

### § 7.6. КИНЕТИКА СЛОЖНЫХ ФЕРМЕНТАТИВНЫХ РЕАКЦИЙ

Решение кинетических задач для сложных химических реакций, в том числе и ферментативных, требует даже в стационарном случае упрощающих алгоритмов. Структурные методы анализа сложных реакций развивались Швабом [84], Хориути [85], Христиансенем [86], Семеновым [87]. Применительно к стационарным ферментативным реакциям эффективный алгоритм был предложен Кингом и Альтманом [88] и применен к ряду конкретных проблем [89—91]. Основываясь на этом алгоритме, Клеланд [92] предложил номенклатуру многосубстратных реакций и наглядный способ их изображения. Однако метод Кинга и Альтмана и способ Клеланда практически неприменимы в сложных случаях. Наилучший в настоящее время алгоритм основан на применении *теории графов*. Графом в математике называется топологическая схема, построенная из узловых точек и соединяющих их линий [93—95]. Теория ненаправленных графов впервые использована при расчете химических реакций в работах Темкина [96]. В применении к ферментативным реакциям метод направленных графов развит в работах [97]. Направленный граф есть совокупность узлов, соединенных направленными линиями [93]. Такие графы применимы к решению ряда задач, относящихся к разветвленному и направленным потокам вещества, зарядов или информации. Теория графов весьма эффективна в электро- и радиотехнике [98—100].

Пусть ферментативная реакция протекает с образованием  $n + 1$  ферментных комплексов  $EX_i$ , включая свободный фермент, т. е.  $i = 0, 1, \dots, n$ . Сопоставим с каждым комплексом узел графа  $i, j$  и т. д., а с каждой стадией взаимодействия — две противоположно направленные ветви, если стадия обратима, или одну направленную ветвь, если стадия необратима. Каждую ветвь охарактеризуем ее величиной — вероятностью осуществления данной стадии  $w_{ij}$ , равной константе скорости  $k_{ij}$  или константе  $k_{ij}$ , умноженной на концентрацию лиганда в стадиях взаимодействия фермента с лигандом. Скорость стадии  $v_{ij}$  вдоль ветви  $i \rightarrow j$  равна

$$v_{ij} = [EX_i] w_{ij}, \quad (7,75)$$

где  $[EX_i]$  — концентрация комплекса  $EX_i$ . В каждом узле соблюдается условие непрерывности, т. е.

$$[EX_i] \sum_{j \neq i} w_{ij} = \sum_{j \neq i} [EX_j] w_{ji}. \quad (7,76)$$

Это условие эквивалентно условию стационарности реакции.

Рассмотрим в качестве примера реакцию с участием одного субстрата  $S$  и одного модификатора  $M$ , исследованную Кингом и Альтманом [88]. Уравнения реакции имеют вид

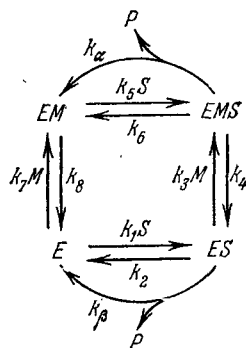
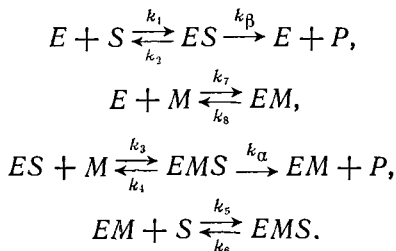


Рис. 7.31. Граф реакции  $E$  с  $S$  и  $M$ .

Граф для стационарной системы показан на рис. 7.31. Нахождение стационарной скорости производится по простым правилам без громоздких расчетов. Определим некоторые понятия.

*Путем* называется незамкнутая последовательность ветвей, направленных в одну сторону. Так, в нашем случае из узла  $ES$  в узел  $EM$  ведут четыре пути, величины которых  $G$  равны произведению величин ветвей вдоль пути. Имеем

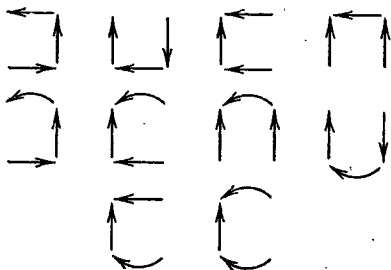


Рис. 7.32. Деревья графа.

$$\begin{aligned}
 G^{(1)} &= k_2 k_7 M, & G^{(2)} &= k_6 k_7 M, \\
 G^{(3)} &= k_3 M k_6, & G^{(4)} &= k_3 M k_5.
 \end{aligned}$$

*Деревом* графа, направленным в данный узел, называется совокупность ветвей, соединяющих все узлы графа без образования замкнутых циклов и направленных в этот узел. Так, в узел  $EM$  направлено 10 деревьев (рис. 7.32).

*Циклом* называется непрерывная последовательность ветвей, направленных в одну сторону. *Определителем* узла  $i$  называется сумма величин всех деревьев, направленных в этот узел.

Стационарная скорость ферментативной реакции выражается через определители графа следующим образом:

$$v = E \frac{\sum_i k_i D_i}{\sum_i D_i}, \tag{7.77}$$

где  $E$  — общая концентрация фермента,  $D_i$  — определитель узла  $i$ ,  $k_i$  — константы скорости образования продукта в  $i$ -м узле,

Суммирование в знаменателе ведется по всем узлам графа, в числителе — по узлам, отвечающим комплексам, из которых выделяется продукт. Это правило совпадает с предложенным Кингом и Альтманом [88], но метод графов позволяет резко упростить решение задачи, уменьшив число деревьев. Метод направленных графов обладает также рядом преимуществ по сравнению с методом ненаправленных графов Темкина [96], так как дает возможность находить количественные зависимости по простым правилам без решения уравнений.

Упрощение вычисления  $v$  проводится прежде всего путем слияния ветвей графа  $i \rightarrow j$ , если таких ветвей несколько ( $N$ ). Они могут быть заменены одной ветвью с величиной

$$\omega_{ij} = \sum_{m=1}^N \omega_{ij}^{(m)}. \quad (7,78)$$

Рис. 7.33. Основные деревья графа.

Так, в нашем случае (см. рис. 7.31) суммарная ветвь  $EMS \rightarrow EM$  имеет величину  $k_\alpha + k_6$ , ветвь  $ES \rightarrow E$  — величину  $k_\beta + k_2$ . Вместо 10 получаем 4 дерева (рис. 7.33).

Определители узлов различаются по путям. Рассмотрим  $D_i$ . Выберем некоторый вспомогательный узел  $j$  и рассмотрим все пути  $j \rightarrow i$  с величинами  $G_{ji}^{(1)}, G_{ji}^{(2)}, \dots$ . Если сжать путь в точку, граф упростится. Обозначим определители графов, полученных при таком слиянии, через  $D_{ji}^{(1)}, D_{ji}^{(2)}, \dots$  соответственно для каждого из слитых в один узел путей  $G_{ji}^{(1)}, G_{ji}^{(2)}, \dots$ . Тогда определитель  $D_i$  узла  $i$  равен

$$D_i = \sum_m G_{ji}^{(m)} D_{ji}^{(m)}. \quad (7,79)$$

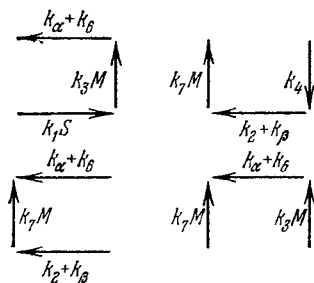
Для примера вычислим  $D_{EM}$  нашего графа. Выберем вспомогательный узел  $ES$ . С учетом сложения параллельных ветвей находим два пути  $ES \rightarrow E \rightarrow EM$  и  $ES \rightarrow EMS \rightarrow EM$  с величинами

$$G^{(1)} = (k_\beta + k_2) k_7 M \quad \text{и} \quad G^{(2)} = k_3 M (k_\alpha + k_6).$$

После сжатия этих путей в точку получим графы с определителями

$$D^{(1)} = k_\alpha + k_6 + k_4, \quad D^{(2)} = k_7 M + k_1 S.$$

Поясним нахождение этих путей и деревьев графически (рис. 7.34). Пунктирными стрелками показаны пути из  $ES$  в  $EM$ ,



сплошными — определители подграфов, оставшихся после слияния путей в точку (деревья, направленные в слитый узел). Каждый такой подграф состоит из двух параллельных ветвей, величины которых складываются. Получаем

$$D_{EM} = G^{(1)}D^{(1)} + G^{(2)}D^{(2)} = (k_2 + k_\beta)k_7M(k_\alpha + k_6 + k_4) + \\ + k_3M(k_\alpha + k_6)(k_7M + k_1S).$$

Разложение по путям при вычислении  $D_{EM}$  позволяет ограничиться только двумя членами вместо десяти по правилу Кинга

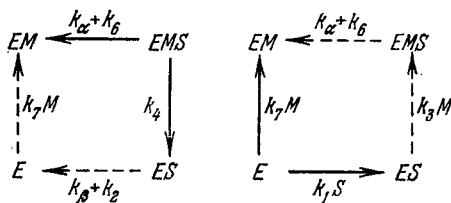


Рис. 7.34. Нахождение путей и деревьев.

и Альтмана. Остальные определители находят аналогичным образом. Окончательно имеем

$$v = E \frac{k_\beta D_{ES} + k_\alpha D_{EMS}}{D_E + D_{ES} + D_{EM} + D_{EMS}}, \quad (7,80)$$

где

$$D_E = (k_\alpha + k_5)k_7(k_\beta + k_2 + k_3M) + k_4(k_\beta + k_2)(k_6S + k_7), \\ D_{ES} = k_1k_7S(k_\alpha + k_4 + k_5) + k_4k_6S(k_8M + k_1S), \\ D_{EM} = (k_2 + k_\beta)k_7M(k_\alpha + k_4 + k_6) + k_3M(k_\alpha + k_6)(k_7M + k_1S), \\ D_{EMS} = k_8Mk_6S(k_\beta + k_2 + k_3M) + k_1Sk_3M(k_8S + k_7).$$

Дальнейшее усовершенствование некоторых деталей метода, развитого в [97], было проведено в работе Фромма [101].

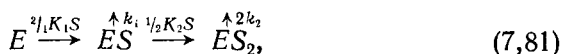
В многостадийной ферментативной реакции некоторые стадии могут идти быстрее, чем остальные. В соответствующих подграфах стационарной системы устанавливается квазиравновесие. Это позволяет упростить вычисление скорости [102]. Можно выделить подграф, соответствующий быстрому установлению равновесия, — часть графа, состоящую только из быстрых стадий и отделенную от остальных частей медленными стадиями. Если скорость образования фермент-субстратного комплекса значительно превышает скорость появления продуктов, то имеется лишь один подграф быстрого равновесия, содержащий узлы,

изображающие комплексы. При расчете оказывается возможным пренебречь медленными стадиями, поскольку деревья, включающие эти стадии, имеют малые величины. Скорость реакции выражается через константы равновесия и константы скорости превращения фермент-субстратных комплексов в фермент-продуктные и наоборот. Если стадия превращения является лимитирующей, то концентрация комплексов определяется только константами равновесия. Оказывается возможным воспользоваться *диаграммным методом* [103, 104], представляющим дальнейшее упрощение метода графов. Диаграммный метод развит применительно к реакциям с одним и несколькими выходами (т. е. с несколькими комплексами, из которых получается продукт), детально разработаны правила, упрощающие расчет. Метод с успехом используется для ряда сложных реакций, в частности для реакций с участием изоферментов. Диаграммный метод, описанный в цитированных выше работах, имеет самостоятельное значение.

Механизмы быстрого равновесия могут быть однозначно восстановлены по экспериментальным данным о зависимости скоростей реакции от концентраций лигандов [105, 106].

Метод графов позволяет обобщить различные модели АСФ [65, 74, 75]. Все эти модели можно представить единым графом, который однозначно определяется по зависимости начальной стационарной скорости от концентраций лигандов.

Рассмотрим связывание одного лиганда несколькими центрами фермента. В простейшем случае двух идентичных центров граф быстрого квазиравновесного связывания субстрата с последующим медленным его превращением в продукт имеет вид

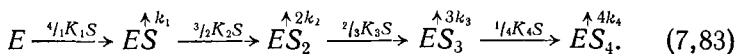


здесь  $K_1, K_2$  — константы квазиравновесия для быстрых стадий,  $k_1, k_2$  — константы скорости для медленных стадий. Коэффициенты  $2/1$  и  $1/2$  означают, что в первой стадии может быть занят один из двух свободных центров и освобожден один занятый, а во второй — может быть занят один свободный центр и освобожден один из двух занятых. В этих обозначениях получаем

$$v = 2E \frac{k_1 K_1 S + k_2 K_1 K_2 S^2}{1 + 2K_1 S + K_1 K_2 S^2}, \quad (7,82)$$

что эквивалентно (7,60). Граф (7,81) можно полностью и однозначно восстановить по зависимости  $v(S)$ . Зависимость формы кривой от значений констант рассмотрена на стр. 456. Граф для фермента с четырьмя идентичными центрами содержит 16 узлов, однако старшая степень  $S$  в выражении для  $v$  не превышает 4. Поэтому эквивалентный граф с минимальным числом ветвей

представляется цепью из четырех стадий связывания субстрата



Уравнение для скорости имеет вид

$$v = 4E \frac{k_1 K_1 S + 3k_2 K_1 K_2 S^2 + 3k_3 K_1 K_2 K_3 S^3 + k_4 K_1 K_2 K_3 K_4 S^4}{1 + 4K_1 S + 6K_1 K_2 S^2 + 4K_1 K_2 K_3 S^3 + K_1 K_2 K_3 K_4 S^4}. \quad (7,84)$$

Различным моделям тетрамерного фермента, рассмотренным в [13] (тетраэдр, квадрат и др.), соответствует это уравнение

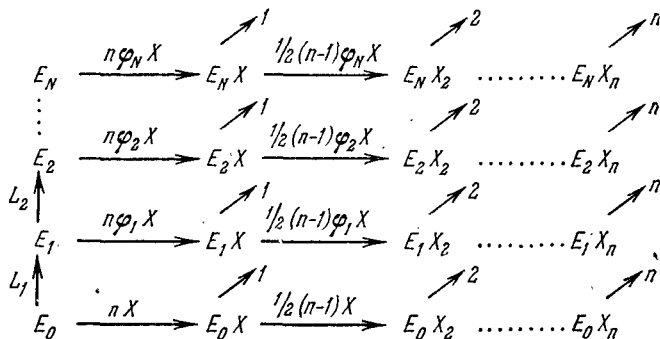
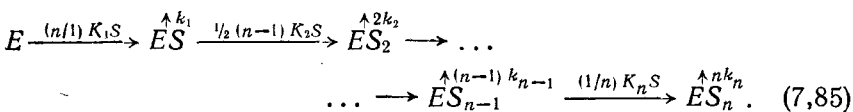


Рис. 7.35. Граф для системы с косвенной кооперативностью.

с различными величинами констант. Такие модели можно представить единым графом (7,83), однозначно восстанавливаемым по экспериментальной зависимости  $v(S)$ .

В общем случае  $n$  идентичных центров имеем



Модель МУШ можно представить таким графом с определенным законом возрастания констант  $K_i$ . Тем самым, эта модель эквивалентна модели прямой кооперативности Кошланда и соавторов при положительной кооперативности. Предположим, что фермент может находиться в  $N + 1$  конформационных состояниях  $E_0, E_1, \dots, E_N$ . Константы равновесия превращений  $E_0 \rightleftharpoons E_1, E_1 \rightleftharpoons E_2$  и т. д. равны соответственно  $L_1, L_2$  и т. д. Константы ассоциации лиганда для одного центра в состояниях  $E_0, E_1, \dots, E_i$  равны соответственно  $\phi_1 K, \dots, \phi_i K$ . Константы скоростей медленных стадий во всех состояниях  $E_i$  одинаковы. Граф имеет вид, показанный на рис. 7.35. Для такого дерева находим  $v$ , определив пути из узла  $E_0$  во все узлы графа (рис. 7.35).

Можно показать, что константы  $K_i$  связаны с параметрами  $L_i$  и  $\varphi_i$  равенством [107]

$$\frac{K_{i+1}}{K_i} = \frac{\left(\sum_{m=0}^N a_m^{i-1}\right)\left(\sum_{m=0}^N a_m^{i+1}\right)}{\left(\sum_{m=0}^N a_m^i\right)^2}, \quad (7,86)$$

где  $a_m = \varphi_m \prod_{j=1}^m L_j$  для  $m = 1, 2, \dots$ , и  $a_0 = 1$ . К этому уравнению можно применить неравенство Коши — Буняковского, из которого следует, что  $K_1 \leq K_2 \leq K_3 \leq \dots \leq K_n$ .

При наличии лишь двух конформаций  $E_0$  и  $E_1$  (7,86) имеет вид

$$\frac{K_i}{K_n} = \frac{L_1 \varphi_1^i + 1}{L_1 \varphi_1^{i-1} + 1}. \quad (7,87)$$

Если лиганд связывается ферментом только в одном состоянии, то  $\varphi_1 = 0$  и последнее соотношение переходит в

$$K_i/K_n = 1/(L_1 + 1) < 1, \quad K_i \neq 1/K_n = 1.$$

Этот случай эквивалентен меньшему средству к первой молекуле лиганда по сравнению с последующими, т. е.  $K_1 < K_2 = K_3 = \dots = K_n$ .

При  $K_1 = K$ ,  $K_{i \neq 1} = \alpha K$

$$v = nkE \frac{x(1+x)^{n-1}}{\alpha - 1 + (1+x)^n}, \quad (7,88)$$

где  $x = \alpha KX$ ,  $\alpha$  — параметр кооперативности. Если кооперативность положительна,  $\alpha > 1$  и уравнение (7,88) подобно уравнению (7,66) теории МУШ при  $g = 0$ . Если  $\alpha < 1$ , кооперативность отрицательна (ср. [108]) и уравнение (7,88) уже нельзя получить из модели МУШ, в которой  $(\alpha - 1)$  — положительная аллостерическая константа. Это уравнение является общим.

Таким образом, модели квазиравновесных реакций для ферментов с любым числом центров представляются единым графом, по соотношению параметров которого можно установить пригодность той или иной модели. Однозначность восстановления графа по экспериментальной кривой зависит от точности эксперимента (ср. [109]).

Прямые методы для выявления медленной стадии и, следовательно, для нахождения подграфов быстрого равновесия дают релаксационная (см. ниже) и предстационарная (см. [110]) кинетики. Вместе с тем некоторые критерии применимости квазиравновесного приближения можно получить из анализа кривой для начальной стационарной скорости и функции насыщения.

Для ряда ферментов наблюдаются кривые  $v(S)$  с промежуточными плато (см., например, [111]). В рамках модели МУШ такие кривые получить нельзя. Напротив, они хорошо объясняются в предположении о сочетании положительной и отрицательной кооперативности [109]. Последняя для модели МУШ невозможна.

На кривых насыщения вообще не могут появляться промежуточные плато. Кривизна этих графиков имеет ограничения сверху и снизу (см. [112]). Число точек перегиба на кривых насыщения также ограничено числом центров: для  $n = 1$  их нет, для  $n = 2$  возможна только одна точка перегиба, для  $n = 3$  — две, для  $n = 4$  — три точки перегиба. Это легко показать, определяя число положительных корней многочлена методом Декарта (см. [113]). В отличие от функции насыщения график  $v(S)$  может иметь экстремумы. Рассмотрим условия появления промежуточных максимумов  $v(S)$  для тетрамерного фермента. Положим для простоты, что все константы  $K_i$  одинаковы, т. е.

$$v = 4E \frac{k_1\sigma + 3k_2\sigma^2 + 3k_3\sigma^3 + k_4\sigma^4}{(1 + \sigma)^4}, \quad (7,89)$$

где  $\sigma = KS$ . Найдем  $v' \equiv dv/d\sigma$ . Уравнение  $v' = 0$  имеет вид

$$\sigma^6(4k_4 - 3k_3) + 6\sigma^5(2k_4 - k_2) + 3\sigma^4[(4k_4 - k_1) + 2(3k_3 - 2k_2)] + \\ + 4\sigma^3[2(3k_3 - k_1) + k_4] + 3\sigma^2[2(2k_2 - k_1) + 3k_3] + 6k_2\sigma + k_1 = 0. \quad (7,90)$$

Это уравнение, согласно правилу Декарта, имеет наибольшее число положительных корней, если знаки коэффициентов чередуются, т. е. имеем  $- + - + - + -$ ; тогда  $k_4 < 3/4k_3$ ,  $k_4 > 1/2k_2$ ,  $4k_4 - k_1 < 2(2k_2 - 3k_3)$ ,  $k_4 > 2(k_1 - 3k_3)$ ,  $3k_3 < 2(k_1 - 2k_2)$ . Следовательно, уравнение (7,90) не может иметь более пяти положительных корней. Однако, как легко показать, эта система неравенств несовместна, и в действительности может быть лишь три изменения знака. Следовательно, график  $v(\sigma)$  (см. (7,89)) может иметь не более трех экстремумов — два промежуточных максимума и один минимум. Если константы  $k_i$  изменяются с  $i$  монотонно, то на кривой  $v(\sigma)$  может существовать лишь один максимум при любом числе центров.

Дальнейшее развитие стационарной кинетики реакций, катализируемых кооперативными ферментами, как при наличии, так и в отсутствие детального равновесия, а также анализ экспериментальных кривых можно найти в работах Гольдштейна и др. [107, 114, 115], Курганова и др. [78—80, 116, 117], Магаршака и др. [102—106].

Теория графов эффективно применяется и к исследованию кинетики ферментативных реакций на предстационарных





где

$$w_{ij}^* = \begin{cases} w_{ij}, & j \neq 0, \\ w_{i0} + z, & j = 0. \end{cases}$$

Мы получили систему уравнений, аналогичную по форме системе уравнений стационарной кинетики. Граф предстационарной кинетики, в отличие от графа стационарной кинетики, содержит добавочные ветви величины  $z$ , направленные из каждого узла графа в узел, соответствующий свободному ферменту. Расчет по методу графов дает трансформанту скорости реакции  $v^*$ , оригинал  $v$  получается из  $v^*$  стандартными методами операционного исчисления. При необратимом образовании продукта

$$v^*(z) = \frac{\sum_i k_i D_i^*}{\sum_i D_i^*}, \quad (7,96)$$

где  $D_i^*$  — определители графа предстационарной системы реакций. Иначе

$$v^* = \sum_i k_i x_i^*,$$

где  $x_i^* = D_i^* / \sum_j D_j^*$ . Функции  $x_i^*$  имеют вид

$$x_i^*(z) = \frac{\delta_{i0} z^n + z^{n-1} b_{n-1}^{(i)} + \dots + b_0^{(i)}}{z^n + z^{n-1} a_{n-1} + \dots + a_0}. \quad (7,97)$$

Здесь степень полинома в знаменателе для графа с  $n+1$  узлами равна  $n$ , так как число  $z$ -ветвей в таком графе  $n$ . Старшая степень  $z^n$  определяется величиной дерева, составленного из  $z$ -ветвей, направленных в узел 0. Такое дерево — единственное. Величина каждой его ветви равна  $z$ , и поэтому коэффициенты при  $z$  в числителе и знаменателе (7,97) равны 1. Коэффициенты  $a$  и  $b^{(i)}$  выражаются через  $w_{ij}$ . Стационарное решение получается из (7,97) при  $t \rightarrow \infty$ , т. е. при  $z \rightarrow 0$ . Следовательно,

$$x_i(\infty) = x_i^*(0) = b_0^{(i)} / a_0 = D_i / \sum_j D_j. \quad (7,98)$$

Каждое слагаемое в числителе и знаменателе (7,97) есть сумма деревьев с числом ветвей (включая  $z$ -ветви), равным  $n$ . Поэтому  $a_{n-1}$  и  $b_{n-1}^{(i)}$  — суммы некоторых ветвей графа без  $z$ -ветвей,  $a_{n-2}$  и  $b^{(i)}$  — суммы парных произведений ветвей и т. д.  $a_{n-1}$  равно сумме всех ветвей графа без  $z$ -ветвей. Справедливы равенства

$$a_m = \sum_{i=0}^n b_m^{(i)}, \quad m = 0, 1, \dots, n.$$

Рассмотрим в качестве примера случай кооперативного фермента, обладающего двумя идентичными центрами. В стационарном случае в отсутствие квазиравновесных стадий вместо

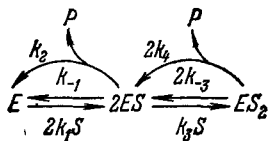


Рис. 7.36. Граф для двухцентровой системы (стационарная кинетика).

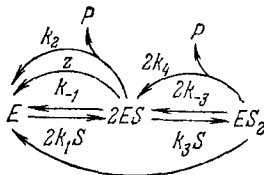


Рис. 7.37. Граф для двухцентровой системы (предстационарная кинетика).

(7,81) получаем упрощенный граф, показанный на рис. 7.36. Определители равны

$$D_1 = (k_2 + k_{-1}) 2(k_4 + k_{-3}), \quad D_2 = 2k_1 S 2(k_4 + k_{-3}), \quad D_3 = 2k_1 S k_3 S$$

и для скорости реакции имеем

$$v = E \frac{2k_2 D_2 + 2k_4 D_3}{D_1 + D_2 + D_3} = 2E \frac{k_2 K' S + k_4 S^2}{K K' + 2K' S + S^2}, \quad (7,99)$$

где  $K = (k_{-1} + k_2)/k_1$ ,  $K' = (k_{-3} + k_4)/k_3$ . Мы получили уже знакомое выражение (ср. (7,60), (7,82)). В предстационарных условиях граф имеет вид, показанный на рис. 7.37. Соответствующие определители равны

$$D_1^* = (k_2 + k_{-1} + z) 2(k_4 + k_{-3}) + z(k_{-1} + k_2 + z) + z k_3 S, \\ D_2^* = 2k_1 S 2(k_{-3} + k_4) + z 2k_1 S, \quad D_3^* = 2k_1 S k_3 S$$

и

$$v^*(z) = E \frac{2k_2 D_2^* + 2k_4 D_3^*}{D_1^* + D_2^* + D_3^*} = 2k_1 k_2 E S \frac{z + C}{z^2 + 2Az + B}, \quad (7,100)$$

где

$$2A = 2k_4 + 2k_{-3} + k_{-1} + k_2 + k_3 S + 2k_1 S, \\ B = 2(k_2 + k_{-1})(k_4 + k_{-3}) + 4k_1 S(k_4 + k_{-3}) + 2k_1 k_3 S^2, \\ C = 2(k_{-3} + k_4) + 2S k_4 k_3 / k_2.$$

При  $t \rightarrow \infty$  или  $z \rightarrow 0$

$$v^*(0) = 2k_1 k_2 E S C / B = v.$$

В общем случае оригинал (7,100) равен

$$v(t) = v_{\text{стац}} - 2k_1 k_2 S E \left[ \frac{z_1 + C}{z_1(z_2 - z_1)} \exp(z_1 t) + \frac{z_2 + C}{z_2(z_1 - z_2)} \exp(z_2 t) \right], \quad (7,101)$$

где  $z_{1,2} = -A \pm \sqrt{A^2 - B}$  — корни соответствующего характеристического уравнения.

Если для сложной реакции справедлив принцип детального равновесия, то корни характеристического уравнения вещественны и отрицательны [119]. Такие реакции изображаются графами с разомкнутыми циклами, т. е. деревьями стадий, хотя общая схема реакции может содержать замкнутые циклы. Соответственно все реакции, графы которых представляются деревьями стадий, не могут привести к возникновению колебаний в предстационарном режиме. Если условие детального равновесия не выполняется, в системе могут возникать колебания. Трансформанта Лапласа — Карсона для скорости реакции является мероморфной функцией комплексного переменного  $z$ ; корни ее характеристического многочлена лежат в левой полуплоскости комплексных чисел для всех ферментативных реакций. Поэтому ферментная система в предстационарном режиме устойчива и в ней могут возникать лишь затухающие колебания. Для их появления необходимо, чтобы граф реакции содержал цикл по крайней мере из трех стадий.

Дальнейшие подробности, относящиеся к применению теории графов в стационарной и предстационарной кинетике ферментативных реакций, изложены в цитированных выше оригинальных работах, в приложении 1 в [33] и в работе Гольдштейна [115]. В кинетике ферментативных процессов метод направленных графов является удобным алгоритмом. Вместе с тем он позволяет выявить глубокую аналогию, существующую между процессами в сложных электронных цепях и ферментативными реакциями. Системы обоих типов работают на сигналах, связанных сходными функциональными зависимостями. В электронных цепях сигналами являются напряжения и токи, в ферментативных реакциях — концентрации и скорости стадий. Аналогом закона Ома служит закон действующих масс. Однако закон Ома требует учета разности напряжений на концах двухполюсников, а закон действующих масс учитывает концентрацию ферментного комплекса (аналог напряжения) лишь на входе двухполюсника (ветви графа). Это отличие определяет неприменимость графических правил, разработанных для электрических цепей, непосредственно к ферментативным реакциям и затрудняет прямое электрическое моделирование реакций [120, 121].

## § 7.7. ХИМИЧЕСКАЯ РЕЛАКСАЦИЯ

Механизм действия ферментов эффективно изучается методами химической релаксации, впервые развитыми Эйгеном [122]. Система выводится из равновесного или стационарного состояния быстрыми изменениями внешнего параметра и изучается