamiento de sustrato.

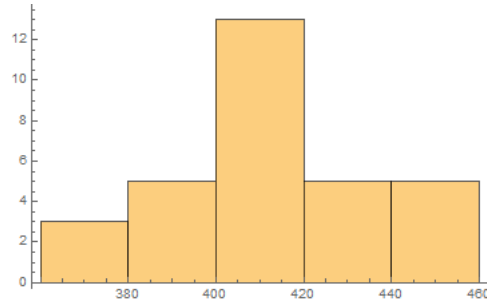
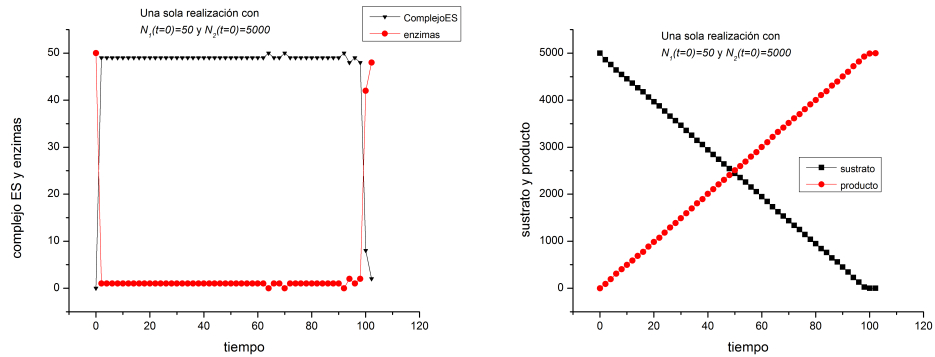


Figura 29: Histograma de tiempos de agotamiento de sustrato. 31 realizaciones.

13.2. Simulación con 50 enzimas y 5000 sustratos

Partiendo de los valores iniciales $N_1(0) = 50$ y $N_2 = 5000$, se generó 1 realización. Las gráficas de la evolución temporal de el complejo enzima-sustrato y de la enzima se muestran en la Figura 30a, y para la evolución del sustrato y del producto se encuentran en la Figura 30b.



(a) Evolución temporal del complejo ES y E. Una sola realización.

(b) Evolución temporal del S y P. Una sola realización.

Figura 30: Evolución temporal de los reactantes.

A diferencia del caso en el que $N_1(0) = 1$ y $N_2 = 400$, donde el complejo enzima-sustrato se mantenía en ceros durante casi todo el tiempo de duración

de la reacción, ahora son las enzimas las que exhiben esa conducta. Esto puede interpretarse como que casi todas las enzimas se encuentran catalizando una reacción y son pocas, o ninguna, las que se encuentran libres.

En el caso de la evolución del sustrato y el producto, se puede predecir que el sustrato se agota a medida que el producto crece paulatinamente. Al final de la reacción, una vez que se alcanza el equilibrio, las posiciones de las rectas se hacen horizontales.

13.3. Simulación con 50 enzimas y 500 sustratos

Ahora se partió de los valores iniciales $N_1(0) = 50$ y $N_2 = 500$ y se generaron 30 realizaciones. Para darle un seguimiento en el tiempo de la distribución de moléculas de producto en cada realización, se hizo una selección de cuatro instantes de tiempo distintos: $t = 2$, $t = 4$, $t = 6$ y $t = 8$. Se siguió el mismo procedimiento para los datos de los sustratos.

Haciendo uso del software Mathematica para ajustar densidades de probabilidad normales, se obtuvieron las gráficas en Figuras 31a y 31b. Para las distribuciones del producto se observa que, para el instante de tiempo $t = 2$, los números de moléculas de producto se agrupan cerca de 100; y la distribución se corre hacia la derecha conforme transcurre el tiempo.

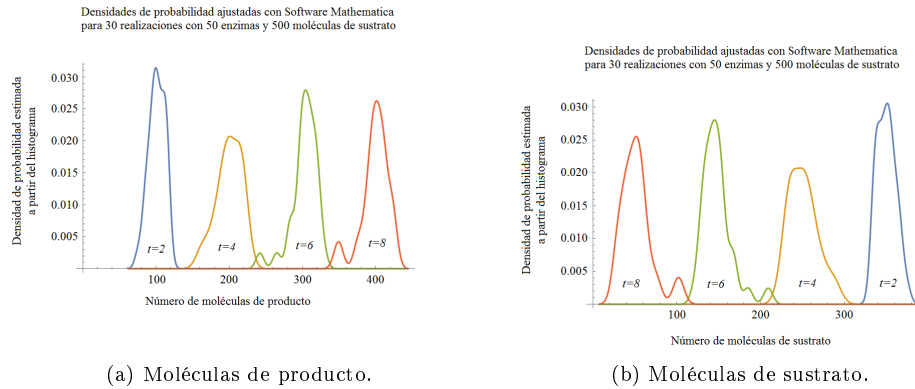


Figura 31: Ajuste de densidades de probabilidad normal.

En el caso de las distribuciones del sustrato se observa una conducta similar, pero invertida. En el instante de tiempo $t = 2$ los números de moléculas del sustrato se agrupan a la derecha de 300, y la distribución se corre hacia la izquierda conforme transcurre el tiempo.

También es posible obtener la evolución de los promedios de enzima y de complejo enzima-sustrato (Figura 34), la evolución del sustrato y producto (Figura 32), así como las desviaciones estándar de enzima y producto (Figura 33). Como era de esperarse, muy cerca del equilibrio las desviaciones estándar si-

güen siendo diferente de cero, debido a que cada realización avanza a diferentes velocidades y el sustrato se agota en diferentes tiempos.

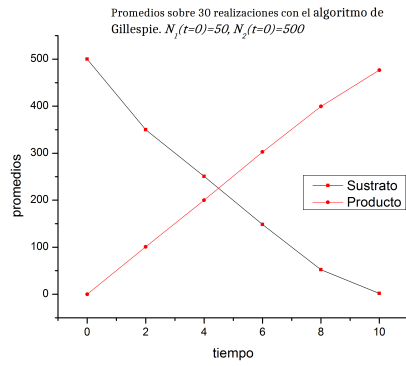


Figura 32: Evolución temporal de S y P. 30 realizaciones.

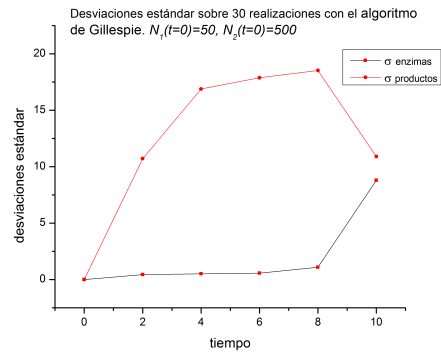


Figura 33: Evolución temporal de la desviación estándar de E y P. 50 realizaciones.

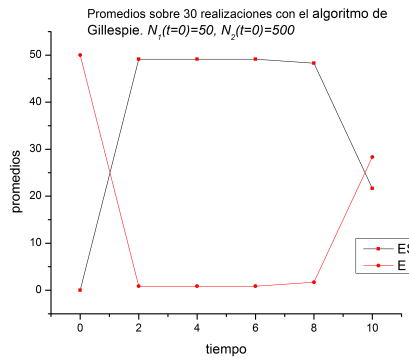


Figura 34: Evolución temporal del complejo ES y E. 30 realizaciones.

Capítulo V

Conclusiones

Modernamente las reacciones enzimáticas pueden ser realizadas y monitoreadas cuantitativamente en tres niveles de cantidades de enzima y de sustrato:

1. Cuando las concentraciones son del orden de microgramos.
2. Cuando el número de moléculas involucradas alcanzan a varios miles de ellas.
3. Cuando son unos cuantos cientos, incluyendo la posibilidad de que esté presente una sola enzima actuante. También es usual que en los experimentos *in vitro* la concentración de enzimas sea mucho menor que la concentración de sustrato, en cambio, el monitoreo del funcionamiento de las células biológicas permite afirmar que puede haber proporciones similares de ambas sustancias en una región específica de una célula biológica[28].

Los experimentos que se realizan a nivel nanométrico pueden involucrar cantidades de enzima y sustrato como los señalados en los puntos 1 y 2. Por las razones anteriores, en este trabajo se ha desarrollado un tratamiento matemático para todas las reacciones enzimáticas que pueden ser descritas mediante la ecuación irreversible del tipo $E + S \rightleftharpoons ES \rightarrow E + P$. Este tratamiento consiste en lo siguiente:

Para el *caso 1*, cuando las concentraciones son del orden de microgramos, es suficiente con la descripción macroscópica, que descansa en las ecuaciones (107) y (108) para la evolución temporal de las concentraciones de sustrato, $\psi(t)$, y de complejo enzima-sustrato, $\phi(t)$. A partir de sus soluciones es posible usar las ecuaciones (184) y (186), que se obtienen en el apéndice A, para explorar la evolución temporal de las concentraciones de enzima, $e(t)$, y de producto, $P(t)$.

El sistema físico que se describe siempre avanza hacia un equilibrio estable que consiste en el agotamiento del sustrato y del complejo enzima-sustrato. Esto es cuando todas las enzimas regresan a su número original y todo el sustrato ha sido transformado en producto. La ecuación algebraica (126), que es utilizada en bioquímica para obtener la velocidad de formación del producto resulta como una aproximación para el caso particular en que el cambio en el tiempo de la concentración enzima-sustrato es extremadamente lenta.

Para el *caso 2*, en que las moléculas involucradas son pocos millares, es necesario agregar una descripción que permita detallar las propiedades estadísticas del ruido. En este caso es necesario agregar las consecuencias de la ecuación de Fokker-Planck (90), que permite obtener las ecuaciones (134) para estudiar la evolución temporal de los promedios de los ruidos, $\langle q_\mu \rangle(t)$, y las ecuaciones (141), para el estudio de las autocorrelaciones $\Xi_{\mu\nu}(t)$. Las concentraciones de sustrato y de complejo enzima-sustrato fluctúan aleatoriamente siguiendo una densidad de probabilidad gaussiana que está dada por la ecuación (91). La teoría predice que los ruidos promedio y las autocorrelaciones se irán a cero cuando se

alcance el estado de equilibrio. Por esa razón, la entropía del subsistema sustrato más complejo enzima-sustrato, que está definida mediante la ecuación (92), tiene una conducta muy especial. Es una magnitud que desciende en el tiempo y puede tomar valores negativos. Éste es un tema que se deja abierto en este trabajo y que podría ser inspeccionado en al menos dos direcciones:

- primero, averiguar qué sucede con la entropía de todo el sistema formado por: enzima, sustrato, complejo enzima-sustrato y producto, para saber si la entropía recupera la conducta conocida en la termodinámica que ha sido aplicada a los sistemas físicos formados por cuerpos inanimados.
- Segundo, dependiendo del resultado anterior, explorar la posibilidad de que en los sistemas físicos que involucran vida podrían existir procesos de ordenamiento en los cuales toma importancia el concepto de negentropía. De ser así, sería necesario revisar las opiniones de los investigadores que afirman que la entropía puede disminuir en sistemas en los que ocurren procesos organizados por genes, como es el caso de las síntesis de proteínas.

Para el *caso 3*, cuando deja de ser válida la hipótesis de van Kampen establecida en la sección 2 de este trabajo, se ha propuesto el análisis del sistema por medio de la simulación en computadora. Haciendo uso del algoritmo de Gillespie se puede simular la evolución en el tiempo del número de moléculas de todo el sistema y los resultados sugieren que en este régimen hay ocasiones donde es válida la hipótesis de variación temporal muy lenta de la concentración del complejo enzima-sustrato. Por lo tanto, el uso de la ecuación algebraica (126) podría ser de utilidad. Se han encontrado valores de las tasas de reacción para las cuales la afirmación anterior no es válida. Además, si se conocen las tasas de reacción, es posible estimar el tiempo que durará la reacción.

Referencias

- [1] Kenneth A. Johnson and Roger S. Goody. The Original Michaelis Constant: Translation of the 1913 Michaelis–Menten Paper. *Biochemistry*, 50(39):8264–8269, oct 2011.
- [2] Victor Henri. General Laws for the Action of Diastases. 1903.
- [3] Santiago Schnell. Validity of the Michaelis-Menten equation - steady-state or reactant stationary assumption: that is the question. *FEBS Journal*, 281(2):464–472, jan 2014.
- [4] Anatoly B. Kolomeisky. Michaelis–Menten relations for complex enzymatic networks. *The Journal of Chemical Physics*, 134(15):155101, 2011.
- [5] Sibel Uludag-Demirer, Jorge Duran, and Robert D. Tanner. Estimating the turnover number in enzyme kinetic reactions using transient and stationary state data. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 45(4):635–642, dec 2009.
- [6] Guido Dell’Acqua and Alberto Maria Bersani. A perturbation solution of Michaelis–Menten kinetics in a “total” framework. *Journal of Mathematical Chemistry*, 50(5):1136–1148, may 2012.
- [7] D. Vogt. A simplified perturbation solution of Michaelis-Menten kinetics equations in a “total” framework. *Journal of Mathematical Chemistry*, 51(9):2257–2263, oct 2013.
- [8] Alberto M. Bersani, Enrico Bersani, Guido Dell’Acqua, and Morten G. Pedersen. New trends and perspectives in nonlinear intracellular dynamics: one century from Michaelis–Menten paper. *Continuum Mechanics and Thermodynamics*, 27(4-5):659–684, sep 2015.
- [9] Bo Li and Banghe Li. Quasi-Steady-State Laws in reversible model of enzyme kinetics. *Journal of Mathematical Chemistry*, 51(10):2668–2686, nov 2013.
- [10] Anthony F Bartholomay. A Stochastic Approach to Statistical Kinetics with Application to Enzyme Kinetics *. *Biochemistry*, 1(2):223–230, mar 1962.
- [11] S Hasstedt. Stochastic models for an open biochemical system. *Bio Systems*, 10(4):319–28, dec 1978.
- [12] P Arányi and J Tóth. A full stochastic description of the Michaelis-Menten reaction for small systems. *Acta biochimica et biophysica; Academiae Scientiarum Hungaricae*, 12(4):375–88, 1977.
- [13] N.G. Van Kampen. *Stochastic Processes in Physics and Chemistry*. 2007.

- [14] X Sunney Xie and Jay K Trautman. OPTICAL STUDIES OF SINGLE MOLECULES AT ROOM TEMPERATURE. *Annual Review of Physical Chemistry*, 49(1):441–480, oct 1998.
- [15] Takashi Funatsu, Yoshie Harada, Makio Tokunaga, Kiwamu Saito, and Toshio Yanagida. Imaging of single fluorescent molecules and individual ATP turnovers by single myosin molecules in aqueous solution. *Nature*, 374(6522):555–559, apr 1995.
- [16] H Peter Lu, Luying Xun, and X Sunney Xie. Single-Molecule Enzymatic Dynamics. *Science*, 282(5395):1877–1882, 1998.
- [17] Hong Qian and Elliot L. Elson. Single-molecule enzymology: stochastic Michaelis–Menten kinetics. *Biophysical Chemistry*, 101-102:565–576, dec 2002.
- [18] M O Stéfani, a J McKane, and T J Newman. Single enzyme pathways and substrate fluctuations. *Nonlinearity*, 18(4):1575–1595, jul 2005.
- [19] A.M. Bersani, E. Bersani, and L. Mastroeni. Deterministic and stochastic models of enzymatic networks—applications to pharmaceutical research. *Computers & Mathematics with Applications*, 55(5):879–888, mar 2008.
- [20] Jacek Puchalka and Andrzej M Kierzek. Bridging the Gap between Stochastic and Deterministic Regimes in the Kinetic Simulations of the Biochemical Reaction Networks. *Biophysical Journal*, 86(3):1357–1372, mar 2004.
- [21] T.E. Turner, S. Schnell, and K. Burrage. Stochastic approaches for modelling in vivo reactions. *Computational Biology and Chemistry*, 28(3):165–178, jul 2004.
- [22] Valdur Saks, Nathalie Beraud, and Theo Wallimann. Metabolic Compartmentation – A System Level Property of Muscle Cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 9(5):751–767, may 2008.
- [23] Ramon Grima, Philipp Thomas, and Arthur V. Straube. How accurate are the nonlinear chemical Fokker-Planck and chemical Langevin equations? *Journal of Chemical Physics*, 135(8), 2011.
- [24] Arnulfo Castellanos-Moreno. Movimiento browniano activo mediante velocidades estocásticas. *Revista Mexicana de Física*, 49(5):429–438, 2003.
- [25] C. Imaz and Z. Vorel. *Ecuaciones diferenciales ordinarias*. Ed. Limusa, 1975.
- [26] Bruce Alberts, Alexander Johnson, Julian Lewis, Martin Raff, Keit Roberts, and Peter Walter. *Molecular Biology of the cell*. Garland Science, Cambridge, 5th editio edition, 2008.

- [27] David L. Nelson and Michael M. Cox. Lehninger's principles of biochemistry. In *Journal of Chemical Information and Modeling*, volume 53, pages 1689–1699. W. H. Freeman and Company, 6th editio edition, 2013.
- [28] Kathy R. Albe, Margaret H. Butler, and Barbara E. Wright. Cellular concentrations of enzymes and their substrates. *Journal of Theoretical Biology*, 143(2):163–195, mar 1990.
- [29] A Tzafiriri. Michaelis–Menten kinetics at high enzyme concentrations. *Bulletin of Mathematical Biology*, 65(6):1111–1129, nov 2003.
- [30] Sungchul Ji. ENERGY AND NEGENTROPY IN ENZYMIC CATALYSIS*. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 227(1):419–437, feb 1974.
- [31] Yi-fang Chang. Decrease of Entropy and Chemical Reactions. pages 1–8, jul 2008.
- [32] Yi-fang Chang. Quantitative Calculations of Decrease of Entropy in Thermodynamics of Microstructure and Sufficient-Necessary Condition of Decrease of Entropy in Isolated System. pages 1–8, may 2009.
- [33] Daniel T. Gillespie. A general method for numerically simulating the stochastic time evolution of coupled chemical reactions. *Journal of Computational Physics*, 22(4):403–434, dec 1976.
- [34] Frederick Reif. *Fundamentals of Statistical and Thermal Physics*. McGraw-Hill, 1965.

Índice de figuras

1.	Energía de activación.	9
2.	Temperatura óptima.	10
3.	Esquema Michaelis-menten.	11
4.	Sistema cerrado de volumen V con subsistema abierto de volumen V_0	12
5.	Espacio de estados.	14
6.	Evolución temporal de concentraciones.	34
7.	Una relación numérica importante para los bioquímicos se observa en el caso cuando $V = \frac{1}{2}V_{max}$ en la ecuación (126). Ésta es importante ya que es la que les ayuda a los bioquímicos a determinar el valor de K_M para cada reacción.	36
8.	Una enzima teórica cataliza una reacción con $V_{max} = 1 \frac{\mu M}{min}$ con distintas concentraciones de sustrato. La velocidad de reacción catalizada por la enzima decrece a medida que el sustrato se convierte en producto.	36
9.	El comportamiento de E y ES es similar al que se muestra en el esquema en la Figura 6.	46
10.	Evolución temporal de la densidad de productos contra el tiempo.	47
11.	Producto al instante $t = 90$ contra razón de $\frac{k_1}{k_2}$	47
12.	La curva en azul es la solución numérica. La curva roja es el ajuste analítico.	48
13.	Etapas de la densidad de probabilidad.	49
14.	Contornos de las etapas de la densidad de probabilidad.	50
15.	Producto al instante $t = 90$ contra razón de $\frac{k_1}{k_2}$	51
16.	Evolución del producto a diferentes concentraciones de enzima.	52
17.	Ajustes analíticos. La curva en azul es la solución numérica, la roja es el ajuste.	52
18.	Evolución de funciones de autocorrelación en el estado cuasiestacionario.	54
19.	Evolución de funciones Ξ_{12} y Ξ_{22} en el estado cuasiestacionario.	55
20.	Evolución del determinante de la matriz de autocorrelación Ξ en el estado cuasiestacionario.	56
21.	Evolución de la entropía en el estado cuasiestacionario.	57
22.	Eigenvalores de la matriz de convección en el régimen de concentraciones de E y S iguales.	58
23.	Evolución del promedio de los ruidos $\langle q_1 \rangle$ y $\langle q_2 \rangle$ en el régimen de concentraciones de E y S iguales.	59
24.	Evolución de funciones de autocorrelación en proporciones de enzima y sustrato muy parecidos.	60
25.	Evolución del determinante de la matriz de autocorrelación Ξ en proporciones de enzima y sustrato muy parecidos.	61
26.	Evolución de la entropía en proporciones de enzima y sustrato muy parecidos.	61

27.	Evolución temporal de reactantes. Una y cuatro realizaciones . . .	65
28.	Evolución temporal de reactantes. Cincuenta realizaciones	66
29.	Histograma de tiempos de agotamiento de sustrato. 31 realizaciones.	67
30.	Evolución temporal de los reactantes.	67
31.	Ajuste de densidades de probabilidad normal.	68
32.	Evolución temporal de S y P. 30 realizaciones.	69
33.	Evolución temporal de la desviación estándar de E y P. 50 reali- zaciones.	69
34.	Evolución temporal del complejo ES y E. 30 realizaciones.	69

Capítulo VI

Apéndice

A. Ecuaciones diferenciales macroscópicas para densidad de enzima y producto

Hemos escogido como variables independientes al sustrato y al complejo enzima-sustrato, pero también pueden obtenerse ecuaciones diferenciales para la densidad de enzimas (en moles) y densidad de producto (en moles). En esta subsección se obtendrán estas ecuaciones diferenciales.

Siendo

e densidad de moles de enzima

p densidad de moles de producto

Recuperando ecuaciones de conservación normalizadas

$$n_{10} = n_1 + n_3 \quad (180)$$

$$n_{20} = n_2 + n_3 + n_4 \quad (181)$$

Haciendo un cambio de notación para facilitar el seguimiento del desarrollo

$n_1 \rightarrow e$

$n_2 \rightarrow \psi$

$n_3 \rightarrow \phi$

$n_4 \rightarrow P$

Entonces las ecuaciones (180) y (181) se reescriben como

$$n_{10} = e + \phi \quad (182)$$

$$n_{20} = \psi + \phi + P \quad (183)$$

Haciendo álgebra simple y derivando respecto al tiempo, de (182) y (183) respectivamente se tiene

$$\frac{de}{dt} = -\frac{d\phi}{dt} \quad (184)$$

$$\frac{dP}{dt} = -\frac{d}{dt}(\psi + \phi) \quad (185)$$

Por otra parte, de la velocidad de reacción de P se tiene que

$$\frac{dP}{dt} = k_3\phi \quad (186)$$

o bien, despejando ϕ de (182), la ecuación (186) queda

$$\frac{dP}{dt} = k_3(n_{10} - e) \quad (187)$$

Antes de usar la ecuación determinista de evolución temporal de $\dot{\phi}$ (76), es conveniente escribirla en términos de e y P

De las ecuaciones (182) y (183) se obtienen

$$\phi = n_{10} - e \quad (188)$$

$$\psi = n_{20} - P - \phi \quad (189)$$

Sustituyendo (188) en (189)

$$\begin{aligned} \psi &= n_{20} - P - n_{10} + e \\ \Rightarrow \psi &= \Delta n - P + e \end{aligned} \quad (190)$$

donde $\Delta n = n_{20} - n_{10}$

Sustituyendo (188) y (190) en (76)

$$\begin{aligned} \dot{\phi} &= k'_1 n_{10} \psi - k'_1 \phi \psi - (k_2 + k_3) \phi \\ \Rightarrow \dot{\phi} &= k'_1 n_{10} [\Delta n - P + e] - k'_1 [n_{10} - e] [\Delta n - P + e] - (k_2 + k_3) [n_{10} - e] \\ &= [\Delta n - P + e] [k'_1 n_{10} - k'_1 n_{10} + k'_1 e] - (k_2 + k_3) [n_{10} - e] \end{aligned}$$

Entonces

$$\dot{\phi} = [\Delta n - P + e] k'_1 e - (k_2 + k_3) [n_{10} - e] \quad (191)$$

Sustituyendo (191) en (184)

$$\frac{de}{dt} = (k_2 + k_3) [n_{10} - e] - [\Delta n - P + e] k'_1 e \quad (192)$$