

**Parametre Belirsizliği Altında Hücre İçi Ağların Modellenmesi,
Analizi ve Optimal Kontrolü**

Proje Kodu: 2509

Proje Tür Detayı: PIA-Bosphorus-Fransa

Proje No: 111E082

Proje Yürütücüsü:
Prof. Dr. Cüneyt GÜZELİŞ

Araştırmacılar:

Yrd. Doç. Dr. Güleser KALAYCI DEMİR

Doç. Dr. Levent ÇAVAŞ

Bursiyerler:

Dr. Neslihan Avcu

Hakan ALYÜRÜK

MAYIS 2014
İZMİR

ÖNSÖZ

"Parametre Belirsizliği Altında Hücre İçi Ağların Modellenmesi, Analizi ve Optimal Kontrolü" adlı 111E082 numaralı PIA-Bosphorus-Fransa projesi TÜBİTAK-CNRS ikili işbirliği programı kapsamında 15/05/2012 - 15/05/2015 tarihleri arasında TÜBİTAK ARDEB tarafından desteklenmiştir. Projenin Türkiye tarafındaki yürütücüsü İzmir Ekonomi Üniversitesi'nden Prof.Dr. Cüneyt GÜZELİŞ, Fransa tarafındaki yürütücüsü LIPN-Kuzey Paris Üniversitesi'nden (LIPN- Univ. Paris Nord) Doç. Dr. Ferhan Pekergin'dir. Araştırma grubunda Doç. Dr. Levent ÇAVAŞ ve Yrd. Doç. Dr. Güleser KALAYCI DEMİR Araştırmacı / Uzman, Dr. Neslihan AVCU ve Hakan ALYÜRÜK bursiyer olarak yer almaktadır.

Proje kapsamında, üzerinde en çok çalışılan gen düzenleyici ağlardan biri olan "Lak Operon" gen düzenleyici ağı incelenmiştir. Proje üç ana iş paketinden oluşmaktadır.

1. İş Paketi: Modelle Çalışmaları (0 - 18 Ay)

Bu iş paketi içinde, lak operon için deterministik ve stokastik matematiksel modeller geliştirilmiştir. Model parametre değerleri bilimsel yazındaki teorik ve deneysel çalışmalardan kestirim yoluyla elde edilmiştir.

2. İş Paketi: Analiz Çalışmaları (3 - 24 Ay)

Analiz çalışmaları kapsamında, geliştirilen modellerde lak operonun çift-kararlı davranış özelliğini incelemek için farklı analiz yöntemleri geliştirilmiştir.

3. İş Paketi: Optimal Kontrol Çalışmaları (6 - 24 Ay)

Lak operonun deterministik modeli için optimal kontrol problemi tanımlanmıştır.

Lak operonun çift-kararlı çalışma davranışını açıklamak için geliştirilen analiz yöntemleri farklı gen düzenleyici ağ modellerinin analizi için genelleştirilebileceğinden, bu analiz yöntemleri ve lak operon özelinde elde edilen sonuçlar projenin bilimsel yazındaki özgün çıktılarını oluşturmaktadır.

Projemize gösterdiği desteklerden ötürü tüm proje çalışanları adına TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

Prof. Dr. Cüneyt GÜZELİŞ

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
TABLO LİSTESİ	iv
ŞEKİL LİSTESİ.....	v
ÖZET.....	vii
ABSTRACT	ix
1. GİRİŞ	1
1.1 Deterministik matematiksel model.....	3
1.2 Model parametrelerinin belirlenmesi ve parametre belirsizlikleri.....	5
2. DETERMİNİSTİK MODEL İÇİN SINIRLILIK VE YEREL KARARLILIK ANALİZİ.....	7
2.1 Durum değişkenlerinin sınırlılığı	7
2.2 Çoklu denge noktalarının varlığı.....	8
2.3 Denge noktalarının yerel kararlılığı.....	10
3. ÇOKLU DENGE NOKTALARININ VARLIĞINI SAĞLAYAN PARAMETRE ARALIKLARININ DİSKRİMİNANT YÖNTEMİYLE BELİRLENMESİ	13
4. ÇOKLU DENGE NOKTALARININ VARLIĞINI SAĞLAYAN PARAMETRE ARALIKLARININ KÖKLERİN GEOMETRİK YERİ YÖNTEMİYLE BELİRLENMESİ	16
4.1 p parametresi için köklerin geometrik yeri analizi	17
4.2 K parametresi için köklerin geometrik yeri analizi	22
4.3 K_1 parametresi için köklerin geometrik yeri analizi.....	27

5. TMG UYARIMLI LAK OPERON MODELİ İÇİN TEK PARAMETRELİ KÖKLERİN GEOMETRİK YERİ ANALİZ SONUÇLARININ BİRLEŞTİRİLMESİ.....	31
5.1 TMG uyarımlı Lac operon modeli için $G_e - T_e$ kontrol parametre uzayında çift-kararlı çalışma koşulları	34
5.2 IPTG uyarımlı Lak operon modeli için $G_e - T_e$ kontrol parametre uzayında çift-kararlı çalışma koşulları	36
6. STOKASTİK MODEL ÇALIŞMALARI VE SİMÜLASYON SONUÇLARI	40
6.1 Kapalı form kalıcı durum çözümleri	41
6.2 Gillespie stokastik simulasyon algoritması	42
6.3 Yutucu Markov zinciri yöntemi ile yutulma olasılıkları ve yutulma adım sürelerinin hesaplanması	43
6.4 Basit bir doğum-ölüm işlemi için simülasyon sonuçları	44
6.5 Stokastik lak operon modeli simulasyon sonuçları	49
7. KONTROL PROBLEMLERİNİN TANIMLANMASI	62
8. SONUÇLAR	64
KAYNAKLAR.....	68

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Dönüştürülmüş modelin karakteristik denklemleri için Routh dizisi.....	12
Tablo 2. Deterministik-stokastik model katsayılarının dönüşümü.....	53

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Çoklu denge noktalarının geometrik incelemesi	9
Şekil 2. $K = 167,1$ ve $K_1 = 1(\mu M)^{-2}$ alındığında p parametresi için köklerin geometrik yeri.....	19
Şekil 3. p parametresi için $K_1 = 1(\mu M)^{-2}$ sabit alınarak farklı K değerlerine göre elde edilen köklerin geometrik yer grafikleri	20
Şekil 4. $p = 74.59\mu M$ ve $K_1 = 1(\mu M)^{-2}$ alındığında K parametresi için köklerin geometrik yeri..	23
Şekil 5. p^2K_1 'e göre ölçeklendirilmiş gerçel eksene giriş ve gerçel eksenden ayrılma noktalarının, $T(1)$, $T(2)$ ve $T(3)$, gerçel ve imajiner kısımlarının grafikleri	25
Şekil 6. K parametresi için farklı p^2K_1 değerleriyle çizilen köklerin geometrik yeri grafikleri	27
Şekil 7. a. $K = 167.1$ ve $p = 74.59\mu M$ alındığında K_1 parametresi için çizilen köklerin geometrik yeri grafiği. b. Gerçel eksene giriş noktası civarında grafiğin büyütülmüş hali	29
Şekil 8. a., c., e., g. Sabit $p = 74.59\mu M$ ve farklı K değerleri için çizilen K_1 parametresine ait köklerin geometrik yeri grafikleri. b., d., f., h. Gerçel eksene giriş noktası civarında a., c., e., ve g. grafiklerinin büyütülmüş halleri	30
Şekil 9. $p - K - K_1$ uzayında çift-kararlı çalışma bölgesi.....	31
Şekil 10. $p - K - K_1$ uzayında çift-kararlı çalışma bölgesinin 2-boyutlu arakesitleri	32
Şekil 11. $p - K - K_1$ uzayında çift-kararlı çalışma bölgesinin 2-boyutlu arakesitleri	32
Şekil 12. Farklı K_1 değerleri için $p - K$ uzayında çift-kararlı çalışma bölgeleri.....	33
Şekil 13. Farklı p değerleri için $K - K_1$ uzayında çift-kararlı çalışma bölgeleri.....	33
Şekil 14. $K = 167.1$ ve $K_1 = 1(\mu M)^{-2}$ için $G_e - T_e$ uzayında çift-kararlı çalışma bölgesi	35
Şekil 15. $K = 167.1$ ve $K_1 = 0.0252 (\mu M)^{-2}$ için $G_e - T_e$ uzayında çift-kararlı çalışma bölgesi....	36
Şekil 16. $K = 1000$ ve $K_1 = 0.031 (\mu M)^{-2}$ için $G_e - T_e$ uzayında çift-kararlı çalışma bölgesi	37
Şekil 17. $K = 7200$ ve $K_1 = 0.0252 (\mu M)^{-2}$ için $G_e - T_e$ uzayında çift-kararlı çalışma bölgesi	39
Şekil 18. Stokastik model doğum-ölüm diagramı	40
Şekil 19. Stokastik model diagramı.....	41
Şekil 20. Bir boyutlu doğum-ölüm işlemi içeren gen düzenleyici ağ modeli	44
Şekil 21. $\beta = 0.5$ için elde edilen kapalı form kalıcı durum çözümleri	45
Şekil 22. $\beta = 0.95$ için elde edilen kapalı form kalıcı durum çözümleri	45
Şekil 23. $\beta = 1.25$ için elde edilen kapalı form kalıcı durum çözümleri.....	46
Şekil 24. $\beta = 0.5$ için elde edilen Gillespie simülasyon sonuçları	47
Şekil 25. $\beta = 0.95$ için elde edilen Gillespie simülasyon sonuçları	47
Şekil 26. $\beta = 1.25$ için elde edilen Gillespie simülasyon sonuçları	47
Şekil 27. Emilme olasılık sonuçları	48
Şekil 28. Emilme için gerekli adım sonuçları	49
Şekil 29. $p = 35\mu M$, $K_1 = 1(\mu M)^{-2}$ ve $K = 167,1$ parametre değerleri için kapalı form kalıcı durum çözümü.....	50

Şekil 30. $p = 35\mu M$, $K_1 = 1(\mu M)^{-2}$ ve $K = 167,1$ parametre değerleri için yutulma adım sayısı	51
Şekil 31. $p = 75\mu M$, $K_1 = 1(\mu M)^{-2}$ ve $K = 167,1$ parametre değerleri için yutulma adım sayısı	52
Şekil 32. $p = 75\mu M$, $K_1 = 1(\mu M)^{-2}$ ve $K = 167,1$ parametre değerleri için yutulma adım sayısı	53
Şekil 33. Tane sayısı için $p = 45\mu M$, $K_1 = 1(\mu M)^{-2}$ ve $K = 167,1$ parametre değerleriyle elde edilen simülasyon sonuçları.....	55
Şekil 34. Tane sayısı için $p = 25.7\mu M$, $K_1 = 1(\mu M)^{-2}$ ve $K = 167,1$ parametre değerleriyle elde edilen simülasyon sonuçları.....	56
Şekil 35. Tane sayısı için $p = 50\mu M$, $K_1 = 1(\mu M)^{-2}$ ve $K = 167,1$ parametre değerleriyle elde edilen simülasyon sonuçları.....	56
Şekil 36. Tane sayısı için $p = 84.1\mu M$, $K_1 = 1(\mu M)^{-2}$ ve $K = 167,1$ parametre değerleriyle elde edilen simülasyon sonuçları.....	57
Şekil 37. Tane sayısı için $K_1 = 0,119(\mu M)^{-2}$, $p = 74.59\mu M$, ve $K = 167,1$ parametre değerleriyle elde edilen simülasyon sonuçları.....	57
Şekil 38. Tane sayısı için $K_1 = 0,4(\mu M)^{-2}$, $p = 74.59\mu M$, ve $K = 167,1$ parametre değerleriyle elde edilen simülasyon sonuçları.....	58
Şekil 39. Tane sayısı için $K_1 = 1,27(\mu M)^{-2}$, $p = 74.59\mu M$, ve $K = 167,1$ parametre değerleriyle elde edilen simülasyon sonuçları.....	58
Şekil 40. Tane sayısı için $K = 149$, $K_1 = 1(\mu M)^{-2}$ ve $p = 74.59\mu M$ parametre değerleriyle elde edilen simülasyon sonuçları.....	59
Şekil 41. Tane sayısı için $K = 350$, $K_1 = 1(\mu M)^{-2}$ ve $p = 74.59\mu M$ parametre değerleriyle elde edilen simülasyon sonuçları.....	60
Şekil 42. Tane sayısı için $K = 1390$, $K_1 = 1(\mu M)^{-2}$ ve $p = 74.59\mu M$ parametre değerleriyle elde edilen simülasyon sonuçları.....	60

ÖZET

Bu proje sonuç raporu, bilimsel yazında en çok incelenen gen düzenleyici ağ olan lak operonun çift-kararlı davranışının model parametrelerine bağlı olarak incelenmesine ilişkin özgün kuramsal ve sayısal analiz sonuçları sunmaktadır. Çalışmada, biri deterministik diğeri stokastik iki farklı model analiz edilmiştir. Lak operon modelleri yapay uyarıcı olarak metil-1-tio- β -D-galaktosid'i kabul etmektedir. Deterministik model için parametre uzayındaki-çift kararlı çalışma bölgeleri, yeni ortaya konan diskriminant ve köklerin geometrik yerine dayalı yöntemler ile tam olarak belirlenmiştir. Stokastik model için ise kapalı form kararlı durum çözümleri kullanılarak parametre uzayındaki çift-kararlı çalışma bölgeleri hesaplanmıştır. Geliştirilen yöntemler, sadece lak operon modellerinin çift kararlı çalışmasını garanti eden parametre değerlerini tanılamada değil, en azından bu gen düzenleyici ağ için parametre belirsizliği altında model analizi problemine çözüm getirir.

Deterministik lak operon modeli için, durum değişkenlerinin sınırlılığı gösterilmiş, çoklu denge noktalarının varlığı ve dolayısıyla çift kararlı çalışmayı sağlayan parametre değerleri diskriminant ve köklerin geometrik yerine dayalı incelemelerle belirlenmiş ve denge noktalarının yerel kararlılık incelemesi yapılmıştır. Deterministik lak operon modeli için gerçekleştirilen tüm cebrik, grafiksel ve sayısal analizler birbirini desteklemektedir. Deterministik lak operon modelinde olduğu gibi köklerin geometrik yeri tabanlı yöntemin, Hill ve Michaelis-Menten yaklaşımları uyarınca enzim kinetiğine dayalı olarak türetilen rasyonel sağ yanlı durum denklemleri ile verilen herhangi türden gen düzenleyici veya metabolik ağ modeli için etkin sayısal bir yöntem olduğu görülmüştür.

Stokastik model analizlerinde, durum değişkenlerinin gen ağı bileşenlerinin molekül tane sayısı ile yapılması gerektiği sonucu elde edilmiştir. İlgili modele deterministik modelden hangi dönüşüm ile geçileceği belirlenmiştir. Yutucu Markov model yaklaşımı kullanılarak, başlangıç molekül sayısından uyarılmış ve uyarılmamış denge durumlarına geçiş olasılıkları ve ilgili denge noktasına kaç adımda gidileceği hesaplanmıştır.

Ayrıca, optimal kontrol çalışmalarının başlangıç aşaması olarak deterministik model için kontrol problemlerinin tanımlamaları yapılmıştır.

Anahtar sözcükler: Lak operon, çift-kararlılık, köklerin geometrik yeri, diskriminant, gen düzenleyici ağlar, TMG, deterministik model, stokastik model, kapalı form kalıcı durum çözümleri, yutucu Markov model.

ABSTRACT

This final project report presents the original results of theoretical and numerical studies on the analysis of bistable behavior of the most studied gene regulatory network “lac operon” in terms of the model parameters. In the study, two different lac operon models, one deterministic while the other stochastic, are analyzed. The lac operon models assume methyl-1-thio- β -D-galactoside as the artificial inducer. The bistability regions in the parameter space for the deterministic model are thoroughly determined by newly introduced discriminant and root locus based methods. Also the bistability regions in the parameter space for the stochastic model are defined by using closed form steady-state solutions. The developed methods not only identify the ranges of the physical parameters ensuring the bistable behavior of the lac operon models, but also provide a way of tackling the problem of model analysis at least for this gene regulatory network under parameter uncertainties.

For the deterministic lac operon model, the boundedness of the state variables are demonstrated, the parameter values providing the existence of the multiple equilibria, thus the bistable behavior, are determined by the discriminant and root locus based analyses and a local stability analysis of the equilibria is performed. All these studies for the deterministic lac operon model performed in algebraic, graphical and numerical ways all supporting to each other. It is observed along the studies that, as in the deterministic lac operon model, the developed root locus based method provides an efficient numerical tool for any kind of gene regulatory and metabolic network models given in a state equation form with rational right-hand side, derived based on enzyme kinetics employing Hill and Michaelis-Menten approaches.

It is obtained that in the analysis of the stochastic model, the state variables must be defined in terms of molecule numbers of the components of the gene network. It is also obtained that how the related model can be transformed from the deterministic model. The probability rates of the each starting molecule numbers to uninduced and induced equilibrium states and the number of the steps to reach the related equilibrium point are calculated by using absorbing Markov model approach.

Besides, the definition of the control problems are constructed as the initial stage of optimal control studies.

Key words: Lac operon, bistability, root locus, discriminant, gene regulatory networks, TMG, deterministic model, stochastic model, closed form steady-state solutions, absorbing Markov model.

1. GİRİŞ

Lak operon, koli basilinin (*Escherichia Coli*) glikoz yokluğunda besin olarak laktozu kullanmasını sağlayan enzimlerin sentezlendiği DNA bölgesidir (Jacob vd. 1960). Lak operon, ikisi laktozun hücre içine taşınıp allo-laktoza dönüştürülerek metabolize edilmesinde görevli üç yapısal gen içermektedir. LacY, LacZ ve LacA sırasıyla laktozun hücre içine taşınmasını sağlayan permeaz, laktozu allo-laktoza dönüştüren β -galaktozidaz ve şeker metabolizmasında görevli transasetilaz enzimini üretmektedir. Baskılayıcı (represör) proteinini sentezleyen LacI geni lak operonun açılıp kapanmasını kontrol etmektedir. Ortamda glikoz bulunduğu zaman represör protein lak operonun promotor (başlatıcı) bölgesine tutunarak ilgili gen ürünlerinin sentezlenmesini engeller.

Hücrede bazal metabolizma nedeniyle çok az miktarda permeaz ve β -galaktozidaz bulunmaktadır. Bazal düzeydeki iki enzim, laktozun olduğu ama glikozun bulunmadığı ortamda laktozun hücre içine alınarak allo-laktoza dönüştürülmesini sağlar. Hücre içindeki allo-laktoz, represör protein ile kimyasal tepkimeye girerek proteinin yapısını değiştirir. Bu yapısal farklılık represör proteinin promotor bölgesine tutunmasını engeller. Böylece RNA polimeraz, lak operon bölgesindeki üç genden mRNA transkripsiyonuna başlar. Lak operonun içerdiği pozitif geri besleme sayesinde üretilen gen ürünlerindeki artış, hücre içindeki allo-laktoz düzeyini artırır. Artan allo-laktoz düzeyi, baskılayıcı proteini daha çok engelleyerek enzim sentezlenmesini destekler.

Lak operonun kontrolü iki farklı mekanizmayla gerçekleştirilmektedir. Katabolit baskılama (catabolite repression) olarak isimlendirilen birinci kontrol mekanizması, glikozun cAMP yoluyla mRNA üretimini engellemesine dayanır. cAMP miktarı hücre içi glikoz miktarıyla ters orantılı olarak değişir. cAMP molekülü, cAMP almaç (reseptör) proteini (CRP) ile CAP kompleksini oluşturur. CAP kompleksi promotor bölgesine tutunarak mRNA üretimini artırır. Glikozun varlığı cAMP miktarını azalttığı için mRNA üretimini de azaltır. Glikozun hücre dışındaki laktozun içeri alınmasını engelleme süreci ise uyarıcı dışarlama (inducer exclusion) olarak tanımlanan ikinci kontrol mekanizmasıdır.

Deneyisel çalışmalarda, genellikle, allo-laktoz ile kimyasal benzerlik gösteren methyl-1-thio- β -D-galactoside (TMG) yapay uyarıcı olarak kullanılmaktadır. Yapay bir bileşik olan TMG, allo-laktozdan farklı olarak glikoza dönüştürülemez ve enerji mekanizmasına girmez. TMG'nin

uyarıcı olarak kullanıldığı bu çalışmalar, glikoliz aşaması içermediği (metabolize olmadığı) için lak operon enzimlerinin işlevlerini incelemede daha uygun koşullar sağlarlar.

Biyolojik sistemlerin matematiksel modellerinin oluşturulması ve mühendislik yöntemleri ile incelenmesi yönündeki çalışmalar 1950'li yıllardan beri hızla artmaktadır (Novick ve Wiener, 1957). Lak operon ile ilgili ilk teorik ve deneysel çalışmalar Jacob ve Monod tarafından yapılmıştır. Bu çalışmalarda gen düzenlemesi enzim üretiminin kontrolünü biyolojik bir anahtar mekanizması ile açıklamaktadır. Jacob ve Monod'un çalışmaları lak operon üzerinde birçok modelleme ve analiz çalışmasına yol açmıştır (Wong vd.,1997; Özbudak vd., 2004; Yıldırım vd., 2004). Lak operonun davranışı bilimsel yazında genellikle enzim kinetiğinden türetilen adi diferansiyel denklemlerle modellenmektedir (Özbudak vd., 2004; Yıldırım vd., 2004; van Hoek ve Hogeweg, 2006). Bunun dışında gecikmeli adi diferansiyel denklem sistemleri ve stokastik modeller de bilimsel yazında yer almaktadır (Julius vd., 2008).

Deterministik matematiksel modellerde reaksiyon hızları molekül konsantrasyonlarının zamana göre türevi olarak tanımlanmaktadır. Enzim kinetiklerini modellemek için Michealis-Menten ve/veya Hill gibi yaklaşımlar kullanıldığında lak operonu tanımlayan diferansiyel denklemler molekül konsantrasyonlarının doğrusal olmayan ve rasyonel fonksiyonları olarak elde edilmektedir (Özbudak vd., 2004; Yıldırım vd., 2004; van Hoek ve Hogeweg, 2006). Düşük molekül konsantrasyonları için oluşturulan stokastik modellerde reaksiyon hızları, molekül sayıları cinsinden rassal değişkenler olarak veya diferansiyel denklemlere gürültü terimleri eklenerek tanımlanmaktadır (Julius vd., 2008). Stokastik modeller, uyarılmış ve uyarılmamış durumlar arasında anlık geçişlerin modellenmesi açısından uygun olmalarına karşın yoğun hesap gerektirdiğinden sıkça kullanılmamaktadır.

Stokastik modeller, durum değişkeninin sayısına bağlı olduğu ve kimyasal denkelemlerin doğasında var olan rastgeleliği daha iyi açıkladığı için geliştirilen farklı simülasyon algoritmaları ve kapalı form durum çözümleri bilimsel yazında farklı gen ağları için pek çok stokastik model analiz çalışmaları yer almaktadır (Stamatakis ve Mantzaris, 2009; Wolf vd., 2010).

Bu çalışmanın amacı, lak operon modellerinde çözümlerinin sınırlılığını, çift-kararlılık için gerekli olan çoklu denge noktalarının hangi durumlarda ortaya çıktığını ve denge noktalarının Lyapunov anlamında kararlılığını, basit fakat sistem dinamiklerini açıklamak için yeterli bir

deterministik model üzerinde incelemektir. Stokastik model için parametre değerlerine bağımlılığı ve deneysel sonuçlarda gözlemlenen hücreler arası farklılıkları açıklamaktır. İnceleme sonuçları, lak operonun deneysel olarak çok iyi bilinen çift-kararlı dinamiklerinin hangi parametre değerlerinde gerçekleştiğini kuramsal olarak açıklaması açısından bilimsel yazına katkı oluşturmaktadır.

Projede yapılan çalışmalarda yukarıda biyolojik yapısından bahsedilen lak operon üzerinde en çok çalışılan gen düzenleyici ağlardan biri olduğu için uygulama konusu olarak seçilmiştir. Lak operonun çift-kararlı çalışma davranışı için yapılan analizlerde kullanılan model ile ilgili ayrıntılı bilgi aşağıda yer almaktadır.

1.1 Deterministik matematiksel model

Projede ele alınan lak operon modelinde, uyarıcı olarak allo-laktoz ile benzer özellikler gösterdiği için yapay bir bileşik olan TMG kullanılmıştır. Modelde, mRNA, permeaz ve hücre içi TMG konsantrasyonları durum değişkeni alınarak zamanla değişimlerini açıklayan üç adi diferansiyel denklem bulunmaktadır. Verilen model: i) hücre dışı glikozun katabolit baskılama ve uyarıcı dışarlama etkilerini, ii) mRNA'nın TMG etkisi ile transkripsiyonunu, iii) permeaz üretimini, iv) permeaz ile TMG'nin hücre içine taşınmasını ve v) TMG, mRNA ve permeazın bozulmasını içermektedir. Protein sentezi sırasındaki transkripsiyon ve translasyon işlemlerinde gecikme olmadığı kabul edilmiştir. Yapılan analizlerde de görüleceği üzere, model lak operonun çift-kararlı çalışma davranışını etkin olarak açıklamaktadır.

Matematiksel model, durum değişkenleri olan mRNA, permeaz ve hücre içi TMG konsantrasyonlarının tepkime hızlarının birinci derece adi diferansiyel denklemlerini içermektedir:

$$\frac{dM}{dt} = \alpha_M f_{M,T}(T) f_{M,Ge}(Ge) - \gamma_M M \quad (1.1)$$

$$\frac{dP}{dt} = \alpha_P M - \gamma_P P \quad (1.2)$$

$$\frac{dT}{dt} = \alpha_T f_{T,Te}(Te) f_{T,Ge}(Ge) P - \gamma_T T \quad (1.3)$$

Burada M , P ve T durum değişkenleri, sırasıyla, mRNA, permeaz ve hücre içi TMG konsantrasyonunu ifade ederken, model girişleri olan T_e ve G_e sırasıyla hücre dışı TMG ve

glikoz konsantrasyonlarını ifade etmektedir. $i \in \{M, P, T\}$ olmak üzere, her bir durum değişkeni için γ_i bozunma sabitini, α_i ise üretim sabitini belirtmektedir. γ_i , hücre içindeki aktif bozunmayı ve hücre büyümesi nedeniyle ortaya çıkan konsantrasyondaki seyrelmeyi kapsamaktadır. $f_{M,T}(T)$ ve $f_{M,Ge}(Ge)$, sırasıyla, mRNA üretimi üzerine hücre içi TMG'nin pozitif ve hücre dışı glikozun negatif etkilerini göstermektedir. Benzer olarak $f_{T,Te}(Te)$ ve $f_{T,Ge}(Ge)$, TMG'nin hücre içine taşınmasında hücre dışı TMG'nin pozitif ve hücre dışı glikozun negatif etkilerini ifade eder. Burada $f_{M,Ge}(Ge)$ ve $f_{T,Ge}(Ge)$ hücre dışı glikozun azalan fonksiyonları olup sırayla katabolit baskılama ve uyarıcı dışarlama etkileridir.

Verilen modelde, denklem (1.1) mRNA konsantrasyonundaki değişimi; hücre dışı glikozun katabolit baskılama etkisi altında hücre içi TMG konsantrasyonu ile mRNA üretimi ile toplam bozunma arasındaki fark olarak tanımlamaktadır. Denklem (1.2)'de, permeaz konsantrasyonundaki değişim, sentezlenen permeaz ile permeazdaki bozunmanın farkı olarak gösterilmektedir. Benzer biçimde, denklem (1.3) hücre içi TMG konsantrasyonundaki değişimi, uyarıcı dışarlamasının azaltıcı etkisi altında hücre dışı TMG'nin hücre içine taşınmasından kaynaklanan artış terimi ile toplam bozunma arasındaki fark ile açıklamaktadır.

mRNA'ya ait üretim fonksiyonu, $f_{M,T}(T)$, allo-laktoza benzer şekilde TMG etkisi altında allosterik bir tepkime içeren uyarlanmış Hill fonksiyonu ile denklem (1.4)'de verilmektedir. Bu üretim fonksiyonu allo-laktoz ile uyarılmış lak operon modeli için yapılan deneysel çalışmalar sonucu bilimsel yazında kullanılan üretim fonksiyonunun TMG ile uyarılmış modele uyarlamasıdır.

$$f_{M,T}(T) = \frac{1+K_1T^n}{K+K_1T^n} \quad (1.4)$$

Burada, n sabiti baskılayıcı proteini etkisiz hale getirmek için gerekli TMG molekül sayısını, K_1 parametresi TMG ile baskılayıcı protein arasındaki etkileşimin denge sabitini, $1/K$ parametresi koli basilineki bazal mRNA düzeyini ifade etmektedir. Baskılayıcı proteinin baskılanabilmesi için en az iki TMG molekülünün gerekliliği yapılan deneysel çalışmalarda elde edildiği için $n = 2$ olarak alınmıştır.

Michealis-Menten kinetiği kullanılarak hücre dışı TMG'nin hücre içine taşınması aşağıdaki gibi modellenmektedir.

$$f_{T,Te}(Te) = \frac{Te}{K_{Te}+Te} \quad (1.5)$$

Burada, K_{Te} Michealis sabitidir. Glikozun katabolit baskılama ve uyarıcı dışarlama etkileri, hücre dışı glikoz konsantrasyonunun azalan fonksiyonu olarak aşağıdaki denklemlerdeki gibi tanımlanmıştır.

$$f_{M,Ge}(Ge) = \frac{K_{M,Ge,1}+Ge^m}{K_{M,Ge,2}+K_{M,Ge,3}Ge^m} \quad (1.6)$$

$$f_{T,Ge}(Ge) = 1 - \beta_{T,Ge} \frac{Ge}{K_{T,Ge}+Ge} \quad (1.7)$$

Yukarıda, katabolit baskılama parametrelerini $K_{M,Ge,1}$, $K_{M,Ge,2}$, $K_{M,Ge,3}$ ve m uyarıcı dışarlama parametrelerini ise $\beta_{T,Ge}$ ile $K_{T,Ge}$ belirtmektedir.

1.2 Model parametrelerinin belirlenmesi ve parametre belirsizlikleri

Projede analizi yapılan TMG uyarımlı deterministik lak operon modeli, bilimsel yazında yer alan farklı çalışmalar temel alınarak geliştirilmiştir. Bilimsel yazında yer alan çalışmalarda da bahsedildiği gibi lak operon modellerinde matematiksel model parametrelerinde belirsizlik bulunmaktadır. Bu belirsizliğin sebebi, farklı genetik özellikler, deney koşullarında oluşan önlenemez farklılıklar ve ölçüm hataları gibi etkenlerle açıklanmaktadır. Model parametreleri bu nedenle, gözlenen ve deneysel verilerden hesaplanan ortalama değerleri ve değişim aralıkları verilerek tanımlanmaktadır. Deterministik lak operon modeli geliştirilirken incelenen modeller arasında yer alan Yıldırım ve Mackey'in (2003) çalışması, model parametrelerini lak operon için yapılmış farklı deney sonuçlarından elde etmektedir. Fakat bu model katabolit baskılama ve uyarıcı dışarlama etkisini göz ardı etmektedir. van Hoek ve Hogeweg (2006) oluşturdukları matematiksel modelde hücre dışı glikozun bu iki negatif etkisini göz önünde bulundurmışlardır. Özbudak vd. (2004) yaptıkları deneysel çalışma sonuçlarıyla destekledikleri, iki durum değişkenli matematiksel modelde, belirtilen bu iki etkiyi hücre dışı glikozun azalan fonksiyonu olarak tanımlamıştır.

Geliştirilen modeldeki tepkimeler enzim kinetiğine dayandırılarak bilimsel yazındakine benzer şekilde modellenmiştir. Projede geliştirilen deterministik lak operon modelinin parametre değerlerinden bağımsız analiz edilebilmesi için denklem (2.14)'de p parametresinin tanımlanmasının nedeni bu parametre belirsizliğini en aza indirmektir. Böylece yapılan analizler

olası tüm değerler için yapılırken çift-kararlı çalışma modunun sağlandığı parametre değer aralıkları belirlenebilmektedir. Değeri tam bilinmeyen birçok model parametresini içeren p parametresi için yapılan analizler sonucu belirlenen çift-kararlılık aralığı kullanılarak model parametrelerinin çift-kararlılığı sağlayan değer aralıkları, bir parametre dışındaki diğer tüm parametreler bilindiği varsayımıyla, belirlenebilmektedir. (2.16)'da elde edilen denge denkleminde mRNA üretimi diğer bilimsel yayınlarda olduğu gibi Hill fonksiyonu ile modellenmiş ve bu fonksiyonun katsayıları Özbudak vd.(2004)'in çalışmalarında kullandıkları gibi $K = 167.1$ ve $K_1 = 1(\mu M)^{-2}$ olarak alınmıştır. Bu katsayılar Yagil ve Yagil'in (1971) TMG ile kimyasala benzerlik gösteren başka bir laktoz analogu olan IPTG için elde ettiği deney sonuçları ile tutarlılık gösterdiği için matematiksel modelde bu değerler için analiz yapılmıştır. Yagil ve Yagil'in (1971) deneysel çalışmasında, K ve K_1 'in belirtilen değerlerinde %40'a varan belirsizlik gözlemlendiği rapor edilmiştir. Projede, $K = 167.1$ ve $K_1 = 1(\mu M)^{-2}$ değerleri karşılaştırma ve doğrulama amacıyla bir referans olarak kullanılmıştır. Geliştirilen yöntemler parametrelerin olası tüm değerlerini göz önüne almaktadır. $K = 167.1$ ve $K_1 = 1(\mu M)^{-2}$ değerleri, Projede önerilen diskriminanta ve köklerin geometrik yerine dayalı yöntemlerde elde edilen çift-kararlılık parametre aralıklarının içerisinde yer almaktadır.

2. DETERMİNİSTİK MODEL İÇİN SINIRLILIK VE YEREL KARARLILIK ANALİZİ

2.1 Durum değişkenlerinin sınırlılığı

Modelde denklem (1.1)-(1.3)'deki, kayıp terimleri doğrusaldır. Bu nedenle, durum değişkenlerinin çözümleri, doğrusal olmayan üretim terimleri giriş olarak alındığında aşağıdaki gibi elde edilebilir:

$$M(t) = e^{-\gamma_M(t-t_0)}M(t_0) + \int_{t_0}^t e^{-\gamma_M(t-\tau)} \alpha_M f_{M,T}(T(\tau)) f_{M,Ge}(Ge) d\tau \quad (2.1)$$

$$P(t) = e^{-\gamma_P(t-t_0)}P(t_0) + \int_{t_0}^t e^{-\gamma_P(t-\tau)} \alpha_P M(\tau) d\tau \quad (2.2)$$

$$T(t) = e^{-\gamma_T(t-t_0)}T(t_0) + \int_{t_0}^t e^{-\gamma_T(t-\tau)} \alpha_T f_{T,Te}(Te) f_{T,Ge}(Ge) P(\tau) d\tau \quad (2.3)$$

Denklem (1.4) ve (1.6)'da verilen mRNA üretim fonksiyonu ve glikozun katabolit baskılama etkisi üstten sınırlı fonksiyonlardır. Dolayısıyla,

$$|f_{M,T}(T)| = \left| \frac{1 + K_1 T^2}{K + K_1 T^2} \right| < 1, K > 1 \text{ için ve } f_{M,Ge}(Ge) = \left| \frac{K_{M,Ge,1} + Ge^m}{K_{M,Ge,2} + K_{M,Ge,3} Ge^m} \right| \leq \frac{K_{M,Ge,1}}{K_{M,Ge,2}} \quad (2.4)$$

Deneyisel çalışma sonuçlarına göre $K > 1$ olduğu bilinmektedir. Bu durumda mRNA konsantrasyonu için aşağıdaki gibi bir üst sınır elde edilebilir:

$$|M(t)| \leq e^{-\gamma_T(t-t_0)}M(t_0) + \frac{\alpha_M K_{M,Ge,1}}{\gamma_M K_{M,Ge,2}} [1 - e^{-\gamma_T(t-t_0)}] \quad (2.5)$$

Permeaz konsantrasyonu için de aşağıdaki üst sınır bulunur:

$$|P(t)| \leq e^{-\gamma_P(t-t_0)}P(t_0) + \frac{\alpha_P}{\gamma_P} |M(t)| [1 - e^{-\gamma_P(t-t_0)}] \quad (2.6)$$

$f_{T,Te}(Te)$ ve $f_{T,Ge}(Ge)$ için denklem (2.7)-(2.8)'de verilen sınırlarla,

$$|f_{T,Te}(Te)| = \left| \frac{Te}{K_{Te} + Te} \right| \leq 1 \quad (2.7)$$

$$|f_{T,Ge}(Ge)| = \left| 1 - \beta_{T,Ge} \frac{Ge}{K_{T,Ge} + Ge} \right| \leq 1 \quad (2.8)$$

hücre içi TMG konsantrasyonu için denklem (2.9)'daki üst sınır türetilebilir.

$$|T(t)| \leq e^{-\gamma_T(t-t_0)}T(t_0) + \frac{\alpha_T}{\gamma_T}|P(t)|[1 - e^{-\gamma_T(t-t_0)}] \quad (2.9)$$

$M(t)$, $P(t)$ ve $T(t)$ durum değişkenlerinin sınırlılığı Denklem (2.5), (2.6) ve (2.9)'da gösterilmektedir. Denklem (2.10)-(2.12)'deki üst sınırların limit değerlerinden görüldüğü gibi Denklem (1.1)-(1.3) ile tanımlanan model gerçekten “Sonunda Düzgün Sınırlıdır” (Vidyasagar, 1972).

$$\exists t_M > 0 \quad \exists \quad |M(t)| \leq \frac{\alpha_M K_{M,Ge,1}}{\gamma_M K_{M,Ge,2}} \quad \forall t \geq t_M \quad (2.10)$$

$$\exists t_P > 0 \quad \exists \quad |P(t)| \leq \frac{\alpha_P \alpha_M K_{M,Ge,1}}{\gamma_P \gamma_M K_{M,Ge,2}} \quad \forall t \geq t_P \quad (2.11)$$

$$\exists t_T > 0 \quad \exists \quad |T(t)| \leq \frac{\alpha_T \alpha_P \alpha_M K_{M,Ge,1}}{\gamma_T \gamma_P \gamma_M K_{M,Ge,2}} \quad \forall t \geq t_T \quad (2.12)$$

Denklem (2.4), (2.7)-(2.8)'de verilen fonksiyonlar lak operon girişlerinin (hücre dışı glikoz ve TMG) sürekli fonksiyonları olduğu için çözümlere üst sınır oluştururlar. Bu nedenle, Denklem (1.1)-(1.3) ile verilen model “Sınırlı Giriş Sınırlı Durum” kararlıdır (Vidyasagar, 1972).

2.2 Çoklu denge noktalarının varlığı

Çalışmanın bu kısmında modelin parametrelerine bağlı olarak denge noktalarının sayısı incelenmiştir. Durum değişkenleri M , P ve T 'yi sabit kabul edip M ve P konsantrasyonlarına ait denklemleri eleyerek T için denge denklemi aşağıdaki şekilde elde edilir.

$$pf_{M,T}(T) - T = p \frac{1+K_1T^2}{1+K_1T^2} - T = 0 \quad (2.13)$$

Burada, p model parametrelerine bağlı olarak denklem (2.14)'deki gibi tanımlanır.

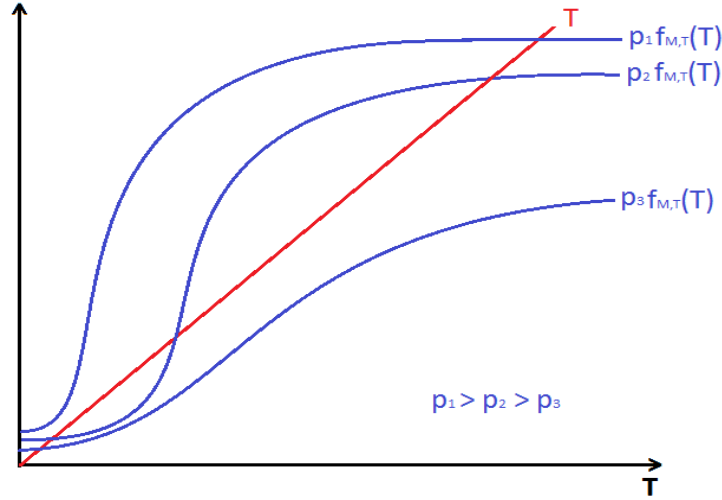
$$p \triangleq \frac{\alpha_T \alpha_P \alpha_M}{\gamma_T \gamma_P \gamma_M} f_{T,Te}(Te) f_{T,Ge}(Ge) f_{M,Ge}(Ge) \quad (2.14)$$

Şekil 1'de görüldüğü gibi mRNA üretim fonksiyonu, K_1 parametresinden bağımsız olarak $1/K$ değerinden başlar ve asimptotik olarak 1'e gider. $1/K > 0$ ve $f_{M,T}(T)$ fonksiyonunun sürekli ve doymalı olma özelliği $pf_{M,T}(T)$ 'nin (2.13)'de ikinci terimle verilen 1 eğimli T doğrusunu keseceğini gösterir. Bu bulgu, en az bir denge noktasının varlığını kanıtlar. Ayrıca, $K > 1$ her zaman

sağlandığından denklem (2.15)'de verilen türev pozitif olur, dolayısıyla $f_{M,T}(T)$ 'nin monoton artan bir fonksiyon olduğu görülür.

$$\frac{d}{dT} f_{M,T}(T) = \frac{d}{dT} \left\{ \frac{1 + K_1 T^2}{K + K_1 T^2} \right\} = \frac{2K_1 T(K - 1)}{(K + K_1 T^2)^2} \quad (2.15)$$

Fakat $p f_{M,T}(T)$ 'nin türevi monoton bir fonksiyon değildir, çok küçük ve çok büyük T değerleri için birden küçük olurken ara değerler için birden büyüktür. p parametresinin değerine bağlı olarak denklem (2.13)'ün birinci ve ikinci terimleri Şekil 1'den görüldüğü üzere modelin denge noktalarına karşılık gelen üç farklı noktada kesişmektedir.



Şekil 1. Çoklu denge noktalarının geometrik incelemesi

Yukarıdaki grafik inceleme, çift-kararlı çalışma biçiminin gözlemlenmesi için ikisi kararlı üç denge noktasının gerekliliğini gösterir. Çoklu denge noktasının varlığını sağlayan parametre değerlerinin aralığını belirlemek için aşağıdaki cebirsel analiz kullanılabilir. Polinomsal denklemlerin köklerinin parametrik olarak belirlenmesi için geliştirilen yöntemlerin kullanılmasına izin vermek için denge denklemi (2.13) aşağıdaki polinomsal formda düzenlenebilir.

$$K_1 T^3 - p K_1 T^2 + K T - p = 0 \quad (2.16)$$

Parametre değerlerinden bağımsız olarak en az bir denge noktasının varlığını gösteren denklem (2.16)'nın, her zaman bir gerçel kökü vardır. Diğer iki kök bir karmaşık eşlenik çift veya

iki gerçel kök olarak ortaya çıkabilir. Üç gerçel kök varken üç farklı durum olabilir: Üç katlı bir kök, biri iki katlı iki farklı kök ve birbirinden farklı üç kök. Çift-kararlı davranış, denkelem (2.16)'daki polinomsal ifadenin üç farklı gerçel kökü olduğu zaman gerçekleşir. Üç gerçel kökün varlığını sağlayan parametre değer aralığını belirlemek için karmaşık köklerin gerçel köklere dönüştüğü parametre değerleri belirlenebilir. Parametre uzayındaki bu dönme noktaları katlı kök koşullarından aşağıda verilen biçimde bulunabilir.

Bilimsel yazında yer alan farklı lak operon modellerine uygulandığı gibi, denklem (2.16)'daki polinomsal denklemin üç katlı bir kökünün olması için denklemin, birinci ve ikinci türevinin aynı noktada (kökte) sifıra eşit olması gerekir.

$$K_1 T^3 - p K_1 T^2 + K T - p = 0 \quad (2.17)$$

$$3 K_1 T^2 - 2 p K_1 T + K = 0 \quad (2.18)$$

$$6 K_1 T - 2 p K_1 = 0 \quad (2.19)$$

Denklem (2.17)-(2.19), $K = 9$ ve $K_1 = 27/p^2$ değerleri için $T = p/3$ 'te üç katlı çakışık bir kök olduğunu gösterir. Çeşitli lak operon modellerinde, çift-kararlı çalışma biçimi için $K > 9$ koşulu elde edilmiştir. Denklem (2.17)-(2.19)'dan anlaşıldığı gibi $K = 9$ değeri, sadece K_1 ve p parametrelerinin $K_1 = 27/p^2$ koşulunu sağladığı durumlarda, çift-kararlı bölgenin K parametresi için alt sınırının 9 olduğunu belirtir. Projenin bu aşamasında yapılan diskriminant analiziyle de görüleceği gibi, $K_1 = 27/p^2$ koşulu sağlanmadığında $K > 9$ 'dan farklı çift-kararlılık aralıkları bulunmaktadır. Bu durumlarda çift-kararlılık bölgesinin sınırları, biri çift katlı olmak üzere iki gerçel kök olduğu kabul edilerek belirlenebilir.

2.3 Denge noktalarının yerel kararlılığı

Denklem (1.1)-(1.3)'te verilen modelin yerel kararlılık analizi Jakobyen matrisinin öz değerlerinin konumu belirlenerek yapılabilir. İşlemleri kolaylaştırmak için (1.1)-(1.3)'teki durum denklemleri aşağıdaki biçime yazılabilir:

$$\frac{1}{\gamma_M} \frac{dM}{dt} = \frac{\alpha_M}{\gamma_M} f_{M,T}(T) f_{M,Ge}(Ge) - M \quad (2.20)$$

$$\frac{1}{\gamma_P} \frac{dP}{dt} = \frac{\alpha_P}{\gamma_P} M - P \quad (2.21)$$

$$\frac{1}{\gamma_T} \frac{dT}{dt} = \frac{\alpha_T}{\gamma_T} f_{T,Te}(Te) f_{T,Ge}(Ge) P - T \quad (2.22)$$

Bu dönüşümle, Jakobyen matrisin öz değerleri aynı kompleks yarı düzlemde kalırlar. (2.23)'dan görülebileceği üzere (2.20)-(2.22) durum denklemlerinin Jakobyen matrisine ilişkin öz değerler (1.1)-(1.3) durum denklemlerinin Jakobyen matrisine ilişkin öz değerlerin, $\gamma_i > 0$ olacak biçimde $\lambda = \hat{\lambda}/\gamma_i$ ile çarpımıdır.

$$\det(\hat{\lambda}I - \hat{f}) = \det(\hat{\lambda}I - \text{diag}(\gamma_M, \gamma_P, \gamma_T)J) = \gamma_M, \gamma_P, \gamma_T \det(\lambda I - J) \quad (2.23)$$

Denklem (2.23)'deki \hat{f} ve J , sırasıyla, asıl ve dönüştürülmüş modellerin Jakobyen matrislerini gösterir. Dönüştürülmüş matrisin öz değerleri, karakteristik denklem (2.24)'ün köklerine eşittir.

$$\det(\lambda I - J) = \begin{vmatrix} \lambda + 1 & 0 & -\frac{\alpha_M}{\gamma_M} f_{M,Ge}(Ge) \frac{d}{dT} f_{M,T}(T^*) \\ -\frac{\alpha_P}{\gamma_P} & \lambda + 1 & 0 \\ 0 & -\frac{\alpha_T}{\gamma_T} f_{T,Te}(Te) f_{T,Ge}(Ge) & \lambda + 1 \end{vmatrix}$$

$$= \lambda^3 + 3\lambda^2 + 3\lambda + 1 - p \frac{d}{dT} f_{M,T}(T^*) \quad (2.24)$$

Karakteristik denklem (2.24)'ün sağ yarı düzlemde kökü olup olmadığını belirleme amacıyla Routh-Hurwitz testi uygulayabilmek için Tablo 1'deki Routh dizisi oluşturulabilir. Dizinin ilk sütununun aşağıda verilen son üyesinin negatif olması Jakobyenin tanımlı olduğu denge noktasının kararsız olması anlamına gelir.

$$1 - p \frac{d}{dT} f_{M,T}(T) = 1 - p \frac{2K_1 T(K-1)}{(K + K_1 T^2)^2} \quad (2.25)$$

Şekil 1'de görüleceği üzere, çok büyük ve çok küçük T değerlerinde gerçekleşen denge noktalarında, denklem (2.25)'de yer alan terim, $f_{M,T}(T)$ 'nin küçük olması dolayısıyla negatif, ara bir konstrasyon değerinde gerçekleşen denge noktasında ise $f_{M,T}(T)$ 'nin büyük olması

dolayısıyla pozitif olmaktadır. Dolayısıyla, bir kararsız iki kararlı denge noktasının var olduğu bir çift-kararlı dinamik davranış olduğu görülmektedir.

Tablo 1. Dönüştürülmüş modelin karakteristik denkleminin Routh dizisi

$$\begin{array}{c}
 \lambda^3 \\
 \lambda^2 \\
 \lambda^1 \\
 \lambda^0
 \end{array}
 \left\| \begin{array}{cc}
 1 & 3 \\
 3 & 1 - p \frac{d}{dT} f_{M,T}(T) \\
 \frac{1}{3} \left(8 + p \frac{d}{dT} f_{M,T}(T) \right) & \\
 1 - p \frac{d}{dT} f_{M,T}(T) &
 \end{array} \right.$$

3. ÇOKLU DENGE NOKTALARININ VARLIĞINI SAĞLAYAN PARAMETRE ARALIKLARININ DİSKRİMİNANT YÖNTEMİYLE BELİRLENMESİ

Bunun için polinomsal denklem (2.16)'ın diskriminantı aşağıdaki şekilde hesaplanır:

$$\Delta(p, K, K_1) = -4K_1^3 p^4 + (18K_1^2 K - 27K_1^2 + K_1^2 K)p^2 - 4K_1 K^3 \quad (3.1)$$

Bir polinomun diskriminantı, kökler arasındaki uzaklıkların karelerinin çarpımı olduğundan Δ çift ya da üç katlı bir kök varken sıfır olur. Diskriminant pozitif olduğunda denklem (2.16)'daki denge denkleminin üç farklı gerçel kökü vardır. Bir parametre üzerindeki koşulları elde etmek için diğer iki parametre sabit alınıp, $\Delta=0$ denklemi bu parametre için çözülebilir. p aralığını belirlemek için $\Delta=0$ denklemini sağlayan p değerleri aşağıdaki gibi hesaplanabilir:

$$p^{(1,2)} = \sqrt{\frac{a \pm \sqrt{b}}{8K_1}} \quad (3.2)$$

$$p^{(3,4)} = -\sqrt{\frac{a \pm \sqrt{b}}{8K_1}} \quad (3.3)$$

Yukarıdaki denklemlerde

$$a \triangleq K^2 + 18K - 27 \quad (3.4)$$

$$b \triangleq K^4 - 28K^3 + 270K^2 - 972K + 729 \quad (3.5)$$

olarak tanımlıdır. $\Delta > 0$ olduğu p aralığını belirlemek için öncelikle $\Delta=0$ yapan gerçel p kökleri bulunabilir. Denklem (3.6)'daki eşitsizlik sağlanmadığı durumlarda, $\Delta=0$ için dört karmaşık kök elde edilir. Bu durumda, biyolojik parametre K_1 'in pozitifliğinden dolayı, en büyük dereceli terimi $-4K_1^3$ olan Δ 'yı pozitif yapacak hiçbir p değeri yoktur.

$$K^4 - 28K^3 + 270K^2 - 972K + 729 = (K - 1)(K - 9)^3 \geq 0 \quad (3.6)$$

Böylece, $1 < K < 9$ aralığındaki K değerlerinin çift-kararlılığı vermediği görülmektedir. Diğer yandan, Denklem (3.4)-(3.5)'den elde edilen (3.7) bağıntısı a 'nın \sqrt{b} 'den genlikçe daha büyük olduğunu gösterir.

$$a^2 - b^2 = (K^2 + 18K - 27)^2 - (K^4 - 28K^3 + 270K^2 - 972K + 729) = 64K^3 > 0 \quad (3.7)$$

Denklem (3.2) ve (3.3)'de verilen köklerin karmaşık olmaması ve $\Delta > 0$ olabilmesi için $a > 0$ bir gerek koşuldur. $0 < K < 1$ aralığındaki K değerleri için $a < 0$ olduğu ve (3.2)-(3.3)'deki tüm köklerin sadece $K > 9$ koşulunda gerçel olduğu gözlemlenebilir. Gerçel $p^{(1)}$, $p^{(2)}$, $p^{(3)}$ ve $p^{(4)}$ durumunda, $(p^{(1)}, p^{(2)})$ ve $(p^{(3)}, p^{(4)})$ aralıklarındaki p değerleri için $\Delta > 0$ 'dır. Modelde p parametresi pozitif (biyolojik) sabitlerin çarpımı olduğundan negatif p değerleri içeren $(p^{(3)}, p^{(4)})$ aralığı geçerli bir parametre aralığı değildir. Böylece, p için \mathfrak{R}_{bi}^p parametre uzayında çift-kararlılık bölgesi K ve K_1 parametreleri ile birlikte denklem (3.8)'deki gibi belirlenebilir.

$$\mathfrak{R}_{bi}^p \triangleq \{ (p, K, K_1) \in \mathbb{R}^3 \mid p^{(1)} < p < p^{(2)}, K > 9, K_1 > 0 \} \quad (3.8)$$

Yukarıda yapılan tüm türetmeleri K ve K_1 parametreleri için yaparak bu parametrelere ait çift-kararlılık bölgeleri hesaplanmıştır. K_1 parametresi için $\Delta(p, K, K_1) = 0$ yapan kökler $K_1^{(1)} = 0$ ve $K_1^{(2,3)} = \frac{a \mp \sqrt{b}}{8p^2}$ şeklinde hesaplanmıştır. Gerçel $K_1^{(2,3)}$ köklerinin varlığı $K > 9$ koşuluyla birlikte K_1 parametresi için çift-kararlılık bölgesi $\mathfrak{R}_{bi}^{K_1}$ 'i denklem (3.9)'daki gibi tanımlar.

$$\mathfrak{R}_{bi}^{K_1} \triangleq \{ (p, K, K_1) \in \mathbb{R}^3 \mid K_1^{(2)} < K_1 < K_1^{(3)}, K > 9, p > 0 \} \quad (3.9)$$

Benzer şekilde K parametresi değişken olarak alındığında, $\Delta(p, K, K_1) = 0$ ifadesini sağlayan kökler denklem (3.10) ve (3.11)'deki gibi hesaplanır.

$$K^{(1)} = \frac{Kp^2}{12} + \frac{c}{12d} + \frac{1}{12}d \quad (3.10)$$

$$K^{(2,3)} = \frac{1}{24} \left(2K_1p^2 - \frac{(1 \mp i\sqrt{3})c}{d} - (1 \mp i\sqrt{3})d \right) \quad (3.11)$$

Burada, c ve d parametrelerinin ifadeleri denklem (3.12) ve (3.13)'de verilmektedir.

$$c = K_1p^2(216 + K_1p^2) \quad (3.12)$$

$$d = \left(5832K_1p^2 - 540(K_1p^2)^2 + (K_1p^2)^3 + 24\sqrt{3}\sqrt{-(-27 + K_1p^2)^3(K_1p^2)^2} \right)^{1/3} \quad (3.13)$$

K parametresinin gerçel kökleri kullanılarak bu parametre uzayı için çift-kararlılık bölgesi \mathfrak{R}_{bi}^K 'i denklem (3.14)'deki gibi tanımlar.

$$\mathfrak{R}_{bi}^K \triangleq \{ (p, K, K_1) \in \mathbb{R}^3 \mid K^{(1)} < K < K^{(3)}, K_1 p^2 > 27 \} \quad (3.14)$$

Denklem (3.8)-(3.9) ve (3.14)'de p , K ve K_1 parametreleri için ortak çift-kararlılık bölgesi bu üç parametre çift-kararlılık bölgelerinin (\mathfrak{R}_{bi}^p , \mathfrak{R}_{bi}^K ve $\mathfrak{R}_{bi}^{K_1}$) birleşimiyle denklem (3.15)'deki gibi ifade edilebilir.

$$\mathfrak{R}_{bi} \triangleq \{ (p, K, K_1) \in \mathbb{R}^3 \mid p^{(1)} < p < p^{(2)}, K^{(1)} < K < K^{(3)}, K_1^{(2)} < K_1 < K_1^{(3)}, \\ K_1 p^2 > 27, p > 0, K > 9, K_1 > 0 \} \quad (3.15)$$

4. ÇOKLU DENGE NOKTALARININ VARLIĞINI SAĞLAYAN PARAMETRE ARALIKLARININ KÖKLERİN GEOMETRİK YERİ YÖNTEMİYLE BELİRLENMESİ

Diskriminant yolu ile bulunan lak operonun çift-kararlı çalışmasını (çoklu denge noktalarının varlığını) sağlayan parametre değer aralıkları, köklerin geometrik yeri kullanılarak belirlenmiştir. Model denge denklemi (2.16), denklemin katsayılarını belirleyen model parametrelerine göre gerçel köklerin sayısının değişimini belirlemek için diskriminant ile incelenmiştir. Yüksek dereceli polinomsal denge denklemlerinin köklerinin türetilmiş parametrik ifadelerinin analizi için diskriminanta dayalı bir yöntem kullanılabilir. Fakat bu yöntem dördüncü dereceden bir denklemin diskriminantını ya da katsayıları arasında bağımlılık içeren üçüncü derecen bir polinomsal denklemin diskriminantını hesaplamada yetersiz kalmaktadır.

Elektrik mühendisliğinde kapalı çevrim kontrol sisteminin kutuplarının yerinin kontrolör parametresine bağlı olarak değişimini belirleyerek kontrolör tasarımında kullanılan, köklerin geometrik yerine dayalı bir yöntem, diskriminant yöntemindeki bu kısıtları aşmak için Projede geliştirilmiştir. Raporun ilerleyen bölümlerinde, köklerin geometrik yerine dayalı geliştirilen bu yöntemin, enzim kinetiğinden türetilen rasyonel sağ yanlı durum denklemleri ile tanımlanan lak operon modelleri için denge noktalarının sayısının değişimini incelemede etkin bir yöntem olduğu görülmüştür. Köklerin geometrik yerine dayalı yöntem, çift-kararlılık sınırlarının belirlenmesine ve çizimlerle model parametrelerine bağlı olarak nitel değişimlerin gözlemlenmesini kolaylaştıran nümerik yazılım paket programların kullanılmasına izin vermektedir.

Kontrol uygulamalarında köklerin geometrik yeri yönteminin temel kullanım alanı asimptotik kararlılık için kapalı çevrim kutuplarının sol yarı düzlemde kalmasını sağlayan kontrolör parametresinin belirlenmesidir. Lak operonun çift-kararlı çalışma bölgesinin belirlenmesinde köklerin geometrik yerine dayalı yöntem, çoklu pozitif denge noktalarının varlığını sağlayan model parametre aralıklarının belirlenmesi amacıyla kullanılmıştır. Kontrol alanında Laplace uzayındaki rasyonel karakteristik denkleme uygulanan köklerin geometrik yeri analizi, geliştirilen bu yöntemde TMG konsantrasyonunun polinomsal fonksiyonu olan denge denklemine uygulanmıştır.

$$K_1T^3 + pK_1T^2 + KT - p = 0 \quad (4.1)$$

Çift-kararlılık bölgesini belirlemek için köklerin geometrik yeri yöntemi aşağıdaki adımları uygulamaktadır:

1. Her model parametresi için elde edilen denge denklemi (4.1), $q \in \{p, K, K_1\}$ ve \bar{q} geri kalan diğer parametreler olmak üzere $1 + q \frac{N(T, \bar{q})}{D(T, \bar{q})} = 0$,pay ve paydası T ve \bar{q} 'in fonksiyonu olarak karakteristik denklem biçiminde düzenlenir.
2. Payı $N(T, \bar{q}) = 0$ ve paydayı $D(T, \bar{q}) = 0$ yapan kökler hesaplanır ve köklerin yeri paydayı sıfır yapan kök değerlerinden başlayarak payı sıfır yapan kök değerlerinde sonlanarak çizilir.
3. Çift kararlı çalışma bölgesinin sınırlarını belirlemek için kompleks köklerin çakışık gerçel köklere dönüştüğü ya da tersinin gerçekleştiği gerçel eksene giriş ve gerçel eksenden ayrılma noktaları hesaplanır.

4.1 p parametresi için köklerin geometrik yeri analizi

p parametresi için denge denklemi (4.1) karakteristik denklem formunda aşağıdaki gibi düzenlenebilir:

$$1 - p \frac{1 + K_1 T^2}{T(K + K_1 T^2)} = 0 \quad (4.2)$$

Denklemdaki pozitif geri besleme köklerin geometrik yeri grafiksel olarak çizilirken göz önünde tutulmaktadır.

Pay ve paydanın köklerine, sırasıyla $T_N^{(1,2)}$ ve $T_D^{(1,2,3)}$, ait genel sembolik ifadeler denklem (4.3) ve (4.4)-(4.5)'te verilmektedir.

$$T_N^{(1,2)} = \pm j \sqrt{\frac{1}{K_1}} \quad (4.3)$$

$$T_D^{(1)} = 0 \quad (4.4)$$

$$T_D^{(2,3)} = \pm j \sqrt{\frac{K}{K_1}} \quad (4.5)$$

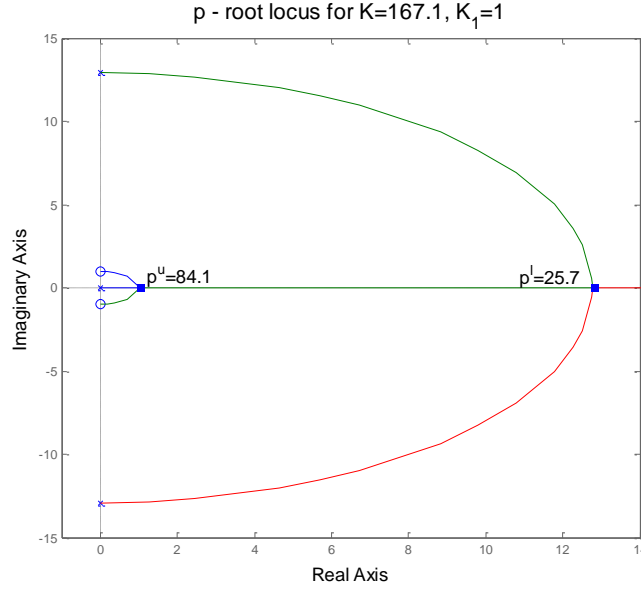
Gerçel eksene giriş ve gerçel eksende ayrılma noktalarının K ve K_1 cinsinden denklemleri, p 'nin T 'ye göre ekstremum noktalarını bularak aşağıdaki gibi elde edilir.

$$\frac{d}{dT} \left(\frac{T(K + K_1 T^2)}{1 + K_1 T^2} \right) = \frac{T^4(3K_1 - KK_1) + K_1^2 T + K}{(1 + K_1 T^2)^2} \quad (4.6)$$

$$T^{(1,2,3,4)} = \pm \sqrt{\frac{(K - 3) \pm \sqrt{(K - 9)(K - 1)}}{2K_1}} \quad (4.7)$$

Hesaplanan bu ekstremum noktalarından sadece gerçel olan $T^{(1,2,3,4)}$ noktaları gerçel eksene giriş ve gerçel eksenden ayrılma noktalarıdır. Bu nedenle, diskriminanta dayalı yöntem sonuçlarına benzer olarak $K > 9$ ve $K_1 > 0$ koşulları çift kararlı durumun varlığı için gerek koşul olarak elde edilmiştir.

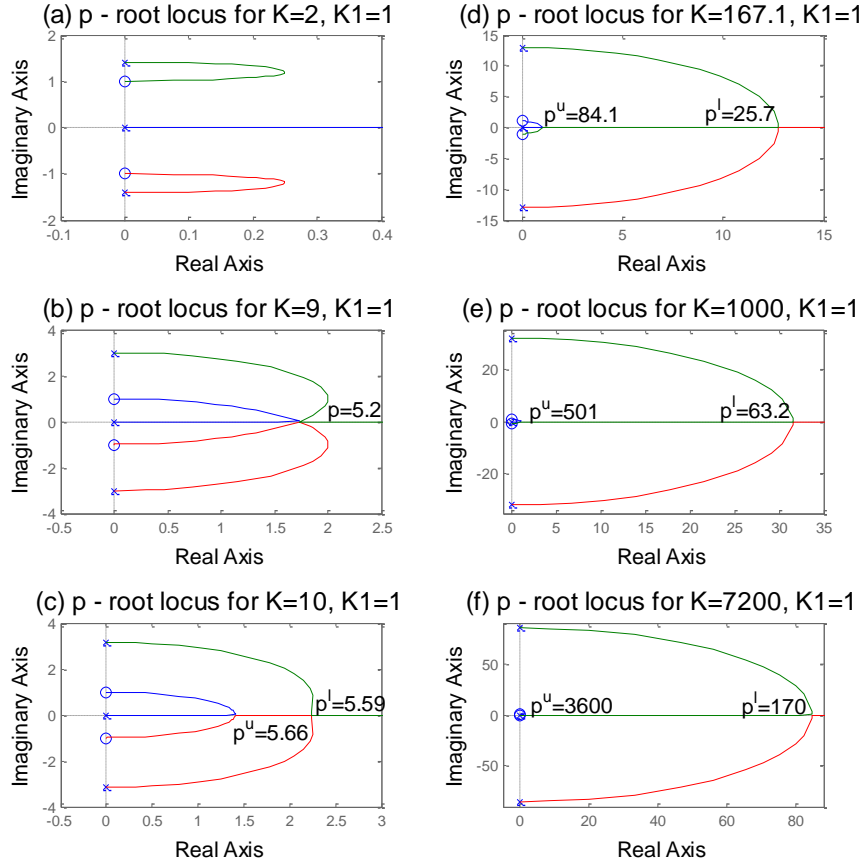
Daha önce koli basili ile ilgili deneysel çalışmalardan elde edilen $K = 167,1$ ve $K_1 = 1(\mu\text{M})^{-2}$ değerleriyle, p parametresi için MATLAB kullanılarak çizilen köklerin geometrik yeri grafiği Şekil 2'de verilmiştir (Özbudak vd., 2004). Küçük ve büyük p değerleri için sadece bir gerçel kökün olduğu ve üç gerçel kökün sınırlı bir p aralığında olduğu grafikten görülmektedir. Kullanılan K ve K_1 değerleri ile gerçel eksenden ayrılma ve gerçel eksene giriş noktaları hesaplanarak, p parametresi için çift kararlılık aralığının sınırları $p \in (25.7 \mu\text{M}, 84.1 \mu\text{M})$ olarak hesaplanmıştır.



Şekil 2. $K = 167,1$ ve $K_1 = 1(\mu M)^{-2}$ alındığında p parametresi için köklerin geometrik yeri

Yukarıdaki çift-kararlılık bölgesi K ve K_1 ın belirli değerleri için hesaplanmıştır. Alt ve üst limitleri ve ayrıca çift kararlılık bölgesinin varlığı K ve K_1 parametrelerinin değerlerine bağlıdır. Gerçel eksenden ayrılma ve gerçel eksene giriş noktalarını gösteren denklemden (4.7) de görüldüğü üzere elde edilen köklerin geometrik yerini grafiğinde pozitif K_1 değeri, p parametresi için sadece nicel değişikliğe sebep olan orantısal bir etkiye sahipken nitel bir değişikliğe sebep olacak bir etkiye sahip değildir. Köklerin geometrik yerlerinde ve p için çift kararlı çalışma aralığındaki nitel değişiklikleri gözlemlemek için sadece K parametresinin farklı değerlerini ele almak yeterli olmaktadır.

K_1 değeri $1(\mu M)^{-2}$ olarak sabit alındığında farklı K değerleri için elde edilen köklerin geometrik yeri grafikleri Şekil 3'de verilmiştir. Şekil 3.a bütün p değerleri için sadece bir gerçel kökün olduğunu, başka bir deyişle köklerin geometrik yerini gösteren (kompleks kökler içeren) eğrinin hiçbir zaman gerçel ekseni kesmediğini göstermektedir. Grafik Şekil 3.a' da K değeri, gerçel eksenden ayrılma veya gerçel eksene giriş noktalarının varlığı için gereken $K > 9$ koşulunu sağlamayan küçük K değerlerine örnek olarak 2 seçilmiştir. Şekil 3.b' de $K = 9$ değeri sadece bir gerçel eksenden ayrılma veya gerçel eksene giriş noktası ile üç katlı gerçel kök durumunu sağlayan ve başka gerçel kök oluşturmayan bir p değeri vermektedir. Şekil 3.c-f' de, üç farklı gerçel kökün olduğu boş olmayan ve sınırlı bir p aralığı için dokuzdan büyük dört farklı K değeri için köklerin geometrik yerini gösteren grafikler çizilmiştir.



Şekil 3. p parametresi için $K_1 = 1(\mu M)^{-2}$ sabit alınarak farklı K değerlerine göre elde edilen köklerin geometrik yer grafikleri

Sabit $K_1 = 1(\mu M)^{-2}$ değeri ve daha önce yapılmış deneysel ve teorik çalışmalarda, kullanılan K değerleri ($K = \{167.1, 1000, 7200\}$) ile çizilen p parametresine ait köklerin yeri grafikleri Şekil. 3.d-f'de görülmektedir (Özbudak vd., 2004; Lestas vd., 2008; Yıldırım vd., 2004). Bu grafikler önceki çalışma raporlarında elde edilen çift-kararlı davranış için elde edilen $K > 9$ koşulunu doğrulamaktadır.

Çift kararlı çalışma aralığını sağlayan p parametresinin alt ve üst sınırları, sırasıyla p^l ve p^u , K parametresine göre değişir. Bu değişim daha büyük K değerlerinde p parametresi için daha büyük çift-kararlı çalışma aralığı şeklinde gözlemlenmiştir. p parametresine ait denklem (daha önce denklem (4.1) ile ifade edilen) denge durum denklemlerinin tekrar düzenleyerek $p = \frac{T(K+K_1T^2)}{1+K_1T^2}$ şeklinde elde edilebilir. p^l ve p^u sınırlarındaki K 'ya bağlı değişim, p ifadesinde

gerçel eksene giriş ve gerçel eksenden ayrılma noktalarının yazılması ile aşağıdaki gibi elde edilebilir.

$$\begin{aligned}
 p^l &= \frac{\sqrt{\frac{(K-3) + \sqrt{(K-9)(K-1)}}{2K_1}} \left(K + K_1 \left(\sqrt{\frac{(K-3) + \sqrt{(K-9)(K-1)}}{2K_1}} \right)^2 \right)}{1 + K_1 \left(\sqrt{\frac{(K-3) + \sqrt{(K-9)(K-1)}}{2K_1}} \right)^2} \\
 &= \sqrt{\frac{(K-3) + \sqrt{(K-9)(K-1)}}{2K_1}} \left(\frac{3K-3 + \sqrt{(K-9)(K-1)}}{K-1 + \sqrt{(K-9)(K-1)}} \right) \quad (4.8)
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 p^u &= \frac{\sqrt{\frac{(K-3) - \sqrt{(K-9)(K-1)}}{2K_1}} \left(K + K_1 \left(\sqrt{\frac{(K-3) - \sqrt{(K-9)(K-1)}}{2K_1}} \right)^2 \right)}{1 + K_1 \left(\sqrt{\frac{(K-3) - \sqrt{(K-9)(K-1)}}{2K_1}} \right)^2} \\
 &= \sqrt{\frac{(K-3) - \sqrt{(K-9)(K-1)}}{2K_1}} \left(\frac{3K-3 - \sqrt{(K-9)(K-1)}}{K-1 - \sqrt{(K-9)(K-1)}} \right) \quad (4.9)
 \end{aligned}$$

Yukarıda p^l ve p^u sınırlarını bulmak için kullanılan T , hücre için TMG konsantrasyon seviyesini ifade eden durum değişkeni olduğu için sadece gerçel ve pozitif değerler alabilir ve bu nedenle $K > 9$ ve $K_1 > 0$ koşulu sağlanmalıdır.

Deterministik modelde p parametresi (2.14)'de görüldüğü gibi hücre dışı TMG (T_e) ve glikoz (G_e) konsantrasyonlarının fonksiyonudur. Özbudak vd. (2004)'in matematiksel modeli, yarı kararlı denge durumunda düzenlendiğinde hücre dışı glikoz (G_e) ve TMG (T_e) konsantrasyona bağlı $\alpha(G_e)\beta(T_e, G_e) = \alpha(G_e) \beta_{T_e}(T_e) \beta_{G_e}(G_e)$ ifadesinin, bu projede kullanılan modeldeki $p = \frac{\alpha_T}{\gamma_T} \frac{\alpha_P}{\gamma_P} \frac{\alpha_M}{\gamma_M} f_{T,T_e}(T_e) f_{T,G_e}(G_e) f_{M,G_e}(G_e)$ 'ye eşit olduğu görülmektedir. Özbudak vd. (2004)'in çalışmasında $\alpha(G_e) \beta_{T_e}(T_e) \beta_{G_e}(G_e)$ ifadeleri için kestirim yapılarak belirlenen fonksiyonlar

kullanılarak, p parametresinin hücre dışı glikoz (G_e) ve TMG (T_e) konsantrasyonlarına bağlı fonksiyonu (4.10)'deki gibi elde edilebilir.

$$p(T_e, G_e) = \left[\frac{84.4}{1 + \left(\frac{G_e}{8.1}\right)^{1.2}} + 16.1 \right] [0.00123 T_e^{0.6}] \left[100 - 35 \frac{(100 G_e)}{10 + (100 G_e)} \right] \quad (4.10)$$

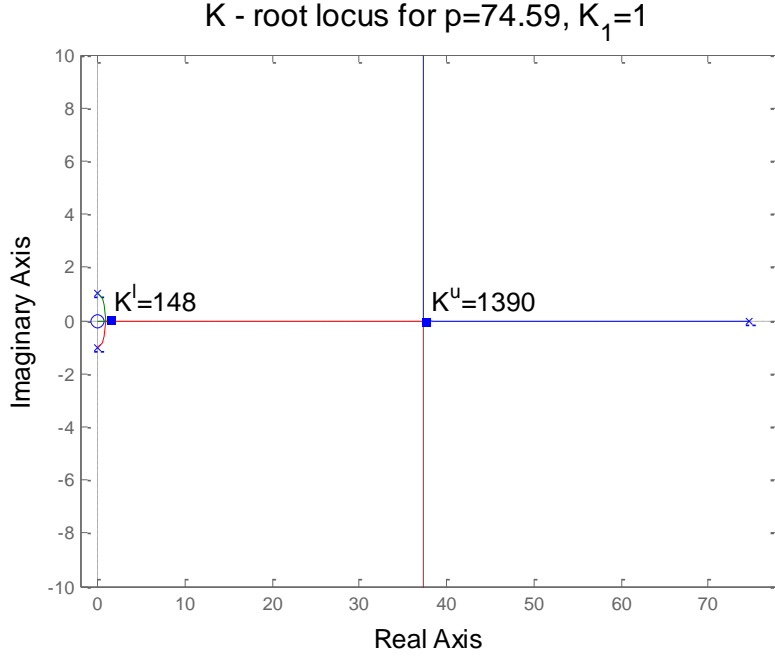
Özbudak vd. (2004)'nin yaptığı deneysel çalışmalarda, çift-kararlı davranışın gözlemlendiği hücre dışı TMG konsantrasyonunun $T_e = 20 \mu\text{M}$ ve hücre dışı glikoz konsantrasyonunun $G_e = 0 \mu\text{M}$ olduğu durumda, p parametresinin değeri (4.10)'dan $p = 74.59 \mu\text{M}$ olarak hesaplanır. Bu değer, geliştirilen her iki analiz yöntemiyle $K = 167.1$ ve $K_1 = 1 (\mu\text{M})^{-2}$ parametre değerleri için hesaplanan p parametresine ait $p \in (25.7 \mu\text{M}, 84.1 \mu\text{M})$ çift-kararlı çalışma aralığının içinde yer almaktadır.

4.2 K parametresi için köklerin geometrik yeri analizi

p parametresi için daha önce yapılan analizlerin K parametresine göre yapılabilmesi için denklem (4.1)'deki karakteristik denklem aşağıdaki gibi düzenlenebilir.

$$1 + K \frac{T}{K_1 T^3 - p K_1 T^2 - p} = 0 \quad (4.11)$$

Daha öce yapılan diskriminantta dayalı analiz ve p parametresi için köklerin geometric yeri analizlerinin her ikisinde de $K > 9$ 'un çift kararlı çalışma için gerekli tek koşul olduğu görülmüştür. Şekil 4'te verilen $K_1 = 1 (\mu\text{M})^{-2}$ ve (Özbudak vd. (2004)'in çalışmasından çift-kararlı davranış gözlemlenen $T_e = 20 \mu\text{M}$ ve $G_e = 0 \mu\text{M}$ değerleri için hesaplanan) $p = 74.59 \mu\text{M}$ parametre değerleriyle çizilen K parametresine ait köklerin geometrik yerini gösteren grafik, çift-kararlı çalışma durumu için K parametresinin sadece alttan sınırlı değil üstten de sınırlı olması gerektiğini göstermektedir. Bu alt ve üst limitler gerçekte sırasıyla gerçel eksene giriş ve gerçel eksenden ayrılma noktalarıdır.



Şekil 4. $p = 74.59\mu M$ ve $K_1 = 1(\mu M)^{-2}$ alındığında K parametresi için köklerin geometrik yeri

K parametresi için her iki analiz yöntemiyle çift-kararlı çalışma aralığı $K \in (148, 1390)$ olarak elde edilmiştir. Özbudak vd. (2004)'in çalışmalarında çift-kararlı davranışın gözlemlendiği $K = 167.1$, bu aralıkta yer alırken Lestas vd. (2008), Oehler vd. (2006)'in deneysel çalışmalarından kestirimde bulunarak laktoz analogu olan diğer bir uyarıcı IPTG için verdiği $K = 1000$ ve Yıldırım vd. (2004)'in yine IPTG için Yağil ve Yağil (1971)'in gerçekleştirdiği deney sonuçlarından kestirim yaptığı $K = 7200$ değeri hesaplanan çift-kararlı çalışma aralığında yer almamaktadır.

K parametresine ait çift-kararlı çalışma şartları, K için çizilen köklerin geometrik yerini gösteren grafiğin p ve K_1 cinsinden elde edilen gerçel eksene giriş ve gerçel eksenden ayrılma noktaları gibi yapısal özellikleri kullanılarak aşağıdaki şekilde incelenebilir.

Denklem (4.10)'daki rasyonel ifadeye ait payın orijinde, T için tek bir kökü bulunmaktadır. Paydadaki $K_1 T^3 - p K_1 T^2 - p$ ifadesinin kökleri Cardano formülü kullanılarak denklem (4.13)-(4.15)'daki gibi elde edilebilir.

$$T_N^{(1)} = 0 \quad (4.12)$$

$$T_D^{(1)} = \frac{p}{3} - \frac{1}{3K_1} \sqrt[3]{\frac{1}{2}(r_1 + r_2)} - \frac{1}{3K_1} \sqrt[3]{\frac{1}{2}(r_1 - r_2)} \quad (4.13)$$

$$T_D^{(2)} = \frac{p}{3} + \frac{1 + i\sqrt{3}}{6K_1} \sqrt[3]{\frac{1}{2}(r_1 + r_2)} + \frac{1 - i\sqrt{3}}{3K_1} \sqrt[3]{\frac{1}{2}(r_1 - r_2)} \quad (4.14)$$

$$T_D^{(3)} = \frac{p}{3} + \frac{1 - i\sqrt{3}}{6K_1} \sqrt[3]{\frac{1}{2}(r_1 + r_2)} + \frac{1 + i\sqrt{3}}{3K_1} \sqrt[3]{\frac{1}{2}(r_1 - r_2)} \quad (4.15)$$

Buradaki r_1 ve r_2 aşağıdaki gibi tanımlanmıştır.

$$r_1 = -pK_1^3(2p^2K_1 + 27) \quad (4.16)$$

$$r_2 = \sqrt{27p^2K_1^4(4p^2K_1 + 27)} \quad (4.17)$$

$\frac{dK}{dT} = 0$ olduğu için, gerçel eksene giriş ve gerçel eksenden ayrılma noktaları $2K_1T^3 - pK_1T^2 + p = 0$ denkleminin kökleri olarak hesaplanabilir:

$$\frac{dK}{dT} = \frac{d}{dT} \left\{ -\frac{K_1T^3 - pK_1T^2 - p}{T} \right\} = -\frac{2K_1T^3 - pK_1T^2 + p}{T^2} = 0 \quad (4.18)$$

Denklem (4.19)-(4.21)'daki, denklem (4.18)'de verilen rasyonel ifadenin paydasısının ($2K_1T^3 - pK_1T^2 + p = 0$) kökleri olan $T^{(1,2,3)}$ değerleri, köklerin geometrik yerini garfiğinde gerçel eksene giriş ve gerçel eksenden ayrılma noktalarıdır.

$$T^{(1)} = \frac{p}{6} - \frac{1}{6K_1} \sqrt[3]{\frac{1}{2}(r_3 + r_4)} - \frac{1}{6K_1} \sqrt[3]{\frac{1}{2}(r_3 - r_4)} \quad (4.19)$$

$$T^{(2)} = \frac{p}{6} + \frac{1 + i\sqrt{3}}{12K_1} \sqrt[3]{\frac{1}{2}(r_3 + r_4)} + \frac{1 - i\sqrt{3}}{12K_1} \sqrt[3]{\frac{1}{2}(r_3 - r_4)} \quad (4.20)$$

$$T^{(3)} = \frac{p}{6} + \frac{1 - i\sqrt{3}}{12K_1} \sqrt[3]{\frac{1}{2}(r_3 + r_4)} + \frac{1 + i\sqrt{3}}{12K_1} \sqrt[3]{\frac{1}{2}(r_3 - r_4)} \quad (4.21)$$

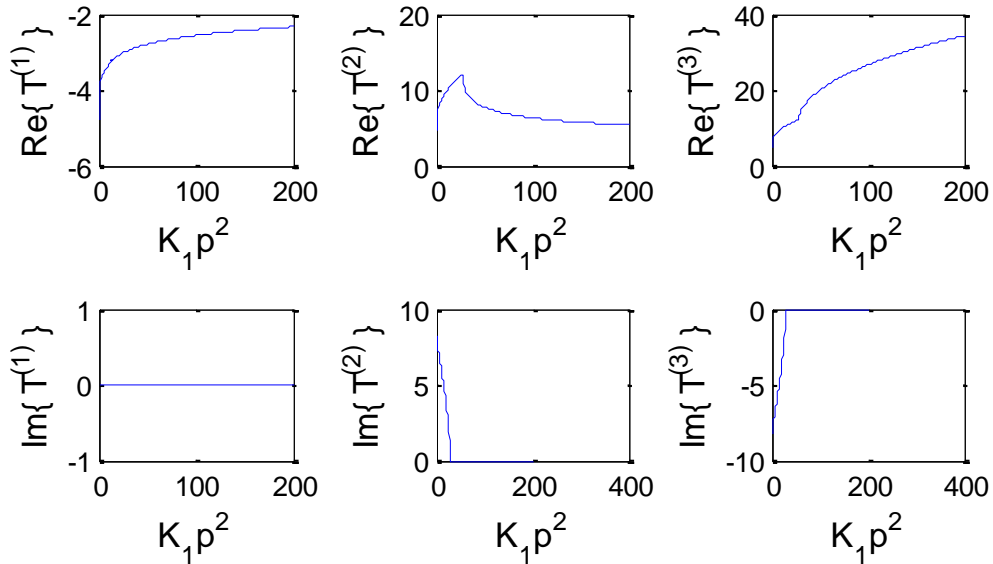
Burada, r_3 ve r_4 değişkenleri aşağıdaki gibi tanımlanmıştır

$$r_3 = 2pK_1^2(54 - p^2K_1) \quad (4.22)$$

$$r_4 = \sqrt{432p^2K_1^4(27 - p^2K_1)} \quad (4.23)$$

Yukarıdaki denklemlerde görüldüğü üzere, gerçel eksene giriş ve gerçel eksenden ayrılma noktaları olan $T^{(1)}$, $T^{(2)}$ ve $T^{(3)}$, K_1p^2 ve ayrıca p ve K parametrelerinin fonksiyonu şeklinde elde edilmektedir. $T^{(1)}$, $T^{(2)}$ ve $T^{(3)}$ noktaları K_1p^2 'ye bağlı yüksek dereceli doğrusal olmayan karmaşık ifadeler içermektedir. Bu ifadelerin analizini kolaylaştırmak için doğrusal bir dönüşüm ile $\hat{T}^{(1)} \triangleq \frac{6K_1T^{(1)}}{\sqrt[3]{K_1p^2}}$, $\hat{T}^{(2)} \triangleq \frac{12K_1T^{(2)}}{\sqrt[3]{K_1p^2}}$ ve $\hat{T}^{(3)} \triangleq \frac{12K_1T^{(3)}}{\sqrt[3]{K_1p^2}}$ fonksiyonları elde edilmiştir. Bu fonksiyonların gerçel ve imajiner kısımları Şekil 5'deki gibi çizilebilir ve K_1p^2 'ye bağımlılıkları bu çizimler yardımıyla daha kolay incelenebilir.

Şekil 5'den, gerçel ve pozitif olması gereken gerçel eksene giriş ve gerçel eksenden çıkış noktaları $T^{(1)}$, $T^{(2)}$ ve $T^{(3)}$ için $p^2K_1 > 27$ ' gerek koşul olduğu görülmektedir. $p^2K_1 > 27$ koşulu daha önce diskriminanta dayalı analiz sonuçları ile tutarlılık göstermektedir. Grafiklerden $T^{(1)}$ ifadesinin negatif gerçel bir kök olduğu, $T^{(2)}$ ve $T^{(3)}$ 'ün $p^2K_1 > 27$ koşulundan sonra pozitif ve gerçel değerler aldığı görülmektedir.



Şekil 5. p^2K_1 'e göre ölçeklendirilmiş gerçel eksene giriş ve gerçel eksenden ayrılma noktalarının, $\hat{T}^{(1)}$, $\hat{T}^{(2)}$ ve $\hat{T}^{(3)}$, gerçel ve imajiner kısımlarının grafikleri

K parametresinin alt ve üst sınırlarına ait analitik ifadeler, sırasıyla K^u ve K^l , daha önce p parametresi için yapılan işlemlere benzer şekilde denklem (4.24)-(4.25)'deki elde edilebilir.

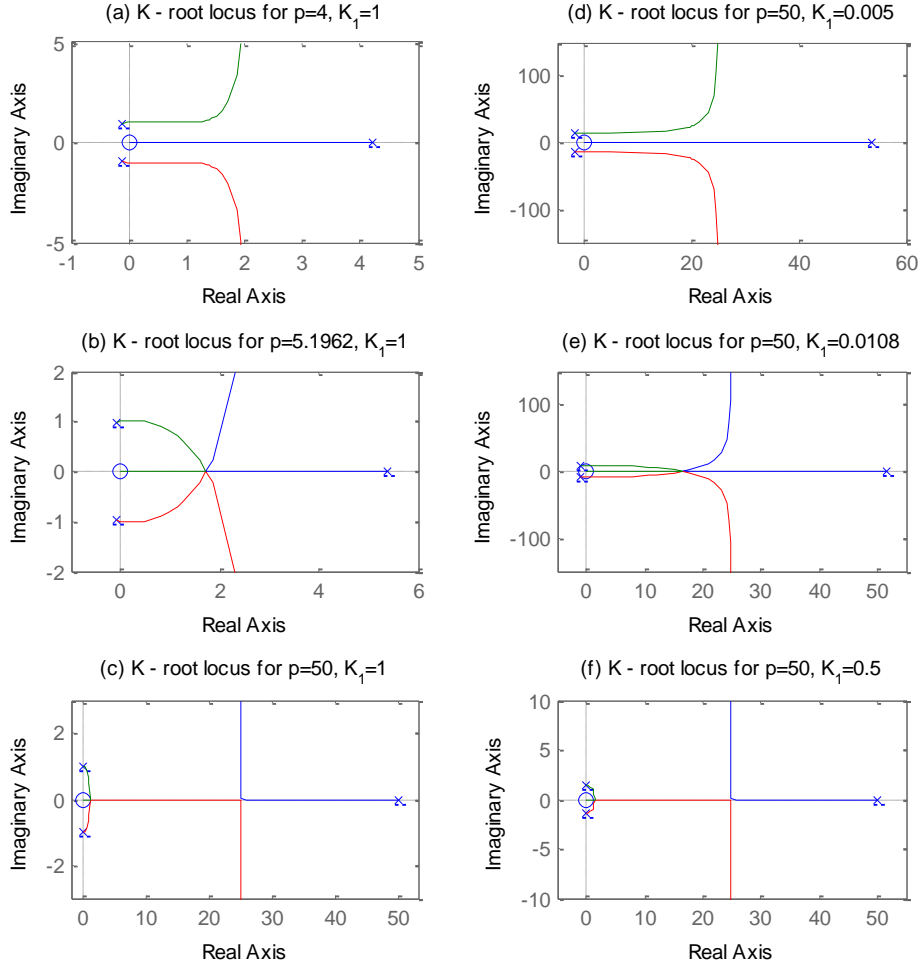
$$K^u = -\frac{K_1(T^{(2)})^3 - pK_1(T^{(2)})^2 - p}{T^{(2)}} \quad (4.24)$$

$$K^l = -\frac{K_1(T^{(3)})^3 - pK_1(T^{(3)})^2 - p}{T^{(3)}} \quad (4.25)$$

Buradaki $T^{(2)}$ ve $T^{(3)}$ denklem (4.20)-(4.21)'de tanımlanmıştır.

Gerçel eksene giriş ve gerçel eksenden ayrılma noktalarının bazı parametre değerleri için oluştuğunu ve bazılarını için oluşmadığını gösteren, farklı p ve K_1 değerleri kullanılarak MATLAB'da çizilen köklerin geometrik yeri grafikleri Şekil 6'da verilmiştir.

$p^2K_1 > 27$ koşulu, her iki yöntem ile çift-kararlı çalışma için gerekli bir koşul olarak elde edilmiştir. Bu koşulu doğrulamak için Şekil 6'daki köklerin geometrik yeri eğrileri çizilmiştir. Şekil 6.a-c'de, $K_1 = 1 (\mu\text{M})^{-2}$ sabit ve farklı $p = \{4 \mu\text{M}, 5.1962 \mu\text{M}, 50 \mu\text{M}\}$ değerleri (sırasıyla $p^2K_1 < 27$, $p^2K_1 = 27$ ve $p^2K_1 > 27$ koşullarını sağlayan), Şekil 6.d-f'de ise $p = 50 \mu\text{M}$ sabit ve farklı $K_1 = \{0.005 (\mu\text{M})^{-2}, 0.0108 (\mu\text{M})^{-2}, 0.5 (\mu\text{M})^{-2}\}$ değerleri (sırasıyla yine $p^2K_1 < 27$, $p^2K_1 = 27$ ve $p^2K_1 > 27$ koşullarını sağlayan) kullanılarak eğriler çizildiğinde çift-kararlı davranış için $p^2K_1 > 27$ koşulunun doğruluğu kanıtlanmıştır.



Şekil 6. K parametresi için farklı $p^2 K_1$ değerleriyle çizilen köklerin geometrik yeri grafikleri

4.3 K_1 parametresi için köklerin geometrik yeri analizi

K_1 parametresi için köklerin geometrik yerine dayalı analiz için denklem (4.1)'deki denge denklemini, K_1 parametresine göre karakteristik denklem formunda denklem (4.26)'deki gibi tekrar düzenlenmiştir.

$$1 + K_1 \frac{T^3 - pT^2}{KT - p} = 0 \quad (4.26)$$

Karakteristik denklemin payı $T = 0$ 'da çakışık bir çift köke ve $T = p$ 'de gerçel bir köke sahiptir. Bununla birlikte, pay üç gerçel köke sahipken paydanın $T = \frac{p}{K}$ 'da tek bir gerçel kökü bulunmaktadır.

$$T_N^{(1,2)} = 0 \quad (4.27)$$

$$T_N^{(3)} = p \quad (4.28)$$

$$T_D^{(1)} = \frac{p}{K} \quad (4.29)$$

K_1 'in T 'ye göre ekstrema noktaları olan gerçel eksene giriş ve gerçel eksenden ayrılma noktaları K ve p parametreleri türünden aşağıdaki gibi elde edilebilir.

$$\frac{d}{dT} \left\{ \frac{p - KT}{T^3 - pT^2} \right\} = \frac{T(2KT^2 - pT(3 + K) + 2p^2)}{(T^3 - pT^2)^2} = 0 \quad (4.30)$$

Denklem (4.30)'daki birinci gerçel eksene giriş / gerçel eksenden ayrılma noktası sıfıra eşittir. Denklem (4.30)'deki diğer iki gerçel eksene giriş / gerçel eksenden ayrılma noktası, payın ikinci dereceden polinomsal ifadesinin, $2KT^2 - pT(3 + K) + 2p^2$, kökleridir.

$$T^{(1)} = 0 \quad (4.31)$$

$$\begin{aligned} T^{(2,3)} &= \frac{p(3 + K) \pm \sqrt{p^2(3 + K)^2 - 16p^2K}}{8K} = \frac{p(3 + K) \pm p\sqrt{K^2 - 10K + 9}}{8K} \\ &= \frac{p(3 + K) \pm p\sqrt{(K - 9)(K - 1)}}{8K} \end{aligned} \quad (4.32)$$

$T^{(2,3)}$ 'nin tanımladığı gerçel eksene giriş / gerçel eksenden ayrılma noktalarının gerçel olabilmesi ve K_1 'in çift-kararlı çalışma aralığı için $(K - 9)(K - 1)$ ifadesinin kesinlikle pozitif olması gerekmektedir. Bu nedenle $K > 9$, çift-kararlı çalışma için tekrar gerek koşul olarak elde edilmiştir. İkinci olasılık olan $0 < K < 1$, gerçel eksene giriş / gerçel eksenden ayrılma noktalarının denklem (4.31)-(4.32)'de negatif K_1 değerleri oluşturması nedeniyle K_1 'in çift-kararlı çalışma aralığı için koşul oluşturmamaktadır. Burada, K_1^l ve K_1^u sırasıyla K_1 için çift-kararlı çalışma aralığının üst ve alt limitlerini ifade etmektedir. K_1^l ve K_1^u , $T^{(2)}$ ve $T^{(3)}$ 'ün $K_1 = \frac{p - KT}{T^3 - pT^2}$ ifadesinde T 'nin yerine yazılmasıyla aşağıdaki gibi elde edilir.

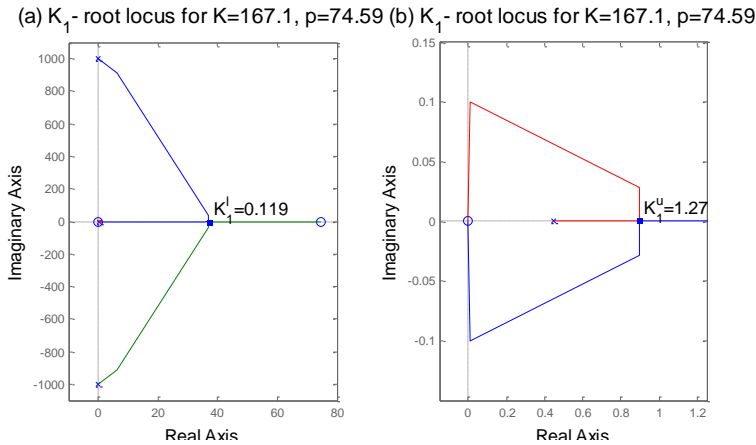
$$K_1^l = \frac{p - K \frac{p(3 + K) - p\sqrt{(K - 9)(K - 1)}}{8K}}{\left(\frac{p(3 + K) - p\sqrt{(K - 9)(K - 1)}}{8K} \right)^2 \left(\frac{p(3 + K) - p\sqrt{(K - 9)(K - 1)}}{8K} - p \right)}$$

$$= \frac{64K^3}{p^2} \frac{5 - K + \sqrt{(K-9)(K-1)}}{(3 + K - \sqrt{(K-9)(K-1)})^2 (3 - 7K - \sqrt{(K-9)(K-1)})} \quad (4.33)$$

$$K_1^u = \frac{p - K \frac{p(3+K) + p\sqrt{(K-9)(K-1)}}{8K}}{\left(\frac{p(3+K) + p\sqrt{(K-9)(K-1)}}{8K}\right)^2 \left(\frac{p(3+K) + p\sqrt{(K-9)(K-1)}}{8K} - p\right)}$$

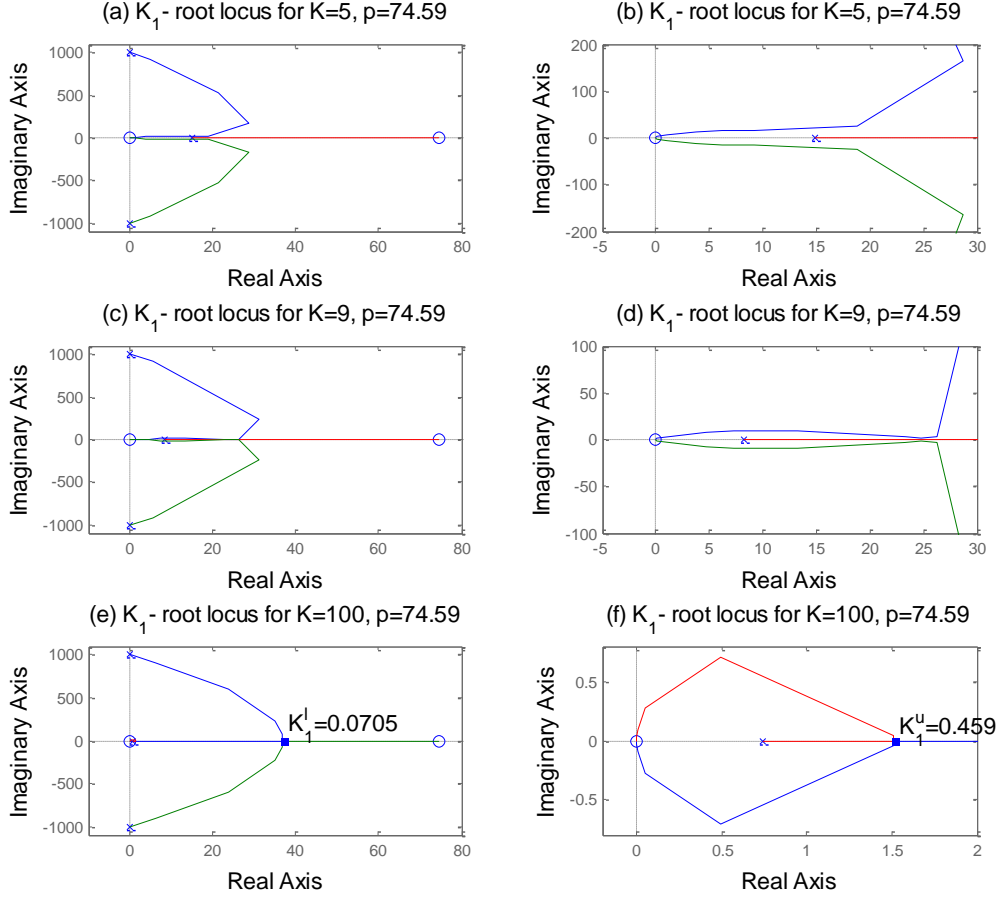
$$= \frac{64K^3}{p^2} \frac{5 - K - \sqrt{(K-9)(K-1)}}{(3 + K + \sqrt{(K-9)(K-1)})^2 (3 - 7K + \sqrt{(K-9)(K-1)})} \quad (4.34)$$

Benzer MATLAB fonksiyonları ile Özbudak vd. (2004)'in deneysel olarak çift-kararlı davranışı gözlemlendiği $T_e = 20 \mu\text{M}$ ve $G_e = 0 \mu\text{M}$ konsantrasyon değerlerine göre hesaplanan $p = 74.59 \mu\text{M}$ ve aynı çalışmada deneysel sonuçlardan kestirim ile elde edilen $K = 167.1$ değeri kullanılarak K_1 parametresi için çizilen köklerin geometrik yeri grafiği Şekil 7'de yer almaktadır. Şekil 7.b elde edilen grafiğin orijin çevresinde büyütülmüş halidir. Şekil 7'de görüldüğü gibi Özbudak vd. (2004)'in deneysel sonuçlardan kestirimde bulunduğu $K_1 = 1 (\mu\text{M})^{-2}$, K_1 parametresi için elde edilen $K_1 \in (0.119 (\mu\text{M})^{-2}, 1.27 (\mu\text{M})^{-2})$ çift-kararlı çalışma aralığında bulunmaktadır. Aynı parametre aralığı diskriminantaya dayalı analiz yöntemi ve denklem (4.33)-(4.34)'den $K_1 \in (0.119 (\mu\text{M})^{-2}, 1.27 (\mu\text{M})^{-2})$ olarak da belirlenmiştir (Avcu vd., 2012; Avcu vd., 2013). Sırasıyla Lestas vd. (2008) ve Yıldırım vd. (2004)'in matematiksel modellerinde kullandıkları IPTG için hesaplanan $K_1 = 0.031 (\mu\text{M})^{-2}$ ve $K_1 = 0.0252 (\mu\text{M})^{-2}$ değerlerinin, TMG uyarıcı olduğunda K_1 için hesaplanan çift-kararlı çalışma aralığında yer almadığı gözlemlenmiştir.



Şekil 7. a. $K = 167.1$ ve $p = 74.59 \mu\text{M}$ alındığında K_1 parametresi için çizilen köklerin geometrik yeri grafiği. b. Gerçel eksen giriş noktası civarında grafiğin büyütülmüş hali

Şekil 8'de, çift-kararlı çalışma koşulu olarak elde edilen $K > 9$ 'u doğrulamak için, çift-kararlı davranış sağladığı deneysel olarak bilinen $p = 74.59 \mu\text{M}$ ve farklı K değerleri ile çizilen köklerin geometrik yeri grafikleri verilmiştir.



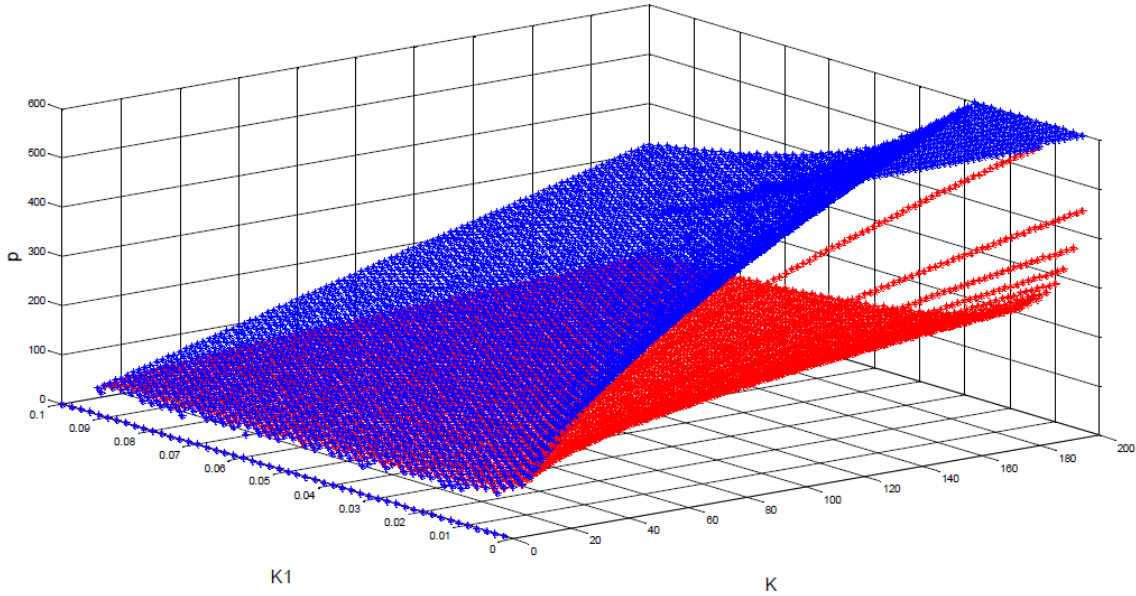
Şekil 8. a., c., e., g. Sabit $p = 74.59 \mu\text{M}$ ve farklı K değerleri için çizilen K_1 parametresine ait köklerin geometrik yeri grafikleri. b., d., f., h. Gerçel eksene giriş noktası civarında a., c., e., ve g. grafiklerinin büyütülmüş halleri

Şekil 8'den de görüldüğü gibi $K < 9$ olduğunda çift-kararlı çalışma aralığı bulunmazken, $K = 9$ 'da çakışık kök durumu ve $K > 9$ 'da çift-kararlı çalışma aralığı oluşmaktadır.

5. TMG UYARIMLI LAK OPERON MODELİ İÇİN TEK PARAMETRELİ KÖKLERİN GEOMETRİK YERİ ANALİZ SONUÇLARININ BİRLEŞTİRİLMESİ

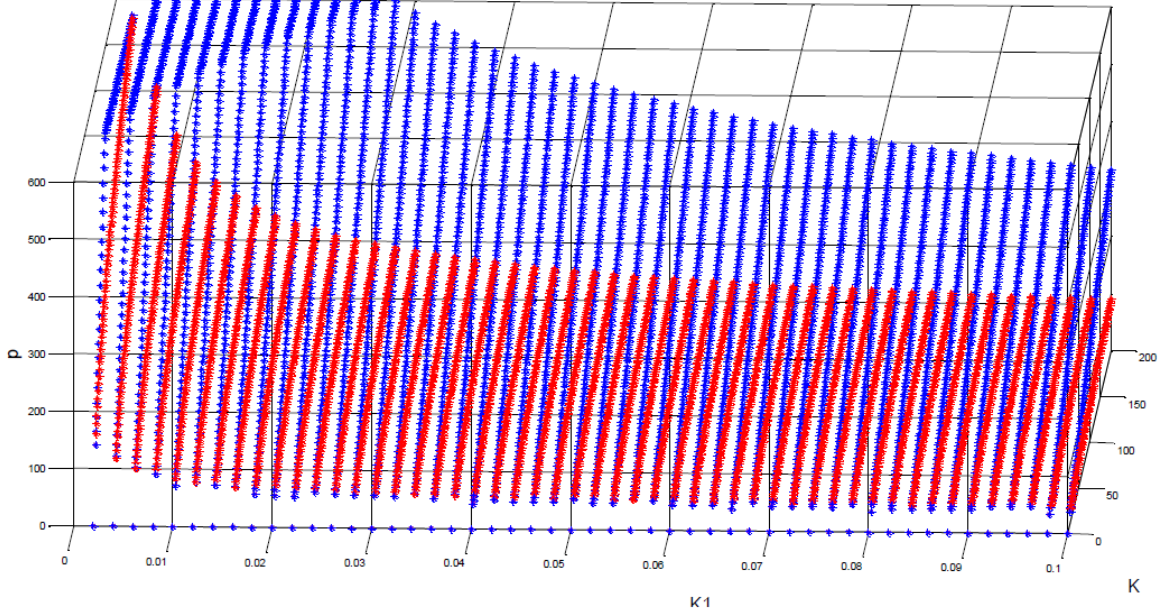
Çift-kararlı çalışma koşulları, tüm parametreler için köklerin geometrik yerine dayalı analiz yöntemi ile belirlenmiştir. Her defasında bir parametreyi değişken diğer iki parametreyi sabit alarak belirlenen koşullar gerçekte bir boyutlu çift-kararlı çalışma aralıklarını tanımlamaktadır. Belirli bir parametrenin çift-kararlı çalışma aralığının alt ve üst limitleri diğer iki parametrenin bir fonksiyonudur. Belirli bir parametrenin çift-kararlı çalışma aralığının alt ve üst limitlerinin diğer iki parametreye bağımlılıkları göz önünde de bulundurulur ve elde edilen bütün koşullar birleştirilerek, $p - K - K_1$ uzayındaki üç boyutlu çift-kararlı çalışma bölgesi ve bu bölgenin sabit bazı parametre değerleri için alınmış iki boyutlu kesitleri oluşturulabilir. Tüm çift-kararlı çalışma modu için gerekli koşullarının birleştirilmesiyle, tam çift-kararlı çalışma bölgesi denklem (5.1)'de cebrik olarak ve Şekil 9'da grafiksel olarak verilmiştir.

$$\widehat{\mathfrak{R}}_{bi} \triangleq \{(p, K, K_1) \in \mathbb{R}^3 | p^l < p < p^u, K_1^l < K_1 < K_1^u, K^l < K < K^u, p^2 K_1 > 27, p > 0, K > 9, K_1 > 0\} \quad (5.1)$$

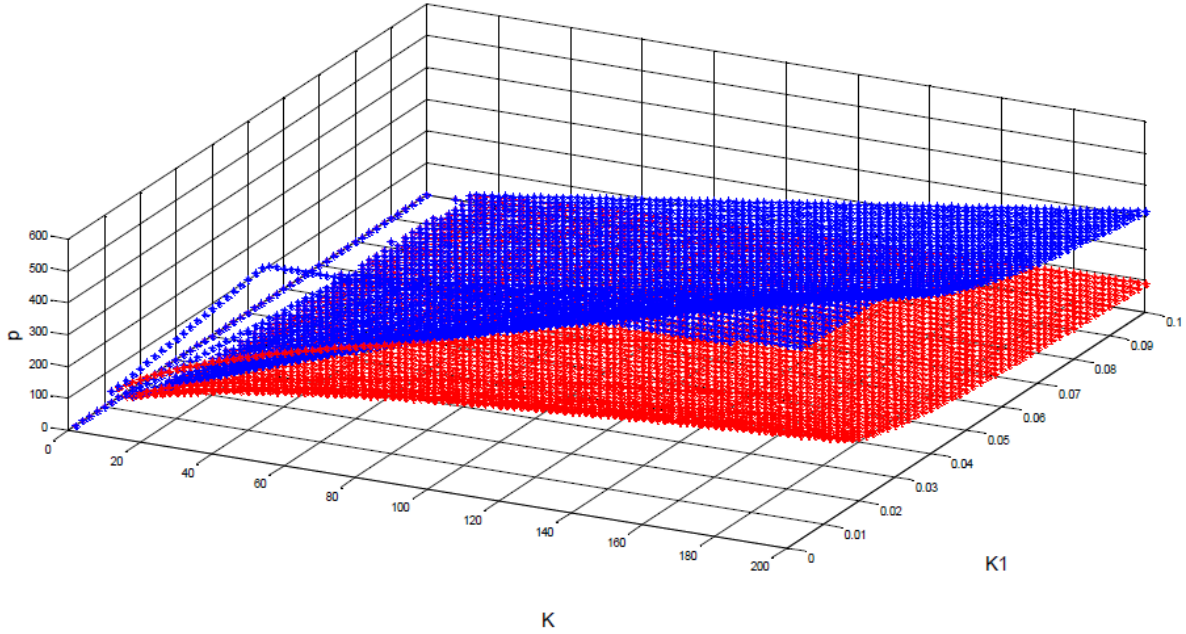


Şekil 9. $p - K - K_1$ uzayında çift-kararlı çalışma bölgesi

p , K veya K_1 'in sabit olduğu düzlemlerle $\widehat{\mathfrak{R}}_{bi}$ çift-kararlı çalışma bölgesinin bazı iki boyutlu kesitleri Şekil 10 ve Şekil 11'de görülmektedir.



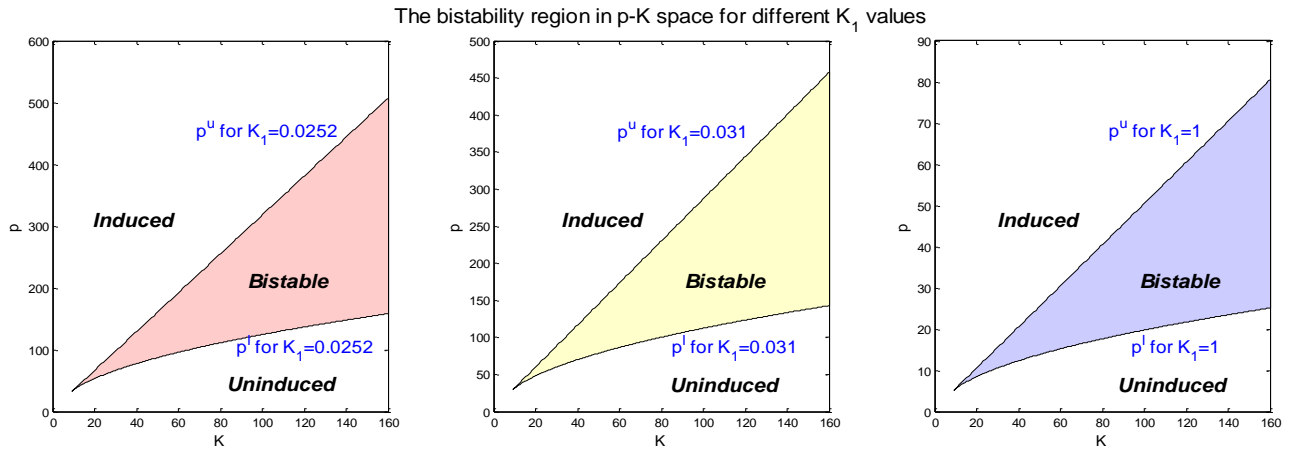
Şekil 10. $p - K - K_1$ uzayında çift-kararlı çalışma bölgesinin 2-boyutlu arakesitleri



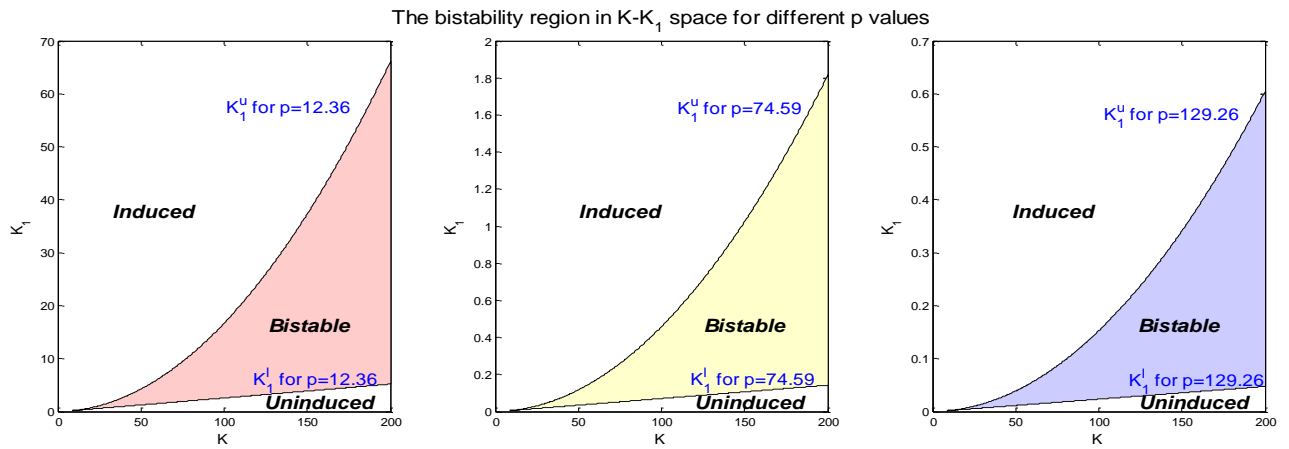
Şekil 11. $p - K - K_1$ uzayında çift-kararlı çalışma bölgesinin 2-boyutlu arakesitleri

Geliştirilen köklerin geometrik yerine dayalı analiz yönteminin sonuçlarını bilimsel yazındaki sonuçlar ile karşılaştırabilmek için sırasıyla K_1 ve p parametrelerinin farklı sabit değerleri için $K - p$ ve $K - K_1$ uzayında çizilen çift-kararlı çalışma grafikleri Şekil 12 ve Şekil 13'de verilmiştir. Bu grafiklerden Şekil 12, p parametresinin çift-kararlı davranış için gerekli alt ve

üst sınırlarının analiz sonucunda elde edilen analitik ifadelerinin, daha önce yapılan çalışmalarda sabit $K_1 = \{0.0252 (\mu\text{M})^{-2}, 0.031 (\mu\text{M})^{-2}, 1 (\mu\text{M})^{-2}\}$ değerleri için K 'ya göre değişimini göstermektedir (Özbudak vd., 2004; Lestas vd., 2008; Oehler vd., 2006). Benzer olarak Şekil. 13'de, K_1 parametresinin çift-kararlı davranış için gerekli alt ve üst sınırlarının analiz sonucunda elde edilen analitik ifadelerinin $p = \{12.36 \mu\text{M}, 74.59 \mu\text{M}, 129.26 \mu\text{M}\}$ için K 'ya göre değişimleri incelenmiştir. Seçilen bu sabit p değerleri, Özbudak vd. (2004)'in yaptığı deneysel çalışmada sırasıyla uyarılmamış lak operon için $T_e = 1 \mu\text{M}$, çift-kararlı davranış gösteren lak operon için $T_e = 20 \mu\text{M}$ ve uyarılmış lak operon için $T_e = 50 \mu\text{M}$ seçilerek hesaplanan p değerlerine eşittir.



Şekil 12. Farklı K_1 değerleri için $p - K$ uzayında çift-kararlı çalışma bölgeleri



Şekil 13. Farklı p değerleri için $K - K_1$ uzayında çift-kararlı çalışma bölgeleri

Şekil 12'de görüldüğü gibi sadece $K_1 = 1 (\mu\text{M})^{-2}$ için çizilen p eğrilerinde $K = 167.1$ 'de, hücre dışı glikozun $G_e = 0 \mu\text{M}$ ve TMG'nin $T_e = 20 \mu\text{M}$ olduğu ve çift-kararlı davranış gözlemlenen $p = 74.59 \mu\text{M}$ değeri, p için verilen çift-kararlı davranış bölgesinde yer almaktadır. $K_1 = 0.0252(\mu\text{M})^{-2}$ ve $K_1 = 0.031(\mu\text{M})^{-2}$ için çizilen p parametre eğrilerinden $K = 167.1$ için daha büyük p (p , T_e 'nin artan bir fonksiyonu olduğu için dolayısıyla daha büyük T_e) değerleri arasında çift-kararlı davranış gözlemlenmektedir.

Şekil 13'de görüldüğü gibi ($K = 167.1$, $K_1 = 1 (\mu\text{M})^{-2}$) noktası, $T_e = 1 \mu\text{M}$ (lak operon uyarılmamışken) için hesaplanan sabit $p = 12.36 \mu\text{M}$ değeriyle çizilen grafikte uyarılmamış bölgede, $T_e = 20 \mu\text{M}$ (lak operon çift-kararlı davranırken) için hesaplanan $p = 74.59 \mu\text{M}$ değeriyle çizilen grafikte çift-kararlı bölgede ve $T_e = 50 \mu\text{M}$ (lak operon uyarılmışken) için hesaplanan $p = 129.56 \mu\text{M}$ değeriyle çizilen grafikte uyarılmış bölgede yer almaktadır.

Parametreler için çizilen iki boyutlu çift-kararlı çalışma bölgelerini gösteren bu grafikler analiz sonuçlarını doğrulamaktadır.

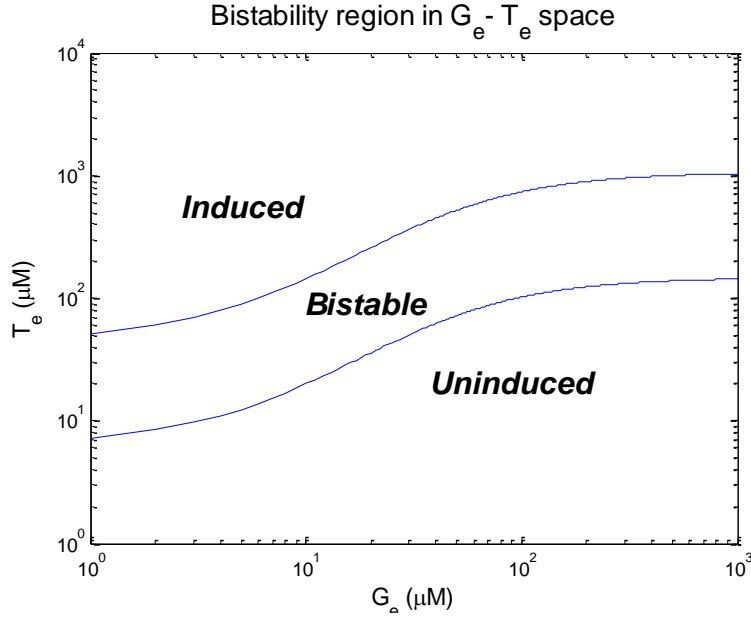
5.1 TMG uyarımlı Lac operon modeli için $G_e - T_e$ kontrol parametre uzayında çift-kararlı çalışma koşulları

Bilimsel yazında çift-kararlı çalışma bölgesi hücre dışı glikoz ve TMG ($G_e - T_e$) uzayında gösterilmektedir. Köklerin geometrik yerine dayalı analiz sonuçlarını $G_e - T_e$ uzayına taşıyabilmek için seçilen nominal parametre değerleri, $K = 167.1$ ve $K_1 = 1 (\mu\text{M})^{-2}$ ile p parametresine ait çift-kararlı çalışma aralığının alt ve üst sınırları $p^l = 25.7 \mu\text{M}$ ve $p^u = 84.1 \mu\text{M}$ olarak hesaplanmıştır. p parametresinin (2.14)'deki analitik ifadesinde görüldüğü gibi hücre dışı glikoz (G_e) ve TMG (T_e) konsantrasyonlarına bağlı bir fonksiyon olduğundan, (2.14)'de hesaplanan bu p^l ve p^u değerleri yerine konularak elde edilen T_e^l ve T_e^u 'ın G_e 'ye bağlı ifadeleri (5.2) ve (5.3)'de verilmiştir.

$$T_e^u = \left[p^u / \left(0.00123 \left[\frac{84.4}{1 + \left(\frac{G_e}{8.1} \right)^{1.2}} + 16.1 \right] \left[100 - 35 \frac{(100 G_e)}{10 + (100 G_e)} \right] \right) \right]^{0.6} \quad (5.2)$$

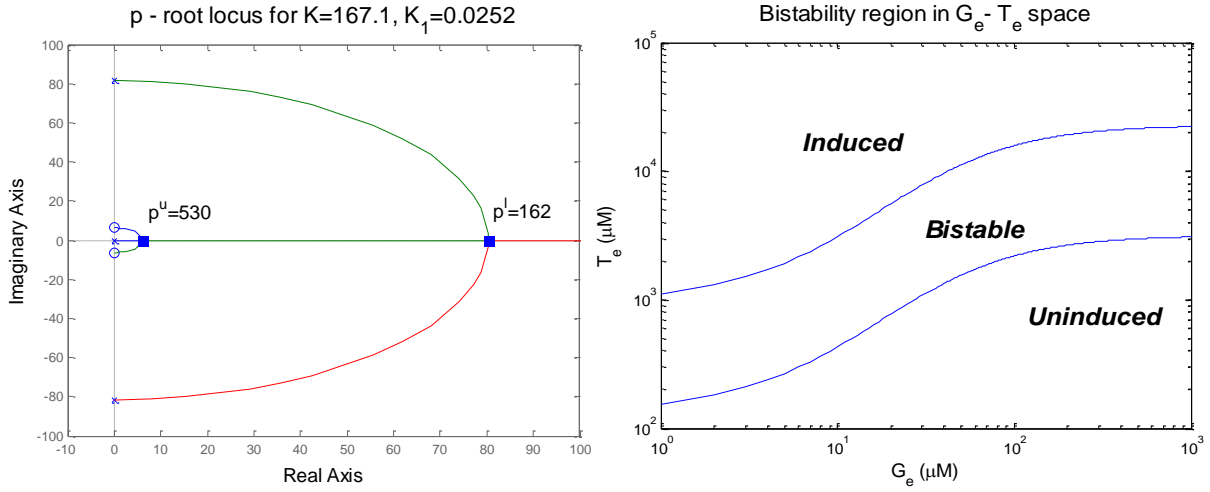
$$T_e^l = \left[p^l / \left(0.00123 \left[\frac{84.4}{1 + \left(\frac{G_e}{8.1} \right)^{1.2}} + 16.1 \right] \left[100 - 35 \frac{(100 G_e)}{10 + (100 G_e)} \right] \right) \right]^{0.6} \quad (5.3)$$

Hücre dışı TMG konsantrasyonunun alt ve üst limitleri için denklem (5.2) ve (5.3)'ya göre $G_e - T_e$ uzayında çizilen çift-kararlı çalışma bölgesine ait Şekil 14'deki grafik, Özbudak vd. (2004)'in deneysel sonuçlardan elde ettiği grafik ile uyumludur.



Şekil 14. $K = 167.1$ ve $K_1 = 1 (\mu\text{M})^{-2}$ için $G_e - T_e$ uzayında çift-kararlı çalışma bölgesi

Benzer bir çizim $K = 167.1$ ve $K_1 = 0.0252 (\mu\text{M})^{-2}$ değeri için köklerin geometrik yerine dayalı analiz yöntemiyle Şekil 15'de, p parametresine ait çift-kararlı çalışma aralığının alt ve üst sınırı olan $p^l = 162 \mu\text{M}$ ve $p^u = 530 \mu\text{M}$ için çizilmiştir. Yıldırım vd. (2004)'in çalışmalarında, TMG için oluşturdukları lak operon modelinde $K_1 = 0.0252 (\mu\text{M})^{-2}$ alırken, bu değeri Yagil ve Yagil (1971)'in IPTG için yaptığı deneysel sonuçlardan kestirim yoluyla elde ettiklerini ifade etmektedir. Şekil. 3.15'de, elde edilen p^l ve p^u değerleri ile denklem (5.2) ve (5.3)'e göre çizilen çift-kararlı çalışma bölgesi grafiğine göre daha küçük K_1 değeri çift-kararlı çalışma bölgesini T_e 'nin daha büyük değerlerine kaydırmıştır. $K = 167.1$ ve $K_1 = 0.0252 (\mu\text{M})^{-2}$ değerleri ile elde edilen $100 \mu\text{M}$ 'in üzerinde bir T_e aralığı, hücre dışı glikozun olmadığı ($G_e = 0 \mu\text{M}$) durumda Özbudak vd. (2004)'in deneysel olarak T_e için bulduğu $[3 \mu\text{M}, 30 \mu\text{M}]$ çift-kararlı çalışma bölgesi içinde yer almaz. Bu sonuç IPTG için yapılan bir deneyden kestirim yoluyla elde edilen bir parametrenin TMG uyarımlı bir modelde kullanılamayacağını göstermektedir.



Şekil 15. $K = 167.1$ ve $K_1 = 0.0252 (\mu M)^{-2}$ için $G_e - T_e$ uzayında çift-kararlı çalışma bölgesi

5.2 IPTG uyarımlı Lak operon modeli için $G_e - T_e$ kontrol parametre uzayında çift-kararlı çalışma koşulları

TMG uyarımlı lak operon modeline ek olarak IPTG uyarımlı lak operon modeli ele alınmış ve parametre değerlerine bağlı çift-kararlı çalışma analizleri yapılmıştır. Bunun için TMG uyarımlı deterministik lak operon modelinde uyarıcı olarak, TMG yerine IPTG (I) kullanılmıştır. IPTG'nin TMG analoğu (kimyasal olarak benzer yapıda) olması nedeniyle TMG'ye ait fonksiyonların formunda bir değişiklik yapılmamıştır. Bu modelde Lestas vd. (2008)'in, Oehler vd. (2006)'in IPTG ile gerçekleştirdiği deney sonuçlarından kestirim yoluyla elde ettiği $K = 1000$ ve $K_1 = 0.031 (\mu M)^{-2}$ parametre değerleri kullanılarak TMG modeli için yapılan analizlere benzer analizler yapılmıştır. Çift-kararlı çalışma bölgesi $G_e - I_e$ uzayında elde edilmiştir.

Lestas vd. (2008)'in IPTG için önerdiği model hücre dışı glikozun olmadığı ($G_e = 0 \mu M$) durum için geçerlidir. Bu nedenle, hücre dışı glikoza (G_e) göre hücre dışı IPTG konsantrasyonu (I_e) için çift-kararlı $G_e - I_e$ çalışma bölgesi elde edilememektedir. Sadece $G_e = 0 \mu M$ için, IPTG konsantrasyonunun çift-kararlı davranışı sağladığı, I_e^l ve I_e^u doğru olarak hesaplanabilir. Bunun için $G_e = 0 \mu M$ olduğunda hücre dışı glikoza bağlı olan katabolit baskılama ve uyarıcı dışarlama etkilerine ait fonksiyonların etkilerini yok etmek için Özbudak vd. (2004)'in çalışmasından elde

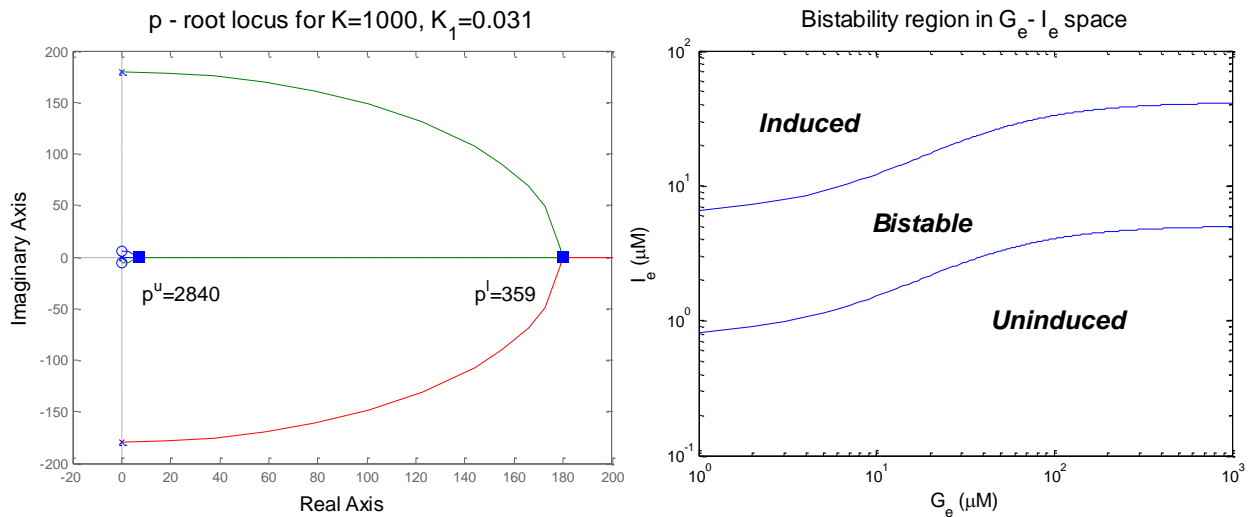
edilen ifadeleri $f_{T,G_e}(G_e) = \left[\frac{0.844}{1 + \left(\frac{G_e}{8.1}\right)^{1.2}} + 0.161 \right]$ ve $f_{M,G_e}(G_e) = \left[1 - 0.35 \frac{(100 G_e)}{10 + (100 G_e)} \right]$ olacak şekilde

normalize edilmiştir. p parametresinin içinde yer alan diğer model parametreleri Lestas vd. (2008)'in çalışmasından $\alpha_T = 2220 \text{ dak}^{-1}$, $\gamma_T = 0.0308 \text{ dak}^{-1}$, $\alpha_P = 2.25 \text{ dak}^{-1}$, $\gamma_P = 0.0308 \text{ dak}^{-1}$, $\alpha_M = 0.0498 \text{ } \mu\text{M} \cdot \text{dak}^{-1}$, $\gamma_M = 0.4408 \text{ dak}^{-1}$ ve $K_{I_e} = 870 \text{ } \mu\text{M}$ olarak alınmıştır. Hücre dışı glikoz (G_e) ve IPTG (I_e) konsantrasyonlarının fonksiyonu olan $p(I_e, G_e)$ parametresinin analitik ifadesi

$$p(I_e, G_e) \triangleq \frac{\alpha_T}{\gamma_T} \frac{\alpha_P}{\gamma_P} \frac{\alpha_M}{\gamma_M} f_{T,I_e}(I_e) f_{T,G_e}(G_e) f_{M,G_e}(G_e) = \frac{(594869.65) I_e}{870 + I_e} \left[\frac{0.844}{1 + \left(\frac{G_e}{8.1}\right)^{1.2}} + 0.161 \right] \left[1 - \frac{(0.35)(100 G_e)}{10 + (100 G_e)} \right]$$

şeklinde elde edilir.

$K = 1000$ ve $K_1 = 0.031 (\mu\text{M})^{-2}$ parametre değerleri kullanılarak, köklerin geometrik yerine dayalı analiz ile IPTG uyarımlı model için Şekil. 3.16'da görüldüğü gibi p parametresi için $p^l = 359 \text{ } \mu\text{M}$ ve $p^u = 2840 \text{ } \mu\text{M}$ çift-kararlı çalışma sınırları olarak hesaplanmıştır. Şekil. 3.16'da bu değerler kullanılarak çizilen $G_e - I_e$ uzayındaki çift-kararlılık bölgesinden görüldüğü gibi $G_e = 0 \text{ } \mu\text{M}$ olduğunda I_e için elde edilen çift-kararlı çalışma aralığı, Lestas vd. (2008)'in IPTG modelinde buldukları ve deneysel olarak yapılan çalışmada elde edilen $[1.5 \text{ } \mu\text{M}, 2.5 \text{ } \mu\text{M}]$ ile uyumludur (Avcu vd., 2014).



Şekil 16. $K = 1000$ ve $K_1 = 0.031 (\mu\text{M})^{-2}$ için $G_e - T_e$ uzayında çift-kararlı çalışma bölgesi

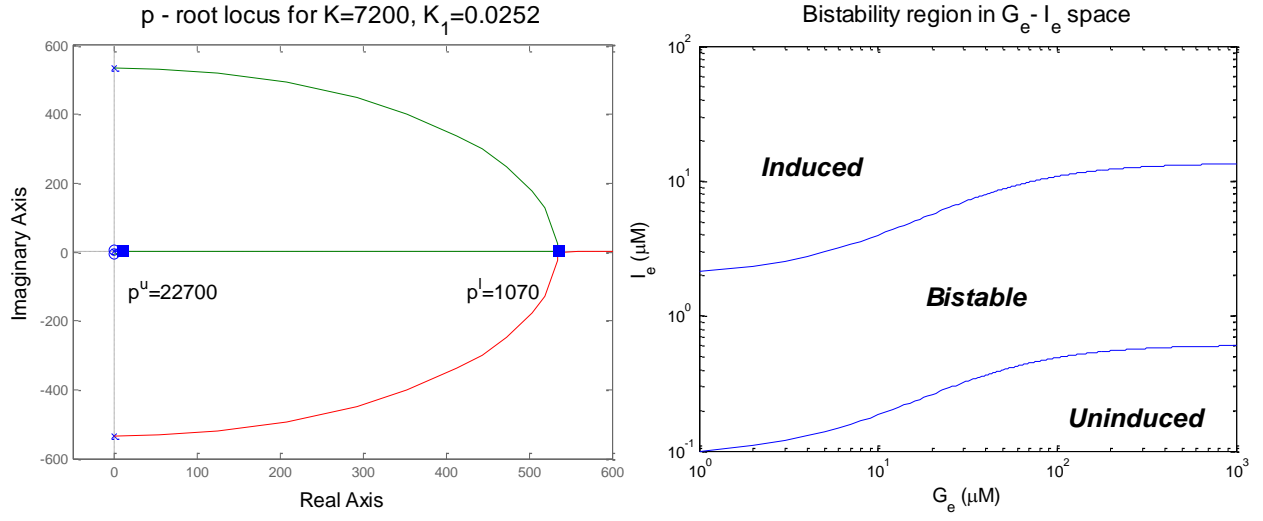
IPTG uyarımlı lak operon modeli için benzer bir çalışma Yıldırım vd. (2004)'in çalışmalarında kullandığı parametre değerleri olan $K = 7200$ ve $K_1 = 0.0252 (\mu\text{M})^{-2}$ için tekrarlanmıştır. Her ne kadar, Yıldırım vd. (2004)'i çalışmada TMG uyarımlı bir lak operon modeli aldıklarını ifade etseler de, kullandıkları model parametre değerlerini Yagil ve Yagil (1971)'in IPTG için gerçekleştirdiği deneysel verilerden kestirim yolu ile hesaplamışlardır. Lestas vd. (2008)'in çalışmasında olduğu gibi Yıldırım vd. (2004)'in modelinde de hücre dışı glikozun katabolit baskılama ve uyarıcı dışarlama etkileri modelde yer almamaktadır. Yine benzer yolla sadece $G_e = 0 \mu\text{M}$ olduğunda, hücre dışı glikoza bağlı olan katabolit baskılama ve uyarıcı dışarlama etkilerine ait fonksiyonların etkilerini yok etmek için Özbudak vd. (2004)'in

çalışmasından elde edilen ifadeleri $f_{T,G_e}(G_e) = \left[\frac{0.844}{1 + \left(\frac{G_e}{8.1}\right)^{1.2}} + 0.161 \right]$ ve $f_{M,G_e}(G_e) = \left[1 - 0.35 \frac{(100 G_e)}{10 + (100 G_e)} \right]$ olarak normalize edilerek bu IPTG modeli için de kullanılmıştır. Yıldırım vd.

(2004)'in çalışmasındaki diğer model parametre değerleri $\alpha_T = 2880 \text{ dak}^{-1}$, $\gamma_T = 0.0226 \text{ dak}^{-1}$, $\alpha_P = 10 \text{ dak}^{-1}$, $\gamma_P = 0.6726 \text{ dak}^{-1}$, $\alpha_M = 0.997 \mu\text{M} \cdot \text{dak}^{-1}$, $\gamma_M = 0.4336 \text{ dak}^{-1}$ ve $K_{I_e} = 260 \mu\text{M}$ alınarak hücre dışı glikoz ve IPTG konsantrasyonlarına bağlı $p(I_e, G_e)$ parametresinin analitik ifadesi $p(I_e, G_e) \triangleq$

$$\frac{\alpha_T}{\gamma_T} \frac{\alpha_P}{\gamma_P} \frac{\alpha_M}{\gamma_M} f_{T,I_e}(I_e) f_{T,G_e}(G_e) f_{M,G_e}(G_e) = \frac{(4356453.37) I_e}{260 + I_e} \left[\frac{0.844}{1 + \left(\frac{G_e}{8.1}\right)^{1.2}} + 0.161 \right] \left[1 - \frac{(0.35)(100 G_e)}{10 + (100 G_e)} \right] \quad \text{şeklinde yazılabilir.}$$

$K = 7200$ and $K_1 = 0.0252 (\mu\text{M})^{-2}$ parametre değerleri için köklerin geometrik yerine dayalı analiz yöntemiyle elde edilen p parametresine ait çift-kararlı çalışma aralıklarının sınırları olan $p^l = 1070 \mu\text{M}$ ve $p^u = 22700 \mu\text{M}$, Şekil 3.17'de görülmektedir. p parametresine ait bu alt üst sınır değerleri ile hesaplanan $G_e - I_e$ uzayındaki çift-kararlı çalışma bölgesi Şekil. 3.17'de verilmiştir. Şekilde $G_e = 0 \mu\text{M}$ 'da, IPTG için elde edilen çift-kararlı çalışma aralığının yine daha önce IPTG için yapılan çalışmalarda rapor edilen $[1.5 \mu\text{M}, 2.5 \mu\text{M}]$ değerleriyle uyumlu olduğu görülmektedir. Bu model parametreleri IPTG için yapılan bir deneyden kestirim ile hesaplandığı için çift-kararlı çalışma aralığı TMG için bulunan $[3 \mu\text{M}, 30 \mu\text{M}]$ aralığında değildir. Yıldırım vd. (2004), modeli TMG için geliştirseler de parametrelerini IPTG için yapılan bir deney sonucundan elde ettikleri için sonuçlar IPTG çift-kararlı çalışma aralığına uyumludur (Avcu vd., 2014).



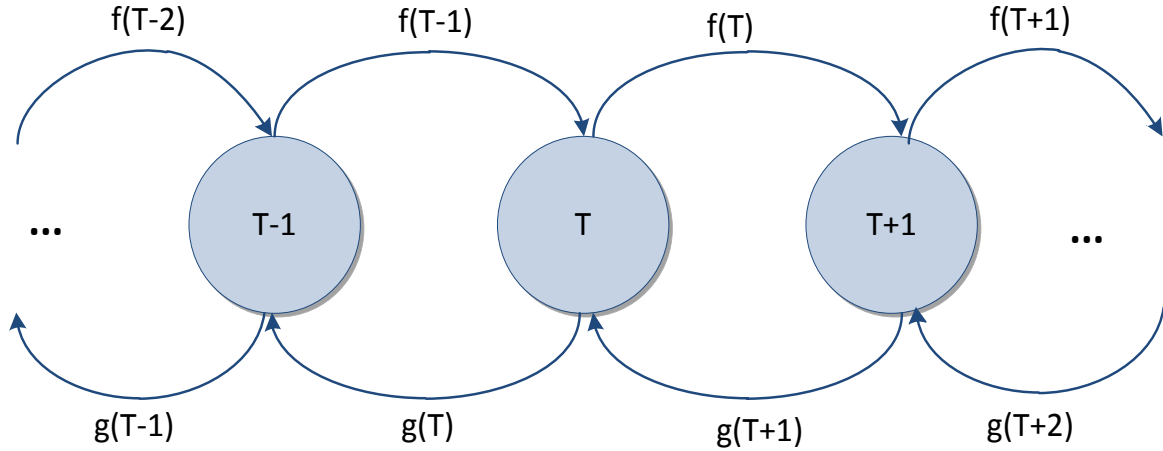
Şekil 17. $K = 7200$ ve $K_1 = 0.0252 (\mu M)^{-2}$ için $G_e - T_e$ uzayında çift-kararlı çalışma bölgesi

Bu analizde görüldüğü gibi IPTG için yapılan deneylerden alınan parametre değerleri, TMG modeli için doğru sonuçlar vermemektedir. Model hangi uyarıcı için geliştiriliyorsa, ilgili uyarıcıya ait deney sonuçları kullanılarak model parametre değerleri belirlenmelidir.

6. STOKASTİK MODEL ÇALIŞMALARI VE SİMÜLASYON SONUÇLARI

Deterministik matematiksel modellerde durum değişkenleri, ilgili gen düzenleyici ağa ait hücre içinde üretilen mRNA, protein ve enzim gibi doğal ya da hücrede üretilmeksizin hücre içine dış ortamdaki taşınan doğal olmayan kimyasal bileşiklerin molar konsantrasyonlarıdır. Bu modellerde, durum değişkeninin ortamda yeterli çoklukta olduğu ve homojen dağılım gösterdiği kabul edilir. Fakat biyolojik modellerde hücre içi konsantrasyon seviyeleri çok düşük olduğundan bu modellerin yapıyı doğru açıklamadığı bilinmektedir. Kimyasal tepkimelerin doğasına uygun rastgeleliğe uygun olduğu ve durum değişkenlerini kimyasal bileşiklerin tane sayısı kabul ettiği için stokastik modellerin gen düzenleyici ağları modellemede daha uygun sonuçlar vereceği bilimsel yazında yaygın bir görüştür.

Basit bir stokastik model olan doğum-ölüm modeline ait durum geçişlerini gösteren diagram Şekil 18'de verilmiştir. Modelde, bir sonraki duruma geçiş f oranı ile gerçekleşirken bir önceki duruma geçiş g oranı ile gerçekleşmektedir. İndirgenmiş deterministik modelden elde edilen stokastik modelde, benzer bir doğum-ölüm modeli elde edilmektedir.

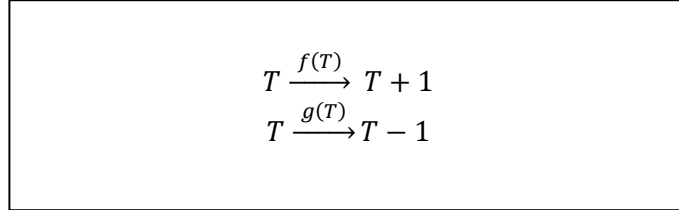


Şekil 18. Stokastik model doğum-ölüm diagramı

Bu bölümde, daha önce bilimsel yazında incelenmiş bir doğum-ölüm modeli ve incelenen deterministik modelin indirgenmesi ile elde edilen lak operona ait doğum-ölüm modeli incelenecektir. Yapılan incelemelerde kullanılacak analiz yöntemleri aşağıda kısaca özetlenmiştir.

6.1 Kapalı form kalıcı durum çözümleri

Focker-Plank denklemlerini kullanarak, Şekil 18'deki model için Kimyasal Master Denklemi yazarken aşağıdaki diyagramda yer alan olay geçişleri kabul edilmiştir.



Şekil 19. Stokastik model diagramı

Şekil 18'deki bir boyutlu doğum-ölüm diagramına göre elde edilen Kimyasal Master Denklem formundaki stokastik model denklemi (6.1)'de verilmiştir. T molekül sayısını ifade etmektedir. T , sıfır ile maksimum molekül sayısı N olan arasında $\{0,1, \dots, N\}$ ayrık değerler alan bir tesadüfi değişkendir. Stokastik modelde, t anında T molekül sayısında olma olasılığı $P(T, t)$ ile gösterilirken bu olasılığın zamanla değişimi doğum ve ölüm oranı arasındaki fark olarak tanımlanmaktadır. $\frac{dP(T,t)}{dt}$ ise T tane molekül olma olasılığının zamana göre değişim oranıdır.

$$\frac{dP(T, t)}{dt} = f(T - 1)P(T - 1, t) - f(T)P(T, t) + g(T + 1)P(T + 1, t) - g(T)P(T, t) \quad (6.1)$$

Burada, $f(T)$ doğum oranı, $g(T)$ ölüm oranı olarak tanımlanmıştır. Doğum-ölüm oranları durum değişkeninin (T molekül sayısının) bir fonksiyonudur. Bu stokastik model için Şekil 19'daki kimyasal değişim diagramı incelenmektedir. Deterministik modelde konsantrasyon değişimi incelenirken, stokastik model kimyasal tepkimelerin doğasına uygun olarak molekül sayısının değişimini incelemektedir. Molekül sayısı artarken stokastik model çözümlerinin ortalama değerinin, deterministik model sonuçlarına yakınsadığı termodinamik yaklaşımına dayalı olarak bilimsel yazında yer alan çalışmalardan bilinmektedir.

N molekül için bu modelin matrissel gösterimi aşağıdaki gibi elde edilebilir.

$$\frac{d}{dt} \begin{bmatrix} P(0, t) \\ P(1, t) \\ \vdots \\ P(N, t) \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} -f(0) & g(1) & 0 & 0 & \dots & 0 \\ f(0) & -f(1) - g(1) & g(2) & 0 & \dots & 0 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \dots & \vdots \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \dots & \vdots \end{bmatrix} \begin{bmatrix} P(0, t_0) \\ P(1, t_0) \\ \vdots \\ P(N, t_0) \end{bmatrix} \quad (6.2)$$

$\pi_i = P(i, \infty) \forall i \in \{1, 2, \dots, N\}$ olmak üzere bu modelin kapalı form çözümleri yukarıdaki denklemlerin kalıcı durumu için hesaplandığında aşağıdaki sonuçlar elde edilebilir.

$$\sum_{i=0}^N \pi_i = 1 \quad (6.3)$$

$$\pi_0 = \frac{1}{1 + \sum_{i=1}^N \prod_{j=1}^{i-1} \frac{f(j)}{g(j+1)}} \quad (6.4)$$

$$\pi_T = \pi_0 \prod_{j=0}^{T-1} \frac{f(j)}{g(j+1)} \quad (6.5)$$

6.2 Gillespie stokastik simulasyon algoritması

Stokastik modellerde kapalı form durum çözümleri kararlı duruma sahip modeller için nihai çözümü vermektedir. Bunun yanında bilimsel yazında stokastik modelin çözümünü durum değişkenlerinin adım adım değişimi şeklinde hesaplamak için geliştirilen pek çok yöntem bulunmaktadır. Stokastik model analizinde durum değişkenlerinin yörüngesini hesaplamak için kullanılan simülasyon yöntemlerinden en çok bilineni Gillespie yöntemidir. Gillespie yönteminde, direkt ve ilk tepkime olmak üzere birbirine eşdeğer iki farklı algoritma bulunmaktadır.

Algoritmanın adımları kısaca aşağıdaki gibi özetlenebilir.

- i. **Başlama:** Sistemdeki molekül sayıları, reaksiyon sabitleri, ve rasgele sayı üreteçleri başlangıç koşuluna uygun olarak belirlenir.
- ii. **Monte Carlo adımı:** Hem hangi kimyasal reaksiyonun gerçekleşeceğini hem de bu gerçekleşecek kimyasal reaksiyonun ne kadar sürede gerçekleşeceğini belirlemek için

rasgele sayılar oluşturur. Belirli bir reaksiyonun seçilme olasılığı, substrat molekül sayısı ile doğru orantılıdır.

iii. **Güncelleme:** Zaman adım 2'de rasgele oluşturulmuş reaksiyon süresi kadar artırılır. Yine adım 2'de gerçekleşen kimyasal reaksiyona göre molekül sayılarını güncellenir.

iv. **Yineleme:** Belirlenen simülasyon süresi dolana ya da molekül sayısı sıfır olana kadar adım 2'ye geri dönülür.

6.3 Yutucu Markov zinciri yöntemi ile yutulma olasılıkları ve yutulma adım sürelerinin hesaplanması

Olasılık teorisinde yaygın olarak kullanılan yutulma (başka bir duruma geçiş olasılığının sıfır olduğu) durumu, bu stokastik model için kalıcı durum çözümlerinde de kullanılmıştır. Kararlı denge noktalarına karşılık gelen molekül sayıları, yutucu durum olarak belirlenmiş ve bunların dışındaki diğer molekül sayılarında başlayan simülasyonların belirlenen bu yutucu durumlara ulaşma olasılıkları hesaplanmıştır.

Verilen bir Markov Model için W , $n \times n$ 'lik bir geçiş oran matrisidir (n , durum değişkeninin maksimum değeridir). Bu modelde t tane farklı durumlara geçiş olasılığı (normal) olan ve r tane başka durumlara geçiş olasılığı olmayan yutucu durum olsun. Bu geçiş matrisi $t \times t$ 'lik Q matrisi, $t \times r$ 'lik sıfırdan farklı R matrisi, $r \times t$ 'lik θ sıfır matrisine ve $r \times r$ 'lik birim I_r matrisine (6.6)'daki gibi dönüştürülebilir.

$$W = \begin{bmatrix} Q & R \\ \theta & I_r \end{bmatrix} \quad (6.6)$$

Bu matrisse gösterimde Q , herhangi bir durumda başka durumlara geçme olasılığını gösterirken, R herhangi bir durumdan yutucu durumlara geçiş olasılığını göstermektedir. $N = (I - Q)^{-1}$ şeklinde tanımlanan temel matris kullanılarak, denklem (6.7) ile herhangi bir durumun yutucu durum tarafından yutulma olasılığı ve (6.8) ile kaç adım sonra yutulacağı hesaplanabilir.

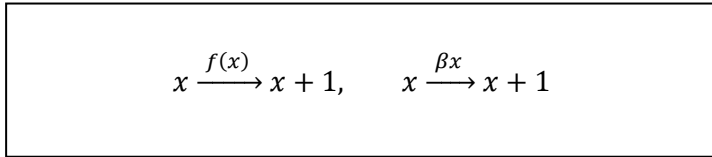
$$B = N.R \quad (6.7)$$

$$t_i = N.I \quad (6.8)$$

Burada I , $t \times 1$ 'lik birlerden oluşan sütun vektörüdür.

6.4 Basit bir doğum-ölüm işlemi için simülasyon sonuçları

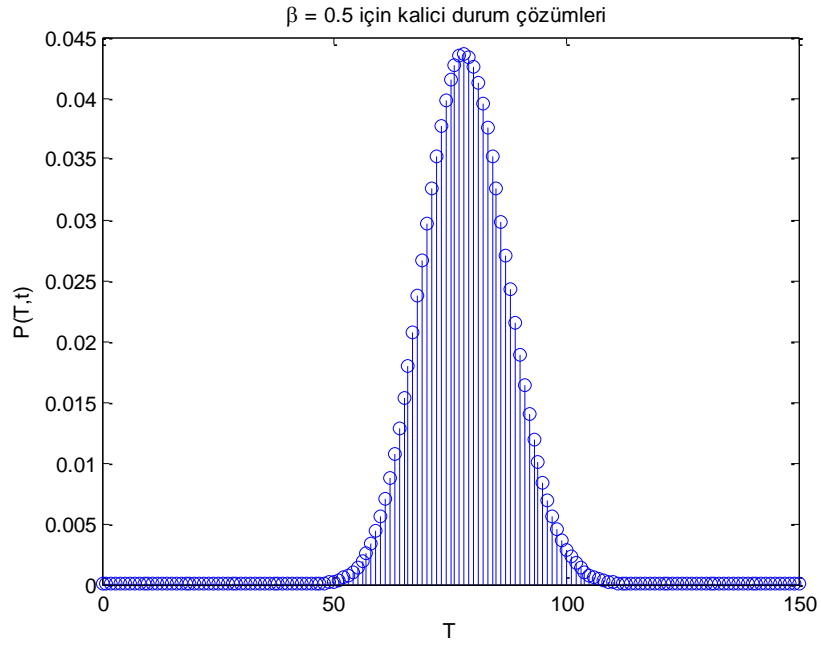
Basit doğum-ölüm işlemi ile verilen bir gen düzenleyici ağ modelinin kalıcı durum çözümlerini elde etmek için Lestas vd. (2008)'in çalışmasındaki model incelenmiştir. Model doğum ve ölüm olayları ile Şekil 20'deki gibi verilmiştir.



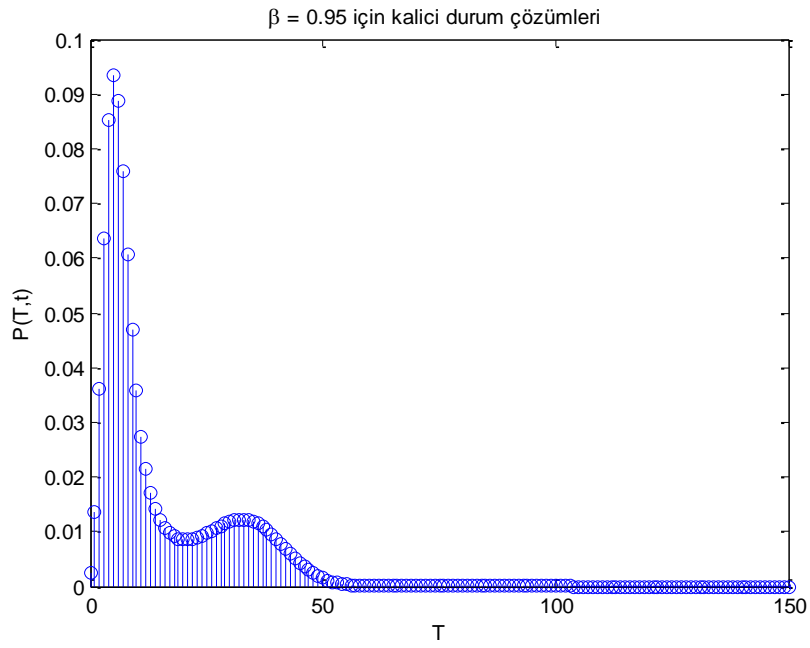
Şekil 20. Bir boyutlu doğum-ölüm işlemi içeren gen düzenleyici ağ modeli

$f(\cdot)$ fonksiyonu Hill katsayısı n olan, $f(x) = v(\alpha + kx^n)/(1 + kx^n)$ şeklinde tanımlı bir modifiye edilmiş Hill fonksiyonudur. Projede incelenen deterministik modelde yer alan mRNA üretim fonksiyonu $f_{M,T}(T)$ ile benzer formdadır. Çalışmada β 'nin $[0.5, 1.5]$ aralığındaki değerlerine göre farklı kalıcı durum çözümleri elde edildiği rapor edilmiştir. Model parametreleri $\alpha = 0.125$, $n = 3$, $k = 0.093750 \times 10^{-3}$ ve $v = 40$ olarak verilmiştir.

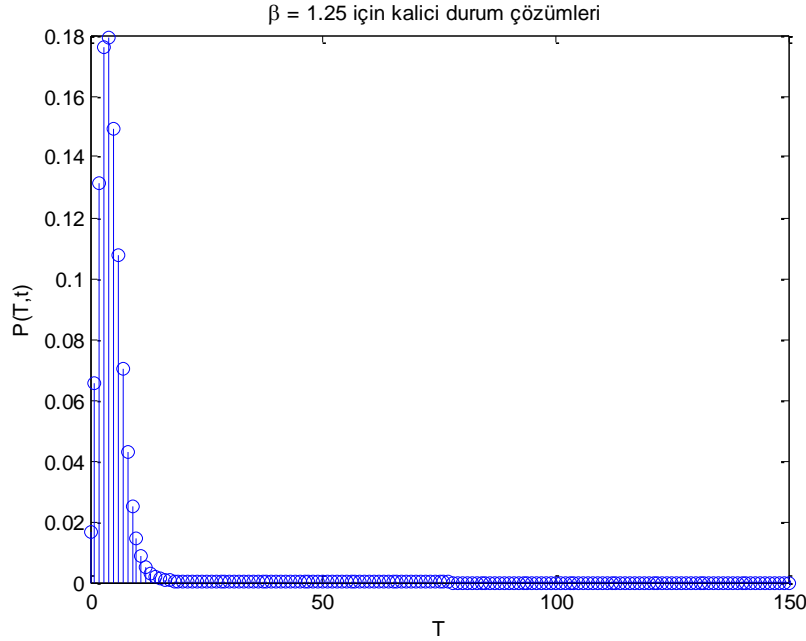
Bu model için farklı β değerleri ile hesaplanan kapalı form kalıcı durum çözümleri Şekil 21-23'de görülmektedir.



Şekil 21. $\beta = 0.5$ için elde edilen kapalı form kalıcı durum çözümleri



Şekil 22. $\beta = 0.95$ için elde edilen kapalı form kalıcı durum çözümleri

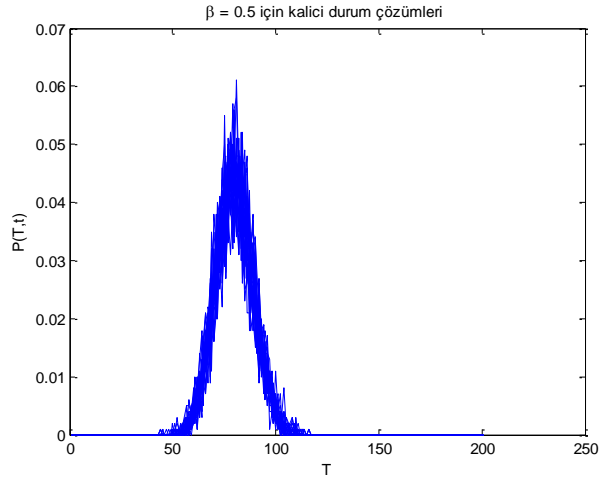


Şekil 23. $\beta = 1.25$ için elde edilen kapalı form kalıcı durum çözümleri

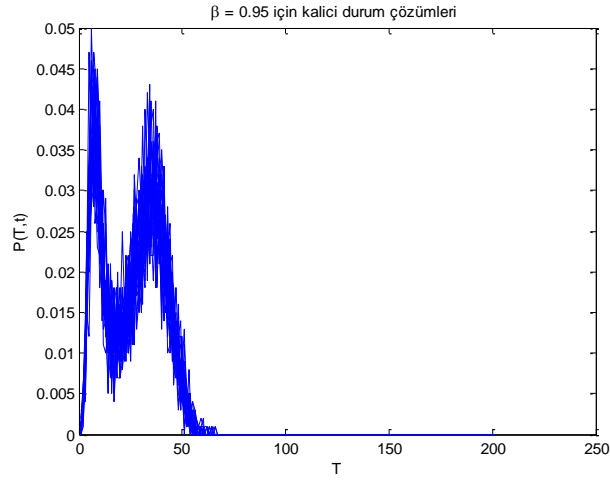
Şekil 21'de görüldüğü gibi düşük bir bozunma sabiti sistemin, genin uyararak kararlı durum çözümleri olan yüksek molekül seviyesindeki kararlı denge noktasına gitmesini sağlamaktadır. Şekil 22'de $\beta = 0.95$ olduğunda sistem çift-kararlı davranış göstermektedir. Kararlı durum çözümlerinde, farklı olasılıkla iki farklı denge noktasına karşılık gelen molekül sayıları elde edilmiştir. Çift-kararlı davranış için iki tepeli olasılık dağılım fonksiyonu görülmektedir. Şekil 23'de yüksek β (bozunma sabiti), genin uyarılmasını engellemiştir ve bu nedenle düşük molekül sayısı elde etme olasılığı yüksek kalıcı durum çözümlerine ulaşılmıştır. Lestas vd. (2008)'in ilgili çalışmasında da, $\beta = 0.5$ uyarılmış, $\beta = 0.95$ çift-kararlı ve $\beta = 1.25$ uyarılmamış davranış durumuna karşılık gelmektedir.

Bilimsel yazında uyarılmış ve uyarılmamış durumda kalıcı çözüm olasılık dağılımlarının tek tepeli, çift-kararlı davranış durumunda ise kalıcı çözüm olasılık dağılımlarının çift tepeli bir dağılım olduğu bilinmektedir. Yukarıdaki model için yapılan kapalı form kalıcı durum çözümleri bu bilgi ile tutarlılık göstermektedir.

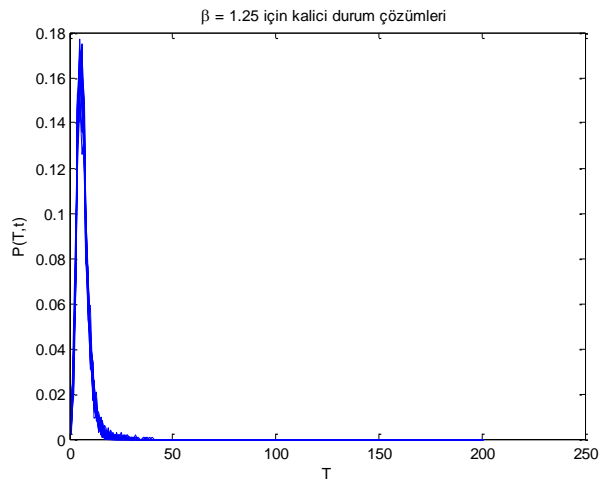
Gillespie algoritması kullanılarak daha önce kapalı form kararlı durum çözümleri incelenen Şekil 20'deki modelin aynı parametre değerleri için elde edilen simülasyon sonuçları Şekil 24-26'da verilmiştir.



Şekil 24. $\beta = 0.5$ için elde edilen Gillespie simülasyon sonuçları



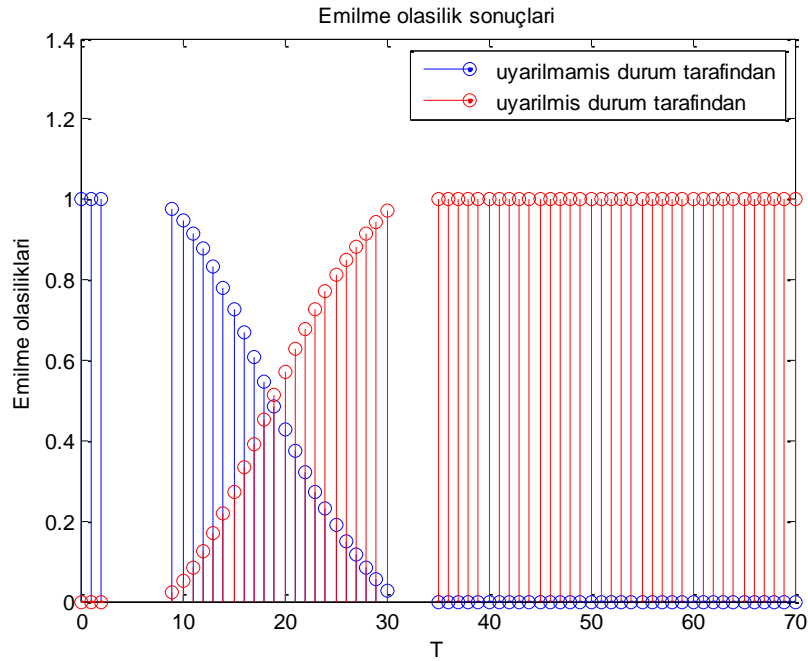
Şekil 25. $\beta = 0.95$ için elde edilen Gillespie simülasyon sonuçları



Şekil 26. $\beta = 1.25$ için elde edilen Gillespie simülasyon sonuçları

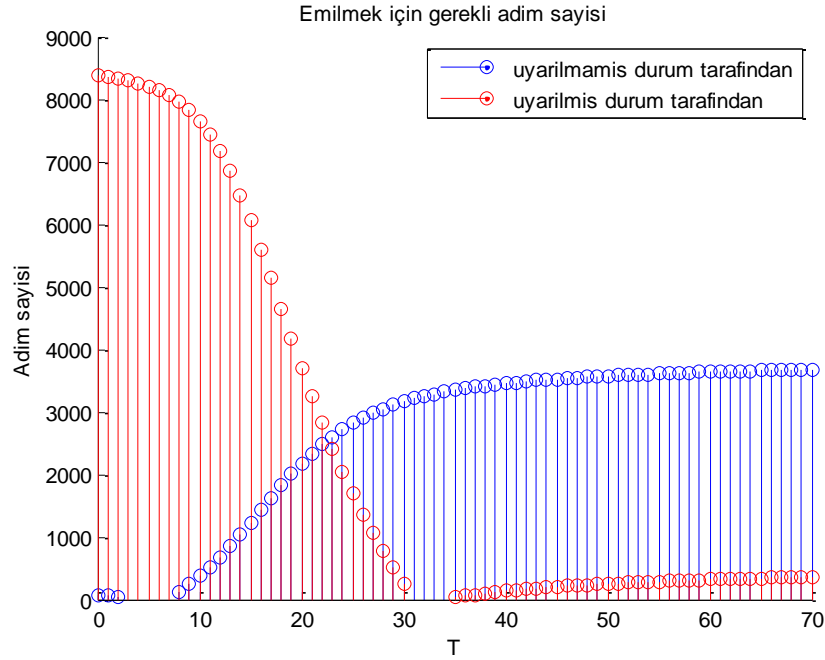
Stokastik simülasyon sonuçlarından elde edilen histogram eğrileri, daha önce elde edilen kapalı form kalıcı durum çözümleri ile benzerlik gösterir. Düşük bozunma sabiti, uyarılmış durumun gözlemlenmesine neden olurken yüksek bozunma sabiti, uyarılmamış durumun gözlemlenmesine neden olmaktadır. Uyarılmış ve uyarılmamış durum için bulunan çözümler tek tepeli dağılım şeklindedir. Çift-kararlı davranış sağlayan β parametre için histogram eğrisi önceki kapalı form kalıcı durum çözümleri gibi iki tepelidir.

Denklem (6.7)-(6.8) kullanarak Şekil 20'deki model için yapılan yutucu Markov model analiz sonuçları Şekil 27 ve Şekil 28'de verilmiştir.



Şekil 27. Emilme olasılık sonuçları

Şekil 27'de görüldüğü gibi bir molekül seviyesi için her iki yutucu durum tarafından yutulma olasılıklarının toplamı birdir. Düşük molekül seviyesini gösteren durumların uyarılmamış durum tarafından yutulma olasılıkları bir iken, yüksek molekül sayılarına denk gelen durumların uyarılmış durum tarafından yutulma olasılığı birdir.



Şekil 28. Emilme için gerekli adım sonuçları

Şekil 28'den görüldüğü gibi düşük molekül sayısını gösteren bir durumdan uyarılmış duruma geçmek için daha fazla adım gerekirken uyarılmamış duruma geçmek için daha az adım sayısı yeterli olmaktadır.

6.5 Stokastik lak operon modeli simulasyon sonuçları

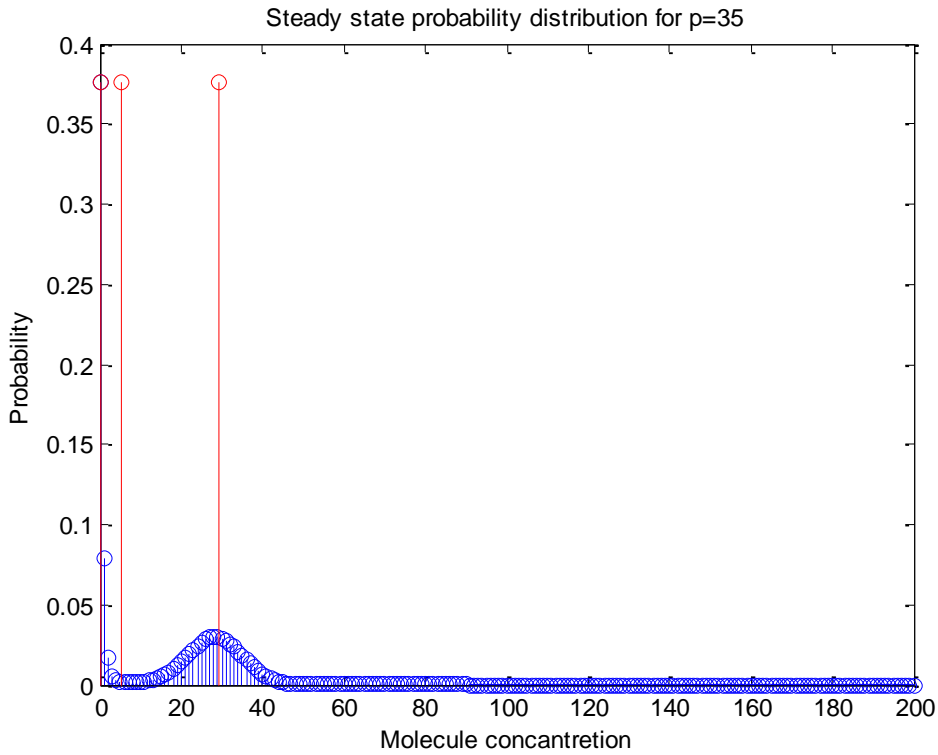
Bölüm 1'de verilen deterministik model (1.1)-(1.3), sanki kalıcı durum (quasi-steady state) varsayımı altında (mRNA ve permeaz konsantrasyonunun hızlı bir şekilde sabit bir konsantrasyon düzeyine ulaştığı kabul edilerek), M ve P durum değişkenleri sabit alınarak sadece TMG konsantrasyon değişimine bağlı denklem (6.9)'daki indirgenmiş (tek durum değişkenli) modele dönüştürülmüştür.

$$\frac{dT}{dt} = \gamma_T p \frac{1 + K_1 T^2}{K + K_1 T^2} - \gamma_T T \quad (6.9)$$

Burada, $p \triangleq \frac{\alpha_T}{\gamma_T} \frac{\alpha_P}{\gamma_P} \frac{\alpha_M}{\gamma_M} f_{T,T_e}(T_e) f_{T,G_e}(G_e) f_{M,G_e}(G_e)$ modeli basitleştirmek için daha önce (2.14)'de tanımlanmış p parametresidir. Kararlı durum çözümleri incelendiği için denklem (6.9)'un

her iki tarafı γ_T ile sadeleştirilmiştir. Bunun nedeni bozulma sabitinin geçici çözümleri ektilerken kalıcı çözüm üzerinde etkisinin olmamasıdır.

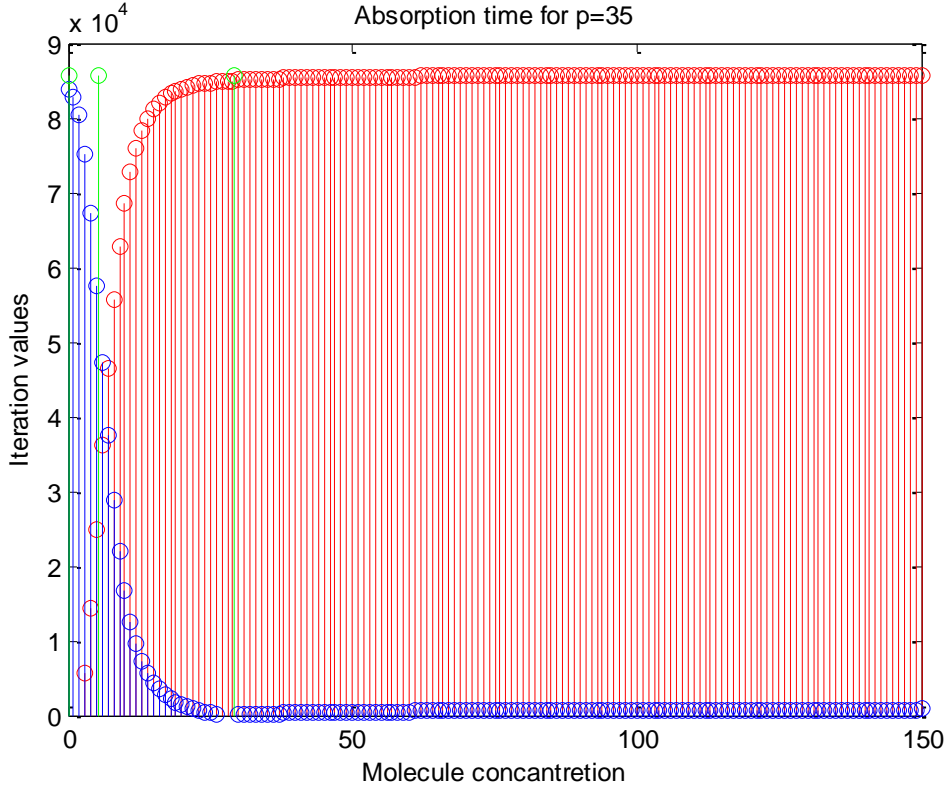
Stokastik modelin, $p = 35\mu M$, $K_1 = 1(\mu M)^{-2}$ ve $K = 167,1$ parametre değerleri için kapalı form kalıcı durum çözümleri ile elde edilen dağılım eğrisi Şekil 29'da verilmiştir. Durum değişkeni molar konsantrasyon cinsinden alındığında, ilgili parametre değerleri ile çift-kararlı davranış gösteren kalıcı durum olasılıkları elde edilmiştir. Grafikte kırmızı çizgiler, aynı parametre değerlerine sahip deternisistik modele ait denklem (2.16) kullanılarak hesaplanmış denge noktalarını göstermektedir.



Şekil 29. $p = 35\mu M$, $K_1 = 1(\mu M)^{-2}$ ve $K = 167,1$ parametre değerleri için kapalı form kalıcı durum çözümü

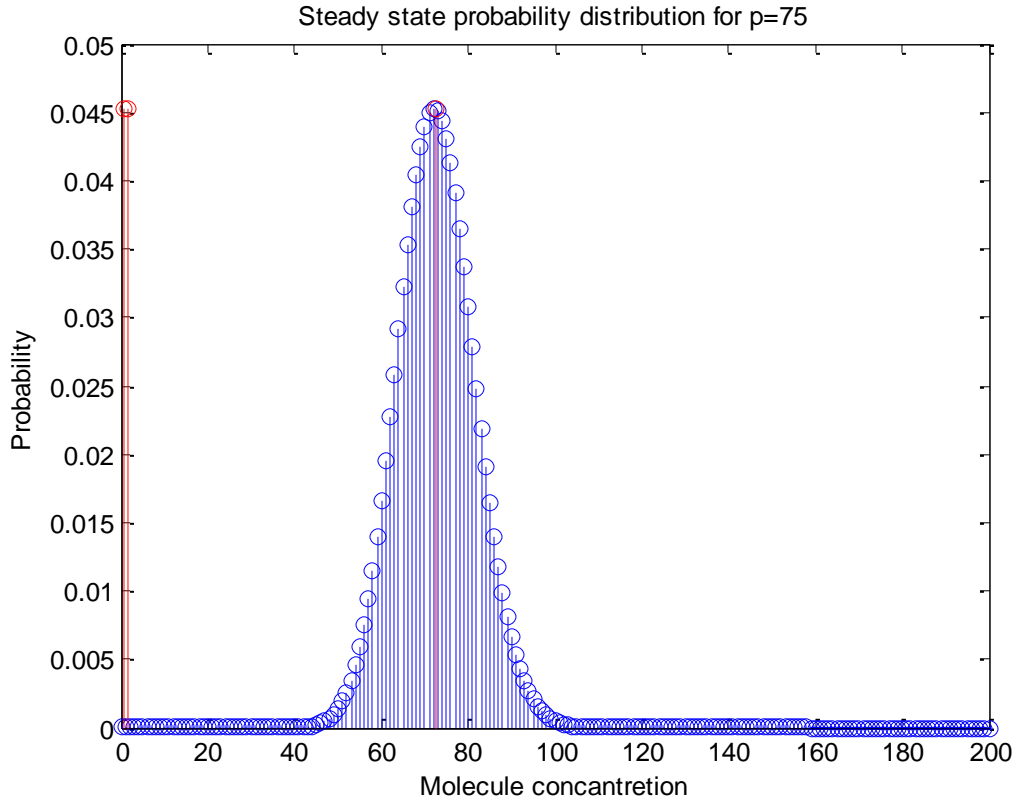
Aynı parametre değerleri ile yutulma adım sayısı grafiği Şekil 30'daki gibi elde edilmektedir. Şekilden düşük molar konsantrasyon seviyesinden başladığında uyarılmış duruma geçmek için çok daha fazla adım sayısı (onbinler mertebesinde) gerektiği, buna karşılık uyarılmamış duruma geçmek için çok küçük sayıda adım (yüzler mertebesinde) atmasının yeterli olduğu görülmektedir. Benzer durum yüksek molar konsantrasyondan başlanılan durum için

uyarılmamış duruma geçiş için büyük adım sayısı, uyarılmış duruma geçmek için küçük adım sayısı şeklinde gözlemlenebilir. Benzer olarak grafikte yeşil çizgiler, aynı parametre değerlerine sahip deterministik modele ait denklem (2.16) kullanılarak hesaplanmış denge noktalarını göstermektedir.

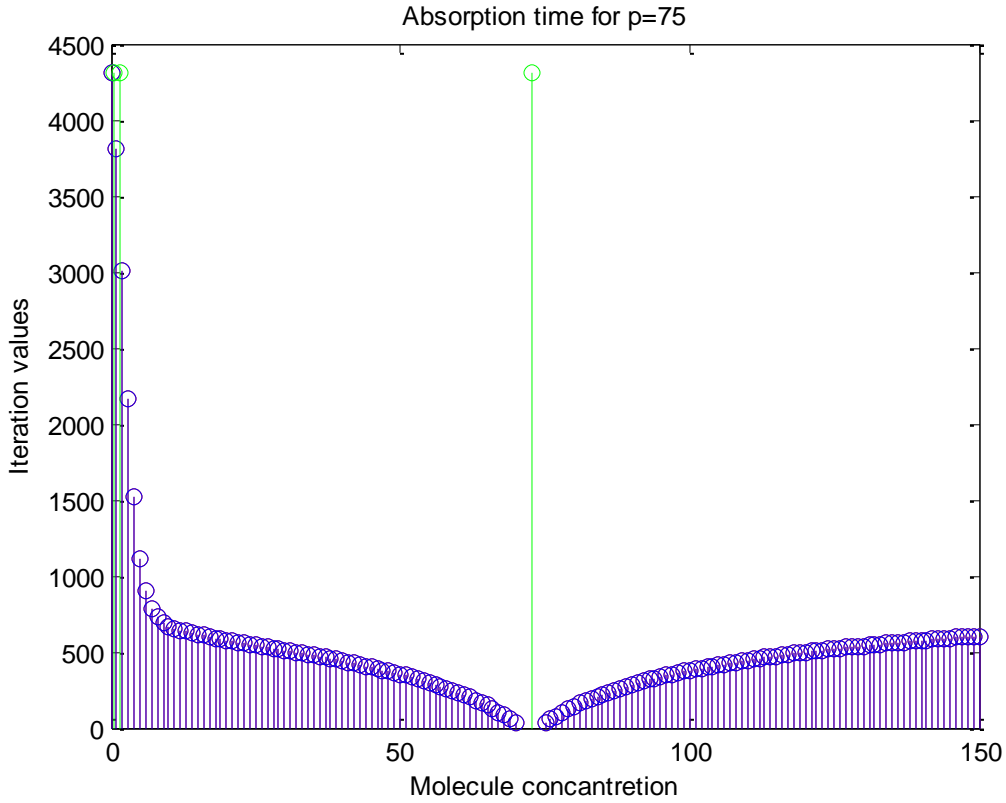


Şekil 30. $p = 35\mu M$, $K_1 = 1(\mu M)^{-2}$ ve $K = 167,1$ parametre değerleri için yutulma adım sayısı

Aynı simülasyonlar nominal parametre değerleri ($K_1 = 1(\mu M)^{-2}$ ve $K = 167,1$) ile $p = 75\mu M$ için yapıldığında Şekil 31'de kapalı form kararlı durum çözümlerini, yutulma adım sayısını için Şekil 32'deki garfiği vermektedir. Deneysel çalışmalarda çift-kararlı çalışma gösterdiği bilinen $p = 74.59\mu M$ değerine çok yakın bu p değeri için iki tepeli olasılık dağılı elde edilmezken, yutulma adım sayısına ait grafikten yüksek molar konsantrasyon değerleri için uyarılmamış duruma gitme adım sayısını uyarılmış duruma gitme sayısının yaklaşık 9 katı olduğu görülmektedir. Bu grafik denge noktalarının çekim bölgeleri hakkında bilgi verirken kalıcı durum çözümleri içeren Şekil 31'de benzer bir bilgi elde edilememesinin sebebi simülasyonların molar konsantrasyon değeri için yapılmasıdır.



Şekil 31. $p = 75\mu M$, $K_1 = 1(\mu M)^{-2}$ ve $K = 167,1$ parametre değerleri için yutulma adım sayısı



Şekil 32. $p = 75\mu M$, $K_1 = 1(\mu M)^{-2}$ ve $K = 167,1$ parametre değerleri için yutulma adım sayısı

Kalıcı durum çözümünün farklı sonuç vermesinin nedeni $p = 75\mu M$, $K_1 = 1(\mu M)^{-2}$ ve $K = 167,1$ parametre değerleri için modelin denge noktalarının $T_1 = 72.72\mu M$, $T_2 = 1.66\mu M$ ve $T_3 = 0.61\mu M$ olmasıdır. Bu durumda $T = 0\mu M$ ve $T = 72\mu M$ kararlı denge noktalarına karşılık gelmektedir. Kararsız denge noktasına ait çekim bölgesinde çözüm kümesine ait molar konsantrasyon değeri olmaması sanki bu değerlere karşılık gelen molekül sayılarının olmaması gibi yanlış bir durumu göstermektedir. Bu nedenle stokastik model simülasyonu için durum değişkeninin molekül tane sayısı alınmalıdır. Stokastik modelin parametrelerinin deterministik model ile uyumluluğu için aşağıdaki dönüşümler gerçekleştirilmiştir.

Tablo 2. Deterministik-stokastik model katsayılarının dönüşümü

$$\underbrace{f(T) = \underbrace{p}_{([p])} \frac{1 + \frac{([T]^{-2}) ([T]^2)}{K + \frac{(\widehat{K}_1)}{K_1} \widehat{T}^2}}{([T]^{-2}) ([T]^2)}}_{\text{Deterministik}} \xrightarrow{\text{Dönüşüm}} \underbrace{f^*(T^*) = \underbrace{p}_{([p].V.N)} \frac{1 + \frac{((([T].V.N)^{-2}) (([T].V.N)^2)}{K + \frac{(\widehat{K}_1)}{K_1} \widehat{T}^{*2}}}{((([T].V.N)^{-2}) (([T].V.N)^2)}}_{\text{Stokastik}}$$

$$\underbrace{g(T) = \frac{T}{[T]}}_{\text{Deterministik}} \xrightarrow{\text{Dönüşüm}} \underbrace{g^*(T^*) = \frac{T^*}{[T].V.N}}_{\text{Stokastik}}$$

Deterministik Model		Stokastik Model	
Parametre	Birimi	Parametre	Birimi
p	Molar konsantrasyon	$p^* = pNV$	Molekül tanesayısı
K	Birimsiz	$K^* = K$	Birimsiz
K_1	(Molar konsantrasyon) ⁻²	$K_1^* = \frac{K_1}{(VN)^2}$	(Molekül tane sayısı) ⁻²

Burada, ortalama *koli basili* hacminin m^3 cinsinden değeri V , $1 (\mu M)^3$ ve N avagadro sayısı 6.02×10^{23} olarak alınmıştır.

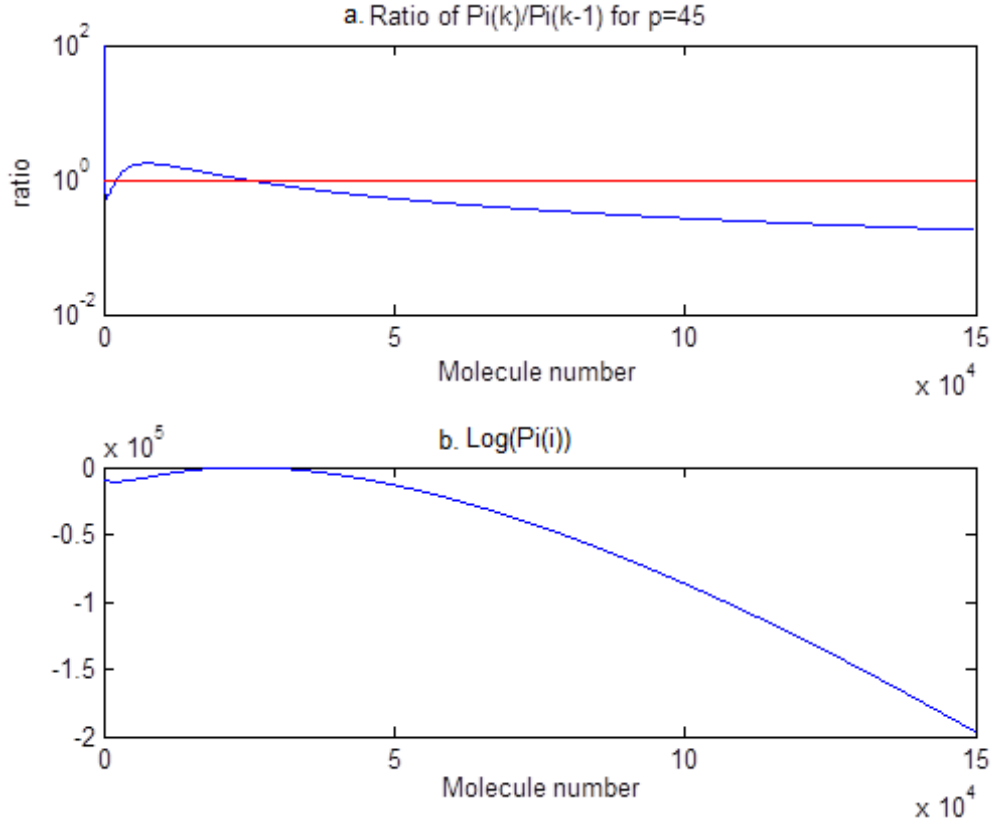
İlgili dönüşümler yapılarak TMG molekülünün tane sayısı için stokastik model çözümleri elde edilmiştir. Yapılan deneysel sonuçlara bağlı olarak TMG molekülü için anlamlı değer aralığının $150 \mu M$ 'a karşılık 90000 tane TMG molekülü $((150 \times 10^{-6})M \times (1 \times 10^{-6})^3 M \times (6.02 \times 10^{23}))$ alınmasına karar verilmiştir. Durum değişkeninin maksimum değeri $N = 90000$ olarak, dönüştürülmüş parametre değerleri ile çözüm yapıldığında, ilgili tane sayısına ait olasılık değerinin MATLAB ile hesaplanamayacak kadar küçük olduğu görülmüştür. Doğru analiz sonuçları için "BigNum" kütüphanesi eklenerek model çözümleri C++ ile hesaplanmıştır. Hesaplanan kararlı durum olasılık değerlerinden bazıları 10^{-324} mertesindeyken bazıları 10^{-2} mertebesindedir. Bütün tanım kümesine ait çözümleri gösteren daha anlaşılır bir grafik elde etmek için ardışıl kapalı form kalıcı durum çözümlerinin birbirine oranlarının logaritması çizilmiştir. Model için denge durum denklemleri yazıldığında bir durumdan çıkış ve girişlerin farkının denklem (6.10)'daki gibi sıfır olması gerekmektedir.

$$\pi_{i-1} \cdot f(i-1) - \pi_i \cdot g(i) = 0 \quad (6.10)$$

Ardışıl ili tane sayısına ait olasılık çözümlerinin oranı aşağıdaki gibi hesaplanır.

$$\frac{\pi_i}{\pi_{i-1}} = \frac{f(i-1)}{g(i)} \quad (6.11)$$

Stokastik modelde $p = 45\mu M$, $K_1 = 1(\mu M)^{-2}$ ve $K = 167,1$ parametre değerlerine göre tane sayısı için simülasyon yapıldığında Şekil 33'deki sonuçlar elde edilmiştir. Kalıcı durum olasılık çözümlerinin değerleri çok küçük olduğu için bu değerlerin logaritması Şekil 33.b'de verilmiştir. Grafikte çift-kararlı davranışa karşılık gelen iki tepeli dağılım görülmektedir. Parametre değerlerine bağlı olarak tepelerin genlikleri değişiklik gösterirken çift-kararlı davranışın görece daha rahat gözlemlendiği π_i/π_{i-1} oranını gösteren eğri Şekil 33.a'da çizilmiştir.

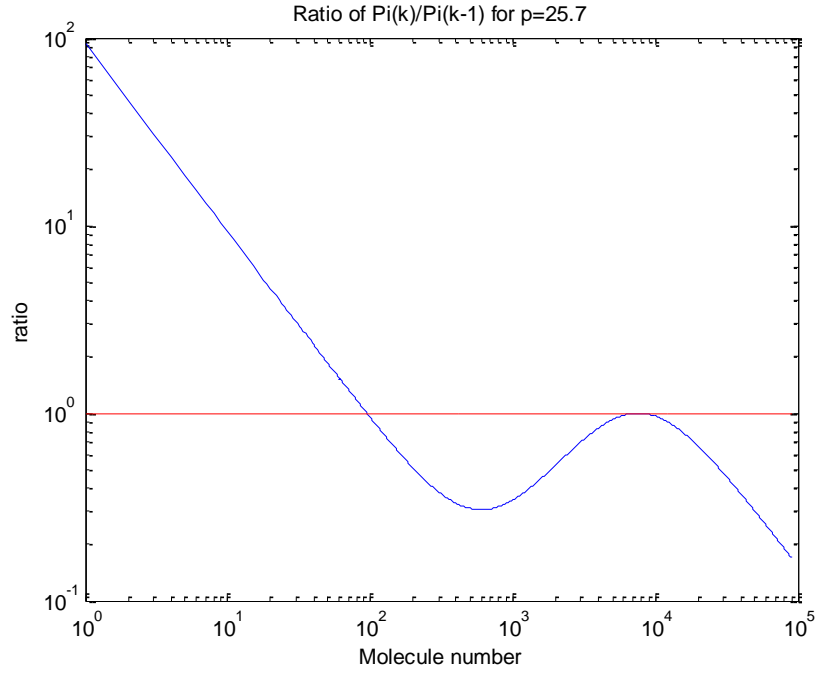


Şekil 33. Tane sayısı için $p = 45\mu M$, $K_1 = 1(\mu M)^{-2}$ ve $K = 167,1$ parametre değerleriyle elde edilen simülasyon sonuçları

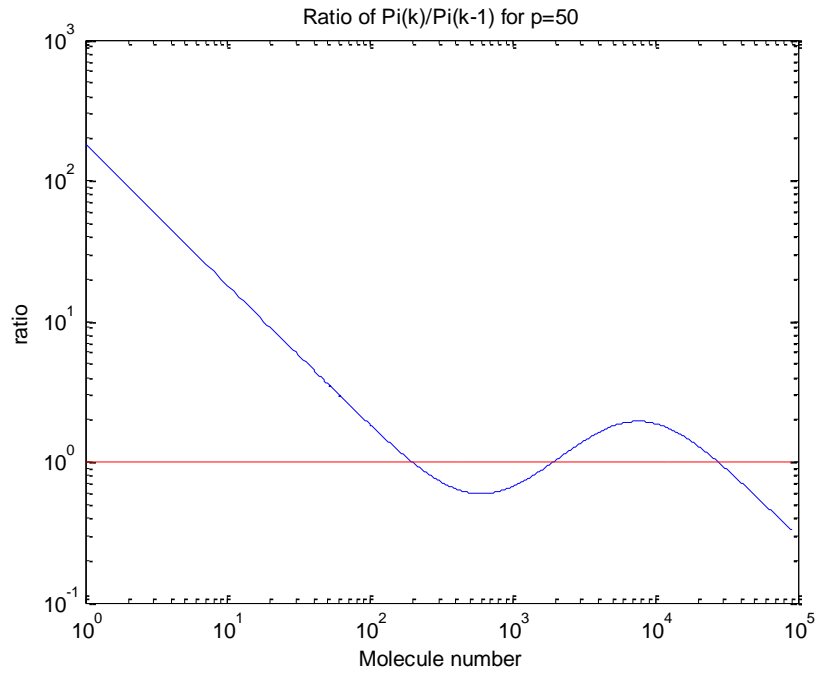
Şekil 33.a'da ardışıl iki çözümün oranının birden büyük veya küçük olmasına göre olasılık dağılımının şekli elde edilebilir. İki tepeli bir kararlı durum olasılık dağılımı için iki çözümün oranına ait eğrinin $x = 1$ doğrusunu üç defa kesmesi gerekir.

Buna göre p parametresi için nominal $K = 167.1$ ve $K_1 = 1(\mu M)^{-2}$ değerleri ile yapılan çözümlerden Şekil 34-36'dan görüldüğü gibi çift-kararlı davranış aralığı $p \in (25.7 \mu M, 84.1 \mu M)$

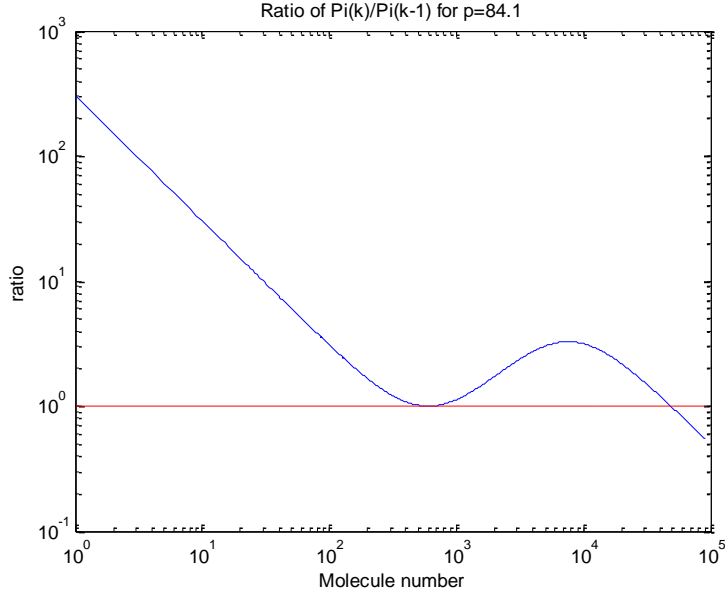
olarak hesaplanmıştır. p parametresi için çift-kararlı çalışma aralığı diskriminant yöntemiyle ve köklerin geometrik yerine dayalı yöntem ile aynı sonuçlar elde edilmiştir.



Şekil 34. Tane sayısı için $p = 25.7\mu M$, $K_1 = 1(\mu M)^{-2}$ ve $K = 167,1$ parametre değerleriyle elde edilen simülasyon sonuçları

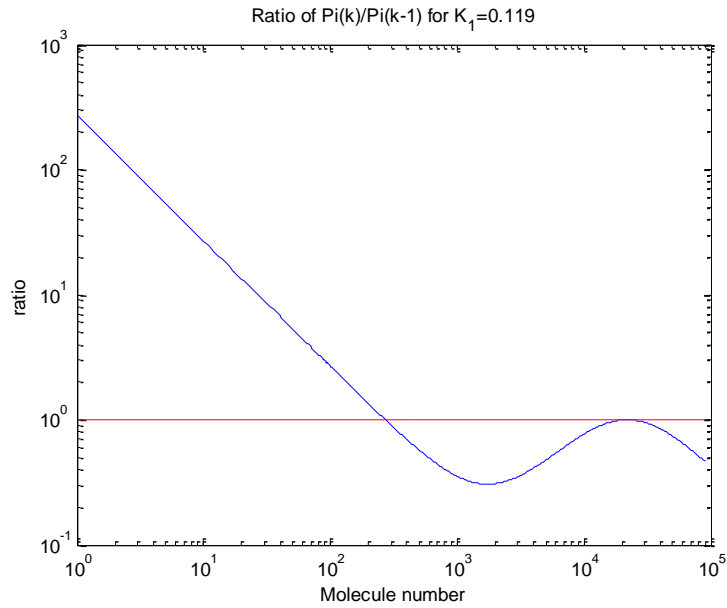


Şekil 35. Tane sayısı için $p = 50\mu M$, $K_1 = 1(\mu M)^{-2}$ ve $K = 167,1$ parametre değerleriyle elde edilen simülasyon sonuçları

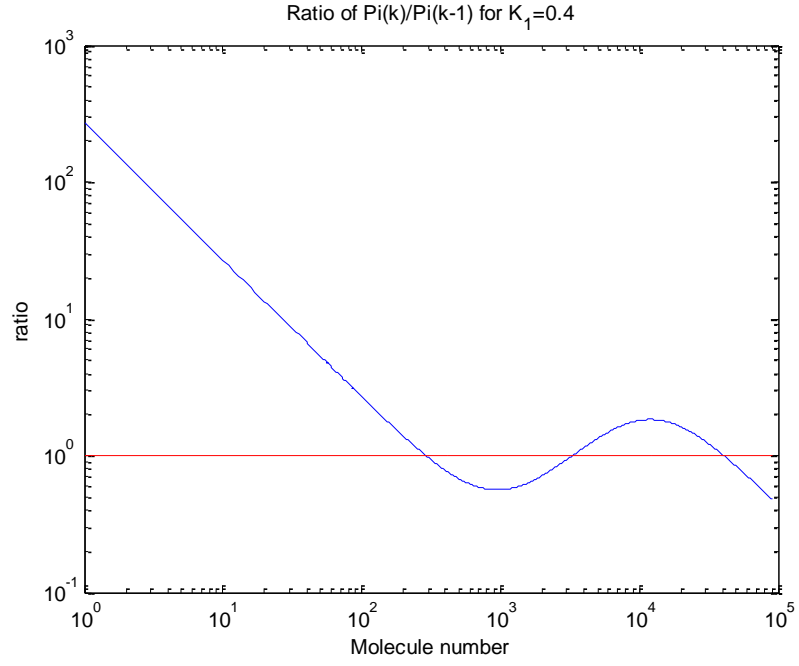


Şekil 36. Tane sayısı için $p = 84.1\mu M$, $K_1 = 1(\mu M)^{-2}$ ve $K = 167,1$ parametre değerleriyle elde edilen simülasyon sonuçları

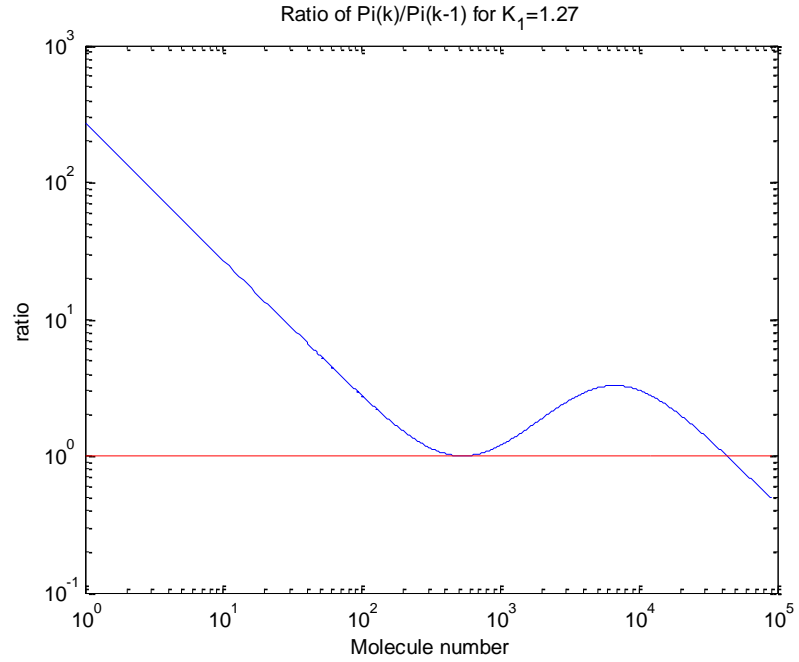
Benzer analizler $p = 74.59\mu M$ ve $K = 167,1$ nominal parametre değerleri sabit tutularak farklı K_1 değerleri için tekrarlandığında Şekil 37-39'daki grafikler elde edilmiştir. Stokastik modele ait çözümlerle, diğer iki yöntemle de bulunan çift-kararlı çalışma aralığı $K_1 \in (0.119 (\mu M)^{-2}, 1.27 (\mu M)^{-2})$ hesaplanmıştır.



Şekil 37. Tane sayısı için $K_1 = 0,119(\mu M)^{-2}$, $p = 74.59\mu M$, ve $K = 167,1$ parametre değerleriyle elde edilen simülasyon sonuçları

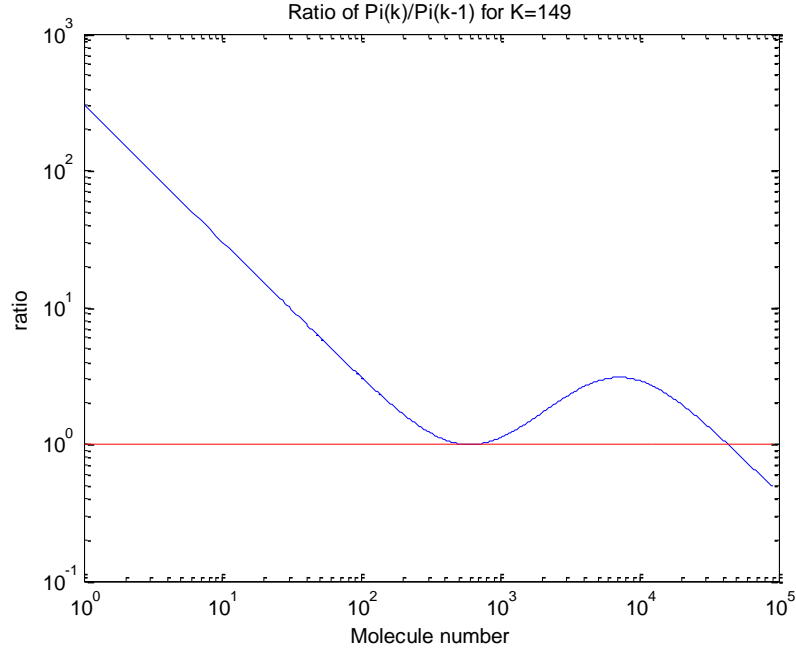


Şekil 38. Tane sayısı için $K_1 = 0,4(\mu M)^{-2}$, $p = 74.59\mu M$, ve $K = 167,1$ parametre değerleriyle elde edilen simülasyon sonuçları

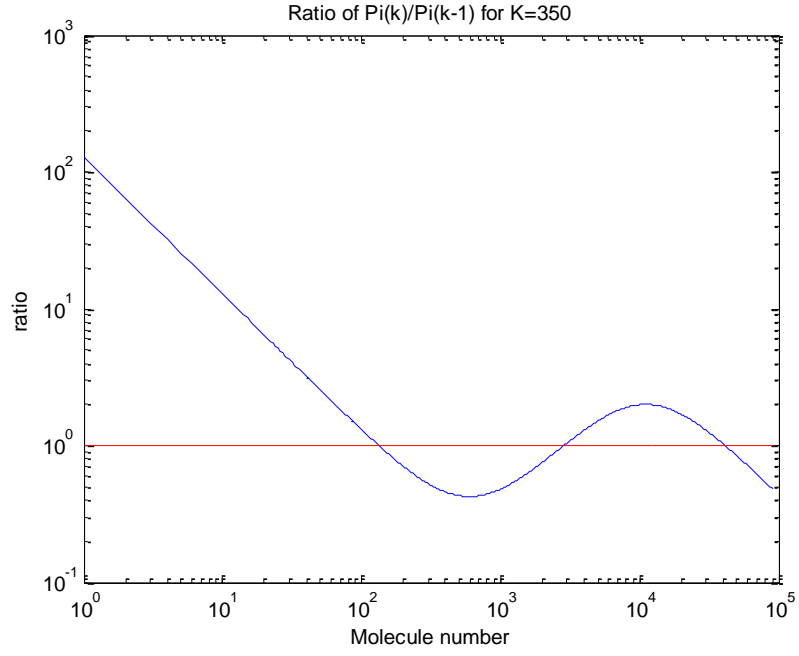


Şekil 39. Tane sayısı için $K_1 = 1,27(\mu M)^{-2}$, $p = 74.59\mu M$, ve $K = 167,1$ parametre değerleriyle elde edilen simülasyon sonuçları

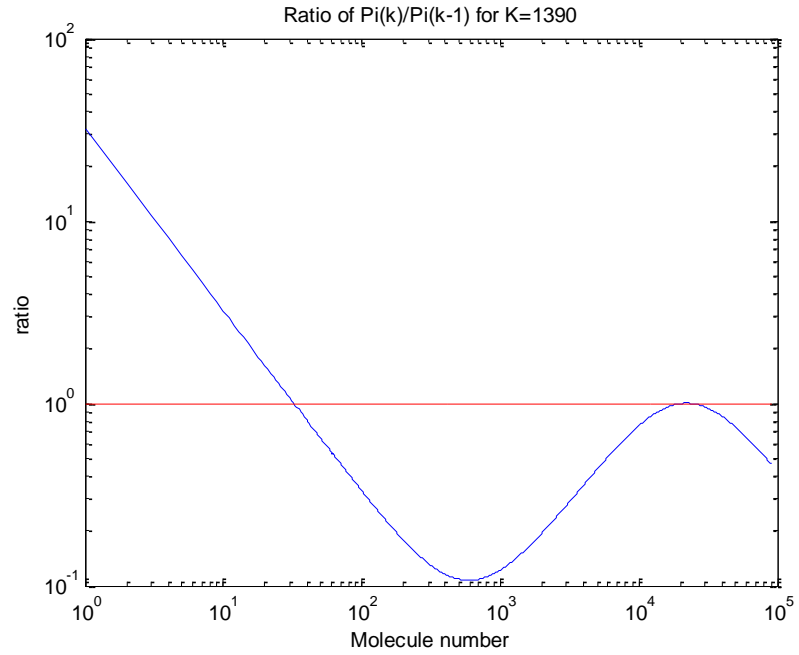
Stokastik modelde, K parametresi için $p = 74.59\mu M$ ve $K_1 = 1(\mu M)^{-2}$ sabit alınarak yapılan analiz sonuçlarına Şekil 40-42'de yer verilmiştir. Diğer parametre değerleri gibi K parametresine ait çift-kararlı çalışma aralığı diskriminant ve köklerin geometrik yeri yöntemleriyle tutarlı sonuçlar vermiştir. Şekillerden görüldüğü gibi K parametresi için çift-kararlı çalışma aralığı $K \in (148, 1390)$ 'dir.



Şekil 40. Tane sayısı için $K = 149$, $K_1 = 1(\mu M)^{-2}$ ve $p = 74.59\mu M$ parametre değerleriyle elde edilen simülasyon sonuçları



Şekil 41. Tane sayısı için $K = 350$, $K_1 = 1(\mu M)^{-2}$ ve $p = 74.59\mu M$ parametre değerleriyle elde edilen simülasyon sonuçları



Şekil 42. Tane sayısı için $K = 1390$, $K_1 = 1(\mu M)^{-2}$ ve $p = 74.59\mu M$ parametre değerleriyle elde edilen simülasyon sonuçları

Stokastik model ile yapılan çalışmalardan modelin durum değişkeninin molar konsantrasyonu cinsinden yapılan çözümlerin yeterli çözünürlükte olmadığı görülmüştür. Durum değişkeninin tanım kümesi tane sayısı olarak genişletildiğinde, tane sayısı için yapılacak analizlere uygun olarak yapılan parametre dönüşümü ile deterministik denklem ile uyumlu sonuçlar elde edilmiştir.

7. KONTROL PROBLEMLERİNİN TANIMLANMASI

Denklem (1.1)-(1.3) ile tanımlı deterministik lak operon modelinin bir optimal kontrol formülasyonu aşağıda tanımlanmıştır.

$$(m) \begin{cases} \text{Min } J(\vec{x}(\cdot), \vec{u}(\cdot), tf) := \int_0^{tf} f^o(t, \vec{x}(t), \vec{u}(t)) dt \\ \text{Şöyle ki} \\ \text{(EE)} \quad \frac{d\vec{x}(t)}{dt} = F(\vec{x}(t), \vec{u}(t)) \\ \text{(IC)} \quad \vec{x}(0) = \vec{\eta} \text{ (biliniyor)} \\ \text{(FC)} \quad g(tf, \vec{x}(tf)) = 0 \end{cases}$$

Burada, $J(\vec{x}(\cdot), \vec{u}(\cdot), tf)$ minimize edilecek başarımlı indeksini, (EE), (IC) ve (FC) sırasıyla (1.1)-(1.3) ile tanımlı deterministik lak operon modelinin durum denklemlerini, durum değişkenlerinin başlangıç ve son değer koşullarını veren kısıtları göstermektedir. $\vec{x} = (M, P, T) \in \mathbb{R}^3$ durum değişkeni vektörüdür. $\vec{u} = (T_e, G_e) \in \mathbb{R}^2$ kontrol değişkeni vektörüdür.

Tanımlanan optimal kontrol problemi,

$f^o(t, \vec{x}, \vec{u}) = f^o(t, M, P, T, T_e, G_e) := \frac{1}{2}T_e^2$ ile bir minimum yakıt problemi olarak ele alınmıştır. (1.1)-(1.3) modelinin durum denklemlerinin sağ yanı aşağıdaki biçimde tanımlıdır.

$$F = (F_1, F_2, F_3): \mathbb{R}^3 \times \mathbb{R}^2 \rightarrow \mathbb{R}^3$$

$$\begin{aligned} F_1(M, P, T, T_e, G_e) &:= \alpha_M f_{M,T}(T) f_{M,G_e}(G_e) - \tilde{\gamma}_M M \\ &= \alpha_M \frac{1 + K_1 T^2}{K + K_1 T^2} \left[\frac{\alpha}{1 + (G_e/8.1)^2} + (100 - \alpha) \right] \end{aligned} \quad (7.1)$$

$$F_2(M, P, T, T_e, G_e) := \alpha_P M - \tilde{\gamma}_P P \quad (7.2)$$

$$F_3(M, P, T, T_e, G_e) := \alpha_T f_{T,T_e}(T_e) f_{T,G_e}(G_e) P - \tilde{\gamma}_T T = \alpha_T \beta_3 T_e^{0.6} (\beta_1 - \beta_2 s(G_e - \tau)) P - \tilde{\gamma}_T T \quad (7.3)$$

Yukarıda, $f_{M,T}(T) := \frac{1+K_1 T^2}{K+K_1 T^2}$ (modifiye edilmiş Hill fonksiyonu) ve $f_{M,G_e}(G_e) = \frac{\alpha}{1+(G_e/8.1)^2} +$

$(100 - \alpha)$ şeklinde seçilmiştir. $s(r) := \begin{cases} 0, & \text{eğer } r < 0 \\ 1, & \text{eğer } r > 0 \end{cases}$ olmak üzere $f_{T,G_e}(G_e) := \beta_1 - \beta_2 s(G_e - \tau)$

ve $f_{T,T_e}(T_e) := \beta_3 T_e^{0.6}$ biçimindedir.

Son değer kısıtı γ sabit olduğunda aşağıdaki biçimde alınmıştır.

$$g(t_f, M(t_f), P(t_f), T(t_f)) := T(t_f) - \gamma \quad (7.4)$$

Tanımlanan (m) problemi ikinci Lagrange problemi sınıfına aittir. Problemin çözüümüyle ilgili (m) problemi için Hamiltonyen yazılarak Hamiltonyen cinsinden gerek koşullar türetilmiş ve problemin çözüümü ileride gerçekleştirilecek araştırmalara bırakılmıştır.

8. SONUÇLAR

Proje önerisinde, hücre içi ağların, özelde gen düzenleyici ağların, 1) modellenmesi, 2) analizi ve 3) kontrolü üzerine 3 iş paketi öngörülmüştür. Modelleme iş paketinin 0-24 ay, analiz iş paketinin 3-24 ay ve kontrol iş paketinin 6-24 ay tarihleri arasında gerçekleştirilmesi tasarlanmıştır.

Proje, bu iş paketleri çerçevesinde yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar aşağıdaki gibi özetlenebilir:

- Karbon metabolizmasında görev yapan özel bir gen düzenleyici ağ olan Lak Operonun enzim kinetiğine bağlı olarak elde edilen matematiksel modeli incelenmiştir. Modelin enzim kinetiğine dayalı olarak üretiminde, Michealis-Menten ve Hill yaklaşımları kullanılması sonucu rasyonel sağ yanlı sıradan diferansiyel denklemler elde edilmiştir.

- Temel olarak, lak operon için ortaya konan rasyonel sağ yanlı sıradan diferansiyel denklem modelinin çözümlerinin sınırlılığının, modelin denge noktalarının Liapunov anlamında yerel asimptotik kararlılığının ve lak operonun bilimsel yazında deneysel ve kuramsal olarak gözlemlenen çift-kararlı çalışma kipinin ortaya çıkmasına neden olan çoklu-denge noktalarının varlığının model parametrelerine bağlı olarak incelenmesi gerçekleştirilmiştir.

- Modelin durum değişkenlerinin sınırlılığı ile yerel kararlılığı üzerine çalışmalar ve polinomsal denklemler için sembolik olarak yazılabilen diskriminantaya dayalı olarak polinomsal denge denklemlerinin kökleri olan denge noktalarının sayısının parametre değerlerine bağlı olarak incelenmesini içeren çalışmalar bir bildiri olarak hazırlanmış ve 29 Kasım – 1 Aralık 2012 tarihlerinde gerçekleştirilen ELECO2012 konferansında sunulmuştur. Bu çalışmanın daha kapsamlı hali, SCI-Exp kapsamında bir dergi olan Turkish Journal of Electrical Engineering & Computer Sciences dergisinde yayımlanmak üzere kabul edilmiştir.

- Diskriminant kullanımına dayalı çalışma, transasetilaz etkisinin göz önüne alınmadığı ve uyarıcı olarak yapay bir uyarıcı olan TMG ile uyarılan Lak operon modelinin çift-kararlı çalışma davranışının parametre belirsizliği altında incelenmesini sağlamıştır.

- Deterministik lak operon modelinin çift-kararlı davranış gösterdiği parametre değer aralıklarını belirlemek üzere, Projenin özgün bir çıktısı olarak geliştirilen, köklerin geometrik yerine dayalı analiz yöntemini geliştirilmiştir.

- Köklerin geometrik yeri ile belirlenen çift-kararlılık parametre bölgeleri, Projenin ilk 6 aylık çalışma döneminde geliştirilen diskriminanta dayalı çift kararlılık analiz yöntemiyle elde edilen sonuçlarla karşılaştırılmış ve sonuçların beklendiği üzere çakıştığı görülerek yöntemlerin bir tür doğrulaması yapılmıştır. Köklerin geometrik yerine dayalı çift-kararlılık analizi üzerine bu çalışma tamamlanmış, sonuçların bir dergi makalesi olarak yayına dönüştürülerek SCI-Exp kapsamında olan "IEEE Transactions on Systems, Man and Cybernetics: Systems" dergisine değerlendirme için gönderilmiştir. Makalenin hakem değerlendirmesi devam etmektedir.

- Deterministik modelin çift-kararlı çalışma koşullarını parametre uzayında incelemek için geliştirilen diskriminanta dayalı ve köklerin geometrik yerine dayalı çift-kararlılık analiz yöntemlerinin sonuçları bilimsel yazındaki deneysel ve teorik çalışmaların sonuçlarıyla karşılaştırılmış ve bu analiz yöntemleriyle elde edilen sonuçların varolan sonuçlarla uyumlu olduğu görülmüştür.

- Proje araştırmacılarından Dr. Neslihan AVCU, Dokuz Eylül Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Elektrik-Elektronik Mühendisliği Programı'nda Projenin Türk tarafı yürütücüsü Dr. Cüneyt GÜZELİŞ danışmanlığında "Analysis of Bistability Behaviour of Lac Operon by Using Systems Theory" başlıklı doktora tezini 21 Şubat 2013 tarihinde başarı ile tamamlamıştır. Tezin Proje ile ara kesitini oluşturan deterministik lak operon modelinin çift-kararlılık analizi üzerine sonuçlar proje sonuç raporunda özetlenmiştir.

- Üç durum değişkeni içeren deterministik lak operon modelinin (*mRNA* ve permeaz konsantrasyonlarının hızlı denge durumuna geçtiği kabul edilerek sanki kalıcı durumda elde edilen) tek değişkenli (TMG) indirgenmiş biçiminin stokastik karşılığının, Kimyasal Master Denklemi (KMD) biçiminde elde edilmiştir. Bu amaçla, deterministik modelden stokastik modele geçiş için, kimyasal tepkimelerin stokastik tanımları kullanılarak KMD'lerin oluşturulması üzerine bilimsel yazında yer alan çalışmalar gözden geçirilmiştir. Stokastik lak operon modeli, TMG

molekül sayısının belirli bir değerde olma olasılığının zamanla değişimini veren KMD yazılarak, elde edilmiştir.

- Molekül sayısının az olduğu durumda deterministik yaklaşım yerine stokastik yaklaşımın kullanılmasının, parametre belirsizliğini, gürültüyü ve çift-kararlı çalışma kipi gibi lak operonun belirli davranış özelliklerini daha iyi modelleyip modelleyemeyeceğinin incelenmesi amaçlanmıştır. Kimyasal tepkimeler, stokastik olarak “Kimyasal Master Denklemi” ile tanımlanabilmektedir. Molekül sayısı artıka kapalı form kararlı durum çözümü için işlem yükü çok artmaktadır. Kapalı form kararlı durum çözümlerine alternatif oluşturmak için bilimsel yazında yer alan basit bir stokastik model örneğinde “Kimyasal Master Denklemi”, bir tür dinamik Monte Carlo yöntemi olan Gillespie algoritması ile çözülmüştür.

- Algoritmaların karşılaştırılması amacıyla, test örneği olarak basit bir ölüm-doğum olayı içeren KMD formunda stokastik bir model ele alınmıştır. Test örneğinin simülasyonu için, bilimsel yazında yer alan Gillespie algoritması ile olasılıkların zamanla değişimi ve KMD'lerin kalıcı durum denklemlerinin kapalı form çözümlerinden yararlanarak da kalıcı durum olasılıkları elde edilmiştir.

- Stokastik model için hazırlanan algoritma ve yöntemler ile parametreler için çift-kararlı çalışma aralıkları hesaplanmıştır. Stokastik model ile elde edilen çift-kararlı çalışma aralıklarının deterministik model ile elde edilen parametre aralıklarıyla aynı olduğu gözlemlenmiştir. Bu tutarlılığın sebebi, durum değişkeni olan TMG'nin hücre iç dışından hücre içine taşınması ve hücredeki miktarının oldukça fazla olmasıdır. Benzer sonuç bilimsel yazında da yer almaktadır.

- Ayrıca bilinen olasılık yöntemleri analize eklenerek stokastik modelin analizi ile ilgili kararlı denge noktası tarafından yutulma olasılığı, kaç adım sonra kararlı denge noktasına varacağı ek bilgiler elde edilmiştir. Bu bilgiler ışığında yapılan deneysel sonuçlarda dış ortamdaki glikoz (G_e) ve TMG (T_e) konsantrasyonuna bağlı olarak hücrenin uyarılmış veya uyarılmamış duruma geçiş olasılığı ve süresi hesaplanabilir.

- Son olarak Projede ele alınan TMG uyarımlı deterministik lak operon modeli için ilk değer ve son değerin bilindiği, minimum yakıt başarı indeksli bir optimal kontrol problemi tanımlanmıştır. Optimal kontrol probleminin çözümü gelecek çalışmalarda gerçekleştirilecektir.

KAYNAKLAR

Avcu, N., Demir, G. K., Pekergin, F., Alyürük, H., Çavaş, L. ve Güzeliş, C. 2012. "TMG uyarımlı bir lak operon modeli için sınırlılık ve yerel kararlılık analizi." Eleco2012 Elektrik-Elektronik ve Bilgisayar Mühendisliği Sempozyumu, 420-425.

Avcu, N., Demir, G. K., Pekergin, F., Alyürük, H., Çavaş, L. ve Güzeliş, C. 2013. "Discriminant based bistability analysis of a TMG induced lac operon model supported with boundedness and local stability results", Turkish Journal of Electrical Engineering & Computer Sciences, 1-11, DOI: 10.3906/elk-1305-264.

Avcu, N., Demir, G. K., Pekergin, F., Alyürük, H., Çavaş, L. ve Güzeliş, C. 2014. "Determining Bistability Parameter Ranges of Artificially Induced Lac Operon by Root Locus Method", IEEE Transactions on Systems, Man and Cybernetics: Systems, in review process.

Jacob, F., Perrin, D., Sanchez, C. ve Monod, J. 1960. "L'operon: groupe de ge`ne a` expression par un operateur," C R Acad Sci., 250, 1727–1729.

Julius, A., Halasz, A., Sakar, S., Harvey, R., ve Pappas G.J. 2008. "Stochastic Modeling and Control of Biological Systems: The Lactose Regulation System of E.coli", IEEE Trans Auto. Cont. 51-65.

Lestas, I., Paulsson, J., Ross, N. E. ve Vinnicombe, G. 2008. "Noise in gene regulatory networks", IEEE Trans. Automatic Control, 53, pp. 189-200.

Novick, A. ve Wiener M. 1957. "Enzyme induction as an all-or-none Phenomenon", Proc. Natl. Acad. Sci., 43, 553-566.

Oehler, S., Alberti, S. ve Müller-Hill, B. 2006. "Induction of the lac promoter in the absence of DNA loops and the stoichiometry of induction", Nucleic Acids Res., 34 (2), 606–612.

Özbudak, M., Thattai, M., Lim, H. N., Shraiman, B. I. ve Van Oudenaarden, A. 2004. "Multistability in the lactose utilization network of Escherichia coli", Nature, 427, 737-740.

Stamatakis, M. ve Mantzaris, N. V. 2009. "Comparison of deterministic and stochastic models of the lac operon genetic network", *Biophys. J.*, 96, 887–906.

van Hoek, M. J. ve Hogeweg, P. 2006. "In silico evolved lac operons exhibit bistability for artificial inducers, but not for lactose", *Biophys. J.*, 91, 2833-2843.

Vidyasagar, M. 1972. *Nonlinear System Analysis*, New Jersey, Prentice Hall.

Wolf, V., Goel, R., Mateescu, M. ve Henzinger, T. A. 2010. "Solving the chemical master equation using sliding windows", *BMC Systems Biology*, DOI: 10.1186/1752-0509-4-42.

Wong, P., Gladney, S. ve Keasling J. D. 1997. "Mathematical model of the lac operon: inducer exclusion, catabolite repression, and diauxic growth on glucose and lactose", *Biotechnol. Prog.*, 13, 132-143.

Yagil, G. ve Yagil. E. 1971. "On the relation between effector concentration and the rate of induced enzyme synthesis", *Biophys. J.*, 11, 11-27.

Yıldırım, N., Santillan, M., Horike, D. ve Mackey, M. C. 2004. "Dynamics and bistability in a reduced model of the lac operon", *Chaos*, 4(2), 279-92.

TÜBİTAK
PROJE ÖZET BİLGİ FORMU

Proje Yürütücüsü:	Prof. Dr. CÜNEYT GÜZELİŞ
Proje No:	111E082
Proje Başlığı:	Parametre Belirsizliği Altında Hücre İçi Ağların Modellenmesi, Analizi ve Optimal Kontrolü
Proje Türü:	Uluslararası
Proje Süresi:	24
Araştırmacılar:	GÜLESER KALAYCI DEMİR, LEVENT ÇAVAŞ
Danışmanlar:	
Projenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi:	İZMİR EKONOMİ Ü.
Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri:	15/05/2012 - 15/05/2014
Onaylanan Bütçe:	23040.0
Harcanan Bütçe:	15340.56
Öz:	<p>Bu proje , lak operonun çift-kararlı davranışının model parametrelerine bağlı olarak incelenmesine ilişkin özgün kuramsal ve sayısal analiz sonuçları sunmaktadır. Çalışmada, biri deterministik diğeri stokastik iki farklı model analiz edilmiştir. Deterministik model için parametre uzayındaki-çift kararlı çalışma bölgeleri, yeni ortaya konan diskriminant ve köklerin geometrik yerine dayalı yöntemler ile tam olarak belirlenmiştir. Stokastik model için ise kapalı form kararlı durum çözümleri kullanılarak parametre uzayındaki çift-kararlı çalışma bölgeleri hesaplanmıştır. Geliştirilen yöntemler, sadece lak operon modellerinin çift kararlı çalışmasını garanti eden parametre değerlerini tanılamada değil, en azından bu gen düzenleyici ağ için parametre belirsizliği altında model analizi problemine çözüm getirir.</p>
Anahtar Kelimeler:	Lak operon, çift-kararlılık, köklerin geometrik yeri, diskriminant, gen düzenleyici ağlar, TMG
Fikri Ürün Bildirim Formu Sunuldu Mu?:	Hayır
Projeden Yapılan Yayınlar:	1- TMG Uyarımlı Bir Lak Operon Modeli için Sınırlılık ve Yerel Kararlılık Analizi (Bildiri), 2- TMG Uyarımlı Bir Lak Operon Modeli için Sınırlılık ve Yerel Kararlılık Analizi (Bildiri)