

## 酶反应速率方程的普适形式\*

徐岷涓<sup>1)</sup> 朱晓梅<sup>2)</sup> 林保宏<sup>3, 4)</sup> 敖平<sup>1)\*\*</sup>

<sup>1)</sup> 上海交通大学系统生物医学研究院, 系统生物医学教育部重点实验室, 上海 200240;

<sup>2)</sup> *GenMath, Corp. 5525 27th Ave.N.E., Seattle, USA, WA 98105;*

<sup>3)</sup> 台湾科技大学, 电资学院电子工程系, 中国台北 10607;

<sup>4)</sup> 台湾科技大学, 电资学院光电工程研究所, 中国台北 10607)

**摘要** 酶反应速率方程的普适形式是应用于相互关联的大规模代谢途径动力学建模的重要方法。把酶反应速率方程写成 Michaelis-Menten-King-Altman 方程形式可以使得动力学参数(或函数)容易与数据库中的实验数据相接轨, 并可以处理任意数量的底物和产物, 有利于大规模的计算。普适形式可以同时描述正、负反应方向, 并能精确地用于准稳态条件。展示了在三类生物体系中广泛存在的酶反应机制中普适方程的严格推导过程, 并讨论了普适方程的特点, 针对不可逆反应酶反应产生的产物抑制效应可以自然消除, 总结了在普适速率方程中体现调节剂的作用和协同作用。

**关键词** 普适酶反应速率方程, 动力学模型, 系统生物学, 酶动力学

学科分类号 Q31

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2010.00500

近年来, 系统生物学的快速发展需要大规模的数学模型<sup>[1-4]</sup>, 其中首要的任务就是建立代谢网络动力学模型<sup>[5-8]</sup>, 从动态角度来理解有机体是如何生存的。但是对于生命状态下的生物学过程建模遇到了一系列棘手的问题<sup>[9]</sup>: 第一, 即使不考虑生物过程中随机性的影响, 酶反应动力学方程已经具有大量的参数<sup>[1, 10-12]</sup>。同时由于酶反应速率方程的具体形式取决于酶反应机理, 速率方程具有多种多样的形式。因此, 在错综连接的代谢网络中, 严格定义的酶反应速率方程很难应用于代谢过程的模拟。

虽然现在很多数据库, 例如 *Brenda*<sup>[13]</sup>、*KEGG*<sup>[14]</sup>和 *MetaCyc*<sup>[15-16]</sup>都收集了大量酶的参数, 但仍然不能满足计算的需要。第二个困难在于大多数化学反应的参数都不是在活体状态下测定的, 如何将这些数据应用于真正的生物呢? 一方面实验科学家已经意识到这个问题, 并尝试通过优化体外培养基来模拟体内条件, 并测定“活体条件”下酶反应动力学参数<sup>[7]</sup>。另一方面, 从计算的角度如何对复杂而精确的速率方程进行适当而且是必需的调整来适应“活体条件”呢? 这些成为亟待解决的问题。第三个困难在于动态的生理过程中可能存在成千上万的代谢

通路与其相关, 那么面对无数的代谢反应是无法完全测定严格速率方程中每个速率常数的<sup>[18-20]</sup>。因此, 酶反应速率方程的普适形式(简称普适方程)成为解决这三个困难的希望所在。

对于普适形式的推导也曾有过一些报道, 包括经典的线性化、幂律、*linlog*、简捷方法和普适动力学方法<sup>[21]</sup>。而本文中介绍的普适方程是酶反应速率方程的通用形式, 适用于不同的酶反应机理, 并能够精确体现严格定义的速率方程。同时, 普适速率方程也将热力学限制因素考虑在内, 全面涵盖了所有具备任意数目底物和产物的反应, 并能够体现调节剂(活化物和抑制物)的作用和协同作用。因此, 普适方程可以切实可行地解决以上建模过程中的三大问题<sup>[22]</sup>。

\* 国家重点基础研究发展计划(973)资助项目(2010CB529200, 2007CB914700)。

\*\* 通讯联系人。

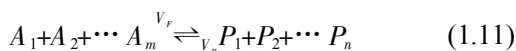
Tel: 021-34207042, E-mail: aoping@sjtu.edu.cn

收稿日期: 2011-01-30, 接受日期: 2011-04-18

## 1 酶反应速率方程的普适形式概述

### 1.1 酶反应速率方程的普适形式具体表示

假设一个化学反应具有  $m$  个反应物  $A_1, A_2, \dots, A_m$  和  $n$  个产物  $P_1, P_2, \dots, P_n$ , 这个反应可以写成 1.11 的形式:



允许其中一些反应物在某些情况下可以是相同的, 即对于一些  $i$  和  $j$  有  $A_i = A_j$ , 产物也有类似的情况. 假设这个反应是可逆的,  $V_F$  是正向反应的速度,  $V_B$  是逆向反应的速度. 酶反应速率方程的普适形式可以具体表示为 1.12<sup>[22]</sup>:

$$v = \frac{V_F \prod_{i=1}^m \frac{[A_i]}{K_i} - V_B \prod_{j=1}^n \frac{[P_j]}{K'_j}}{f_1(V_F, V_B) \prod_{i=1}^m \left(1 + \frac{[A_i]}{K_i}\right) + f_2(V_F, V_B) \prod_{j=1}^n \left(1 + \frac{[P_j]}{K'_j}\right)} \quad (1.12)$$

普适方程中存在 6 个主要参数, 分别为:  $[A_i]$  从  $i$  到  $m$  是  $m$  个底物的浓度,  $[P_j]$  从  $j$  到  $n$  是  $n$  个产物的浓度. 当  $V_F$  和  $V_B$  取最大正向和逆向速度时,  $K_i$  和  $K'_j$  可以被看作是每个反应物的米氏常数, 表示每个反应物还差多少达到饱和. 并引入 2 个相关的函数  $f_1$  和  $f_2$ , 用来精确表示产物抑制作用, 这 2 个函数具有 3 个性质(见方程 1.13, 1.14, 1.15).

$$f_1(V_F, V_B) + f_2(V_F, V_B) = 1 \quad (1.13)$$

$$f_1(V_F = 0, V_B) = 0 \quad (1.14)$$

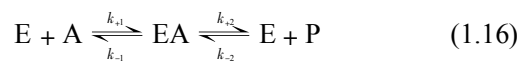
$$f_2(V_F, V_B = 0) = 0 \quad (1.15)$$

第一个性质(即方程 1.13)表示一种正常状态的情况, 当底物  $A$  和产物  $P$  都处于非常低的浓度, 则可以将方程 1.12 中的分母归一化, 只考虑分子部分. 第二个性质(即方程 1.14)表示当反应向逆向进行的情况, 即  $V_F$  是零, 分子部分没有第一项, 反应速率不受底物  $A$  的浓度影响, 分母中的第一项也必须为零. 第三个性质(即方程 1.15)与第二个性质要求相同, 表示反应向正方向不可逆进行的情况, 即  $V_B$  是零, 分子中的第二项消失, 没有立刻出现产物抑制而发生逆反应. 这种情况产物没有影响  $V_F$  和  $K_i$ <sup>[22]</sup>.

### 1.2 酶反应速率方程普适形式的特点

在前期工作中我们已经讨论过在三种不同酶反应机制下推导普适酶反应速率方程, 即单一底物 Uni-Uni 机制、双底物随机序列 Bi-Uni 机制以及双底物顺规序列 Bi-Bi 机制<sup>[22]</sup>. 特别是对最熟知的单

一底物 Uni-Uni 机制的详细分析, 更加明确了酶反应速率方程的普适形式除了能够体现质量守恒定律之外, 更重要的意义在于能够明确体现出两个对于酶反应动力学建模很重要的特点<sup>[22]</sup>.



$$v = \frac{N_1 A - N_2 P}{1 + D_1 A + D_2 P} \quad (1.17)$$

$$v = \frac{V_F \frac{A}{K_A} - V_B \frac{P}{K'_P}}{f_1 \left(1 + \frac{A}{K_A}\right) + f_2 \left(1 + \frac{P}{K'_P}\right)} \quad (1.18)$$

方程 1.17 是经典的 Uni-Uni 机制的酶反应动力学, 方程 1.18 是普适形式, 表面上并没有减少很多参数: 从 5 个参数开始  $k_{+1}, k_{+2}, e_0, (k_{+1}, k_{-1}, k_{+2}, k_{-2})$  作为每个基本反应的速率常数, 见反应 1.16,  $e_0$  表示总酶的浓度)以 4 个参数结束  $V_F, V_B, K_A, K'_P$  (“参数”在本文中表示与温度, pH 值等相关的函数), 但是普适方程与经典方程相比具有两个优点.

a. 将反应速度分离出来, 使得各变量具有生物学意义. 当反应处于平衡状态或者稳态时,  $V_F$  和  $V_B$  在多数情况下由米氏常数  $K_A$  和  $K'_P$  决定. 一方面在细胞中, 虽然代谢产物的浓度随着不同的生理条件而变化, 但是这种变化的幅度并不是很大. 另一方面, 反应的速度可以被调控, 反应速度的改变可以达到 6 个数量级或者更大. 例如, 一个可逆反应可以有效地被改变为一个不可逆反应. 在酶反应速率方程的普适形式 1.12 或者 1.18 可以清楚地展示这个特点, 方程中每个独立项  $V_F, V_B, A/K_A$  和  $P/K'_P$  对于方程具有相对独立的影响<sup>[22]</sup>.

b. 普适形式可以用来表示酶反应的可逆和不可逆性. 在细胞中所有物质的浓度都是有限度的, 但在一个不可逆的反应中特定的产物抑制却不常见. 例如, 在方程 1.17 中, 通过设定参数  $N_2 = 0$  来简单地关闭逆向反应, 那么还是会有一个产物抑制存在, 即产物浓度  $P$  会出现在方程 1.17 右侧的分母部分. 但是, 这样的缺点并不存在于普适速率方程中, 当逆向反应速度  $V_B = 0$  时, 没有产物抑制的不可逆米氏方程可以重新写成方程 1.19 的形式<sup>[22]</sup>.

$$v = \frac{V_F A}{K_A + A} \quad (1.19)$$

由 1.18 推导出的普适速率方程是可以被简化到不包含酶效应形式的基本可逆反应, 体现了饱和浓度是无限或者  $A/K_A \ll 1$  且  $P/K'_P \ll 1$  的情况. 在

这种底物和产物浓度很低的情况下, 普适反应速率方程就恢复了已知形式, 见方程 1.20.

$$v = \alpha_F A - \alpha_P P \quad (1.20)$$

反应系数  $\alpha_F = V_F/K_A$  和  $\alpha_P = V_P/K_P'$ . 这种具有限制条件的情况说明了普适速率方程具有多用途<sup>[22]</sup>.

## 2 酶反应速率方程普适形式的严格推导

酶反应速率方程的普适形式作为代谢动力学建模的基本工具, 其实用性和创新性意义是不言而喻的. 但是同时作为普适性理论, 需要多方面的检验和推敲. 在前期工作中, 我们已经对三种酶反应速率方程进行了严格推导和讨论<sup>[22]</sup>, 在此, 以另外三种酶反应机制单一底物 Uni-Bi 机制、双底物随机序列 Bi-Bi 机制、双底物乒乓序列 Bi-Bi 机制为例进行进一步的验证, 当已知严格定义的酶动力学方程时, 可以精确地推导出酶反应动力学方程的普适形式. 至此, 普适形式已经基本涵盖了主要酶反应类型及其动力学机理.



### 2.1 单一底物 Uni-Bi 机制

单一底物 Uni-Bi 机制当 1 个代谢物在酶的作用下分解成 2 个产物的典型反应, 可以用图 1 表示.

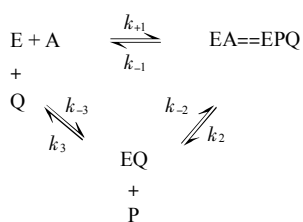


Fig. 1 Uni-Bi mechanism

A, P and Q represent the concentration; E represents the enzyme influence.

对于 Uni-Bi 机制, 这个稳定状态下的速率方程可以写为 2.11 的形式(参见文献[10]中方程 IX-60<sup>[11]</sup>):

$$v = \frac{N_1 A - N_2 P Q}{D_1 + D_2 A + D_3 P + D_4 Q + D_5 A P + D_6 P Q} \quad (2.11)$$

由 6 个参数组成的 8 项(包含 6 个速率常数:  $k_{\pm 1}, k_{\pm 2}, k_{\pm 3}, e_0$  代表总酶浓度):

$$\begin{aligned} N_1 &= k_1 k_2 k_3 e_0 \\ N_2 &= k_{-1} k_{-2} k_{-3} e_0 \\ D_1 &= k_2 k_3 + k_{-1} k_3 \\ D_2 &= k_1 k_2 + k_1 k_3 \\ D_3 &= k_{-1} k_{-2} \\ D_4 &= k_{-3} k_2 + k_{-3} k_{-1} \\ D_5 &= k_1 k_{-2} \\ D_6 &= k_{-2} k_{-3} \end{aligned} \quad (2.12)$$

虽然经过严格的定义, 但这仍是一个比较复杂的表达方式. 为了与普适形式 1.12 建立联系, 分子项除以  $D_1$ , 则分子部分可以被写成 2.13 形式, 并重新书写  $N_1/D_1$  写成  $V_F/K_A$ ,  $N_2/D_1$  写成  $V_P/K_P'K_Q'$  (用下方的大括号符号表示).

$$\frac{A(N_1/D_1) - PQ(N_2/D_1)}{\underbrace{V_F/K_A} \quad \underbrace{V_P/K_P'K_Q'}} \quad (2.13)$$

同时把方程 2.11 中分母部分的所有项都除以  $D_1$  之后, 分母可以重新写成 2.14 的形式:

$$1 + D'_2 A + D'_3 P + D'_4 Q + D'_5 A P + D'_6 P Q \quad (2.14)$$

下面引入函数  $f_1 + f_2 = 1$ , 将分母部分的常数项“1”进行替换, 再把常数归类到由 A 组成的新的函数  $D_3''$  中(在方程 2.15 中用下方大括号表示).

$$f_1 + D'_2 A + f_2 + \underbrace{P(D'_3/D'_5 A)}_{D_3''} + D'_4 Q + D'_6 P Q \quad (2.15)$$

重新组合各项并定义  $x, y, z$  和  $K_A$ , 详见 2.16:

$$f_1 \left[ 1 + A \left( \frac{D'_2}{f_1} \right) \right] + f_2 \left[ 1 + \left( \frac{D'_3}{f_2} \right) P + \left( \frac{D'_4}{f_2} \right) Q + \left( \frac{D'_6}{f_2} \right) P Q \right] \quad (2.16)$$

引入两个函数  $\alpha$  和  $\beta$ , 我们就可以重新将 2.16 写成 2.17 的形式:

$$f_1(1 + A/K_A) + f_2(1 + Px + Qy + PQz(\alpha + \beta) + PQz(1 - \alpha - \beta)) \quad (2.17)$$

这样简化可以让我们将 2.17 进行因数分解, 成为 2.18 的形式:

$$\begin{aligned} & f_1(1 + A/K_A) + f_2(1 + P(x + Qz\alpha) + Q(y + Pz\beta) + PQz(1 - \alpha - \beta)) \\ &= f_1(1 + A/K_A) + f_2 \left( \frac{1 + P(x + Qz\alpha)}{1/K_P'} \right) \left( \frac{1 + Q(y + Pz\beta)}{1/K_Q'} \right) \end{aligned} \quad (2.18)$$

其中  $K_P'$  和  $K_Q'$  可以被定义为 2.18:

$$(x + Qz\alpha)(y + Pz\beta) = z(1 - \alpha - \beta) \quad (2.19)$$

其中 A, P 和 Q 是浓度并取正值,  $D_i$  也是正值, 所以由  $D_i$  和 P 所决定的  $x, y, z$  也为正值. 因

此,  $Pz\beta$  项的正负将取决于  $\beta$ . 同样,  $Qz\alpha$  项的正负将取决于  $\alpha$ . 如果  $xy=z$ , 那么当  $\alpha$  或  $\beta=0$  时, 方程有解. 如果  $xy<z$ , 那么  $\alpha>0, \beta>0$  的解总是存在的; 如果  $xy>z$ , 那么  $\alpha<0, \beta<0$  的解总是存在的. 因此, 将 Uni-Bi 机制表示为方程 2.20 的形式:

$$v = \frac{V_F \frac{A}{K_A} - V_B \frac{P}{K'_P} \frac{Q}{K'_Q}}{f_1(1 + \frac{A}{K_A}) + f_2(1 + \frac{P}{K'_P})(1 + \frac{Q}{K'_Q})} \quad (2.20)$$

方程 2.20 正是我们所提出的普适形式. 这种表示方式不仅形式上简明, 同时可以将反应速率和稳态浓度进行了明确的分开, 并在通常情况下可以用类似米氏常数的形式表达.

### 2.2 双底物随机序列 Bi-Bi 机制

双底物酶催化是多底物酶反应的最简单而具有代表性的类型. 根据反应程序的不同又分为三种, 即顺规序列反应(ordered sequential reaction)、随机序列反应(random sequential reaction)和乒乓反应(Ping Pong reaction)<sup>[19]</sup>. 我们已经对双底物顺规序列 Bi-Bi 机制进行讨论<sup>[22]</sup>, 在此将推导双底物随机序列 Bi-Bi 机制. 顺规序列反应中, 底物 A, B 与酶的结合是按特定顺序进行, 先后不能倒换, 而随机序列反应中酶结合底物 A 和 B 无规定顺序, 随机进行<sup>[19]</sup>. 随机序列 Bi-Bi 机制的稳态速率方程更为复杂, 但是存在有部分快速平衡的随机反应时, 稳态速率方程强制序列三元复合物机制相对简单, 可以表示为图 2. 该反应的速率方程可以被简写成 2.21 的形式(参见文献[10]中方程 IX-184<sup>[11]</sup>):

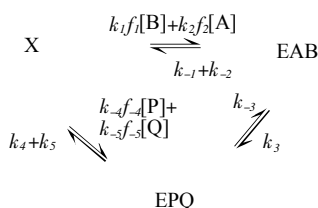


Fig. 2 The random Bi-Bi mechanism

$$v = \frac{num_1 AB - num_2 PQ}{const + Coef_A A + Coef_B B + Coef_{AB} AB + Coef_P P + Coef_Q Q + Coef_{PQ} PQ} = \frac{N_1 AB - N_2 PQ}{D_1 + D_2 A + D_3 B + D_4 AB + D_5 P + D_6 Q + D_7 PQ} \quad (2.21)$$

其中 9 项由 6 个速率常数和总酶浓度  $e_0$  来构成, A, B, P, Q 为浓度.

$$\begin{aligned} N_1 &= num_1 e_0 \\ N_2 &= num_2 e_0 \\ D_1 &= const \\ D_2 &= Coef_A \\ D_3 &= Coef_B \\ D_4 &= Coef_{AB} \\ D_5 &= Coef_P \\ D_6 &= Coef_Q \\ D_7 &= Coef_{PQ} \end{aligned} \quad (2.22)$$

为了将这个复杂的方程和我们提出的普适速率方程 1.12 相互联系起来, 首先将分子和分母同时除以  $D_1$ , 并且重新定义除以  $D_1$  之后的系数  $N_1', N_2', D_2', \dots, D_7'$ . 对于分子可以写成  $N_1' = V_F / (K_A K_B)$ ,  $N_2' = V_B / (K'_P K'_Q)$ . 对于分母可以引入函数  $f_1$  和  $f_2$ , 并满足  $f_1 + f_2 = 1$ , 如在 Uni-Bi 机制的情况一样定义  $x, y, z, x', y', z'$ , 由此得到方程 2.23.

$$f_1 \left[ 1 + A \left( \frac{D_2 + D_4 B}{f_1} \right) + B \left( \frac{D_3 + D_4 A}{f_1} \right) + AB \left( \frac{D_4}{f_1} \right) \right] + f_2 \left[ 1 + P \left( \frac{D_5 + D_7 Q}{f_2} \right) + Q \left( \frac{D_6 + D_7 P}{f_2} \right) + PQ \left( \frac{D_7}{f_2} \right) \right] \quad (2.23)$$

通过  $f_1$  在括号部分引入两个函数  $\alpha$  和  $\beta$ , 在  $f_2$  括号部分引入两个函数  $\alpha'$  和  $\beta'$ , 可以在 Uni-Bi 机制中用同样的方法重写分母部分(2.24).

$$f_1(1 + \frac{A}{K_A})(1 + \frac{B}{K_B}) + f_2(1 + \frac{P}{K'_P})(1 + \frac{Q}{K'_Q}) \quad (2.24)$$

这个速率方程就可以写作 2.25 形式, 与我们提出的方程 1.12 一致.

$$v = \frac{V_F \frac{A}{K_A} \frac{B}{K_B} - V_B \frac{P}{K'_P} \frac{Q}{K'_Q}}{f_1(1 + \frac{A}{K_A})(1 + \frac{B}{K_B}) + f_2(1 + \frac{P}{K'_P})(1 + \frac{Q}{K'_Q})} \quad (2.25)$$

我们提出的普适酶反应动力学方程在形式上普适动力学方程与经验方程是类同的, 但是更加精简.

### 2.3 双底物乒乓序列 Bi-Bi 机制

乒乓反应, 顾名思义, 像打乒乓球一样, 即酶 E 结合底物 A 释放产物 P 后, 才能结合另一底物 B 再释放另一产物 Q, 实际上这是一种双取代反应, 两次结合底物给出产物, 可以用图 3 表示<sup>[11]</sup>. 具有乒乓序列 Bi-Bi 反应机制的酶有氧化还原酶类的硫氧还蛋白过氧化物酶<sup>[23]</sup>、转移酶类 acylneuraminatase

cytidyltransferase<sup>[24]</sup>, 以及在磷酸戊糖途径中的转酮酶(transketolase)<sup>[25]</sup>.

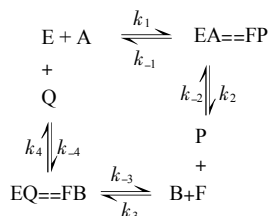


Fig. 3 The pingpong Bi-Bi mechanism

该反应的完全速率方程可以被写成 2.26 的形式(参见文献[10]中方程 IX-140<sup>[11]</sup>):

$$v = \frac{N_1 AB - N_2 PQ}{D_1 A + D_2 B + D_3 P + D_4 Q + D_5 AB + D_6 AP + D_7 PQ + D_8 BQ} \quad (2.26)$$

其中 10 项由 8 个速率常数和总酶浓度  $e_0$  来构成, A, B, P, Q 为方程 2.27 中的浓度.

$$\begin{aligned}
 N_1 &= k_1 k_2 k_3 k_4 e_0 \\
 N_2 &= k_{-1} k_{-2} k_{-3} k_{-4} e_0 \\
 D_1 &= k_1 k_2 (k_3 + k_4) \\
 D_2 &= k_3 k_4 (k_2 + k_{-1}) \\
 D_3 &= k_{-1} k_{-2} (k_{-3} + k_4) \\
 D_4 &= k_{-3} k_{-4} (k_{-1} + k_2) \\
 D_5 &= k_1 k_3 (k_2 + k_4) \\
 D_6 &= k_1 k_{-2} (k_{-3} + k_4) \\
 D_7 &= k_{-2} k_{-4} (k_{-1} + k_{-3}) \\
 D_8 &= k_3 k_{-4} (k_{-1} + k_2)
 \end{aligned} \quad (2.27)$$

为了将这个复杂的方程和我们提出的一般速率方程 1.12 相互联系起来, 可以对反应的方程式的分母部分进行变换, 并引入 4 个系数  $\alpha_1, \alpha_2, \alpha_3, \alpha_4$ .

$$\begin{aligned}
 &D_1 A + D_2 B + D_3 P + D_4 Q + D_5 AB + D_6 AP + D_7 PQ + D_8 BQ \\
 &= (\alpha_1 A + \alpha_2 B + \alpha_3 P + \alpha_4 Q) + (D_1 - \alpha_1) A + (D_2 - \alpha_2) B + \\
 &(D_3 - \alpha_3) P + (D_4 - \alpha_4) Q + D_5 AB + D_6 AP + D_7 PQ + D_8 BQ
 \end{aligned} \quad (2.28)$$

与 Bi-Bi 机制类似, 因此可将分子和分母同时除以  $(\alpha_1 A + \alpha_2 B + \alpha_3 P + \alpha_4 Q)$ , 并且重新定义除以  $(\alpha_1 A + \alpha_2 B + \alpha_3 P + \alpha_4 Q)$  之后的系数  $N_1, N_2, D_1, \dots, D_8$  为  $N'_1, N'_2, D'_1, \dots, D'_8$  (2.29).

$$\begin{aligned}
 N'_1 &= \frac{N_1}{\alpha_1 A + \alpha_2 B + \alpha_3 P + \alpha_4 Q} \\
 N'_2 &= \frac{N_2}{\alpha_1 A + \alpha_2 B + \alpha_3 P + \alpha_4 Q} \\
 D'_1 &= \frac{D_1 - \alpha_1}{\alpha_1 A + \alpha_2 B + \alpha_3 P + \alpha_4 Q} \\
 D'_2 &= \frac{D_2 - \alpha_2}{\alpha_1 A + \alpha_2 B + \alpha_3 P + \alpha_4 Q} \\
 D'_3 &= \frac{D_3 - \alpha_3}{\alpha_1 A + \alpha_2 B + \alpha_3 P + \alpha_4 Q} \\
 D'_4 &= \frac{D_4 - \alpha_4}{\alpha_1 A + \alpha_2 B + \alpha_3 P + \alpha_4 Q} \\
 D'_5 &= \frac{D_5}{\alpha_1 A + \alpha_2 B + \alpha_3 P + \alpha_4 Q} \\
 D'_6 &= \frac{D_6}{\alpha_1 A + \alpha_2 B + \alpha_3 P + \alpha_4 Q} \\
 D'_7 &= \frac{D_7}{\alpha_1 A + \alpha_2 B + \alpha_3 P + \alpha_4 Q} \\
 D'_8 &= \frac{D_8}{\alpha_1 A + \alpha_2 B + \alpha_3 P + \alpha_4 Q}
 \end{aligned} \quad (2.29)$$

则有方程 2.30 的形式:

$$v = \frac{N'_1 AB - N'_2 PQ}{1 + D'_1 A + D'_2 B + D'_3 P + D'_4 Q + D'_5 AB + D'_6 AP + D'_7 PQ + D'_8 BQ} \quad (2.30)$$

对比可知, 方程 2.30 在形式上与前文所述的 Bi-Bi 机制中方程 2.25, 具有一致的表示形式, 并采用相同的推导方法可以得到双底物乒乓序列 Bi-Bi 机制的普适酶反应速率方程 2.31.

$$v = \frac{V_F \frac{A}{K_A} \frac{B}{K_B} - V_B \frac{P}{K'_P} \frac{Q}{K'_Q}}{f_1 \left(1 + \frac{A}{K_A}\right) \left(1 + \frac{B}{K_B}\right) + f_2 \left(1 + \frac{P}{K'_P}\right) \left(1 + \frac{Q}{K'_Q}\right)} \quad (2.31)$$

### 3 酶反应速率方程普适形式的讨论

针对酶反应速率方程的普适形式, 我们不仅进行了严格的公式推导, 并在前期工作中对在多底物协同结合模式下的特点、热力学限制、以及调节剂的影响进行了讨论<sup>[22]</sup>. 2009 年, 有文章采用与本文不同的普适形式对生物网络建模的不同方法进行了比较和评价, 并推断普适形式并非建模的最佳选择<sup>[21]</sup>. 但是我们对普适形式基本推导原则和多种影响因素的分析, 发现普适形式正是大规模代谢网络动力学建模所需的有效方法.

#### 3.1 多底物协同结合模式

酶的协同作用 (cooperativity) 和饱和效应 (saturation) 是分子生物学中经常出现的情况, 但是

在计算过程中常常由于这两种情况的出现而影响了准确性<sup>[26]</sup>. Hill's 方程作为比较有优势的一种函数, 用于酶动力方程中计算协同和饱和的情况<sup>[26]</sup>. 这个方程最早来源于 1910 年 Archibald Hill 用于解释血红蛋白的非线性 O<sub>2</sub> 结合曲线的尝试<sup>[27]</sup>. 酶反应速率方程的普适形式是否可以表示酶的协同作用和饱和效应呢?

如果配体结合于蛋白质上的多个位点, 能够用 3.11 反应式表示.



那么这个平衡可以写成方程 3.12:

$$K_d = \frac{[E][A]^n}{[E(A)_n]} \text{ 或者 } [E(A)_n] = \frac{[E][A]^n}{K_d} \quad (3.12)$$

K<sub>d</sub> 是解离常数. 配体所结合部分的比例可以用 Y 来表示, 见 3.13:

$$Y = \frac{[E(A)_n]}{[E]+[E(A)_n]} \quad (3.13)$$

替换到 3.12 方程中, 就得到 3.14:

$$Y = \frac{[A]^n}{K_d+[A]^n} \quad (3.14)$$

定义 K<sub>d</sub>=K<sub>0.5</sub><sup>n</sup>, 则 K<sub>0.5</sub> 具有浓度单位, 当 K<sub>0.5</sub>= [A], 则一半的结合位点被结合. 这个 Hill's 方程在不可逆的情况下其反应速率可以表示为 3.15 的形式:

$$v = \frac{V_F[A]^n}{K_{0.5}^n+[A]^n} \quad (3.15)$$

将这个反应速率方程推广到可逆情况下<sup>[28]</sup>:

$$v = \frac{\left( V_F \frac{[A]}{A_{0.5}} - V_B \frac{[P]}{P_{0.5}} \right) \left( \frac{[A]}{A_{0.5}} - \frac{[P]}{P_{0.5}} \right)^{h-1}}{1 + \left( \frac{[A]}{A_{0.5}} + \frac{[P]}{P_{0.5}} \right)^h} \quad (3.16)$$

h 是 Hill's 常数. 该酶反应速率方程的普适形式可以写成 3.17:

$$v = \frac{V_F \left( \frac{[A]}{K_A} \right)^h - V_B \left( \frac{[P]}{K'_P} \right)}{f_1(V_F, V_B) \left( 1 + \left( \frac{[A]}{K_A} \right)^h \right) + f_2(V_F, V_B) \left( 1 + \frac{[P]}{K'_P} \right)} \quad (3.17)$$

协同作用可以通过增加 [A]/K<sub>A</sub> 到一个较高的幂指数来体现. 如果协同性出现在逆向反应中, 我们还可以增加 [P]/K'<sub>P</sub> 到一个较高的幂指数. 采用相同的方法将前一个部分中的各项归类并且引入更多的函数, 那么就可以改写酶反应速率方程的普适形式为所需要的协同形式<sup>[22]</sup>.

### 3.2 热力学

酶反应速率方程的普适形式 1.12 是能够满足热力学的限制的. 平衡常数表示为 3.18:

$$K_{eq} = \frac{\prod_{j=1}^n [P_j]}{\prod_{i=1}^m [A_i]} \quad (3.18)$$

在平衡时, 反应速率为 0. K<sub>eq</sub> 可以被表述成 3.19 的形式, 被称为 Haldane 方程:

$$K_{eq} = \frac{V_F \prod_{j=1}^n K'_j}{V_B \prod_{i=1}^m K_i} \quad (3.19)$$

因此一般速率方程 1.12 写成 3.20 的形式

$$v = \frac{\left( V_F \prod_{i=1}^m \frac{[A_i]}{K_i} \right) \left( 1 - \frac{\Gamma}{K_{eq}} \right)}{f_1(V_F, V_B) \prod_{i=1}^m \left( 1 + \frac{[A_i]}{K_i} \right) + f_2(V_F, V_B) \prod_{j=1}^n \left( 1 + \frac{[P_j]}{K'_j} \right)} \quad (3.20)$$

Γ 为质量作用比.

$$\Gamma = \frac{\prod_{j=1}^n [P_j]}{\prod_{i=1}^m [A_i]} \quad (3.21)$$

当 Γ=K<sub>eq</sub>, 反应速率为 0, 可以看出方程遵循热力学规律. 当 Γ > K<sub>eq</sub> 时, 反应向逆向进行, 重新建立平衡. 当 Γ < K<sub>eq</sub> 时, 反应向正向进行.

在正常生理条件下, 发生反应的介质是有生命的, 是开放系统. 由于反应通常是非常复杂的, 所以不是所有反应物都能明确写出. 例如, 一些过量的反应物, 如水(H<sub>2</sub>O)和二氧化碳(CO<sub>2</sub>), 就可以从反应中省略掉. 此外, 一些严格控制的代谢产物, 如三磷酸腺苷(ATP)可以被看作在所有涉及到的过程中是一个常量, 也可以从反应中省略. 在如此活跃和开放的自然生理条件下, 简单的热力学考虑可能会误导我们, 因为系统并不是在人为定义的典型封闭系统的平衡状态<sup>[22]</sup>.

### 3.3 调节剂的影响

调节剂是一些可以和酶相互作用使得其催化活性增加或降低的物质, 多底物协同结合模式也是调节的结果. 抑制剂可以降低反应速率, 而活化剂可以加速反应. 这些调节剂在有机体调节代谢途径过程中是非常重要的. 可逆性抑制剂又可以分成竞争性和非竞争性两种. 竞争性抑制剂可以与底物竞争, 并与酶结合, 形成酶 - 抑制剂复合物. 但当酶 - 底物复合物已形成时, 抑制剂就不会起作用. 在简单的米氏方程中, 结果可以表示为 3.22, V<sub>r</sub>是不受影响的, 但 K<sub>A</sub> 会增加<sup>[22]</sup>.

$$v = \frac{V_f[A]}{K_A \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right) + [A]} \quad (3.22)$$

非竞争性抑制剂对于酶和酶 - 底物复合物具有相同的亲和力. 这种抑制剂不会改变  $K_A$ , 但是会降低  $V_f$ , 可以表示为 3.23:

$$v = \frac{\left(\frac{1}{1 + [I]/K_I}\right) V_f[A]}{K_A + [A]} \quad (3.23)$$

当亲和力不同时, 抑制作用被称为混合型抑制. 其结果就是增加  $K_A$ , 减少  $V_f$ . 有一个特殊的例子, 如果抑制剂只与酶 - 底物复合物结合而不与酶结合, 那么这种情况叫做反竞争性结合, 可以表示为 3.24:

$$v = \frac{\left(\frac{1}{1 + [I]/K_I}\right) V_f[A]}{\left(\frac{1}{1 + [I]/K_I}\right) K_A + [A]} \quad (3.24)$$

为了能够在方程中体现抑制剂和活化剂的作用, 可以将没有修饰过的反应速率方程乘一个非线性函数的形式, 采用  $I$  表示抑制剂(3.25), 采用  $T$  表示催化剂(3.26).

$$\frac{1}{1 + ([I]/a)^2} \quad (3.25)$$

$$\frac{([T]/b)^2}{1 + ([T]/b)^2} \quad (3.26)$$

参数  $a$  可以调整为具有明显抑制作用的抑制剂浓度, 同样可将参数  $b$  作为活化剂的浓度. 其他分母部分的幂乘方可以用 2 或者其他. 很明显当  $V_f$  与修饰函数相乘, 这与方程 3.23 中的非竞争性抑制很相似. 对于竞争性抑制的情况, 可以选择  $1/K_f = \left(1 + \frac{[A]}{K_A}\right)/a$  代入方程 3.22, 得到 3.27.

$$\begin{aligned} v &= \frac{V_f[A]}{K_A(1 + [I]/K_I) + [A]} \\ &= \frac{V_f[A]}{K_A(1 + [I](1 + [A]/K_A)/a)(1 + [A]/K_A) + [A]} \\ &= \frac{V_f[A]}{(1 + [I]/a)(K_A + [A])} \end{aligned} \quad (3.27)$$

方程 3.27 与方程 3.25 中所用的抑制剂的形式相同. 因此, 我们展示出在竞争性和非竞争性调节两种情况, 都可以采用在方程 3.25 中所用的变化形式.

#### 4 酶反应速率方程普适形式的应用

综上所述, 酶反应速率方程普适形式与严格定义的酶反应速率方程一样, 同时具有简化形式和一

般形式, 具备了可以用于描述具有任意数量的底物和产物的优点, 并体现了生物过程的随机性. 修饰函数可以加入方程中表示抑制作用和催化作用, 协同作用也包含其中. 酶反应速率方程的普适形式可以准确地表示严格定义的酶反应速率方程<sup>[2]</sup>. 虽然在本文以及前期工作中, 对于普适形式的推导和应用进行了阐述<sup>[2]</sup>, 但是对于普适形式的各种形式和多种不同理解仍然是实践工作中的困扰<sup>[2]</sup>, 因此该普适形式的应用性值得再次强调.

在实际建模过程中, 酶反应的信息通常是不完整的, 如果采用严格定义的经典方程去建立动力学模型, 需要测定无数的参数, 几乎不可能通过实验手段获得所有代谢参数, 而普适形式既简明又具有各个参数容易理解的优点, 更易于使用. 普适速率方程精简了参数的数量, 仅保留最重要的部分, 正向和逆向反应速率  $V_f$ ,  $V_b$ , 和米氏常数( $K$  和  $K'$  用于底物和产物), 这些参数都具有明确的化学和生物学意义. 即使这些核心参数在合适的生理条件下, 生物有机体中的数据并不完全, 它们在建模过程中的调节作用也是可以预测的. 当代组学的数据可以用于分析时, 减少动力学参数的数量也是非常有用的, 这样就可以通过调整动力学参数来适应代谢组学数据. 一方面可以采用遗传计算法则来优化参数, 另一方面, 简化代谢参数的数量可以减少计算工作量, 并且可以使得问题更加容易处理. 此外, 在实际建模过程中想要模拟一个生理或功能条件下的代谢模型, 非常细节的动力学信息并不是必需的. 在对生物代谢网络系统被广泛研究后发现, 无论是基因水平、代谢水平或者其他方面, 其系统的刚健性(robustness)已经在功能水平被充分地阐明了. 因此, 可以将经典的数值赋予参数  $V_f$ ,  $V_b$  和  $K_i$ , 这些经典数值可以通过常数来估算, 可以通过调整这些参数以适应生理条件<sup>[2]</sup>.

酶反应速率方程普适形式第二个应用是方程 1.12 的简化形式, 方程中代谢参数采用估计值, 并可以作为引入经验性描述的一个基础. 一旦确定参数数值, 就可以采用具体的实验来测定, 并进一步通过理论和计算的比较来帮助地理解以上的研究工作. 这种方法与经典速率方程中调整在基本反应的速率常数相比, 是一个更直接的方式. 模型中参数的个数有效地减少, 这种策略在实践中被证明是行之有效的. 例如将普适速率方程用于甲基杆菌 *Methylobacterium extorquens* AM1 来建立代谢网络动力学模型, 其中包括约 80 个代谢反应和 80 个

代谢产物<sup>[20]</sup>. 为了建立大规模网络代谢动力学模型, 首先让酶反应动力学的参数数量最小化, 并找到一系列参数( $V_F$ ,  $V_B$ ,  $K_i$ )能够给出稳定状态解决办法<sup>[20]</sup>. 结果显示即使代谢参数发生变化, 模型仍然具有刚健性. 这个事实也与我们所看到的酶动力学现象一致, 即代谢参数的大量误差并不影响计算的流. 此项工作提示, 更大规模的代谢网络系统可以构建于动力学方程的相同结构之上<sup>[22]</sup>.

酶反应速率方程普适形式第三个应用是将它看作是一个公式, 可以记录实验中的动力学参数. 这种形式是精确的, 具有容易解释的参数, 能够与计算机建模相接轨, 在构建代谢网络相关数据库方面具有独到的优势. 特别是, 如果实验结果是向逆反应方向进行, 则更有价值, 它可以记录逆向反应速率<sup>[22]</sup>.

总之, 酶反应速率方程普适形式的提出及其在代谢网络动力学建模过程中的应用, 有助于克服一直以来存在的三大难题, 为代谢网络动力学模型的实践提供了有效方法. 而代谢网络动力学模型的建立和应用成为代谢调控的关键性步骤, 并对合成生物学、系统生物学的发展具有重要意义.

### 参 考 文 献

- [1] Zhu X M, Yin L, Hood L, *et al.* Calculating biological behaviors of epigenetic states in the phage lambda life cycle. *Funct Integr Genomics*, 2004, **4** (3): 188-195
- [2] Bruggeman F J, Hornberg J J, Boogerd F C, *et al.* Introduction to systems biology. *Exs*, 2007, **97**: 1-19
- [3] Yang K, Ma W, Liang H, *et al.* Dynamic simulations on the arachidonic acid metabolic network. *PLoS Comput Biol*, 2007, **3** (3): e55
- [4] Ishii N, Nakahigashi K, Baba T, *et al.* Multiple high-throughput analyses monitor the response of *E. coli* to perturbations. *Science*, 2007, **316** (5824): 593-597
- [5] Stephanopoulos G, Aristidou A, Nielsen J. *Metabolic Engineering: Principles and Methodologies*. San Diego: Academic Press, 1998
- [6] Cortassa S, Aon M, Iglesias A. *An Introduction to Metabolic and Cellular Engineering*. Singapore: World Scientific, 2002
- [7] Beard D A, Liang S D, Qian H. Energy balance for analysis of complex metabolic networks. *Biophys J*, 2002, **83** (1): 79-86
- [8] Kholodenko B, Westerhoff H. *Metabolic Engineering in the Post Genomic Era*. Wymondham: Horizon Scientific, 2004
- [9] Zhang B. *Metabolic Engineering*. Tianjin: Tianjin University Press, 2003
- [10] Cha S. A simple method for derivation of rate equations for enzyme-catalyzed reactions under the rapid equilibrium assumption or combined assumptions of equilibrium and steady state. *J Biol Chem*, 1968, **243** (4): 820-825
- [11] Segel H. *Enzyme Kinetics. Behavior and Analysis of Rapid Equilibrium and Steady-State Enzyme Systems*. New York: John Wiley and Sons, 1975
- [12] Ao P. Metabolic network modelling: Including Stochastic Effects. *Comp Chem Eng*, 2005, **29**(11-12): 2297-2303
- [13] Schomburg I, Chang A, Hofmann O, *et al.* BRENDA: a resource for enzyme data and metabolic information. *Trends Biochem Sci*, 2002, **27** (1): 54-56
- [14] Kanehisa M, Goto S, Hattori M, *et al.* From genomics to chemical genomics: new developments in KEGG. *Nucleic Acids Res*, 2006, **34** (Database issue): D354-357
- [15] Krieger C J, Zhang P, Mueller L A, *et al.* MetaCyc: a multiorganism database of metabolic pathways and enzymes. *Nucleic Acids Res*, 2004, **32** (Database issue): D438-442
- [16] Caspi R, Foerster H, Fulcher C A, *et al.* MetaCyc: a multiorganism database of metabolic pathways and enzymes. *Nucleic Acids Res*, 2006, **34** (Database issue): D511-516
- [17] van Eunen K, Bouwman J, Daran-Lapujade P, *et al.* Measuring enzyme activities under standardized *in vivo*-like conditions for systems biology. *Febs J*, 2010, **277** (3): 749-760
- [18] Rojas I, Wittig U. Workshop on storage and annotation of reaction kinetics data. Heidelberg: *In Silico Biol*, 2007, **7**(2 Suppl): S1-S90
- [19] Poolman M G, Bonde B K, Gevorgyan A, *et al.* Challenges to be faced in the reconreconstruction of metabolic networks from public databases. *IEE Proc Syst Biol*, 2006, **153**(5): 379-384
- [20] Ao P, Lee L W, Lidstrom M E, *et al.* Towards kinetic modeling of global metabolic networks: *Methylobacterium extorquens* AM1 growth as validation. *Chin J Biotech*, 2008, **24** (6): 980-994
- [21] Hadlich F, Noack S, Wiechert W. Translating biochemical network models between different kinetic formats. *Metab Eng*, 2009, **11** (2): 87-100
- [22] Lee L W, Yin L, Zhu X, *et al.* Generic enzymatic rate equation under living conditions. *J Biol Syst*, 2007, **15** (4): 495-514
- [23] Akerman S E, Muller S. 2-Cys peroxiredoxin PfTrx-Px1 is involved in the antioxidant defence of *Plasmodium falciparum*. *Mol Biochem Parasitol*, 2003, **130** (2): 75-81
- [24] Bravo I G, Barrallo S, Ferrero M A, *et al.* Kinetic properties of the acylneuraminate cytidyltransferase from *Pasteurella haemolytica* A2. *Biochem J*, 2001, **358** (Pt 3): 585-598
- [25] Gyamerah M, Willetts A J. Kinetics of overexpressed transketolase from *Escherichia coli* JM 107/pQR 700. *Enzyme Microb Tech*, 1997, **20** (2): 127-134
- [26] Sorribas A, Hernandez-Bermejo B, Vilaprinyo E, *et al.* Cooperativity and saturation in biochemical networks: a saturable formalism using Taylor series approximations. *Biotechnol Bioeng*, 2007, **97** (5): 1259-1277
- [27] Hill A V. The possible effects of the aggregation of the molecules of haemoglobin on its disassociation curves. *J Physiol*, 1910, **40**: iv-vii
- [28] Hofmeyr J H, Cornish-Bowden A. The reversible Hill equation: how to incorporate cooperative enzymes into metabolic models. *Comput Appl Biosci*, 1997, **13** (4): 377-385



## Generic Enzymatic Rate Equation\*

XU Min-Juan<sup>1)</sup>, ZHU Xiao-Mei<sup>2)</sup>, LIN Pao-Hung<sup>3,4)</sup>, AO Ping<sup>1)\*\*</sup>

<sup>1)</sup> *Shanghai Center for Systems Biomedicine, Shanghai Jiao Tong University, Key Laboratory of Systems Biomedicine, Shanghai 200240, China;*

<sup>2)</sup> *GenMath, Corp. 5525 27th Ave.N.E., Seattle, USA, WA 98105;*

<sup>3)</sup> *Department of Electronic Engineering, Taiwan University of Science and Technology, Taipei 10607, China;*

<sup>4)</sup> *Graduate Institute of Electro-Optical Engineering, Taiwan University of Science and Technology, Taipei 10607, China)*

**Abstract** Kinetic modeling of large-scale metabolic network require a generic enzymatic rate equation. In the generic form, kinetic parameters are clear and precise enough to correlate to experimental data and construct a database. Such a uniform form is easy to deal with arbitrary number of substrates and products in computation of dynamic modeling. The generic rate equation is symmetrical in both directions of reversible reaction and formally exact under the quasi-steady state condition. Here presented the rigorous derivation of generic rate equation from further three classical enzymatic rate equations and discussed the characters and uses of the generic form.

**Key words** generic enzymatic rate equation, kinetic model, systems biology, enzyme kinetics

**DOI:** 10.3724/SP.J.1206.2010.00500

---

\*This work was supported by grants from The State Key Development Program for Research of China (2010CB529200, 2007CB914700).

\*\*Corresponding author.

Tel: 86-21-34207042, E-mail: aoping@sjtu.edu.cn

Received: January 30, 2011 Accepted: April 18, 2011