



**ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ**

**ΣΧΟΛΗ ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΩΝ ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΩΝ ΚΑΙ  
ΦΥΣΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ**

**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**του**

**ΓΙΑΜΑΡΕΛΟΥ ΝΙΚΟΛΑΟΥ**

Προπτυχιακού Φοιτητή Εφαρμοσμένων Μαθηματικών και Φυσικών Επιστημών  
Ε.Μ.Π.

**Μοντελοποίηση, Υπολογιστική Ανάλυση και  
Σχεδιασμός Συστήματος Ρύθμισης της Δυναμικής  
Συμπεριφοράς του Κυτταρικού Κύκλου του *Xenopus  
laevis*.**

***Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή***

Σιέττος Κωνσταντίνος, Αναπληρωτής Καθηγητής Ε.Μ.Π. (Επιβλέπων)

Τσινιάς Ιωάννης, Καθηγητής Ε.Μ.Π.

Κομίνης Ιωάννης, Επίκουρος Καθηγητής Ε.Μ.Π.

Αθήνα, Οκτώβριος 2016

## Ευχαριστίες

---

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Αναπληρωτή Καθηγητή του Ε.Μ.Π. κύριο Σιέττο Κ. ο οποίος ως επιβλέπωντας στην εκπόνηση της παρούσας εργασίας μου έδωσε την ευκαιρία να αποκτήσω με τρόπο μεθοδικό πολλές γνώσεις γύρω από το αντικείμενο μελέτης μας και με ενέπνευσε να συνεχίσω τις σπουδές μου πάνω σε αυτό. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου που με στηρίζει καθ' όλη την διάρκεια των σπουδών μου τόσο υλικά όσο και πνευματικά, καθώς και τους φίλους και συμφοιτητές μου οι οποίοι πάντα μου πρόσφεραν βοήθεια και συνεργασία.

## Περίληψη

---

Αντικείμενο μελέτης της εργασίας αυτής αποτελεί η μοντελοποίηση, η υπολογιστική ανάλυση και ο σχεδιασμός ενός συστήματος ρύθμισης της δυναμικής συμπεριφοράς του κυτταρικού κύκλου του *Xenopus laevis*. Αρχικά παρουσιάζεται η δομή της εργασίας και δίνεται μια εισαγωγή στην περιγραφή του μιτωτικού κύκλου διαίρεσης του ευκαρρυωτικού κυττάρου σε δείγματα από αυγό βατράχου *Xenopus laevis*. Στο 2<sup>ο</sup> κεφάλαιο της εργασίας, ασχολούμαστε με την μοντελοποίηση του κυτταρικού κύκλου, όπου παρουσιάζουμε μία προσέγγιση βασισμένη στην έκφραση των τιμών των βιοχημικών αντιδράσεων που λαμβάνουν χώρα μέσω ενός συστήματος μη γραμμικών συνήθων διαφορικών εξισώσεων. Στο 3<sup>ο</sup> κεφάλαιο πραγματοποιείται η μελέτη της μη γραμμικής δυναμικής συμπεριφοράς του συστήματος. Στα πλαίσια της ανάλυσης αυτής περιλαμβάνεται η εύρεση των λύσεων του συστήματος με την κατασκευή του διαγράμματος διακλάδωσης ως προς μία παράμετρο, ο χαρακτηρισμός τους ως προς την ευστάθεια καθώς και η μελέτη και η προσομοίωση της δυναμικής συμπεριφοράς ενός σημείου ασταθούς ισορροπίας. Στο 4<sup>ο</sup> κεφάλαιο υλοποιείται ο σχεδιασμός ενός βιολογικού controller για το παραπάνω μοντέλο με σκοπό την ρύθμιση της δυναμικής συμπεριφοράς του σημείου ασταθούς ισορροπίας. Επιπλέον, πραγματοποιείται η προσομοίωση παρουσία του ρυθμιστή. Έπειτα στο 5<sup>ο</sup> κεφάλαιο της εργασίας, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που προέκυψαν αλλά και η ερμηνεία αυτών. Στο 6<sup>ο</sup> κεφάλαιο, εκθέτουμε τα συμπεράσματα στα οποία καταλήξαμε και εξηγούμε την σημασία τους. Στο 7<sup>ο</sup> και τελευταίο κεφάλαιο, παρατίθεται η βιβλιογραφία που αφορά τις σχετικές αναφορές στο κύριο μέρος της εργασίας. Τέλος, το Παράρτημα περιλαμβάνει τον κώδικα που χρησιμοποιήθηκε για την υπολογιστική ανάλυση και τις προσομοιώσεις.

# Abstact

---

This thesis is dealing with the modeling, the computational analysis and the design of a control system for the dynamic behavior of the mitotic cell cycle of the eukaryotic cell in frog, *Xenopus laevis*, oocyte extracts. First, we represent the thesis structure and provide an introduction in the description of *Xenopus* cell cycle. At the 2<sup>nd</sup> chapter we proceed to the modeling of the cell division cycle. We represent here, an approach based on the rates of biochemical reactions in terms of a system of nonlinear ordinary differential equations (ODEs). At the 3<sup>rd</sup> chapter of this thesis, we investigate the dynamic behavior of the system. Within this analysis, we find the solutions of the system by constructing the bifurcation diagram with respect to one parameter and characterize their stability, locate unstable equilibrium points and simulate their dynamic responses. At the 4<sup>th</sup> part we design a biological controller for this particular model in order to control the dynamic behavior of an unstable equilibrium point of the system. Furthermore, we simulate this behavior with presence of the controller. Then, at the 5<sup>th</sup> chapter we represent the results that came up and interpret them. The 6<sup>th</sup> part contains the conclusions at which we arrived. At the 7<sup>th</sup> chapter we provide the references cited in the main body of the thesis. Finally, in the appendix at the end of the book, the reader can find the code that used for the computation analysis and the simulations.

# Περιεχόμενα

---

## Κεφάλαιο 1

<b>Εισαγωγή</b> .....	7
<b>1.1</b> Ο κυτταρικός κύκλος.....	9

## Κεφάλαιο 2

<b>Παρουσίαση του μοντέλου</b> .....	13
<b>2.1</b> Διάγραμμα συνδεσμολογίας.....	13
<b>2.2</b> Το σύστημα των διαφορικών εξισώσεων.....	18
<b>2.3</b> Επιλογή των τιμών των παραμέτρων.....	21
<b>2.4</b> Προσομοιώσεις του μοντέλου.....	23
<b>2.5</b> Βελτιστοποίηση παραμέτρων.....	26
<b>2.6</b> Πειραματικός έλεγχος του μοντέλου.....	26

## Κεφάλαιο 3

<b>Μελέτη της δυναμικής συμπεριφοράς του συστήματος</b> .....	28
<b>3.1</b> Διάγραμμα διακλάδωσης.....	28
<b>3.2</b> Λύσεις και ευστάθεια.....	32
<b>3.2.1</b> Χαρακτηρισμός των κλάδων των λύσεων.....	34
<b>3.2.2</b> Χαρακτηρισμός των σημείων ισορροπίας.....	35
<b>3.3</b> Μελέτη ενός σημείου ασταθούς ισορροπίας.....	39
<b>3.3.1</b> Δυναμική απόκριση ανοικτού βρόγχου και προσομοιώσεις.....	40

## Κεφάλαιο 4

<b>Σχεδιασμός συστήματος ρύθμισης</b> .....	42
<b>4.1</b> Ο μηχανισμός ανάδρασης.....	42
<b>4.2</b> Σχεδιασμός του PI ρυθμιστή.....	45
<b>4.2.1</b> Ο PI νόμος ρύθμισης.....	45

4.2.2	Γραμμικοποίηση του συστήματος γύρω από σημείο ισορροπίας.....	46
4.2.3	Παρουσίαση του συστήματος στο χώρο κατάστασης (state-space).....	49
4.2.4	Τοποθέτηση πόλων.....	54
4.3	Απόκριση κλειστού βρόγχου του σημείου ασταθούς ισορροπίας.....	57
4.3.1	Προσομοίωση παρουσία του PI ρυθμιστή.....	58
<b>Κεφάλαιο 5</b>		
<b>Παρουσίαση αποτελεσμάτων.....</b>		<b>59</b>
<b>Κεφάλαιο 6</b>		
<b>Συμπεράσματα.....</b>		<b>74</b>
<b>Κεφάλαιο 7</b>		
<b>Βιβλιογραφία.....</b>		<b>76</b>
<b>Παράρτημα.....</b>		<b>78</b>

# 1. Εισαγωγή

---

Στην παρούσα διπλωματική εργασία ασχολούμαστε με την περιγραφή, την μελέτη και την συμπεριφορά του συστήματος που διέπει τον κύκλο διαίρεσης του κυττάρου σε δείγματα από αυγό βατράχου *Xenopus laevis*. Για το σκοπό αυτό κρίθηκε αρχικώς απαραίτητη η αναλυτική παρουσίαση της λειτουργίας του κυτταρικού κύκλου του *Xenopus*. Έπειτα, προκειμένου να ξεκινήσουμε την ανάλυσή μας θα πρέπει να έχουμε στα χέρια μας ένα μαθηματικό μοντέλο. Η μοντελοποίηση λοιπόν του κυτταρικού κύκλου των δειγμάτων αυγού αποτέλεσε το επόμενο κομμάτι της εργασίας.

Αρχικά λοιπόν, στην επόμενη παράγραφο αυτού του κεφαλαίου, γίνεται μια περιγραφή της λειτουργίας του κύκλου της κυτταρικής διαίρεσης σε δείγματα από αυγό βατράχου *Xenopus laevis*. Εδώ παρουσιάζεται η έννοια και η σημασία του κυτταρικού κύκλου γενικά για το ευκαρρυωτικό κύτταρο. Επίσης, γίνεται η αναλυτική περιγραφή της μιτωτικής φάσης η οποία από τις φάσεις στις οποίες χωρίζεται ο κυτταρικός κύκλος είναι αυτή που θα μας απασχολήσει στην παρούσα εργασία.

Το 2<sup>ο</sup> κεφάλαιο έχει να κάνει με την εξαγωγή ενός μαθηματικού μοντέλου το οποίο περιγράφει πλήρως τον μηχανισμό ρύθμισης της μιτωτικής φάσης του κυττάρου του *Xenopus laevis* (**Sible & Tyson, 2007**). Η μοντελοποίηση περιλαμβάνει την αναπαράσταση του βιολογικού συστήματος με τη βοήθεια ενός διαγράμματος συνδεσμολογίας καθώς και το σύστημα των συνήθων διαφορικών εξισώσεων το οποίο περιγράφει την λειτουργία του συστήματος. Η προσομοίωση του μοντέλου περιλαμβάνει ουσιαστικά την επίλυση του συστήματος των συνήθων διαφορικών εξισώσεων και την γραφική αναπαράσταση της χρονικής εξέλιξης των συστατικών (διμερών, πρωτεϊνικών συμπλεγμάτων κλπ) που χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή του διαγράμματος συνδεσμολογίας. Προκειμένου να λύσουμε το σύστημα των διαφορικών απαιτείται ο καθορισμός των τιμών ορισμένων παραμέτρων και των αρχικών συνθηκών. Τις πληροφορίες αυτές τις αντλήσαμε από την βιβλιογραφία (**Novak & Tyson, 1993; Kumagai & Dunphy, 1995; Marlovits et al., 1998**). Στη συνέχεια απαραίτητη είναι η βελτιστοποίηση των παραμέτρων έτσι ώστε η συμπεριφορά του συστήματος να είναι σύμφωνη ποιοτικά και ποσοτικά με άλλες ήδη γνωστές συμπεριφορές. Για το σκοπό αυτό στηριχτήκαμε και πάλι σε προϋπάρχουσες μελέτες (**Mendes & Kell, 1998; Moles et al., 2003; Zwolak et al., 2005**). Το επόμενο βήμα κατά την διαδικασία μοντελοποίησης είναι ο πειραματικός έλεγχος του μοντέλου ο οποίος αφορά την ακρίβεια των αποτελεσμάτων που παράγει το μοντέλο (**Sha et al., 2003**) αλλά και την ικανότητά του να οδηγήσει σε νέα χρήσιμα αποτελέσματα με διάφορες τροποποιήσεις του μοντέλου (**Solomon et al., 1990; Pomerening et al., 2005**). Ο πειραματικός έλεγχος φυσικά γίνεται με γνώμονα πειραματικά δεδομένα και αποτελέσματα που έχουν προκύψει από άλλες μελέτες.

Στο 3<sup>ο</sup> κεφάλαιο ασχοληθήκαμε με την υπολογιστική ανάλυση της δυναμικής συμπεριφοράς της μιτωτικής φάσης του *Xenopus laevis*. Αυτή περιλαμβάνει πρώτα απ' όλα την κατασκευή του διαγράμματος διακλάδωσης των λύσεων του συστήματος. Με τη βοήθεια του διαγράμματος αυτού γίνεται στη συνέχεια ο χαρακτηρισμός των κλάδων ως προς την ευστάθεια ο οποίος έγγειται στον διαχωρισμό τους ανάλογα με το είδος των λύσεων που περιλαμβάνουν (**Iooss & Joseph, 1990**). Το διάγραμμα διακλάδωσης κατασκευάστηκε με χρήση του MATCONT, ενός Γραφικού Περιβάλλοντος Χρήστη (GUI) του προγράμματος MATLAB. Η ανάλυσή μας ολοκληρώνεται με τον εντοπισμό ενός σημείου ασταθούς ισορροπίας από τους κλάδους των λύσεων, την θεωρητική περιγραφή (**Friedland, 2012**) και την προσομοίωση της δυναμικής απόκρισης ανοικτού βρόγχου ανάλογα με την διαταραχή που επιβάλουμε.

Ακολουθεί το 4<sup>ο</sup> κεφάλαιο που έχει ως αντικείμενο τον σχεδιασμό ενός συστήματος ρύθμισης της δυναμικής συμπεριφοράς της μιτωτικής φάσης σε κύτταρα αυγού *Xenopus laevis*. Πιο συγκεκριμένα, στόχος μας είναι να σχεδιάσουμε έναν ρυθμιστή με ανάδραση τον οποίο θα χρησιμοποιήσουμε για να σταθεροποιήσουμε το σημείο ασταθούς ισορροπίας που βρήκαμε στο προηγούμενο κεφάλαιο. Αφού λοιπόν γίνει μια εισαγωγή στην έννοια και την λειτουργία του μηχανισμού ανάδρασης (**Friedland, 2012**), ακολουθεί η θεωρητική ανάλυση της γραμμικοποίησης του συστήματος γύρω από ένα σημείο ισορροπίας (**Bretscher, 2008**), η παρουσίαση του συστήματος στο χώρο κατάστασης (state-space) (**Rowell, 1997**) αλλά και εφαρμογή τους στο σύστημα που μελετούμε με τη χρήση του MATLAB. Συνεχίζουμε με την παρουσίαση της μεθόδου της τοποθέτησης πόλων (pole placement) (**Golnaraghi & Kuo, 2009**) την οποία χρησιμοποιήσαμε για τον σχεδιασμό του ρυθμιστή. Έπειτα προχωράμε με τον σχεδιασμό ενός PI ρυθμιστή (**Astrom & Wittenmark, 1994; Ellis, 2012**). Τέλος, πραγματοποιήθηκε προσομοίωση της απόκρισης κλειστού βρόγχου για το σημείο ασταθούς ισορροπίας με τη χρήση του ρυθμιστή.

Στο 5<sup>ο</sup> κεφάλαιο γίνεται η παρουσίαση και η ερμηνεία των αποτελεσμάτων που προέκυψαν στα προηγούμενα κεφάλαια με τη βοήθεια γραφημάτων που παραγάγαμε και τα οποία θα εξηγηθούν αναλυτικά.

Το 6<sup>ο</sup> κεφάλαιο περιλαμβάνει μια συζήτηση για την αξιοποίηση των αποτελεσμάτων ώστε να εξάγουμε συμπεράσματα τα οποία και θα παρουσιάσουμε και θα αναλύσουμε. Στη συνέχεια αναφέρουμε τις δυσκολίες που συναντήσαμε και προτείνουμε βελτιώσεις και ιδέες για περαιτέρω έρευνα.

Στο 7<sup>ο</sup> κεφάλαιο παραθέτουμε αναλυτικά την βιβλιογραφία που χρησιμοποιήσαμε για την παρούσα εργασία ταξινομημένη σε αλφαβητική σειρά.

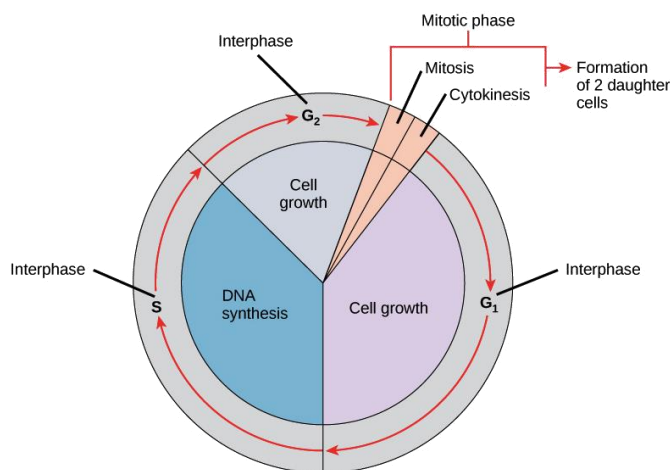
Τέλος στο Παράρτημα ο αναγνώστης μπορεί να βρει τον κώδικα που εισαγάγαμε στο MATLAB για την εξαγωγή όλων γραφημάτων της εργασίας, συνοδευόμενο από τα απαραίτητα σχόλια.



## 1.1 Ο κυτταρικός κύκλος

Ο κυτταρικός κύκλος ή κύκλος κυτταρικής διαίρεσης είναι η ακολουθία όλων των διεργασιών που λαμβάνουν χώρα στο κύτταρο και οδηγούν στην διαίρεσή του και τον διπλασιασμό του DNA (αντιγραφή DNA) ώστε να προκύψουν δύο θυγατρικά κύτταρα.

Στα κύτταρα με πυρήνα, όπως τα ευκαρρυωτικά, ο κυτταρικός κύκλος χωρίζεται σε τρεις περιόδους: την μεσόφαση, την μιτωτική (M) φάση και την κυτοκίνηση (Σχήμα 1). Κατά την διάρκεια της μεσόφασης το κύτταρο μεγαλώνει συσσωρεύοντας θρεπτικά συστατικά απαραίτητα για την μίτωση και προετοιμάζεται για την κυτταρική διαίρεση και τον διπλασιασμό του DNA του. Κατά τη διάρκεια της μιτωτικής φάσης, το κύτταρο διαχωρίζεται σε δύο διακριτά θυγατρικά κύτταρα. Στο τελευταίο στάδιο, την κυτοκίνηση, το νέο κύτταρο είναι εντελώς διαχωρισμένο. Για την διασφάλιση της σωστής διαίρεσης του κυττάρου υπάρχουν μηχανισμοί ρύθμισης.



**Σχήμα 1.** Οι φάσεις του κυτταρικού κύκλου ενός ευκαρρυωτικού κυττάρου. Διακρίνονται τα 3 στάδια της μεσόφασης, η μίτωση και η κυτοκίνηση καθώς και η λειτουργία της κάθε μίας ([www.khanacademy.org](http://www.khanacademy.org)).

Ο κύκλος της κυτταρικής διαίρεσης είναι μία διαδικασία ζωτικής σημασίας με την οποία ένα μονοκύτταρο εκκολαπτόμενο αυγό αναπτύσσεται σε έναν ολοκληρωμένο οργανισμό καθώς και η διαδικασία με την οποία οι τρίχες, το δέρμα, τα κύτταρα του αίματος και κάποια εσωτερικά όργανα αναγεννιούνται. Μετά την κυτταρική διαίρεση, κάθε ένα από τα θυγατρικά κύτταρα ξεκινά την μεσόφαση ενός νέου κύκλου. Παρόλο που τα διάφορα στάδια της μεσόφασης συνήθως δεν είναι μορφολογικά ευδιάκριτα, κάθε φάση του κυτταρικού κύκλου έχει ένα ξεχωριστό σύνολο βιοχημικών διεργασιών που προετοιμάζουν το κύτταρο για την έναρξη της κυτταρικής διαίρεσης.


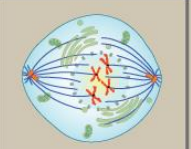
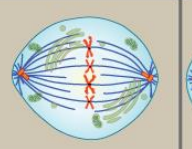
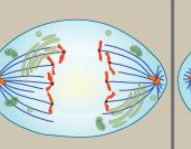
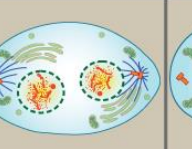

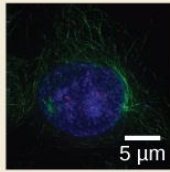
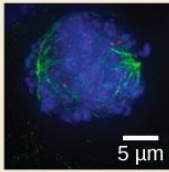
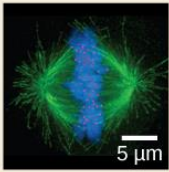
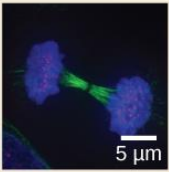
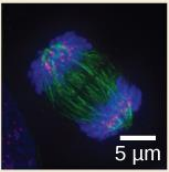
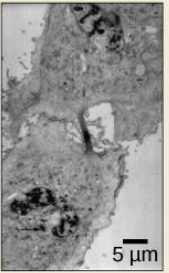
Στην παρούσα εργασία θα ασχοληθούμε με την μιτωτική (Μ) φάση του κύκλου διαίρεσης του κυττάρου σε δείγματα από αυγό βατράχου *Xenopus laevis*. Η Μ φάση αποτελεί μία σχετικά σύντομη περίοδο του κυτταρικού κύκλου, είναι πολύπλοκη και διέπεται από ιδιαίτερους μηχανισμούς ρύθμισης. Η ακολουθία των διεργασιών που λαμβάνουν χώρα κατά την μίτωση χωρίζονται σε φάσεις σύμφωνα με την ολοκλήρωση ενός συνόλου δραστηριοτήτων και την έναρξη του επόμενου. Οι φάσεις αυτές και η λειτουργίες της κάθε μίας από αυτές είναι (O'Connor, 2008) (βλ. επίσης Σχήμα 2):

- ✚ **προ-φάση:** Η μίτωση ξεκινά με την προ-φάση, κατά τη διάρκεια της οποίας τα χρωμοσώματα προσλαμβάνουν μεγάλα πρωτεϊνικά συμπλέγματα (condensin) και υποβάλλονται σε μία διαδικασία συμπίκνωσης η οποία συνεχίζεται μέχρι την μετα-φάση. Στα περισσότερα είδη, το πρωτεϊνικό σύμπλεγμα (cohesin) που συγκρατεί ενωμένες τις αδερφές χρωματίδες απομακρύνεται επιτρέποντάς τους να διαχωριστούν. Το πρωτεϊνικό αυτό σύμπλεγμα συγκρατείται, ωστόσο, στο πιο στενό τμήμα του χρωμοσώματος, το κεντρομερές. Επίσης, η έλικα αρχίζει να σχηματίζεται καθώς τα δύο ζεύγη κεντριολίων μετακινούνται στους αντίθετους πόλους και οι μικροσωληνίσκοι αρχίζουν να πολυμερίζονται από τα διπλά κεντροσώματα.
- ✚ **προ-μετά-φάση:** Η προ-μετά-φάση αρχίζει με τον απότομο κατακερματισμό του πυρηνικού φακέλου σε πολλά μικρά κυστίδια που τελικά θα διαιρεθούν μεταξύ των μελλοντικών θυγατρικών κυττάρων. Η κατάρρευση της πυρηνικής μεμβράνης είναι ένα ουσιαστικό βήμα για τη συναρμολόγηση της έλικας. Επειδή τα κεντροσώματα βρίσκονται έξω από τον πυρήνα στα ζωικά κύτταρα, οι μικροσωληνίσκοι της αναπτυσσόμενης έλικας δεν έχουν πρόσβαση στα χρωμοσώματα μέχρις ότου σπάσει η πυρηνική μεμβράνη. Η προ-μετά-φάση είναι ένα εξαιρετικά δυναμικό τμήμα του κυτταρικού κύκλου. Μικροσωληνίσκοι συναρμολογούνται και αποσυναρμολογούνται ταχύτατα καθώς αναπτύσσονται έξω από τα κεντροσώματα και αναζητούν θέσεις συνδέσεως με τα χρωμοσώματα στους κινητόχωρους, που είναι πολύπλοκες δομές σε σχήμα δίσκου που σχηματίζονται κατά τη διάρκεια της προ-μετά-φάσης στη μία όψη κάθε αδελφής χρωματίδας στο κεντρομερές της. Στην πορεία της φάσης αυτής, τα χρωμοσώματα έλκονται και οδηγούνται σε αντίθετες κατευθύνσεις με μικροσωληνίσκους που αναπτύσσονται από τους δύο πόλους του άξονα, έως ώτου οι πόλο-κατευθυνόμενες δυνάμεις είναι τελικά ισορροπημένες. Οι αδερφές χρωματίδες δεν διαχωρίζονται επειδή είναι σταθερά συνδεδεμένες μεταξύ τους με τις πρωτεΐνες που παραμένουν στα κεντρομερή τους. Στο τέλος της προ-μετά-φάσης, οι κινητόχωροι στις αδελφές χρωματίδες συνδέονται με μικροσωληνίσκους από τους αντίθετους πόλους της έλικας.
- ✚ **μετά-φάση:** Στη συνέχεια, τα χρωμοσώματα λαμβάνουν την πιο συμπιεσμένη κατάστασή τους κατά τη διάρκεια της μετά-φάσης, όταν τα κεντρομερίδια όλων των χρωμοσωμάτων του κυττάρου παρατάσσονται στον ισημερινό της ατράκτου. Η μετά-φάση είναι ιδιαίτερα χρήσιμη στην κυτταρογενετική, επειδή τα χρωμοσώματα είναι πιο εύκολα ορατά σε αυτό το στάδιο. Επιπλέον, τα

κύτταρα μπορούν να συλληφθούν πειραματικά στην μετά-φάση με μιτωτικά δηλητήρια όπως η κολχικίνη. Σε μικροσκοπικό επίπεδο τα χρωμοσώματα σταματούν προσωρινά να κινούνται κατά τη διάρκεια της μετά-φάσης. Ένας πολύπλοκος μηχανισμός ελέγχου καθορίζει εάν η έλικα είναι σωστά συναρμολογημένη, και ως επί το πλείστον, μόνο τα κύτταρα με σωστά συναρμολογημένη έλικα εισέρχονται στην ανά-φάση.

✚ **ανά-φάση:** Η εξέλιξη των κυττάρων από την μετά-φάση στην ανά-φάση χαρακτηρίζεται από τον απότομο διαχωρισμό των αδελφών χρωματίδων. Ένας σημαντικός λόγος για τον διαχωρισμό των χρωματίδων είναι η απότομη δάσπαση των πρωτεϊνικών μορίων που τις συγκρατούν ενωμένες από μία πρωτεάση (separin). Δύο ξεχωριστά είδη κινήσεων συμβαίνουν κατά τη διάρκεια της ανά-φάσης. Κατά τη διάρκεια του πρώτου μέρους της, οι κινητοχωρικοί μικροσωληνίσκοι συρρικνώνονται, και τα χρωμοσώματα κινούνται προς τους πόλους της ατράκτου. Κατά το δεύτερο μέρος της, οι πόλοι της ατράκτου διαχωρίζονται καθώς οι μικροσωληνίσκοι που δεν υνδέονται με κινητόχωρους μετακινούνται ο ένας προς τον άλλο. Αυτές οι τελευταίες κινήσεις επί του παρόντος πιστεύεται ότι καταλύονται από πρωτεΐνες που συνδέουν μικροσωληνίσκους με αντίθετη πολικότητα και στη συνέχεια "περπατούν" προς το τέλος των μικροσωληνίσκων.

✚ **τελό-φάση και κυτοκίνηση:** Η μίτωση τελειώνει με την τελό-φάση, ή το στάδιο στο οποίο τα χρωμοσώματα φτάνουν στους πόλους. Η πυρηνική μεμβράνη στη συνέχεια ανασχηματίζεται, και τα χρωμοσώματα αρχίζουν να αποσυμπυκνώνονται επιστρέφοντας στις διαμορφώσεις τους κατά την μεσόφάση. Την τελό-φάση ακολουθεί η κυτοκίνηση, ή η διαίρεση του κυτταροπλάσματος σε δύο θυγατρικά κύτταρα. Τα θυγατρικά κύτταρα που προκύπτουν από αυτή τη διαδικασία έχουν πανομοιότυπη γενετική σύνθεση.

Prophase	Prometaphase	Metaphase	Anaphase	Telophase	Cytokinesis
					
<ul style="list-style-type: none"> <li>Chromosomes condense and become visible</li> <li>Spindle fibers emerge from the centrosomes</li> <li>Nuclear envelope breaks down</li> <li>Nucleolus disappears</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Chromosomes continue to condense</li> <li>Kinetochores appear at the centromeres</li> <li>Mitotic spindle microtubules attach to kinetochores</li> <li>Centrosomes move toward opposite poles</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Mitotic spindle is fully developed, centrosomes are at opposite poles of the cell</li> <li>Chromosomes are lined up at the metaphase plate</li> <li>Each sister chromatid is attached to a spindle fiber originating from opposite poles</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Cohesin proteins binding the sister chromatids together break down</li> <li>Sister chromatids (now called chromosomes) are pulled toward opposite poles</li> <li>Non-kinetochore spindle fibers lengthen, elongating the cell</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Chromosomes arrive at opposite poles and begin to decondense</li> <li>Nuclear envelope material surrounds each set of chromosomes</li> <li>The mitotic spindle breaks down</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Animal cells: a cleavage furrow separates the daughter cells</li> <li>Plant cells: a cell plate separates the daughter cells</li> </ul>
					
<div style="border: 1px solid black; width: 100%; height: 10px; margin-bottom: 5px;"></div> <b>MITOSIS</b>					

**Σχήμα 2.** Οι περίοδοι της μιτωτικής φάσης ενός ευκαρρυωτικού κυττάρου, η σχηματική απεικόνιση και οι διεργασίες που λαμβάνουν χώρα σε κάθε μία από αυτές ([www.khanacademy.org](http://www.khanacademy.org)).

Στην παράγραφο 2.1 όπου θα παρουσιάσουμε το διάγραμμα συνδεσμολογίας του μοντέλου θα γίνει και η περιγραφή της διαδικασίας της μίτωσης του κυτταρικού κύκλου του *Xenopus laevis* σε βήματα έτσι ώστε να γίνει ευκολότερα κατανοητή.

## 2. Παρουσίαση του μοντέλου

---

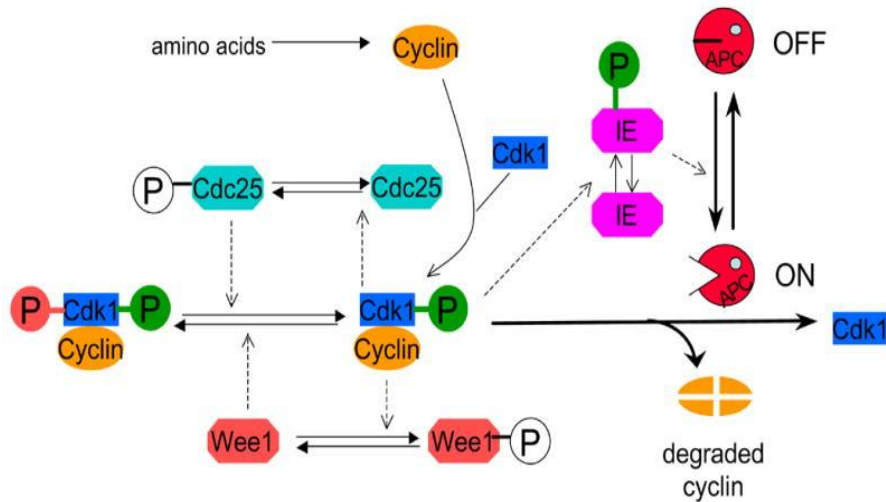
Προκειμένου να μπορέσουμε να μελετήσουμε την μιτωτική φάση του *Xenopus laevis* είναι απαραίτητο να κατασκευάσουμε ένα μαθηματικό μοντέλο το οποίο θα περιγράφει την δυναμική συμπεριφορά του συστήματος που αφορά την M – φάση του *Xenopus laevis*. Η διαδικασία αυτής της κατασκευής του μοντέλου περιλαμβάνει την δημιουργία ενός διαγράμματος συνδεσμολογίας, τον ορισμό ενός συστήματος διαφορικών εξισώσεων που θα περιγράφει πλήρως το μοντέλο, την παραμετροποίηση του συστήματος, τις προσομοιώσεις για τον έλεγχο εγκυρότητας του μοντέλου, την βελτιστοποίηση των παραμέτρων και τέλος τον πειραματικό έλεγχο του μοντέλου.

### 2.1 Διάγραμμα συνδεσμολογίας

Το πρώτο βήμα στη διαδικασία μοντελοποίησης είναι να οργανώσουμε τις γνωστές αλληλεπιδράσεις των σχετικών μορίων σε έναν εννοιολογικό χάρτη ή σε ένα διάγραμμα συνδεσμολογίας. Ένα απλό διάγραμμα που αναπαριστά τον βασικό μηχανισμό ρύθμισης των μιτωτικών μεταβολών στα δείγματα αυγού από *Xenopus* απεικονίζεται στο Σχήμα 3. Το διάγραμμα απεικονίζει κάθε βιοχημική οντότητα με μία ξεχωριστή εικόνα. Για παράδειγμα, η φωσφορυλιωμένη μορφή της κινάσης Wee1 αναπαριστάται με μια τροποποιημένη εκδοχή της εικόνας για την μη φωσφορυλιωμένη Wee1. Τα συμπαγή βέλη υποδεικνύουν χημικές μεταβολές μεταξύ καταστάσεων και τα διακεκομμένα βέλη παριστούν ένα σήμα διαμόρφωσης σε μία βιοχημική αντίδραση (συχνά την καταλυτική επίδραση ενός ενζύμου). Επειδή δεν υπάρχουν καθολικές συμβάσεις για την κατασκευή τέτοιων διαγραμμάτων, όλα τα σύμβολα πρέπει να οριστούν ρητά και να χρησιμοποιούνται με συνέπεια. Ας ελπίσουμε ότι αυτοί που ασχολούνται με αυτό το πεδίο θα υιοθετήσουν έναν κοινό συμβολισμό στο κοντινό μέλλον διευκολύνοντας την ανταλλαγή πληροφοριών μεταξύ διαγραμμάτων συνδεσμολογίας και μαθηματικών μοντέλων με τα οποία σχετίζονται.

Παρά την πληθώρα πληροφοριών σχετικά με τα δίκτυα σηματοδότησης του κυτταρικού κύκλου, μπορεί να υπάρχουν κενά στη γνώση τέτοια ώστε κάποια μέρη του διαγράμματος να μην μπορούν να συνδεθούν με βεβαιότητα. Δεν είναι βέβαια απαραίτητο ούτε και προτείνεται να αναβάλλουμε επ' αόριστον την διαδικασία μοντελοποίησης ωστόσο κατανοηθούν όλες οι μοριακές λεπτομέρειες του διαγράμματος συνδεσμολογίας. Αντ' αυτού, τα κενά αυτά μπορούν να αναπληρωθούν με «υποκατάστατα». Τα «υποκατάστατα» αυτά μπορεί να είναι γενικά για τα οποία οι παράμετροι θα επιλεγούν εμπειρικά για να μοντελοποιήσουμε την συμπεριφορά του συστήματος χωρίς την λεπτομερή αναπαράσταση του μοριακού μηχανισμού. Η προσέγγιση αυτή μας επιτρέπει να προχωρήσουμε στην μοντελοποίηση για να ανακαλύψουμε τις ιδιότητες του συνολικού συστήματος καθώς και συγκεκριμένα

χαρακτηριστικά των τμημάτων του διαγράμματος για τα οποία έχουμε επαρκή πληροφορία. Εναλλακτικά, μπορεί να δημιουργηθεί ένα πιο εξειδικευμένο «υποκατάστατο» που κάνει κάποιες μη δοκιμασμένες παραδοχές σχετικά με τον μοριακό μηχανισμό. Αυτές οι παραδοχές στο διάγραμμα συνδεσμολογίας θα ελεγχθούν στις προσομοιώσεις του μοντέλου για να αποφασίσουμε αν είναι συνεπείς με ήδη γνωστές συμπεριφορές του συστήματος.



**Σχήμα 3.** Διάγραμμα συνδεσμολογίας που αναπαριστά το βασικό μηχανισμό ρύθμισης της μίτωσης σε δείγματα αυγού του *Xenopus laevis*. Κεντρικά στο διάγραμμα απεικονίζεται το ενεργό διμερές cyclin – Cdk1 (αναφέρεται επίσης και ως MPF), με την ενεργοποιητική φωσφορυλίωση στην θρεονίνη 161 που απεικονίζεται με πράσινο ‘P’. Η φωσφορυλίωση στην θρεονίνη 161 γίνεται ακαριαία και γι’ αυτό απουσιάζει από το διάγραμμα και τις μαθηματικές εξισώσεις. Τα διπλά βέλη υποδεικνύουν την αντιστρεψιμότητα της διεργασίας. Τα ανασταλτικά φωσφορικά άλατα αναπαρίστανται με κοκκινο ‘P’ και η επιδράση της σχετικής κινάσης (*Wee1*) και φωσφατάσης (*Cdc25*) αντίστοιχα απεικονίζονται με τα διακεκομμένα βέλη (Sible & Tyson, 2007).

Όταν το διάγραμμα συνδεσμολογίας που απεικονίζεται στο Σχήμα 3 κατασκευάστηκε για πρώτη φορά (Novak & Tyson, 1993) λίγη πληροφορία ήταν γνωστή σχετικά με τους μηχανισμούς ρύθμισης της εξόδου από την μίτωση. Πειραματικά δεδομένα πρότειναν ότι το MPF προκαλεί την διαβάθμιση της κυκλίνης (Felix et al., 1990) και ένα μαθηματικό μοντέλο έδειξε ότι μια χρονική καθυστέρηση σε αυτό τον βρόγχο αρνητικής ανάδρασης θα μπορούσε να δημιουργήσει συνεχείς ταλαντώσεις (Chen et al., 2000). Βασισμένοι σε αυτή την πληροφορία, το διάγραμμα συνδεσμολογίας κατασκευάστηκε με ένα ενδιάμεσο στοιχείο (αποκαλούμενο IE) που φωσφορυλιώνεται από το MPF, κι έπειτα ενεργοποιείται από το APC πυροδοτώντας την πολυουβικουτίνωση και την ακόλουθη διαβάθμιση της κυκλίνης (Novak & Tyson, 1993). Μερικά χρόνια αργότερα, όταν ανακαλύφθηκαν οι λεπτομέρειες του

μονοπατιού ουβικουικιτίνης – πρωτεασώματος που διέπει την διαβάθμιση της κυκλίνης, το IE αντικαταστάθηκε από το Fizzy/Cdc20 και συστατικά του APC (Kramer et al., 1998; Lorca et al., 1998) αλλά τα θεμελιώδη χαρακτηριστικά του μοντέλου παρέμειναν ίδια.

Πιο αναλυτικά ο μηχανισμός του μιτωτικού κυτταρικού κύκλου λειτουργεί ως εξής:

Η Μ-φάση ενεργοποιείται από μία πρωτεϊνική κινάση (MPF), η οποία είναι ένα ετεροδιμερές που συντίθεται από μία καταλυτική υπομονάδα (Cdc2 κινάση) και μία ρυθμιστική υπομονάδα (κυκλίνη Β). Το επίπεδο της πρωτεΐνης Cdc2 παραμένει σταθερό καθ' όλη τη διάρκεια του κυτταρικού κύκλου, ενώ η κυκλίνη διαβαθμίζεται περιοδικά. Η δραστηριότητα του MPF ρυθμίζεται από τρεις σημαντικές τοποθεσίες φωσφορυλίωσης: μία ενεργοποιητική τοποθεσία φωσφορυλίωσης στην θρεονίνη161 (thr161) και δύο ανασταλτικές τοποθεσίες φωσφορυλίωσης στην θρεονίνη14 (thr14) και στην τυροσίνη15 (Tyr15 ή Y). Στον *Xenopus* οι δύο ανασταλτικές τοποθεσίες αποφωσφορυλιώνονται ταυτόχρονα, οπότε αρκεί να παρακολουθούμε μόνο την κατάσταση φωσφορυλίωσης της τυροσίνης15. Υπάρχουν επομένως τέσσερις καταστάσεις φωσφορυλίωσης του διμερούς Cdc2-cyclin. Οι τέσσερις καταστάσεις φωσφορυλίωσης ενδομετατρέπονται από κινάσεις και φωσφατάσεις. Στα δείγματα *Xenopus*, η θρεονίνη161 φωσφορυλιώνεται από ένα ένζυμο που λέγεται CAK (Cdc2 ενεργοποιητική κινάση) και αποφωσφορυλιώνεται από την INH (μία ανασταλτική πρωτεϊνική φωσφατάση τύπου 2A). Η κινάση και η φωσφατάση που ρυθμίζουν την φωσφορυλίωση της τυροσίνης15 είναι οι Wee1 και Cdc25, πήραν το όνομά τους από τα γονίδια *wee1* και *cdc25* που κωδικοποιούν λειτουργικώς ομόλογα ένζυμα στο *fission yeast* (είδος μύκητα). Η ενεργή μορφή του MPF φωσφορυλιώνεται στην θρεονίνη161 αλλά όχι στην τυροσίνη15. Το ενεργό MPF εισάγει την Μ φάση με την φωσφορυλίωση κάποιων πρωτεϊνών – στόχων που εμπλέκονται στα σπουδαιότερα στάδια της μίτωσης.

Η δέσμευση της κυκλίνης διευκολύνει τις φωσφορυλίώσεις των υπομονάδων Cdc2. Ελεύθερα μονομερή Cdc2 υπάρχουν πρωτίστως στην αποφωσφορυλιωμένη μορφή και υπομονάδες κυκλίνης που συνθέτονται δεσμεύουν αυτά τα μονομερή για να σχηματίσουν τα μη φωσφορυλιωμένα διμερή. Στα δείγματα ωοκυττάρων του *Xenopus*, μη φωσφορυλιωμένα διμερή φωσφορυλιώνονται γρήγορα στην τυροσίνη15 και κατά ένα μεγάλο μέρος στην θρεονίνη161. Έτσι, κατά τη διάρκεια της ενδοφάσης τα διμερή MPF συσσωρεύονται σε δύο αδρανείς μορφές που φωσφορυλιώνονται στην τυροσίνη15, η επικρατούσα διπλά φωσφορυλιωμένη μορφή. Η μετάβαση από την μεσό-φάση στην μίτωση προκαλείται από μία απότομη αποφωσφορυλίωση των μορφών αυτών στην τυροσίνη15.

Η ενεργοποίηση του MPF στα δείγματα ωοκυττάρων, δηλαδή η μετατροπή του από την διπλά φωσφορυλιωμένη μορφή στην φωσφορυλιωμένη στην θρεονίνη μορφή είναι απότομη γιατί η δραστηριότητα της Wee1 και της Cdc25 εξαρτώνται από τη δραστηριότητα του MPF: Η Wee1 αναστέλλεται από το ενεργό MPF και η Cdc25

ενεργοποιείται. Η ενεργοποίηση της Cdc25 πραγματοποιείται με φωσφορυλίωση και η Cdc25 είναι ένα υπόστρωμα για την B-Cdc25. Υποθέτουμε ότι η Wee1 ρυθμίζεται παρόμοια. Η αυτοκαταλυτική φυση της ενεργοποίησης του MPF στα ωκύτταρα και στα δείγματα είναι αποδοτική στην ανάδραση του MPF στις δραστηριότητες των Wee1 και Cdc25. Μόνο μία τέτοια ανάδραση είναι απαραίτητη για αυτοκατάλυση ενώ άλλα πειράματα προτείνουν ότι δύο αναδράσεις είναι λειτουργικές.

Τα διμερή Cdc2-cyclin είναι διασπασμένα από τη διαβάθμιση της κυκλίνης. Η κυκλίνη καταστρέφεται από ένα ένζυμο συζευγμένης ουβικουιτίνης και η δράση του ενζύμου αυτού (όπως των Wee1 και Cdc25) ρυθμίζεται επίσης από το MPF. Η ενεργοποίηση του μονοπατιού διαβάθμισης της κυκλίνης εμφανίζεται έμμεσα διότι υπάρχει μια σημαντική χρονική καθυστέρηση ανάμεσα σε μια άνοδο της δραστηριότητας του MPF και στην επακόλουθη διαβάθμιση της κυκλίνης. Αυτή η χρονική καθυστέρηση έχει σημαντικές επιπτώσεις στη δυναμική του μιτωτικού κύκλου και γι' αυτό την εισάγουμε στο μοντέλο μας ένα ένζυμο-μεσολαβητή (intermediary IE) μεταξύ του MPF και του ενζύμου συζευγμένης ουβικουιτίνης (Ube).

Όταν ενεργοποιείται το MPF το σύστημα ουβικουιτίνωσης τίθεται σε λειτουργία και (υποθέτουμε) όλες οι υπομονάδες κυκλίνης (δεσμευμένες και ελεύθερες) σημειώνονται και καταστρέφονται με τον ίδιο ρυθμό. Τα φωσφορυλιωμένα μονομερή Cdc2 που απελευθερώνονται αποφωσφορυλιώνονται ταχέως κι έτσι παρακολουθούμε μόνο το μη φωσφορυλιωμένο μονομερές Cdc2.

Παρακάτω περιγράφεται η ακολουθία των διαδικασιών που λαμβάνουν χώρα κατά τη λειτουργία του μηχανισμού του μιτωτικού κυτταρικού κύκλου:

1. Η κυκλίνη συντίθεται από αμινοξέα.
2. Όταν η Cdk1 δεσμευτεί με την κυκλίνη σχηματίζει το διμερές MPF.
3. Το MPF (διμερές Cdk1-cyclin) έχει την ενεργοποιητική τοποθεσία (θρεονίνη161) και την ανασταλτική (τυροσίνη15).
4. Το MPF είναι αρχικά αδρανές εξαιτίας της κινάσης Wee1. Η Wee1 ρυθμίζει το μέγεθος του κυττάρου. Υπάρχει ένας βρόγχος ανάδρασης που ελέγχει το μέγεθος του κυττάρου και η Wee1 διατηρεί το MPF αδρανές μέχρι το κύτταρο να έχει το καταλληλο μέγεθος για να ξεκινήσει η μίτωση. Η αδρανοποίηση του MPF από την Wee1 επιτυγχάνεται με φωσφορυλίωση της τυροσίνης15 (αμινοξύ που περιέχεται στην Cdk1) και έτσι αναστέλλει την είσοδο στην μίτωση.
5. Η φωσφορυλίωση της τυροσίνης15 ενεργοποιεί την φωσφατάση Cdc25. Η Cdc25 ελέγχει την είσοδο στην μίτωση. Η Cdc25 ενεργοποιείται με την φωσφορυλίωση του MPF. Υπάρχει ένας βρόγχος ανάδρασης που ελέγχει αν η τυροσίνη15 είναι



φωσφορυλιωμένη και την αποφωσφορυλιώνει. Η Cdc25 δηλαδή, ενεργοποιείται όταν η τυροσίνη15 φωσφορυλιώνεται από την Wee1. Επομένως, όταν το κύτταρο φτάσει στο κατάλληλο μέγεθος η Cdc25 δεν ενεργοποιείται, εφόσον η Wee1 δεν φωσφορυλιώνει την τυροσίνη15, οπότε επιτρέπεται η είσοδος στην μίτωση.

6. Η ενεργοποίηση του MPF επιτυγχάνεται με την φωσφορυλίωση της θρεονίνης 161 από την CAK (cdc2 activating kinase) και ξεκινάει η μίτωση.
7. Μόλις ολοκληρωθεί η μίτωση, για την απενεργοποίηση του MPF και την έξοδο από την μίτωση απαιτείται η διάσπαση της κυκλίνης.
8. Η διάσπαση της κυκλίνης πραγματοποιείται από το κυκλόσωμα (cyclosome) ή APC (anaphase-promoting complex).
9. Το APC είναι μία λιγάση ουβικουιτίνης που μαρκάρει πρωτεΐνες-στόχους του κυτταρικού κύκλου οι οποίες προορίζονται για διάσπαση.
10. Το APC ενεργοποιείται με φωσφορυλίωση από το MPF.
11. Μόλις ενεργοποιηθεί το APC ξεκινάει η διαδικασία ουβικουιτίνωσης. Η κυκλίνη που πρόκειται να διασπαστεί ενώνεται με μια μικρή πρωτεΐνη που ονομάζεται ουβικουιτίνη. Η αντίδραση της σύνδεσης αυτής καταλύεται από ένζυμα που ονομάζονται λιγάσες ουβικουιτίνης. Μόλις η πρωτεΐνη που οδεύει προς διάσπαση συνδεθεί με ένα μόριο ουβικουιτίνης, αυτό σηματοδοτεί σε άλλες λιγάσες να προσεγγίσουν επιπλέον μόρια ουβικουιτίνης. Το αποτέλεσμα είναι μια πολυουβικουιτινική αλυσίδα η οποία συνδέεται με το πρωτεάσωμα επιτρέποντάς του να διασπάσει την κυκλίνη.
12. Υπάρχει ένας βρόγχος αρνητικής ανάδρασης που απενεργοποιεί το MPF διασπώντας την κυκλίνη. Κατ' επέκταση το APC απενεργοποιείται.
13. Ωστόσο παρατηρείται μια κινητική υστέρηση της ενεργοποίησης του APC από το MPF. Για το λόγο αυτό προσθέσαμε στο διάγραμμα το ΙΕ (intermediate enzyme). Η υστέρηση αυτή εξηγείται μερικώς με την υπόθεση ότι η αρχικές αργές φωσφορυλιώσεις επιταχύνονται λόγω της συνεισφοράς της Suc1 (πρωτεΐνη που περιέχει ποσότητες φωσφορικού άλατος και συμπράττει με την Cdk1). Πρόσφατες έρευνες έδειξαν ότι η ενεργοποίηση του APC διεγείρεται από μία πρωτεΐνη Fizzy (Drosophilla)/Cdc20 (budding yeast)/SLP1 (fission yeast)/X-fzy1 (Xenopus).

Στο παράρτημα, στο τέλος της εργασίας, ο αναγνώστης θα βρει μία λίστα που περιλαμβάνει τα βασικά συστατικά του μηχανισμού που διέπει τον μιτωτικό κύκλο και την λειτουργία τους.

## 2.2 Το σύστημα των διαφορικών εξισώσεων

Αφού έχουμε αναπαραστήσει διαγραμματικά το μοντέλο, πρέπει οι βιοχημικές σχέσεις να μετατραπούν στη γλώσσα των μαθηματικών με τη μορφή μη γραμμικών συνήθων διαφορικών εξισώσεων. Γράφουμε μία εξίσωση ρυθμού μεταβολής για κάθε βιοχημική οντότητα της οποίας η συγκέντρωση μεταβάλλεται με το χρόνο. Το δεξιό μέλος της εξίσωσης περιλαμβάνει ένα θετικό όρο για κάθε βέλος (του διαγράμματος) που κατευθύνεται προς αυτή την οντότητα και έναν αρνητικό όρο για κάθε βέλος που κατευθύνεται μακριά από την οντότητα. Η κινητική (νόμοι κίνησης) που θα επιλέξουμε πρέπει να είναι κατάλληλη για τις περισσότερες βιοχημικές αντιδράσεις εκτός αν [υπόστρωμα] $\gg$ [ένζυμο], όπου στην περίπτωση αυτή πρέπει να εφαρμόσουμε την κινητική Michaelis - Menten.

Στην βιοχημεία, η κινητική Michaelis – Menten είναι από τα πιο διαδεδομένα μοντέλα κινητικής των ενζύμων. Το μοντέλο έχει την μορφή μιας εξίσωσης που περιγράφει τον ρυθμό μεταβολής της ενζυμικής αντίδρασης, συσχετίζοντας τον ρυθμό μεταβολής της αντίδρασης  $v$  με το  $[S]$ , την συγκέντρωση του υποστρώματος  $S$ . Ο τύπος της εξίσωσης είναι (Novak & Tyson, 1993):

$$v = \frac{d[P]}{dt} = \frac{V_{max}[S]}{K_M + [S]} \quad (2.2.1)$$

όπου  $V_{max}$  είναι ο μέγιστος ρυθμός μεταβολής που επιτυγχάνεται από το σύστημα κατά την μέγιστη συγκέντρωση υποστρώματος και η σταθερά  $K_M$  είναι η συγκέντρωση του υποστρώματος όταν ο ρυθμός μεταβολής της αντίδρασης είναι το μισό του  $V_{max}$ .

Στο παράδειγμά μας του βασικού μιτωτικού μηχανισμού, η εξίσωση του ρυθμού μεταβολής της συγκέντρωσης μονομερών κυκλίνης βασίζεται στο νόμο μάζας-ενέργειας (ο ρυθμός μεταβολής μιας χημικής αντίδρασης είναι ανάλογος του γινομένου των συγκεντρώσεων των οντοτήτων που συμμετέχουν στην αντίδραση):

$$\frac{d}{dt} [Cyclin] = k_1 - k_2 [Cyclin] - k_3 [Cyclin][Cdk].$$

Η εξίσωση του ρυθμού μεταβολής για το [MPF] βασίζεται επίσης στο νόμο μάζας-ενέργειας:

$$\frac{d}{dt} [MPF] = k_3 [Cyclin][Cdk] - k_2 [MPF] - k_{wee} [MPF] + k_{25} [preMPF].$$

Μια παρόμοια εξίσωση αφορά το [preMPF]. Το [Cdk], η συγκέντρωση μονομερών Cdk, διέπεται όχι από μια συνήθη διαφορική εξίσωση αλλά από μια συνθήκη ισορροπίας:

$$[Total\ Cdk] = [Cdk] + [MPF] + [preMPF] = constant.$$

Υποθέτουμε ότι  $[Total\ Cdk] = 100\ nM$  σε ένα τυπικό δείγμα αυγού βατράχου.

Το πλήρες σύστημα διαφορικών εξισώσεων για τη ρύθμιση του μοντέλου της Μ-φάσης φαίνεται στον Πίνακα 1. Αυτή η πρόσφατη εκδοχή του μοντέλου χρησιμοποιεί Michaelis - Menten κινητική για να περιγράψει τους ρυθμούς μεταβολής των ρυθμιστικών ενζύμων, Cdc25 και Wee1. Εξαιτίας της θετικής ανάδρασης μεταξύ του MPF και του Cdc25 καθώς και του MPF και του Wee1, η υπόθεση ότι  $[ένζυμο] \ll [υπόστρωμα]$  μπορεί να μην είναι έγκυρη. Σε πιο πρόσφατες επαναλήψεις του μοντέλου, οι εξισώσεις αυτές έχουν ξαναγραφτεί με κινητική μάζας-ενέργειας και έχουν ανακαλυφθεί σύνολα παραμέτρων που αναπαράγουν τις θεμελιώδεις συμπεριφορές του συστήματος.

1.  $\frac{d}{dt} [Cyclin] = k_1 - k_2 [Cyclin] - k_3 [Cyclin] [Cdk]$
2.  $\frac{d}{dt} [MPF] = k_3 [Cyclin] [Cdk] - k_2 [MPF] - k_{wee} [MPF] + k_{25} [preMPF]$
3.  $\frac{d}{dt} [preMPF] = -k_2 [preMPF] + k_{wee} [MPF] - k_{25} [preMPF]$
4.  $\frac{d}{dt} [Cdc25P] = \frac{k_a [MPF] ([total\ Cdc25] - [Cdc25P])}{K_a + [total\ Cdc25] - [Cdc25P]} - \frac{k_b [PPase] [Cdc25P]}{K_b + [Cdc25P]}$
5.  $\frac{d}{dt} [Wee1P] = \frac{k_e [MPF] ([total\ Wee1] - [Wee1P])}{K_e + [total\ Wee1] - [Wee1P]} - \frac{k_f [PPase] [Wee1P]}{K_f + [Wee1P]}$
6.  $\frac{d}{dt} [IEP] = \frac{k_g [MPF] ([total\ IE] - [IEP])}{K_g + [total\ IE] - [IEP]} - \frac{k_h [PPase] [IEP]}{K_h + [IEP]}$
7.  $\frac{d}{dt} [APC] = \frac{k_c [MPF] ([total\ APC] - [APC])}{K_c + [total\ APC] - [APC]} - \frac{k_d [PPase] [APC]}{K_d + [APC]}$
8.  $[Cdk] = [Total\ Cdk] - [MPF] - [preMPF]$
9.  $k_{25} = V_{25}' ([Total\ Cdc25] - [Cdc25P]) + V_{25}'' [Cdc25P]$
10.  $k_{wee} = V_{wee}' [Wee1P] + V_{wee}'' ([Total\ Wee1] - [Wee1P])$
11.  $k_2 = V_2' ([Total\ APC] - [APC]) + V_2'' [APC]$

**Πίνακας 1.** Το σύστημα των συνήθων διαφορικών εξισώσεων 1ης τάξης για την ρύθμιση της Μ – φάσης του *Xenopus laevis* (Novak & Tyson, 1993).

Ακολουθεί η αναλυτική περιγραφή των διαφορικών εξισώσεων:

$$1. \frac{d}{dt} [Cyclin] = k_1 - k_2 [Cyclin] - k_3 [Cyclin][Cdk] \quad (2.2.2),$$

όπου  $k_1$  είναι η σταθερά αναλογίας για την σύθεση της κυκλίνης,  $k_2$  είναι μία συνάρτηση που περιγράφει την δραστηριότητα του APC στην προώθηση της διάσπασης της κυκλίνης και  $k_3$  είναι η σταθερά αναλογίας της συνεισφοράς μονομερών κυκλίνης και μονομερών Cdk για τον σχηματισμό διμερών MPF. Τα διμερή αυτά φωσφορυλιώνονται στην θρεονίνη161 για να ενεργοποιηθεί το MPF. Επειδή η αντίδραση αυτή είναι γρήγορη και ουσιαστικά μη αναστρέψιμη, έχουμε δικαίωμα να παραλείψουμε τις μη φωσφορυλιωμένες μορφές θρεονίνης161 του MPF.

$$2. \frac{d}{dt} [MPF] = k_3 [Cyclin][Cdk] - k_2 [MPF] - k_{wee} [MPF] + k_{25} [preMPF] \quad (2.2.3),$$

όπου  $k_{wee}$  είναι η σταθερά αναλογίας φωσφορυλίωσης,  $k_{25}$  είναι η σταθερά αναλογίας αποφωσφορυλίωσης.

$$3. \frac{d}{dt} [preMPF] = -k_2 [preMPF] + k_{wee} [MPF] - k_{25} [preMPF] \quad (2.2.4),$$

όπου  $preMPF$  είναι η συγκέντρωση διμερών MPF σε φωσφορυλιωμένη μορφή.

$$4. \frac{d}{dt} [Cdc25P] = \frac{k_a [MPF] ([total\ Cdc25] - [Cdc25P])}{K_a + [total\ Cdc25] - [Cdc25P]} - \frac{k_b [PPase] [Cdc25P]}{K_b + [Cdc25P]} \quad (2.2.5),$$

όπου  $[Cdc25P]$  είναι η συγκέντρωση του Cdc25 σε φωσφορυλιωμένη μορφή. Επίσης,  $[total\ Cdc25] = [Cdc25] + [Cdc25P]$ , όπου  $[Cdc25]$  είναι η συγκέντρωση του Cdc25 σε μη φωσφορυλιωμένη μορφή,  $k_a$  μια συνάρτηση που περιγράφει την δραστηριότητα του MPF στην φωσφορυλιωμένη μορφή και  $k_b$  σταθερά αναλογίας συνεισφοράς φωσφορικών ομάδων και Cdc25 για το σχηματισμό του Cdc25P. Προφανώς,  $[PPase]$  είναι η συγκέντρωση φωσφορικών ομάδων.

$$5. \frac{d}{dt} [Wee1P] = \frac{k_e [MPF] ([total\ Wee1] - [Wee1P])}{k_e + [total\ Wee1] - [Wee1P]} - \frac{k_f [PPase] [Wee1P]}{k_f + [Wee1P]} \quad (2.2.6),$$

όπου  $[Wee1P]$  είναι η συγκέντρωση του Wee1 σε φωσφορυλιωμένη μορφή. Επίσης,  $[total\ Wee1] = [Wee1] + [Wee1P]$ , όπου  $[Wee1]$  είναι η συγκέντρωση του Wee1 σε μη φωσφορυλιωμένη μορφή,  $k_e$  μια συνάρτηση που περιγράφει την δραστηριότητα του MPF στην αποφωσφορυλιωμένη μορφή και  $k_f$  σταθερά αναλογίας συνεισφοράς φωσφορικών ομάδων και Wee1 για το σχηματισμό του Wee1P.

$$6. \frac{d}{dt} [IEP] = \frac{k_g[MPF]([total\ IE]-[IEP])}{k_g+[Total\ IE]-[IEP]} - \frac{k_h[PPase][IEP]}{k_h+[IEP]} \quad (2.2.7),$$

όπου  $[IEP]$  είναι η συγκέντρωση του  $IE$  σε φωσφορυλιωμένη μορφή. Επίσης,  $[total\ IE]=[IE]+[IEP]$ , όπου  $[IE]$  είναι η συγκέντρωση του  $Wee1$  σε μη φωσφορυλιωμένη μορφή,  $k_g$  μια συνάρτηση που περιγράφει την δραστηριότητα του ενεργού  $MPF$  κατά την δράση του  $IE$  και  $k_h$  σταθερά αναλογίας συνεισφοράς φωσφορικών ομάδων και  $IE$  για το σχηματισμό του  $IEP$ .

$$7. \frac{d}{dt} [APCP] = \frac{k_c[MPF]([total\ APC]-[APC^*])}{k_c+[Total\ APC]-[APC^*]} - \frac{k_d[PPase][APC^*]}{k_d+[APC^*]} \quad (2.2.8),$$

όπου  $[APCP]$  είναι η συγκέντρωση του  $APC$  σε φωσφορυλιωμένη μορφή. Επίσης,  $[total\ APC]=[APC]+[APCP]$ , όπου  $[APC]$  είναι η συγκέντρωση του  $APC$  σε μη φωσφορυλιωμένη μορφή,  $k_c$  μια συνάρτηση που περιγράφει την δραστηριότητα του ενεργού  $MPF$  κατά την ενεργοποίηση του  $APC$  και  $k_d$  σταθερά αναλογίας συνεισφοράς φωσφορικών ομάδων και  $APC$  για το σχηματισμό του  $APCP$ .

$$8. [Cdk] = [Total\ Cdk] - [MPF] - [preMPF] \quad (2.2.9)$$

$$9. k_{25} = V'_{25}([Total\ Cdc25] - [Cdc25P]) + V''_{25}[Cdc25P] \quad (2.2.10)$$

$$10. k_{wee} = V'_{wee}[Wee1P] + V''_{wee}([Total\ Wee1] - [Wee1P]) \quad (2.2.11)$$

$$11. k_2 = V'_2([Total\ APC] - [APC^*]) + V''_2[APC^*] \quad (2.2.12)$$

Οι τρεις τελευταίες εξισώσεις εκφράζουν την εξάρτηση των σταθερών αναλογίας  $k_{25}$ ,  $k_{wee}$  και  $k_2$  από τις συγκεντρώσεις των λιγότερο ή περισσότερο ενεργών μορφών των αντίστοιχων ενζύμων. Οι παράμετροι  $V'_i$  και  $V''_i$  είναι αντίστροφοι αριθμοί για τις λιγότερο και περισσότερο ενεργές μορφές αντίστοιχα.

## 2.3 Επιλογή των τιμών των παραμέτρων

Το επόμενο βήμα στην διαδικασία μοντελοποίησης είναι η επιλογή ενός προκαταρκτικού συνόλου παραμέτρων (σταθερές αναλογίας για κάθε αντίδραση). Το πρόβλημα εδώ είναι πως για πολλά μοντέλα, μερικές αν όχι καμμία από αυτές τις παραμέτρους δεν έχουν μετρηθεί άμεσα. Για το λόγο αυτό, το αρχικό σύνολο παραμέτρων πρέπει να επιλεγεί με βάση ημιποσοτικά δεδομένα, έμμεσες μετρήσεις και τυπικά, ως ένα βαθμό σε εικασίες.

Παρόλο που οι σταθερές αναλογίας των ενζύμων σπάνια μετρώνται ή αναφέρονται άμεσα, λογικές εκτιμήσεις μπορούμε να εξαγάγουμε από άλλες μελέτες, οι οποίες είναι πάμπολες στην βιβλιογραφία του κυτταρικού κύκλου. Ο Πίνακας 2

περιέχει αναλυτικά τις εκτιμήσεις κατά **Marlovits et al. (1998)** για τις σταθερές αναλογίας και τις παραμέτρους των συνήθων διαφορικών εξισώσεων του Πίνακα 1.

<b>Διαφορικές εξισώσεις</b>	
$dCyclin/dt = k1 - k2 * Cyclin - k3 * Cyclin * Cdk$	
$dMPF/dt = k3 * cyclin * Cdk - k2 * MPF - k_{wee} * MPF + k_{25} * preMPF$	
$dpreMPF/dt = k_{wee} * MPF - k_{25} * preMPF - k2 * preMPF$	
$dCdc25P/dt = F(TotCdc25 - Cdc25P, MPF, k_a, K_{Ka}) - F(Cdc25P, PPase, k_b, K_{Kb})$	
$dWee1P/dt = F(TotWee1 - Wee1P, MPF, k_e, K_{Ke}) - F(Wee1P, PPase, k_f, K_{Kf})$	
$dIEP/dt = F(TotIE - IEP, MPF, k_g, K_{Kg}) - F(IEP, PPase, k_h, K_{Kh})$	
$dAPC/dt = F(TotAPC - APC, IEP, k_c, K_{Kc}) - F(APC, PPase, k_d, K_{Kd})$	
<b>Εξίσωση διατήρησης των υπομονάδων Cdk</b>	
$Cdk = TotCdk - MPF - preMPF$	
<b>Συναρτήσεις αναλογίας που ενσωματώνουν τα ρυθμιστικά σήματα</b>	
$k_{25} = V_{25}' * (TotCdc25 - Cdc25P) + V_{25}'' * Cdc25P$	
$k_{wee} = V_{wee}' * Wee1P + V_{wee}'' * (TotWee1 - Wee1P)$	
$k_2 = V_2' * (TotAPC - APC) + V_2'' * APC$	
<b>Νόμος Michaelis-Menten</b>	
$F(S, E, k, K_m) = k * E * S / (K_m + S)$	
<b>Τιμές των παραμέτρων</b>	<b>Αρχικές συνθήκες</b>
$K_1 = 1$	$Cyclin = 0$
$V_2' = 0.005$	$MPF = 0$
$V_2'' = 0.25$	$preMPF = 0$
$k_3 = 0.005$	$Cdc25P = 0$
$V_{25}' = 0.017$	$Wee1P = 0$
$V_{25}'' = 0.17$	$IEP = 1$
$V_{wee}' = 0.01$	$APC = 1$
$V_{wee}'' = 1$	
$k_a = 0.02$	
$K_{Ka} = 0.1$	
$k_b = 0.1$	
$K_{Kb} = 1$	
$k_c = 0.13$	
$K_{Kc} = 0.01$	
$k_d = 0.13$	
$K_{Kd} = 1$	
$k_e = 0.02$	
$K_{Ke} = 0.1$	
$k_f = 0.1$	
$K_{Kf} = 1$	
$k_g = 0.02$	
$K_{Kg} = 0.01$	
$k_h = 0.15$	
$K_{Kh} = 0.01$	
$TotCdk = 100$	
$Totcdc25 = 1$	
$TotWee1 = 1$	

TotIE=1	
TotAPC=1	
PPase=1	

**Πίνακας 2.** Το μοντέλο για την ρύθμιση του MPF σε δείγμα από αυγό βατράχου κατά Marlovits. Περιλαμβάνει τις διαφορικές εξισώσεις, την εξίσωση διατήρησης των υπομονάδων Cdk, τις συναρτήσεις αναλογίας που ενσωματώνουν τα ρυθμιστικά σήματα, τον νόμο Michaelis-Menten, τις τιμές των σταθερών παραμέτρων του μοντέλου και τις αρχικές συνθήκες των μεταβλητών (Marlovits et al., 1998).

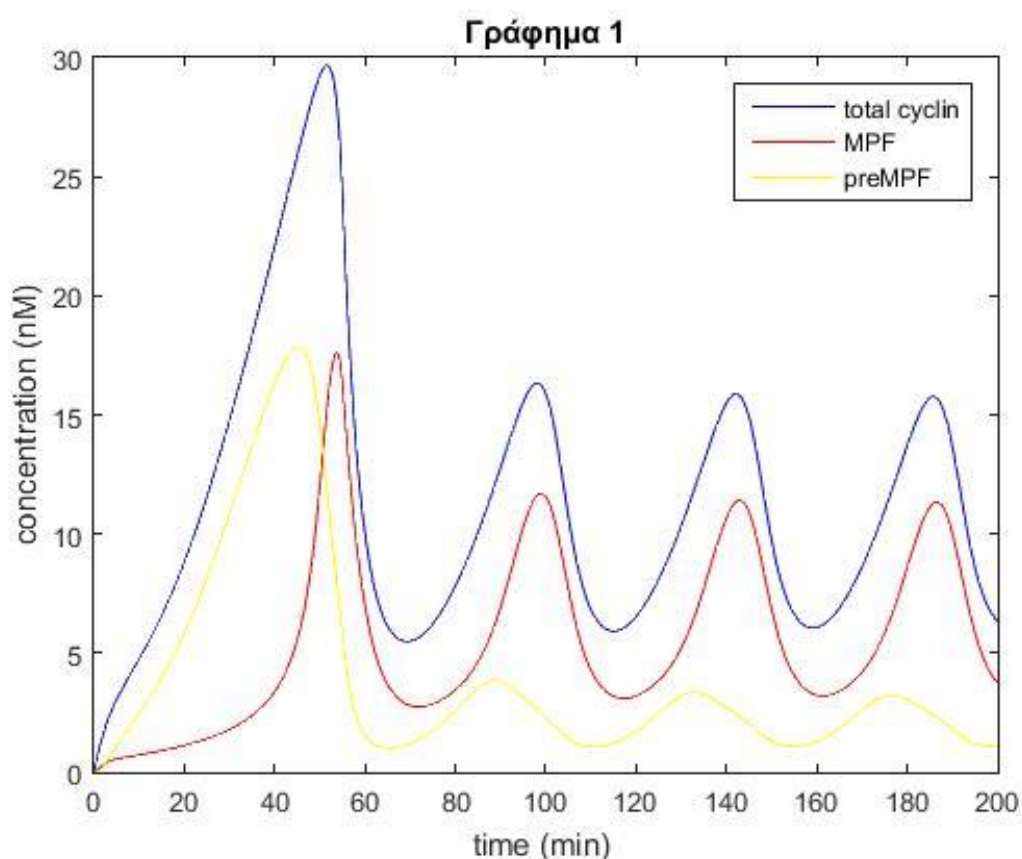
## 2.4 Προσομοιώσεις του μοντέλου

Αφού έχουμε καταλήξει στο αρχικό σύνολο παραμέτρων, το επόμενο βήμα είναι να «τρέξουμε» το μοντέλο, το οποίο σημαίνει να χρησιμοποιήσουμε λογισμικό που λύνει αριθμητικά τις συνήθεις διαφορικές εξισώσεις έτσι ώστε να προσομοιώσουμε την συμπεριφορά του συστήματος με το χρόνο. Όπως είπαμε για την προσομοίωση χρησιμοποιήσαμε το λογισμικό MATLAB. Συγκεκριμένα, για την επίλυση του συστήματος χρησιμοποιήσαμε τη μέθοδο ode45 που αντιστοιχεί σε μία 4<sup>ης</sup> τάξης προσέγγιση Runge-Kutta με σχετικό σφάλμα 1e-3 (αντιστοιχεί σε ακρίβεια 0.01%) και απόλυτο σφάλμα 1e-6. Η επίλυση του διαφορικού συστήματος γίνεται με ολοκλήρωση. Η μέθοδος δέχεται ως εισόδους μία διανυσματική συνάρτηση f που έχει διάσταση n, ίση με το πλήθος των μεταβλητών και περιέχει τις διαφορικές εξισώσεις του συστήματος, το χρονικό διάστημα ολοκλήρωσης tspan και ένα διάνυσμα x0 διάστασης n που περιέχει τις αρχικές συνθήκες. Η μέθοδος επιστρέφει ένα διάνυσμα στήλη T με τις τιμές των χρονικών βημάτων ολοκλήρωσης και έναν πίνακα λύσεων Y που έχει ίσο αριθμό γραμμών με το διάνυσμα T και n στήλες. Το στοιχείο του πίνακα Y που βρίσκεται στην i-οστή γραμμή και j-οστή στήλη είναι η λύση της j-οστής μεταβλητής που αντιστοιχεί στο i-στό χρονικό βήμα ολοκλήρωσης του διανύσματος T. Σημειώνεται πως όλες οι εισοδοί και οι έξοδοι της μεθόδου είναι μεταβλητές και οι παραπάνω ονομασίες τους είναι ενδεικτικές. Για όλες τις προσομοιώσεις που ακολουθούν έγινε χρήση της ίδιας μεθόδου.

Για να τρέξει κανείς μια προσομοίωση εκτός από τις διαφορικές εξισώσεις και τις σταθερές αναλογίας χρειάζεται επίσης και αρχικές συνθήκες για όλες τις μεταβλητές (δηλαδή τη συγκέντρωση κάθε μεταβλητής την χρονική στιγμή 0). Οι αρχικές συνθήκες μπορούν να εκτιμηθούν από το πειραματικό πρωτόκολλο σε ένα συγκεκριμένο πείραμα. Για παράδειγμα, ένα δείγμα προετοιμάζεται ενεργοποιώντας το APC, το οποίο διαβαθμίζει την περισσότερη κυκλίνη του δείγματος, επομένως είναι λογικό να θέσουμε [IEP]=[APC]=1 και [cyclin]=[MPF]=[preMPF]=0 για t=0. Επιπλέον, υποθέτουμε ότι [Cdc25P]=[Wee1P]=0 για t=0, διότι το MPF είναι ανενεργό. Αυτές οι κοινής λογικής υποθέσεις θέτουν λογικές αρχικές συνθήκες για μία προσομοίωση της χρονικής εξέλιξης ενός δείγματος. Για τις αρχικές συνθήκες δηλαδή την αρχική τιμή της συγκέντρωσης κάθε μεταβλητής βασιστήκαμε στον Πίνακα 2.

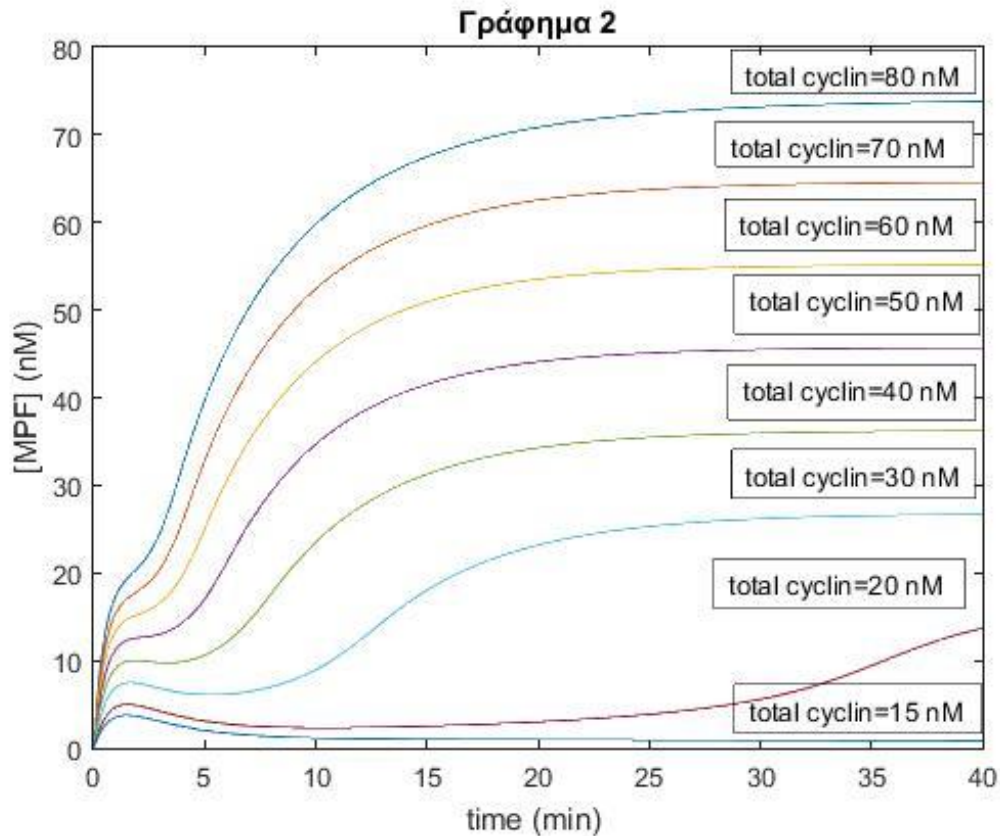
Παρακάτω φαίνονται κάποια γραφήματα που προέκυψαν από τις προσομοιώσεις. Τόσο για τις παρούσες όσο και για τις επόμενες προσομοιώσεις έγινε χρήση του MATLAB.

Μία σύγκριση της προσομοίωσης με πειραματικές παρατηρήσεις δείχνει ότι το μοντέλο αναπαράγει επιτυχώς τα βασικά χαρακτηριστικά του δείγματος του αυγού: η κυκλίνη συσσωρεύεται κατά την διάρκεια της μεσόφασης στις συνέχεια διαβαθμίζεται απότομα στη μίτωση και υπάρχει μια χρονική καθυστέρηση κατά την οποία σχηματίζονται τα διμερή κυκλίνης – Cdk (φωσφορυλιωμένων στην τυροσίνη), κι έπειτα τα διμερή αυτά μετατρέπονται στην ενεργή μορφή του MPF.



**Γράφημα 1.** Προσομοιώσεις των αλλαγών στα επίπεδα κυκλίνης, preMPF και MPF με το χρόνο σε ένα δείγμα αυγού βατράχου (Novak & Tyson, 1993). Ο οριζόντιος άξονας παριστάνει τον χρόνο προσομοίωσης σε λεπτά και ο κάθετος την συγκέντρωση των τριών ποσοτήτων σε nM. Οι προσομοιώσεις είναι συνεπείς με πειραματικά δεδομένα. Ο κώδικας που τρέξαμε στο MATLAB για να προκύψει το γράφημα δίνεται στο παράρτημα.





**Γράφημα 2.** Προσομοιώσεις της χρονικής καθυστέρησης στην μίτωση μετά από την προσθήκη διάφορων προκαθορισμένων συγκεντρώσεων μη διασπώμενης κυκλίνης *B*. Υπολογίστηκαν από τα στοιχεία του Πίνακα 2 με  $k1 = V2' = V2'' = 0$ . Η επιμόκνηση των χρόνων καθυστέρησης στις προοδευτικά χαμηλότερες συγκεντρώσεις κυκλίνης *B* δεν είχε επικυρωθεί πειραματικά ως το 2003, όταν χρησιμοποιήθηκαν για τα πειράματα επαρκώς μικρές προσαυξήσεις κυκλίνης *B* (Sha et al., 2003). Ο οριζόντιος άξονας παριστάνει τον χρόνο προσομοίωσης σε λεπτά και ο κάθετος την συγκέντρωση του MPF σε nM. Ο αντίστοιχος κώδικας που εισαγάγαμε στο MATLAB βρίσκεται στο παράρτημα.

Το γράφημα 2, του ενεργού MPF με το χρόνο, υποδηλώνει ότι η αρχική συγκέντρωση κυκλίνης πρέπει να ξεπεράσει ένα κατώφλι (μεταξύ 15 και 20 nM) προκειμένου να ενεργοποιήσει το MPF. Η πρόβλεψη αυτή συμφωνεί με τα πειραματικά δεδομένα (Solomon et al., 1990). Η προσομοίωση δείχνει επίσης ότι καθώς η συγκέντρωση της κυκλίνης προσεγγίζει αυτό το κατώφλι ενεργοποίησης για μεγαλύτερες τιμές, η χρονική καθυστέρηση για την ενεργοποίηση του MPF γίνεται ολοένα και μεγαλύτερη. Η πρόβλεψη αυτή έγινε πρώτα από τους Novak και Tyson

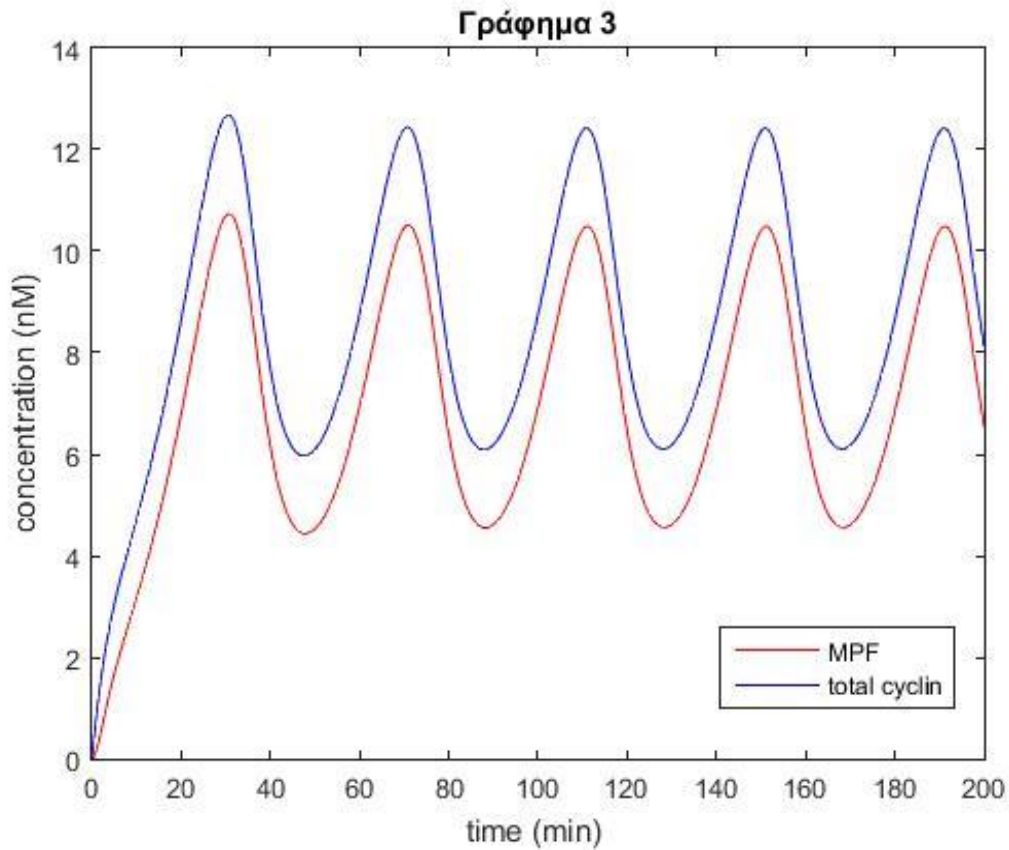
(1993). Παρόλο που καμμία δημοσιευμένη μελέτη δεν έχει δώσει στοιχεία για αυτή την κρίσιμη επβράδυνση, μεταγενέστερα πειράματα επιβεβαίωσαν την πρόβλεψη αυτή (Sha et al., 2003).

## 2.5 Βελτιστοποίηση παραμέτρων

Τα αποτελέσματα των προσομοιώσεων προέκυψαν με βάση τις πρώτες εκτιμήσεις των τιμών των παραμέτρων και είναι πιθανό αυτές να προσεγγίζουν ή όχι την συμπεριφορά του συστήματος που εμείς επιθυμούμε. Ως εκ τούτου, το σύνολο των παραμέτρων χρειάζεται να βελτιστοποιηθεί για να φέρουμε το μοντέλο και το βιολογικό σύστημα σε καλύτερη ποιοτική συμφωνία. Επειδή το μοντέλο μας είναι σχετικά απλό, αποτελούμενο από 7 συνήθεις διαφορικές εξισώσεις και 24 κινητικές σταθερές, είναι δυνατό να πάρουμε μια ικανοποιητική παράμετρο την οποία θέσαμε αυθαίρετα, αλλάζοντας μία παράμετρο κάθε φορά και ελέγχοντας πόσο καλά οι προσομοιώσεις ταιριάζουν με ήδη γνωστές συμπεριφορές του συστήματος. Υπάρχουν διάφορα εργαλεία βελτιστοποίησης. Ωστόσο, μιας και η διαδικασία αυτή δεν αποτελεί αντικείμενο της προύσας εργασίας χρησιμοποιήσαμε τις τιμές των παραμέτρων κατά Marlovits (1998), (βλ. επίσης Πίνακα 2).

## 2.6 Πειραματικός έλεγχος του μοντέλου

Το κομμάτι αυτό ασχολείται με τον πειραματικό έλεγχο των προβλέψεων που εξήχθησαν από το μοντέλο ούτως ώστε να αποφανθούμε για την συνέπεια και την ακρίβεια του μοντέλου καθώς και την ικανότητά του να μας επιτρέπει την προσομοίωση νέων πειραμάτων και κατ' επέκταση την εξαγωγή περαιτέρω απολεσμάτων και συμπερασμάτων. Παρακάτω παρουσιάζονται κάποιες θεωρητικές προβλέψεις (Novak & Tyson, 1993) που αναπαραγάγαμε.



**Γράφημα 3.** Προσομοιώσεις των αλλαγών στα επίπεδα MPF και κυκλίνης με το χρόνο σε ένα δείγμα αυγού βατράχου όταν το *Cdk1* δεν είναι φωσφορυλιώσιμο από την *Wee1*. Υπολογίστηκαν από τα στοιχεία του Πίνακα 2, με  $V'_{wee} = V''_{wee} = 0$ . Παρατηρούμε ότι σε αυτή την περίπτωση οι ταλαντώσεις του MPF είναι γρηγορότερες και μικρότερες. Η πρόβλεψη αυτή επιβεβαιώθηκε πειραματικά (**Pomerening et al., 2005**). Ο οριζόντιος άξονας παριστάνει τον χρόνο προσομοίωσης σε λεπτά και ο κάθετος την συγκέντρωση των δύο ποσοτήτων σε nM. Το γράφημα προέκυψε αφού τρέξαμε τον κατάλληλο κώδικα στο MATLAB και ο οποίος δίνεται στο παράρτημα.

## 3. Μελέτη της δυναμικής συμπεριφοράς του συστήματος

---

Το κεφάλαιο αυτό αφορά την διερεύνηση της δυναμικής συμπεριφοράς του συστήματος. Πιο συγκεκριμένα, αφού κατασκευάσουμε το διάγραμμα διακλάδωσης των λύσεων του συστήματος, θα προχωρήσουμε στον χαρακτηρισμό των κλάδων των λύσεων ως προς την ευστάθεια. Στη συνέχεια θα εντοπίσουμε και θα μελετήσουμε ένα σημείο ασταθούς ισορροπίας από τις καμπύλες λύσεων του συστήματος. Τέλος, θα γίνει προσομοίωση και έλεγχος των αποτελεσμάτων.

### 3.1 Διάγραμμα διακλάδωσης

Όπως έχουμε ήδη αναφέρει το σύστημα των διαφορικών εξισώσεων που περιγράφει το μοντέλο ρύθμισης του κυτταρικού κύκλου του *Xenopus laevis* είναι μη γραμμικό. Συνεπώς, δεν μπορούμε να γνωρίζουμε ή να προβέψουμε την συμπεριφορά του συστήματος εκ των προτέρων αλλά εξαρτάται από τις αρχικές συνθήκες και γι' αυτό θα πρέπει να την μελετήσουμε.

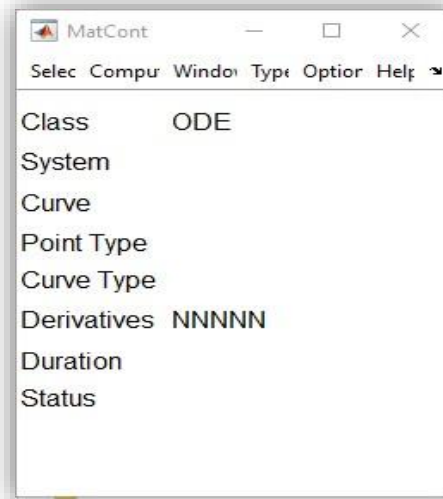
Πρώτο βήμα λοιπόν της διαδικασίας αυτής αποτελεί η κατασκευή του διαγράμματος διακλάδωσης. Πρόκειται για ένα διάγραμμα που αναπαριστά τους κλάδους των λύσεων του συστήματος με τη μεταβολή (εδώ) μιας παραμέτρου. Δηλαδή όλες τις steady state (μόνιμης κατάστασης) τιμές των μεταβλητών οι οποίες αποτελούν λύσεις του συστήματος. Στην θεωρία συστημάτων, λέμε ότι ένα σύστημα είναι σε μόνιμη κατάσταση αν οι μεταβλητές που προσδιορίζουν την συμπεριφορά του συστήματος δεν μεταβάλλονται με το χρόνο. Αυτό σημαίνει ότι η μερική παράγωγος όλων των μεταβλητών  $p$  του συστήματος ως προς το χρόνο είναι πάντα μηδέν:

$$\frac{\partial p}{\partial t} = 0 \text{ για κάθε } t \quad (3.1).$$

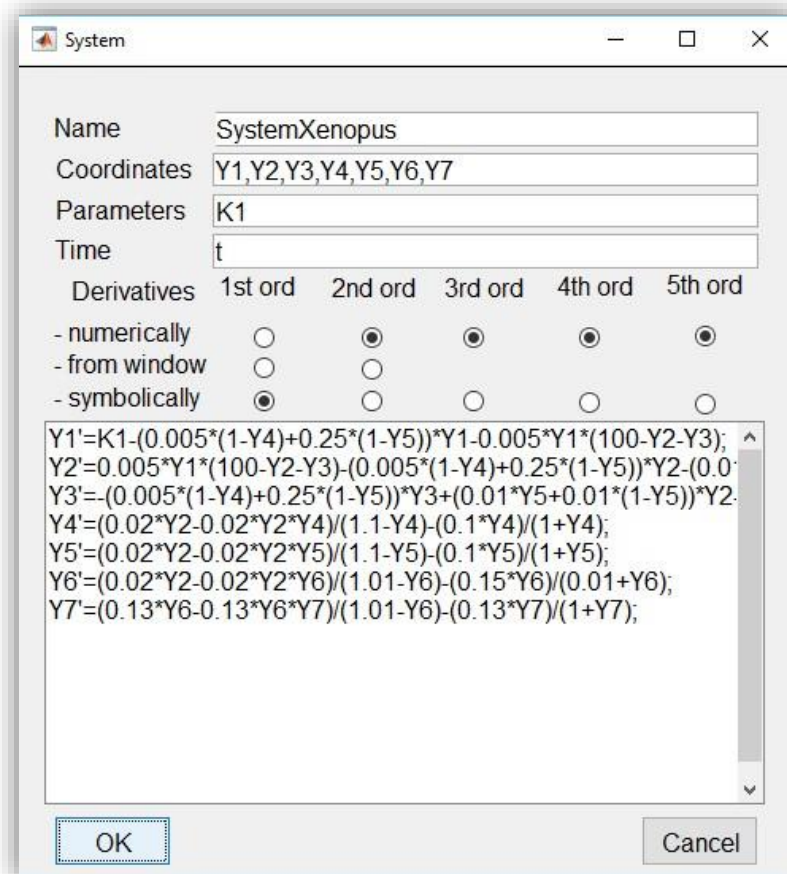
Η αρχική τροχιά μέχρι την μόνιμη κατάσταση συχνά χαρακτηρίζεται ως μεταβατική κατάσταση (transient state). Συχνά, μία λύση μόνιμης κατάστασης προσεγγίζεται ασυμπτωτικά. Εάν το σύστημα είναι ασταθές τότε αποκλίνει από την steady state με την επιβολή μικρών διαταραχών.

Για την κατασκευή του διαγράμματος διακλάδωσης χρησιμοποιήσαμε το MATCONT το οποίο αποτελεί ένα γραφικό περιβάλλον χρήστη (Graphical User Interface - GUI) του προγράμματος MATLAB. Είναι ένα πακέτο αριθμητικής ολοκλήρωσης που χρησιμοποιείται για την ανάλυση διακλαδώσεων δυναμικών συστημάτων. Περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τη χρησιμότητα και τις

δυνατότητες που παρέχει το MATCONT θα βρει κανείς στον σύνδεσμο:  
<http://www.scholarpedia.org/article/MATCONT>.



**Πίνακας 3.** Αρχικό μενού του γραφικού περιβάλλοντος χρήστη MATCONT.

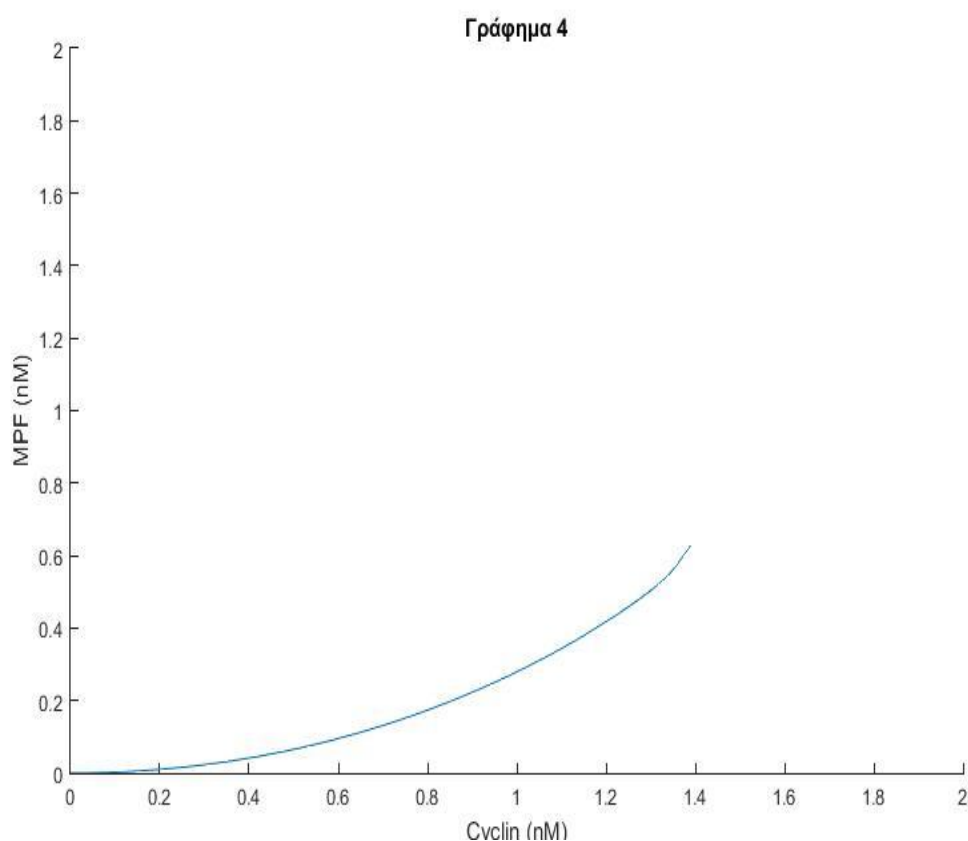


**Πίνακας 4.** Παράθυρο του MATCONT για την έναρξη μιας εργασίας. Εδώ ορίζονται όλα τα δεδομένα του προβλήματος. Το πεδίο «Name» περιέχει το όνομα του συστήματος, το «Coordinates» τις μεταβλητές του συστήματος, το «Parameters» τις παραμέτρους, το «Time» την μεταβλητή χρόνου, η επιλογή «Derivatives» δηλώνει την τάξη του συστήματος, τα «-numerically» «-from window» και «-symbolically» τον τρόπο ορισμού των μεταβλητών και στο λευκό παράθυρο γράφονται οι διαφορικές εξισώσεις του συστήματος.

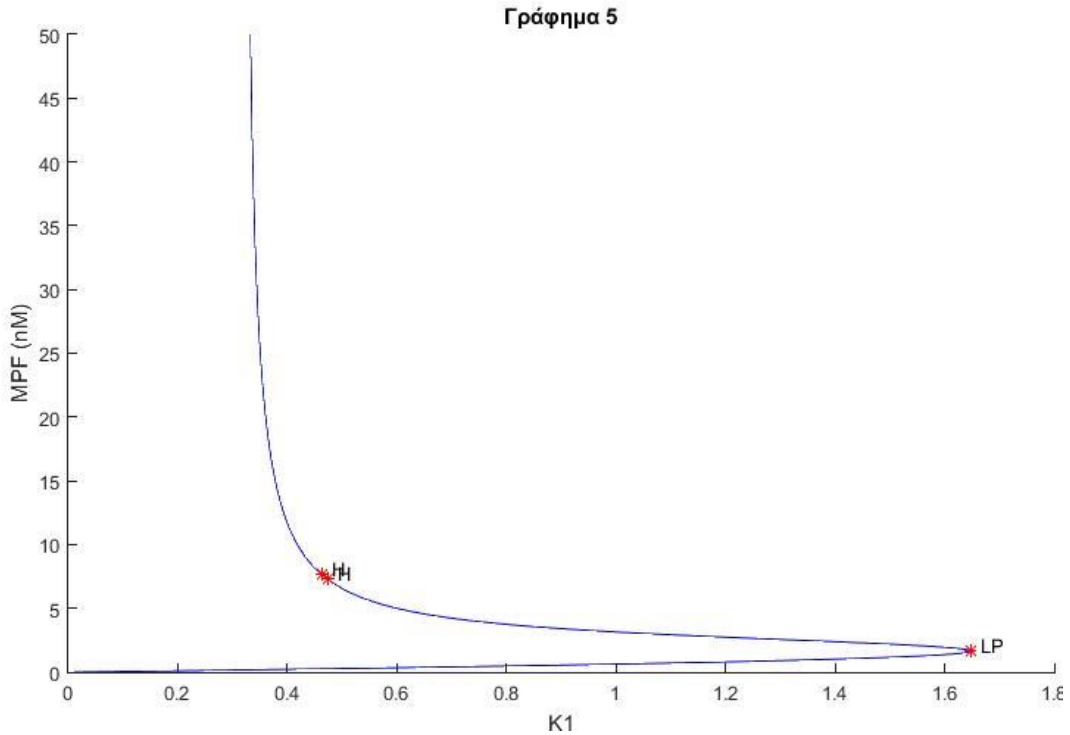
Αφού έχουμε εγκαταστήσει επιτυχώς το MATCONT για να το χρησιμοποιήσουμε, ανοίγουμε το MATLAB, βρίσκουμε και η επιλέγουμε την τοποθεσία του φακέλου με τις πληροφορίες του MATCONT και πληκτρολογούμε στο command window του MATLAB την εντολή `matcont`. Τότε θα εμφανιστεί το παράθυρο που φαίνεται στον Πίνακα 3. Παρακάτω παραθέτουμε τα βήματα για την κατασκευή του διαγράμματος διακλάδωσης:

1. Επιλέγουμε `Select->System->New` για να εμφανιστεί ένα νέο παράθυρο ώστε να ορίσουμε το σύστημα των διαφορικών εξισώσεων του μοντέλου μας. Σύμφωνα λοιπόν με τα στοιχεία του Πίνακα 2 συμπληρώνουμε τα αντίστοιχα πεδία με το όνομα που θέλουμε να δώσουμε στο σύστημα, τις μεταβλητές του συστήματος, τις παραμέτρους του συστήματος, την μεταβλητή του χρόνου, τον τρόπο ορισμού των παραγώγων και το σύστημα των διαφορικών εξισώσεων όπως φαίνονται στον Πίνακα 4. Ως ελεύθερη παράμετρο επιλέξαμε το  $K1$  που είναι η σταθερά αναλογίας για την σύθεση της κυκλίνης. Στη συνέχεια επιλέγουμε `OK` και το σύστημα έχει δημιουργηθεί.
2. Επιλέγουμε `Select->Initial point` και στο παράθυρο `Starter` που θα εμφανιστεί εισάγουμε τις αρχικές συνθήκες σύμφωνα με τον Πίνακα 2.
3. Επιλέγουμε `Type->Initial point->Point` για να δηλώσουμε ότι ξεκινάμε από ένα απλό σημείο. Τότε εμφανίζεται το παράθυρο `Integrator` που περιέχει τα δεδομένα για την ολοκλήρωση και στο πεδίο `Interval` που αφορά το διάστημα ολοκλήρωσης δίνουμε την τιμή 1000.
4. Ανοίγουμε ένα διάγραμμα επιλέγοντας `Window->Graphic->2DPlot`
5. Στο νέο παράθυρο επιλέγουμε `Layout->Variables on axes->Absciss: Coordinates - Y1, Ordinate: Coordinate - Y2->OK` και `Layout->Plotting region->Abscissa: 0...2, Ordinate: 0...2`.
6. Στο παράθυρο `MatCont` επιλέγουμε `Window->Numeric` για να βλέπουμε πως διαμορφώνονται οι τιμές των μεταβλητών και της παραμέτρου.
7. Στο παράθυρο `MatCont` επιλέγουμε `Compute->Forward` και προκύπτει το Γράφημα 4.
8. Επιλέγουμε `Select->Initial point` και επιλέγουμε το τελευταίο σημείο της τροχιάς.

9. Επιλέγουμε Type->Initial point->Equilibrium και τσεκάρουμε την ελεύθερη παράμετρο K1 στο παράθυρο Starter. Η παράμετρος αυτή αφήνεται ελεύθερη γιατί αποτελεί την μεταβλητή ρύθμισης για τον σχεδιασμό του ρυθμιστή αργότερα.
10. Στο 2DPlot επιλέγουμε Plot->Clear για να σβήσουμε το υπάρχον διάγραμμα και έπειτα Layout->Variables on axes->Absciss:Parameters – K1 και Layout->Plotting region->Ordinate:0...100.
11. Στο παράθυρο MatCont επιλέγουμε Compute->Forward και Resume ότν χρειάζεται. Με την εντολή Compute->Extend συνεχίζει το continuation από το τελευταίο σημείο ενώ με την εντολή Compute->Backward συνεχίζει το continuation προς τα πίσω από το πρώτο σημείο. Προκύπτει λοιπόν το Γράφημα 5 το οποίο αποτελεί το ζητούμενο διάγραμμα διακλάδωσης.



**Γράφημα 4.** Διάγραμμα του MPF συναρτήσει της κυκλίνης που προκύπτει από την επίλυση του διαφορικού συστήματος.



**Γράφημα 5.** Διάγραμμα διακλάδωσης των λύσεων του συστήματος ρύθμισης του *MPF* σε δείγματα από αυγό *Xenopus laevis*. Ο οριζόντιος άξονας παριστάνει τις τιμές της ελεύθερης παραμέτρου *K1* ενώ ο κάθετος άξονας τις τιμές της συγκέντρωσης του *MPF* σε *nM*. Πρόκειται για ένα διάγραμμα διακλάδωσης σάγματος - κόμβου (*saddle – node bifurcation diagram*). Το διάγραμμα αποτελείται από δύο κλάδους. Ο κάτω κλάδος είναι ευσταθής και περιλαμβάνει λύσεις – κόμβους (*nodes*) ενώ ο πάνω ασταθής και περιλαμβάνει σημεία – σάγματα (*saddles*). Συνδέονται μεταξύ τους με ένα κανονικό σημείο καμπής (*turning point*) που συμβολίζεται με *LP*. Τα σημεία που συμβολίζονται με *H* είναι σάγματα (*saddles*).

### 3.2 Λύσεις και ευστάθεια

Έστω το ακόλουθο μη γραμμικό σύστημα:

$$\frac{du}{dt} = f(t, \mu, u) \tag{3.2},$$

όπου  $t \geq 0$  είναι ο χρόνος,  $\mu \in R^p$  είναι το άνωσμα των παραμέτρων του συστήματος και  $u \in R^n$  είναι το άνωσμα των μεταβλητών του συστήματος.

Όταν η συνάρτηση  $f$  είναι ανεξάρτητη του χρόνου  $t$  τότε το σύστημα των εξισώσεων

$$\frac{du}{dt} = f(\mu, u) \tag{3.3},$$

λέγεται αυτόνομο.



Μία λύση ισορροπίας (fixed point ή equilibrium), έστω  $u^*$ , του συστήματος είναι μία λύση που ικανοποιεί την σχέση (Devaney, 1992):

$$f(\mu, u^*) = 0 \quad (3.4).$$

Οι λύσεις του συστήματος μπορεί να είναι είτε ευσταθείς είτε ασταθείς. Γενικά η έννοια της ευστάθειας συνδέεται με το εξής ερώτημα: Πώς εξελίσσεται δυναμικά μία (μικρή) διαταραχή στην λύση του συστήματος; Αποσβένεται με το χρόνο ή όχι; Αν αποσβένεται τότε η λύση ονομάζεται ευσταθής, αν δεν αποσβένεται ονομάζεται ασταθής.

**Ορισμός ευστάθειας λύσεων κατά Lyapunov (Lyapunov, 1992):** Μία λύση  $u(t)$  ενός αυτόνομου ή μη – αυτόνομου συστήματος λέγεται ευσταθής κατά Lyapunov αν για  $\varepsilon > 0$ ,  $\exists \delta = \delta(\varepsilon) > 0$  τέτοιο ώστε οποιαδήποτε άλλη λύση  $v(t)$  για την οποία ισχύει  $\|u - v\| < \delta$  για  $t = t_0$  ικανοποιεί την  $\|u - v\| < \varepsilon$ , για κάθε  $t > t_0$  (για μη – αυτόνομα συστήματα,  $\delta = \delta(\varepsilon, t)$ ).

**Ορισμός ασυμπτωτικής ευστάθειας (Lyapunov, 1992):** Αν μία λύση είναι ευσταθής κατά Lyapunov και  $\lim_{t \rightarrow \infty} \|u - v\| \rightarrow 0$  τότε η λύση είναι ασυμπτωτικά ευσταθής.

Αν ένα αναλλοίωτο σύνολο  $M_0$  είναι ευσταθές κατά Lyapunov τότε όλες οι συντεταγμένες τροχιές στην γειτονιά του συνόλου παραμένουν στην γειτονιά. Να σημειωθεί ότι υπάρχουν αναλλοίωτα σύνολα (ή λύσεις μόνιμης κατάστασης) που είναι ευσταθείς κατά Lyapunov αλλά δεν είναι ασυμπτωτικά ευσταθείς. Από την άλλη υπάρχουν αναλλοίωτα σύνολα που είναι ελκυστές, δηλαδή γειτονικές συντεταγμένες τροχιές στο  $M_0$  αλλά δεν είναι ευσταθείς κατά Lyapunov: μπορεί να συγκλίνουν σε αυτό αφού πρώτα οι τροχιές έχουν «βγει» έξω από μια προκαθορισμένη γειτονιά του  $M_0$ .

Αν τώρα  $u^*$  είναι μία λύση ισορροπίας του συστήματος και  $v$  είναι μία διαταραχή της  $u^*$  τέτοια ώστε:

$$v(t) = u^* + v(t_0) \quad (3.5),$$

τότε

$$\begin{aligned} \frac{dv}{dt} &= \frac{dv}{dt} - \frac{du^*}{dt} = f(t, \mu, u^* + v) - f(t, \mu, u^*) = \\ &= f_u(t, \mu, u)|_{u^*} \cdot v + O(\|v\|^2), \|v\| < \varepsilon \end{aligned} \quad (3.6),$$

όπου  $f_u \equiv \nabla f(u)|_{u^*} \equiv J$  είναι η Ιακωβιανή του γραμμικοποιημένου συστήματος:

$$J = \begin{vmatrix} \frac{\partial f_1}{\partial u_1} & \frac{\partial f_1}{\partial u_2} & \dots & \frac{\partial f_1}{\partial u_n} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{\partial f_n}{\partial u_1} & \frac{\partial f_n}{\partial u_2} & \dots & \frac{\partial f_n}{\partial u_n} \end{vmatrix} \quad (3.7).$$

Μία λύση ισορροπίας  $u^*=0$  είναι ασυμπτωτικά ευσταθής αν  $v(t) \rightarrow 0, t \rightarrow 0$ .

Για την τοπική (local) ευστάθεια ισχύει το εξής θεώρημα (*Lyapunov, 1992*): Έστω ένα δυναμικό σύστημα όπως το ορίσαμε παραπάνω. Τότε μία λύση ισορροπίας είναι τοπικά ευσταθής αν όλες οι ιδιοτιμές  $\lambda_1, \lambda_2, \dots, \lambda_N$  της Ιακωβιανής έχουν αρνητικό πραγματικό μέρος, δηλαδή  $Re(\lambda_i) < 0$ . Το  $u_c$  είναι το διάνυσμα των τιμών των μεταβλητών σε ένα σημείο κοντά στο  $u^*$ .

### 3.2.1 Χαρακτηρισμός των κλάδων των λύσεων

Έστω το παρακάτω αυτόνομο δυναμικό σύστημα στον  $\mathbb{R}^1$ :

$$\frac{du}{dt} = f(\mu, u) \quad (3.8),$$

όπου η  $f(\cdot)$  έχει τουλάχιστον δύο συνεχείς παραγώγους ως προς  $\mu, u$ .

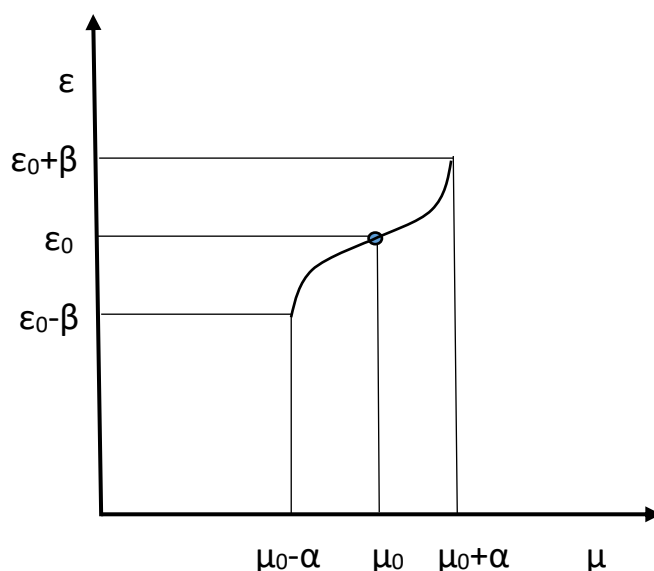
Η μελέτη διακλαδούμενων λύσεων ισορροπίας του παραπάνω αυτόνομου συστήματος είναι ισοδύναμη με την μελέτη «διαζόντων» (singular) σημείων της καμπύλης  $f(\mu, \varepsilon)$  στο  $(\mu, \varepsilon)$  επίπεδο. Αυτό που μας ενδιαφέρει είναι, δεδομένου ενός σημείου ισορροπίας  $(\mu_0, \varepsilon_0)$ , πώς συμπεριφέρεται το σύστημα αν αλλάξουμε την τιμή της παραμέτρου  $\mu$ . Αυτό μπορούμε να το διερευνήσουμε μέσω του θεωρήματος της πεπλεγμένης συνάρτησης (implicit function theorem).

**Θεώρημα πεπλεγμένης συνάρτησης (Iooss & Joseph, 1990):** Έστω  $f(\mu_0, \varepsilon_0) = 0$  και η  $f$  είναι μια συνεχώς παραγωγίσιμη συνάρτηση σε κάποιο ανοικτό σύνολο που περιέχει το σημείο  $(\mu_0, \varepsilon_0)$  στο επίπεδο  $(\mu, \varepsilon)$ .

Τότε αν  $f_\varepsilon(\mu_0, \varepsilon_0) \equiv \frac{\partial f}{\partial \varepsilon} \neq 0, \exists \alpha > 0, \beta > 0$  τέτοια ώστε:

- (i) Η εξίσωση  $f(\mu, \varepsilon) = 0$  έχει μοναδική λύση,  $\varepsilon = \varepsilon(\mu)$  για  $\mu_0 - \alpha < \mu < \mu_0 + \alpha, \varepsilon_0 - \beta < \varepsilon < \varepsilon_0 + \beta$ .
- (ii) Η συνάρτηση  $\varepsilon(\cdot)$  είναι συνεχώς παραγωγίσιμη όταν  $\mu_0 - \alpha < \mu < \mu_0 + \alpha$ .
- (iii) Η παράγωγος  $\varepsilon_\mu(\mu) := \frac{d\varepsilon(\mu)}{d\mu} = -\frac{f_\mu(\mu, \varepsilon(\mu))}{f_\varepsilon(\mu, \varepsilon(\mu))}$ .

Με άλλα λόγια το (i), (ii) δηλώνουν ότι όταν αλλάζει η τιμή της παραμέτρου, η λύση αλλάζει λίγο και ότι η συνάρτηση της λύσης είναι λεία και συνεχής όπως φαίνεται και από το Σχήμα 4, ενώ το (iii) δίνει την κλίση της καμπύλης σε αυτό το σημείο.



**Σχήμα 4.** Γραφική απεικόνιση του θεωρήματος της πεπλεγμένης συνάρτησης που δείχνει την συμπεριφορά της λύσης του συστήματος ανάλογα με την μεταβολή της παραμέτρου. Η καμπύλη παριστάνει την εξίσωση  $f(\mu, \varepsilon)=0$ . Το σημείο  $(\mu_0, \varepsilon_0)$  αποτελεί λύση του συστήματος, ενώ τα  $\alpha$  και  $\beta$  είναι σταθερές. Ο οριζόντιος άξονας παριστάνει την παράμετρο  $\mu$  και ο κάθετος άξονας την λύση  $\varepsilon=\varepsilon(\mu)$  της εξίσωσης  $f(\mu, \varepsilon)=0$  ([www.encyclopediaofmath.org](http://www.encyclopediaofmath.org)).

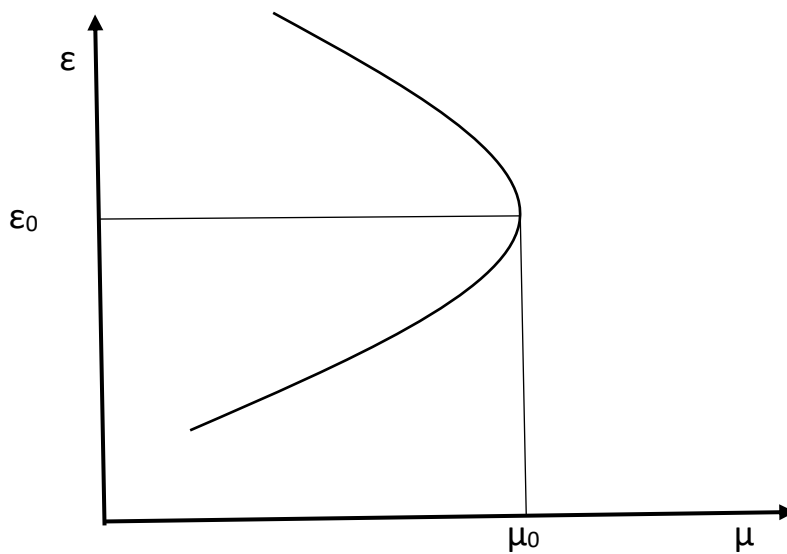
- ✚ Αν  $F_\varepsilon(\mu_0, \varepsilon_0) = 0$ , τότε σύμφωνα με τα παραπάνω δεν ισχύει το θεώρημα της πεπλεγμένης συνάρτησης για λύσεις του τύπου  $\varepsilon=\varepsilon(\mu)$ .
- ✚ Αλλά μπορούμε να επιχειρήσουμε να βρούμε λύσεις του τύπου  $\mu=\mu(\varepsilon)$  εφόσον ισχύει ότι  $F_\mu(\mu_0, \varepsilon_0) \neq 0$ .

Εφόσον έχουμε κατασκευάσει το διάγραμμα διακλάδωσης (Γράφημα 5) είμαστε πλέον σε θέση να γνωρίζουμε πως αλλάζουν οι λύσεις και η ευστάθειά τους ανάλογα με την τιμή της παραμέτρου  $k_1$  και να χαρακτηρίσουμε τους κλάδους των λύσεων που προέκυψαν ως προς την ευστάθεια.

Σύμφωνα λοιπόν με το διάγραμμα διακλάδωσης (Γράφημα 5) υπάρχουν δύο κλάδοι λύσεων, ο ένας ευσταθής (κάτω κλάδος) και ο άλλος ασταθής (επάνω κλάδος).

### 3.2.2 Χαρακτηρισμός των σημείων ισορροπίας

Ανάλογα με την ισχύ ή όχι της πεπλεγμένης συνάρτησης τα σημεία ισορροπίας μπορούν να ταξινομηθούν. Στο δικό μας δυναμικό πρόβλημα μας ενδιαφέρει η περίπτωση του κανονικού σημείου καμπής (turning point). Είναι ένα σημείο πάνω στην  $F(\mu, \varepsilon)=0$  εκατέρωθεν του οποίου η  $\mu=\mu(\varepsilon)$  αλλάζει πρόσημο και  $F_\mu(\mu_0, \varepsilon_0) \neq 0$ . Ένα τέτοιο σημείο φαίνεται στο Σχήμα 5.



**Σχήμα 5.** Καμπύλη λύσης για την οποία το θεώρημα πεπλεγμένης συνάρτησης δεν ισχύει γύρω από το  $(\mu_0, \varepsilon_0)$ . Το σημείο  $(\mu_0, \varepsilon_0)$  αποτελεί λύση του συστήματος, ενώ τα  $\alpha$  και  $\beta$  είναι σταθερές. Ο οριζόντιος άξονας παριστάνει την παράμετρο  $\mu$  και ο κάθετος άξονας την λύση  $\varepsilon = \varepsilon(\mu)$  της εξίσωσης  $f(\mu, \varepsilon) = 0$ .

Στα σημεία διακλάδωσης κάποιες από τις λύσεις που διακλαδώνονται είναι ευσταθείς και κάποιες ασταθείς. Για την μελέτη της ευστάθειας μιας λύσης  $u = \varepsilon$  συνήθως εξετάζεται η γραμμικοποιημένη εξίσωση:

$$\frac{dv}{dt} = F_{\varepsilon}(\mu, \varepsilon)v \quad (3.9),$$

όπου  $u = \varepsilon + v$  και  $v$  είναι μία διαταραχή. Η γενική λύση της εξίσωσης αυτής είναι

$$v = v_0 e^{\sigma t} \quad \mu \varepsilon \quad \sigma = F_{\varepsilon}(\mu, \varepsilon) \quad (3.10).$$

Λόγω της μορφής της λύσης, οι διαταραχές στην  $\varepsilon$  θα μεγαλώνουν όταν  $\sigma > 0$  και θα αποσβένονται όταν  $\sigma < 0$ . Έτσι, σύμφωνα με την γραμμική θεωρία μία λύση  $(\mu(\varepsilon), \varepsilon)$  τέτοια ώστε  $F(\mu, \varepsilon) = 0$  είναι ευσταθής όταν  $\sigma > 0$  και ασταθής όταν  $\sigma < 0$ .

Όμως για μη γραμμικά συστήματα δεν ισχύει η συνθήκη αυτή. Γράφουμε λοιπόν το μη γραμμικό σύστημα ως **(Iooss & Joseph, 1990):**

$$\frac{dv}{dt} = F_{\varepsilon}(\mu(\varepsilon), \varepsilon) + R(\varepsilon, v) \quad (3.11),$$

όπου  $|R(\varepsilon, v)| \leq K|v|^2$  είναι οι όροι δεύτερης τάξης. Μπορούμε να γράψουμε την παραπάνω εξίσωση ως:

$$\frac{d}{dt}(ve^{-\sigma t}) = R(\varepsilon, v)e^{-\sigma t} \Rightarrow v(t)e^{-\sigma t} = v(0) + \int_0^t R(\varepsilon, v(s))e^{-\sigma s} ds \quad (3.12),$$

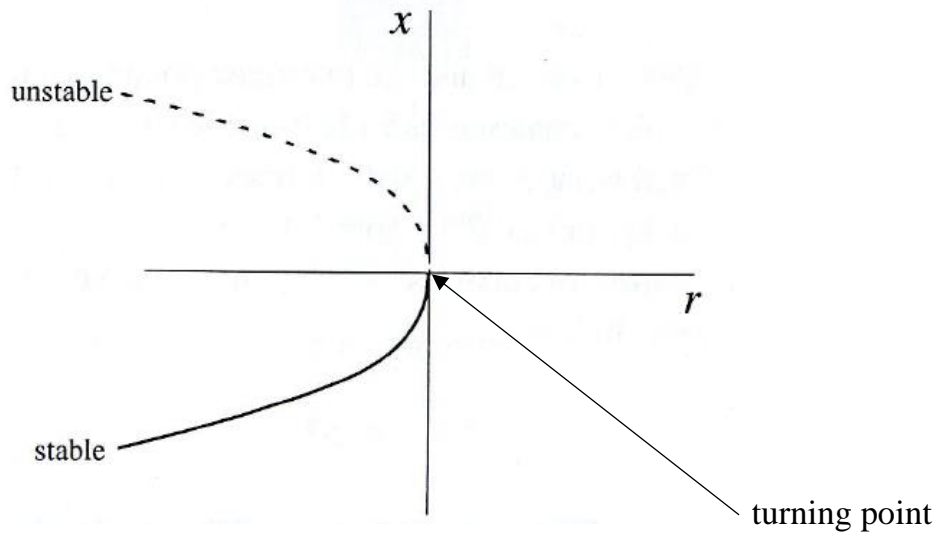
οπότε η πιο πάνω ανισότητα γίνεται:

$$|v(t) - v(0)e^{\sigma t}| \leq K \int_0^t e^{\sigma(t-s)} |v(s)|^2 ds \quad (3.13).$$

Αποδεικνύεται ότι η τελευταία ανισότητα οδηγεί σε  $v(t) \rightarrow 0, t \rightarrow \infty$  αν  $\sigma(\varepsilon) < 0$  και ότι το  $|v(0)| \ll 1$ . Λόγω της συνθήκης αυτής λέμε ότι η λύση  $(\mu(\varepsilon), \varepsilon)$  είναι κατά συνθήκη ευσταθής. Αν το  $|v(0)|$  ήταν μη φραγμένο θα μιλούσαμε για ολική ευστάθεια.

**Θεώρημα παραγοντοποίησης σε μία διάσταση (factorization theorem):** Για κάθε σημείο ισορροπίας  $f(\mu, \varepsilon) = 0$  για το οποίο  $\mu = \mu(\varepsilon)$  έχουμε  $\sigma(\varepsilon) = f_\varepsilon(\mu(\varepsilon), \varepsilon) = -\mu_\varepsilon(\varepsilon) f_\mu(\mu(\varepsilon), \varepsilon) = \mu_\varepsilon \hat{\sigma}(\varepsilon)$ .

Από τα παραπάνω συμπεραίνεται ότι εκατέρωθεν ενός κανονικού σημείου καμπής εφόσον το  $\mu_\varepsilon$  αλλάζει πρόσημο και  $f_{\mu\mu} \neq 0$  τότε το  $\sigma(\varepsilon)$  αλλάζει πρόσημο. Δηλαδή η λύση  $\mu = \varepsilon, \mu = \mu(\varepsilon)$  είναι ευσταθής από την μία πλευρά και ασταθής από την άλλη. Μία τέτοια μορφή διακλάδωσης λύσεων απεικονίζεται στο Σχήμα 6 και λέγεται διακλάδωση σάγγατος κόμβου (saddle node bifurcation).



**Σχήμα 6.** Διάγραμμα διακλάδωσης σάγγατος – κόμβου. Παρατηρούμε ότι ακριβώς πάνω στο σημείο καμπής ισχύει  $\mu_\varepsilon = 0$ . Το κύριο χαρακτηριστικό των κανονικών σημείων καμπής (regular turning points) είναι ότι με την αλλαγή της τιμής της παραμέτρου έχουμε την εμφάνιση (ή την εξαφάνιση) λύσεων. Συγκεκριμένα υπάρχουν δύο λύσεις, πάνω ακριβώς στο σημείο καμπής μόνο μία λύση ενώ μετά το σημείο καμπής δεν υπάρχει καμία λύση ([www.functionspace.com](http://www.functionspace.com)).

Στο διάγραμμα διακλάδωσης του συστήματος που εξετάζουμε (Γράφημα 5), ο κάτω κλάδος περιλαμβάνει σημεία ευσταθούς ισορροπίας (nodes) και ο επάνω κλάδος σημεία ασταθούς ισορροπίας (saddles). Συμπεραίνουμε λοιπόν πως οι λύσεις ισορροπίας του συστήματος διακλαδώνονται σε ένα σημείο διακλάδωσης, το οποίο στο διάγραμμα διακλάδωσης είναι το κάτω σημείο με το συμβολισμό LP. Πρόκειται για ένα κανονικό σημείο καμπής (turning point). Το διάγραμμα απεικονίζει μία διακλάδωση σάγματος - κόμβου (saddle – node bifurcation). Οι steady – state τιμές των μεταβλητών και η τιμή της παραμέτρου στο κανονικό σημείο καμπής φαίνονται στον Πίνακα 5. Όσο για τα 2 σημεία που είναι σημειωμένα με H, πρόκειται για σημεία ασταθούς ισορροπίας (saddles). Για να το διαπιστώσουμε αυτό ελέγξαμε πώς διαμορφώνονται οι ιδιοτιμές του συστήματος γύρω από αυτά τα σημεία. Συγκεκριμένα για να σώσουμε τις ιδιοτιμές, πριν κατασκευάσουμε το διάγραμμα διακλάδωσης στο παράθυρο Numeric του MATCONT επιλέγουμε Window->Layout->eigenvalues (όσα δεδομένα είναι στην λίστα με κεφαλαία γράμματα εμφανίζονται ενώ όσα είναι πεζά όχι). Στη συνέχεια, θα βρούμε όλες τις τιμές των ιδιοτιμών για κάθε βήμα ως εξής: Στο κύριο παράθυρο του MATLAB επιλέγω τον φάκελο Systems->SystemXenopus->diagram και ανοίγω το EP\_EP(2).mat. Τότε στο Workspace του MATLAB θα εμφανιστούν κάποια αρχεία. Το f περιέχει τις τιμές των ιδιοτιμών και το x τις τιμές των μεταβλητών. Επειδή λοιπόν στα δύο αυτά H – σημεία οι δύο μικρότερες κατ' απόλυτη τιμή ιδιοτιμές έχουν άθροισμα 0 συμπεραίνουμε ότι πρόκειται για saddles (Devaney, 1992). Οι τιμές των ιδιοτιμών γύρω από όλα τα κρίσιμα σημεία του διαγράμματος φαίνονται αναλυτικά στον Πίνακα 6.

Coordinates	
Y1	2.5530827
Y2	1.6556196
Y3	0.071506603
Y4	0.39672732
Y5	0.39672732
Y6	0.0027968482
Y7	0.0027768247
Parameters	
K1	1.6472462

**Πίνακας 5.** Οι steady – state τιμές των μεταβλητών (Coordinates) και η τιμή της παραμέτρου (Parameters) του συστήματος στο κανονικό σημείο καμπής.

Είδος σημείου	Τιμή μεταβλητής (Y2)	Ιδιοτιμές						
		1η	2η	3η	4η	5η	6η	7η
Πριν το turning point	1.6103	-9.3009	-0.8311	-0.6648	-0.2320	-0.1297	-0.0585	-0.0028
Turning point	1.6556	-9.1601	-0.8155	-0.6624	-0.2306	-0.1296	-0.0580	-5.9911e-08
Μετά το turning point	1.6989	-9.0266	-0.8004	-0.6602	-0.2293	-0.1296	-0.0575	0.0027
Πριν το 1ο Saddle Point	7.3001	-0.7611	-0.6745	-0.4830	-0.1823	-0.1194	-0.0257	0.0252
1ο Saddle point	7.3042	-0.7617	-0.6753	-0.4829	-0.1823	-0.1196	-0.0252	0.0252
Ανάμεσα στα 2 Saddle points	7.5155	-0.7949	-0.7122	-0.4807	-0.1897	-0.1823	-0.0116	0.0235
2ο Saddle point	7.6731	-0.8199	-0.7399	-0.4792	-0.3785	-0.1823	-0.0224	0.0224
Μετά το 2ο Saddle point	7.7328	-0.8295	-0.7505	-0.4786	-0.4653	-0.1823	-0.0303	0.0220

**Πίνακας 6.** Οι τιμές των ιδιοτιμών του συστήματος γύρω από τα κρίσιμα σημεία του διαγράμματος διακλάδωσης.

### 3.3 Μελέτη ενός σημείου ασταθούς ισορροπίας

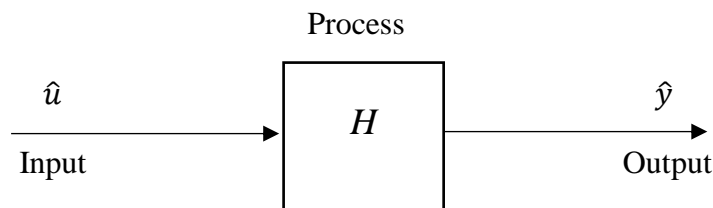
Στην παράγραφο αυτή θα επιχειρήσουμε να εντοπίσουμε ένα σημείο ασταθούς ισορροπίας και στη συνέχεια να προσομοιάσουμε την δυναμική συμπεριφορά του. Σε επόμενο κεφάλαιο θα παρουσιάσουμε και θα σχολιάσουμε τα αποτελέσματα που προέκυψαν.

Εφόσον έχουμε χαρακτηρίσει τους κλάδους των λύσεων και τα σημεία ισορροπίας ως προς την ευστάθεια, μπορούμε να επιλέξουμε και να μελετήσουμε ένα οποιοδήποτε σημείο ασταθούς ισορροπίας, δηλαδή ένα οποιοδήποτε σημείο του ασταθούς (επάνω) κλάδου (Γράφημα 5). Για το σημείο αυτό περιμένουμε τα εξής αποτελέσματα (**Devaney, 1992**):

- ✚ Να αποτελεί λύση του συστήματος των διαφορικών εξισώσεων.
- ✚ Προκαλώντας μία διαταραχή στις αρχικές συνθήκες, να αλλάζει η συμπεριφορά του συστήματος ανάλογα με το μέγεθος της διαταραχής. Συγκεκριμένα, αναμένουμε το σύστημα να οδηγείται στον ευσταθή κλάδο για μία μικρή διαταραχή των αρχικών τιμών των μεταβλητών προς τα κάτω και αντίστοιχα στον ασταθή κλάδο για μία μικρή διαταραχή προς τα πάνω.

### 3.3.1 Δυναμική απόκριση ανοικτού βρόγχου και προσομοιώσεις

Σε αυτό το σημείο θα παρουσιάσουμε και θα προσομοιώσουμε την δυναμική απόκριση ανοικτού βρόγχου (open loop response) του συστήματος. Πρόκειται για την έξοδο που θα δώσει το σύστημα ανάλογα με την είσοδο με την οποία θα το τροφοδοτήσουμε (Σχήμα 7). Για να γίνει ευκολότερα κατανοητό αυτό, ας υποθέσουμε ότι υπάρχει μία διεργασία  $H$  την οποία θέλουμε να ελέγξουμε. Έστω  $u$  η είσοδος της διεργασίας και  $y$  η έξοδος. Υποθέτουμε ότι έχουμε μια πλήρη περιγραφή της διεργασίας, δηλαδή γνωρίζουμε για οποιαδήποτε είσοδο  $u$  ποια είναι η έξοδος  $y$ . Επίσης υποθέτουμε ότι υπάρχει μια συγκεκριμένη είσοδος, έστω  $\hat{u}$ , η οποία αντιστοιχεί σε μία δεδομένη, επιθυμητή έξοδο, έστω  $\hat{y}$ . Ένας τρόπος να ελέγξουμε την διεργασία έτσι ώστε να παράγει την επιθυμητή έξοδο  $\hat{y}$  είναι να την τροφοδοτήσουμε με την είσοδο  $\hat{u}$  (Friedland, 2012). Είναι φανερό πως η έξοδος  $y$  ενός δεδομένου συστήματος για μία είσοδο  $u$  εξαρτάται αποκλειστικά από την δομή και τα χαρακτηριστικά του συστήματος καθώς δεν υφίσταται κάποιου είδους ανάδραση.



**Σχήμα 7.** Ανοικτός βρόγχος ρύθμισης (open – loop control). Η προς ρύθμιση διεργασία συμβολίζεται με  $H$ . Η είσοδος  $\hat{u}$  είναι κατάλληλα επιλεγμένη ώστε να παράγει την επιθυμητή έξοδο  $\hat{y}$  (Friedland, 2012).

Το σύστημα που ρυθμίζει την μιτωτική φάση στα δείγματα από αυγό βατράχου *Xenopus laevis* έχει 7 εισόδους και 7 εξόδους, τις μεταβλητές  $y_1, y_2, \dots, y_7$ . Μέσα από τις προσομοιώσεις που ακολουθούν θα επιχειρήσουμε δίνοντας τις κατάλληλες εισόδους (αρχικές συνθήκες) να πάρουμε τις επιθυμητές εξόδους (ευστάθεια ή αστάθεια του συστήματος).

Για την ανάλυση μας επιλέξαμε να μελετήσουμε το δεξιότερο από τα σημεία που είναι σημειωμένα με  $H$  στο διάγραμμα διακλάδωσης (Γράφημα 5). Το σημείο αυτό όπως ήδη έχουμε δείξει είναι ένα σημείο ασταθούς ισορροπίας (saddle). Οι steady state τιμές των μεταβλητών και της παραμέτρου στο σημείο αυτό φαίνονται στον Πίνακα 7. Οι προσομοιώσεις που πραγματοποιήσαμε αφορούν ουσιαστικά την επίλυση του συστήματος των διαφορικών εξισώσεων του μοντέλου μας με αριθμητική ολοκλήρωση και επιβάλλοντας μία διαταραχή. Συγκεκριμένα, τρέξαμε δύο προσομοιώσεις για κάθε μία από τις 7 μεταβλητές του συστήματος. Στην πρώτη επιβάλλαμε στις αρχικές συνθήκες διαταραχή +0.0001 ενώ στην δεύτερη -0.0001. Ως αρχικές συνθήκες



θεωρούνται προφανώς οι τιμές του Πίνακα 7. Όπως έχει ήδη αναφερθεί για τις προσομοιώσεις έγινε χρήση του λογισμικού MATLAB.

Coordinates	
Y1	0.99767864
Y2	7.3041916
Y3	0.41713561
Y4	0.94996545
Y5	0.94996545
Y6	0.24723053
Y7	0.29576836
Parameters	
K1	0.4730515

**Πίνακας 7.** Οι λύσεις μόνιμης κατάστασης *steady – state* τιμές των μεταβλητών (*Coordinates*) και η τιμή της παραμέτρου (*Parameters*) του σημείου ασταθούς ισορροπίας του συστήματος που επιλέξαμε.

## 4. Σχεδιασμός συστήματος ρύθμισης

---

Στο κεφάλαιο αυτό με το οποίο ολοκληρώνεται το κύριο μέρος της παρούσας εργασίας θα ασχοληθούμε με τον σχεδιασμό ενός συστήματος ρύθμισης για το μοντέλο μας. Αρχικά, θα γίνει μία εισαγωγή στην έννοια και την σημασία της ανάδρασης. Στη συνέχεια θα προχωρήσουμε στον σχεδιασμό ενός PI ρυθμιστή με τη βοήθεια του οποίου θα προσπαθήσουμε να σταθεροποιήσουμε ένα ασταθές σημείο ισορροπίας του συστήματος μέσα από προσομοιώσεις

### 4.1 Ο μηχανισμός ανάδρασης

Ένας τρόπος για να ελέγξουμε ένα σύστημα είναι η ανάδραση. Αυτός ο τύπος ελέγχου στηρίζεται στην μέτρηση της μεταβλητής ελέγχου και στην προσαρμογή της εξόδου του συστήματος. Κανένας μηχανισμός στην φύση ή την τεχνολογία δεν είναι τόσο διαδεδομένος όσο ο μηχανισμός της ανάδρασης. Παρακάτω παραθέτουμε μόνο ελάχιστα από τα αμέτρητα παραδείγματα μηχανισμών ανάδρασης που συναντούμε γύρω μας.

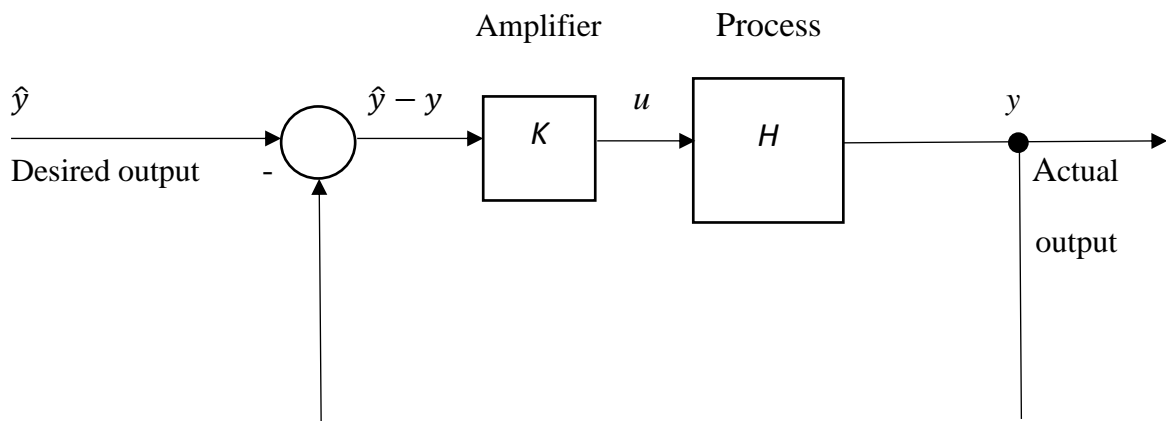
- ✚ Μέσω ενός μηχανισμού ανάδρασης ένα θηλαστικό διατηρεί την θερμοκρασία του σώματός του σταθερή στο όριο ενός βαθμού ακόμη και αν η θερμοκρασία περιβάλλοντος διακυμαίνεται κατά εκατοντόδες βαθμούς ή και περισσότερους.
- ✚ Με ανάδραση η θερμοκρασία μέσα σε ένα φούρνο ή σε ένα κτήριο διατηρείται σταθερή στο όριο του βαθμού της επιθυμητής ρύθμισης έστω κι αν η εξωτερική θερμοκρασία διακυμαίνεται κατά 20 ή 30 βαθμούς σε μία μέρα.
- ✚ Ένα αεροσκάφος είναι ικανό να διατηρεί την επικεφαλίδα και το υψόμετρό του και βέβαια να προσγειώνεται χωρίς καμία ανθρώπινη παρέμβαση, αλλά μέσω ανάδρασης.
- ✚ Η ανάδραση είναι ο μηχανισμός που κτιστά δυνατόν για ένα δίποδο να σταθεί όρθιο στα δύο πόδια και να περπατάει χωρίς να πέσει.

Είναι δύσκολο να βρούμε μια διεργασία που να συμβαίνει στη φύση ή να είναι σχεδιασμένη από τον άνθρωπο και να μην περιέχει με κάποιο τρόπο ανάδραση. Επειδή η ανάδραση βρίσκεται παντού γύρω μας, δεν την αντιλαμβανόμαστε παρά μόνο όταν δεν λειτουργεί κανονικά: όταν για παράδειγμα το σύστημα ρύθμισης της έντασης μιας μικροφωνικής εγκατάστασης σε ένα αμφιθέατρο είναι ρυθμισμένο πολύ ψηλά και «μικροφωνίζει», ή ακόμη όταν ο θερμοστάτης σε ένα κτίριο δεν λειτουργεί κανονικά με αποτέλεσμα να κάνει υπερβολική ζέστη ή κρύο εντος του κτιρίου.

Για να αντιληφθούμε καλύτερα τον μηχανισμό ανάδρασης, ας επανέλθουμε στον έλεγχο ανοικτού βρόγχου για τον οποίο μιλήσαμε στο προηγούμε κεφάλαιο. Τέτοιο είδος ελέγχου εφαρμόζει ο παίκτης του μπιλιάρδου. Με μία ενστικτώδη ή θεωρητική γνώση της φυσικής που καθορίζει τον τρόπο που κινούνται οι μπάλες καθώς χτυπούν στο πλαίσιο του τραπεζιού, ένας έμπειρος παίκτης ξέρει ακριβώς πού να χτυπήσει την λευκή μπάλα έτσι ώστε να ακολουθήσει την επιθυμητή τροχιά. Το χτύπημα που προήλθε από τη στέκα αποτελεί έναν έλεγχο ανοικτού βρόγχου. Προκειμένου η μπάλα να ακολουθήσει την επιθυμητή τροχιά, ο παίκτης πρέπει όχι μόνο να υπολογίσει με ακρίβεια πώς θα πραγματοποιήσει το χτύπημα αλλά και να το εκτελέσει αλάνθαστα. Ωστόσο, κανείς δεν είναι τέλειος. Από την άλλη ας υποθέσουμε πως κάποιος θέλει να «κλέψει» στο μπιλιάρδο τοποθετώντας έναν αισθητήρα στην λευκή μπάλα έτσι ώστε να μπορεί πάντα να «βλέπει» τον στόχο και με κάποιο τρόπο να μπορεί να ελέγχει την κίνησή της προς τον στόχο. Τέλος τοποθετεί ένα μικροσκοπικό δέκτη μέσα στην μπάλα έτσι ώστε να μπορεί ο «απατεώνας» να μεταδίδει τον επιθυμητό στόχο στην λευκή μπάλα. Με μια τέτοια μπάλα δεν μπορεί παρά να κερδίζει κάθε παιχνίδι κι αυτό γιατί η μπάλα χρησιμοποιεί μηχανισμό ανάδρασης.

Η μαγική λευκή μπάλα έχει δύο χαρακτηριστικά κοινά σε κάθε σύστημα ανάδρασης (**Friedland, 2012**): ένα μέσο για την παρακολούθηση της συμπεριφοράς της και ένα μέσο για τη διόρθωση τυχόν απόκλισης από αυτήν. Τα δύο αυτά στοιχεία ενός αναδραστικού συστήματος ελέγχου φαίνονται στο Σχήμα 8. Αντί να ελέγξουμε την έξοδο της διεργασίας επιλέγοντας το σήμα εισόδου  $\hat{u}$  το ποίο παράγει το επιθυμητό  $\hat{y}$ , το σήμα ελέγχου  $u$  δημιουργείται ως συνάρτηση του σφάλματος του συστήματος (system error) το οποίο ορίζεται ως η διαφορά ανάμεσα στην επιθυμητή  $\hat{y}$  και την ακριβή έξοδο  $y$ :

$$e = \hat{y} - y \quad (4.1)$$



**Σχήμα 8.** Σύστημα ελέγχου κλειστού βρόγχου με ανάδραση. Με  $K$  συμβολίζεται ο ενισχυτής και με  $H$  η διεργασία. Η είσοδος  $u$  είναι αναλογική σε σχέση με την διαφορά μεταξύ της επιθυμητής  $\hat{y}$  και της ακριβούς εξόδου  $y$  (Friedland, 2012).

Το σφάλμα αυτό, κατάλληλα ενισχυμένο, όπως φαίνεται από την έξοδο του ενισχυτή (amplifier) στο Σχήμα 8, αποτελεί την είσοδο της διεργασίας (process).

Έστω ότι μπορούμε να αναπαραστήσουμε την λειτουργία της υπό ελέγχου διεργασίας με μια απλή αλγεβρική σχέση:

$$y = Hu \quad (4.2)$$

και ο ενισχυτής επίσης από την σχέση:

$$u = Ke \quad (4.3)$$

Συνδυάζοντας τις (4.1), (4.2) και (4.3) καταλήγουμε στην εξίσωση:

$$y = HKe = HK(\hat{y} - y).$$

Λύνοντας ως προς  $y$  έχουμε:

$$y = \frac{HK}{1+HK} \hat{y} \quad (4.4)$$

Παρόλο που η έξοδος  $y$  δεν ισούται ακριβώς με την επιθυμητή έξοδο  $\hat{y}$ , εάν το «κέρδος» του ενισχυτή  $K$  είναι αρκετά μεγάλο (δηλαδή  $HK \gg 1$ ) τότε:

$$y = \hat{y} \quad (4.5)$$

Η παραπάνω ανάλυση περιγράφει την ρύθμιση κλειστού βρόγχου (closed loop control) την οποία θα εφαρμόσουμε στη συνέχεια για το σύστημα που εξετάζουμε στην παρούσα εργασία. Μπορούμε να κάνουμε την ακριβή έξοδο  $y$  να προσεγγίζει την επιθυμητή έξοδο όσο περισσότερο θέλουμε απλά αυξάνοντας επαρκώς το κέρδος  $K$ . Επιπλέον, το συμπέρασμα αυτό ισχύει για κάθε επιθυμητή έξοδο. Δεν χρειάζεται να γνωρίζουμε το  $\hat{y}$  εκ των προτέρων όπως κάναμε για τον καθορισμό του  $\hat{u}$  στον έλεγχο ανοικτού βρόγχου. Επίσης, το συμπέρασμα αυτό ισχύει ανεξάρτητα από την διεργασία – όποιο δηλαδή κι αν είναι το  $H$ . Για την ακρίβεια, το  $H$  μπορεί και να αλλάζει στην πορεία του χρόνου χωρίς να επηρεάζει το βασικό αποτέλεσμα. Τα γεγονότα αυτά αποτελούν πολύ σημαντικά πλεονεκτήματα της ανάδρασης και μας βοηθούν να καταλάβουμε γιατί είναι τόσο χρήσιμη. Δυστυχώς, τα συστήματα που συναντάμε στη φύση, όπως και αυτό του μηχανισμού ρύθμισης του κυτταρικού κύκλου του *Xenopus laevis*, δεν είναι τόσο απλά ώστε να μπορούν να περιγραφούν από την παραπάνω ανάλυση. Το πρόβλημα είναι πως εξαιτίας της δυναμικής των διεργασιών, η σχέση μεταξύ της εξόδου και της εισόδου είναι πολύ πιο πολύπλοκη από την (4.2).

## 4.2 Σχεδιασμός του PI ρυθμιστή

Υπάρχουν διάφοροι τύποι ρυθμιστών τους οποίους μπορεί να χρησιμοποιήσει κανείς για τον σχεδιασμό ενός συστήματος με ανάδραση. Για της ανάγκες του μοντέλου που μελετάμε στην εργασία αυτή επιλέξαμε τον σχεδιασμό ενός αναλογικού – ολοκληρωτικού ρυθμιστή (proportional – integral controller). Αρχικά λοιπόν, θα ασχοληθούμε σύντομα με την περιγραφή, την λειτουργία και την χρησιμότητα ενός PI ρυθμιστή. Ύστερα θα συνεχίσουμε με τον σχεδιασμό του ο οποίος έγινε με την μέθοδο pole placement (τοποθέτηση των πόλων). Απαραίτητες διαδικασίες για την εφαρμογή της μεθόδου αποτέλεσαν η γραμμικοποίηση του συστήματος γύρω από το σημείο ασταθούς ισορροπίας και η state – space παρουσίαση του μοντέλου.

### 4.2.1 Ο PI νόμος ρύθμισης

Ο ρυθμιστής αυτός είναι ένας από τους πιο διαδεδομένους στην βιομηχανία. Το αναλογικό κέρδος παρέχει ευστάθεια και απόκριση υψηλής συχνότητας. Ο ολοκληρωτικός όρος διασφαλίζει ότι το μέσο σφάλμα οδηγείται στο μηδέν. Τα πλεονεκτήματα του PI ρυθμιστή είναι πως υπάρχουν μόνο δύο κέρδη που απαιτούν να βελτιστοποιηθούν, ότι δεν υπάρχει σφάλμα μόνιμης κατάστασης και τέλος πως η μέθοδος συνήθως παρέχει συστήματα υψηλής απόκρισης. Το κυρίαρχο μειονέκτημα είναι ότι οι PI ρυθμιστές συχνά παράγουν υπερβολική υπέρβαση (overshoot) σε μία βηματική απόκριση (Ellis, 2012).

Ο νόμος που διέπει την λειτουργία του PI ρυθμιστή είναι (Astrom & Wittenmark, 1994):

$$u(t) = K_p e(t) + K_I \int_0^t e(\tau) d\tau \quad (4.6).$$

Θέτουμε

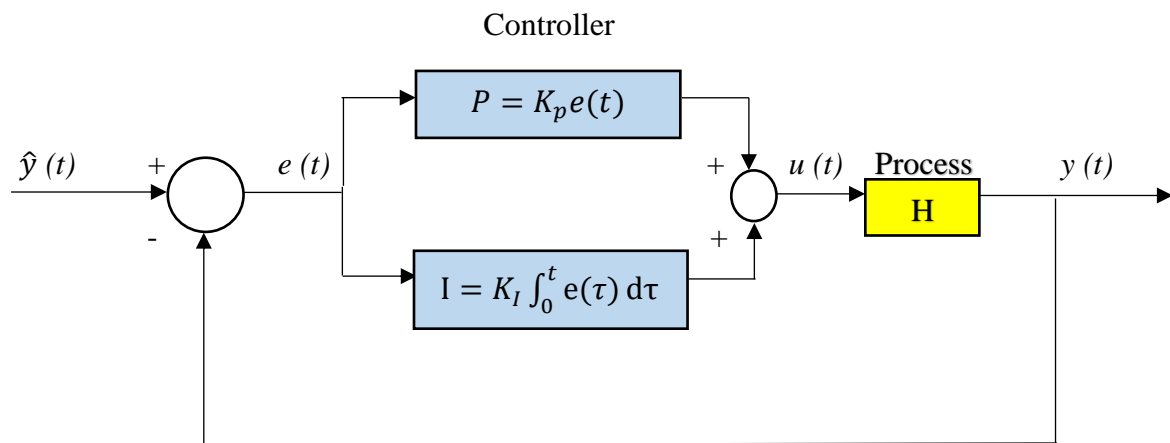
$$w(t) = \int_0^t e(\tau) d\tau \quad (4.7).$$

Συνδιάζοντας τις (4.2), (4.6), (4.7) έχουμε:

$$\begin{aligned} y(t) &= H \left( K_p e(t) + K_I w(t) \right) = HK_p (\hat{y}(t) - y(t)) + HK_I w(t) \Rightarrow \\ y(t) &= \frac{HK_p}{1+HK_p} \hat{y}(t) + \frac{HK_I}{1+HK_p} w(t) \end{aligned} \quad (4.8).$$

Τόσο από την εξίσωση (4.6) όσο και από το Σχήμα 9 διαπιστώνουμε ότι η έξοδος ενός PI ρυθμιστή είναι το άθροισμα δύο σημάτων, ενός αναλογικού προς το

σφάλμα και ενός αναλογικού προς το ολοκλήρωμα του σφάλματος. Επίσης, η εξίσωση (4.8) δηλώνει πως η μετρούμενη έξοδος του συστήματος είναι είναι το άθροισμα δύο σημάτων, ενός αναλογικού προς την επιθυμητή έξοδο και ενός αναλογικού προς το ολοκλήρωμα του σφάλματος. Το ολοκλήρωμα εξαφανίζει το σφάλμα μόνιμης κατάστασης, όμως δημιουργεί υστέρηση φάσης (Ellis, 2012). Η υστέρηση φάσης του ολοκληρώματος είναι  $90^\circ$ . Η υστέρηση φάσης του αναλογικού κέρδους είναι  $0^\circ$  (είσοδος και έξοδος είναι σε φάση). Η υστέρηση φάσης ενός PI ρυθμιστή είναι πάντα ανάμεσα σε αυτές τις δύο τιμές.



**Σχήμα 9.** Σχηματική αναπαράσταση αναδραστικού συστήματος με PI ρυθμιστή. Ο ρυθμιστής (Controller) αποτελείται από τα στοιχεία P και I. Με  $u(t)$  συμβολίζεται η είσοδος της διεργασίας H, με  $y(t)$  η μετρούμενη έξοδος, με  $\hat{y}(t)$  η επιθυμητή έξοδος και με  $e(t)$  το σφάλμα  $\hat{y}(t) - y(t)$ . Η είσοδος της διεργασίας είναι το άθροισμα δύο σημάτων, ενός αναλογικού προς το σφάλμα και ενός αναλογικού προς το ολοκλήρωμα του σφάλματος ([www.radhesh.wordpress.com](http://www.radhesh.wordpress.com)).

#### 4.2.2 Γραμμικοποίηση του συστήματος γύρω από σημείο ισορροπίας

Οι περισσότερες διαφορικές εξισώσεις ή συστήματα διαφορικών εξισώσεων που συναντά κανείς στην πράξη είναι μη γραμμικά. Στις εφαρμογές ενδιαφέρεται κανείς για την συμπεριφορά ενός δυναμικού συστήματος κοντά σε ένα σημείο ισορροπίας. Για να μελετήσουμε την συμπεριφορά ενός μη γραμμικού δυναμικού συστήματος κοντά σε ένα σημείο ισορροπίας, μπορούμε να γραμμικοποιήσουμε το σύστημα (Bretscher, 2008). Έστω το σύστημα:

$$\dot{x}_1 = f_1(x_1, x_2, \dots, x_n, u_1, u_2, \dots, u_r)$$

$$\dot{x}_2 = f_2(x_1, x_2, \dots, x_n, u_1, u_2, \dots, u_r)$$

...

$$\begin{aligned}
\dot{x}_n &= f_n(x_1, x_2, \dots, x_n, u_1, u_2, \dots, u_r) \\
y_1 &= h_1(x_1, x_2, \dots, x_n, u_1, u_2, \dots, u_r) \\
y_2 &= h_2(x_1, x_2, \dots, x_n, u_1, u_2, \dots, u_r) \\
&\dots \\
y_m &= h_m(x_1, x_2, \dots, x_n, u_1, u_2, \dots, u_r).
\end{aligned} \tag{4.1}$$

Το διάνυσμα στήλη  $\mathbf{x} = [x_1 \ x_2 \ \dots \ x_n]^T$  ονομάζεται κατάσταση του συστήματος. Τα διανύσματα  $\mathbf{u} = [u_1 \ u_2 \ \dots \ u_r]$  και  $\mathbf{y} = [y_1 \ y_2 \ \dots \ y_m]^T$  καλούνται είσοδος του ελέγχου και έξοδος του συστήματος αντίστοιχα. Το σύστημα αυτό πιο συνεπτυγμένα γράφεται ως:

$$\begin{aligned}
\dot{\mathbf{x}} &= \mathbf{f}(\mathbf{x}, \mathbf{u}) \\
\mathbf{y} &= \mathbf{h}(\mathbf{x}, \mathbf{u})
\end{aligned} \tag{4.2},$$

$$\text{όπου } \mathbf{f}(\mathbf{x}, \mathbf{u}) = \begin{bmatrix} f_1(x_1, x_2, \dots, x_n, u_1, u_2, \dots, u_r) \\ f_2(x_1, x_2, \dots, x_n, u_1, u_2, \dots, u_r) \\ \vdots \\ f_n(x_1, x_2, \dots, x_n, u_1, u_2, \dots, u_r) \end{bmatrix} \tag{4.3}.$$

Όταν οι  $\mathbf{f}$  και  $\mathbf{h}$  είναι μη γραμμικές συναρτήσεις των  $\mathbf{x}$  και  $\mathbf{u}$ , τότε λέμε ότι το σύστημα είναι μη γραμμικό. Στην παράγραφο αυτή λοιπόν θα σχοληθούμε με την διαδικασία γραμμικοποίησης ενός μη γραμμικού συστήματος. Να σημειωθεί πως το σύστημα του μοντέλου που περιγράφει τον μηχανισμό ρύθμισης του κυτταρικού κύκλου του *Xenopus laevis* είναι μη γραμμικό. Τα συστήματα αυτά όπως έχει ήδη αναφερθεί είναι δύσκολο να μελετηθούν λόγω της χαοτικής (μη γραμμικής) συμπεριφοράς τους. Ωστόσο, όταν ένα μη γραμμικό σύστημα βρίσκεται κοντά σε ένα σημείο ισορροπίας, τότε είναι δυνατό να μελετήσουμε την συμπεριφορά του σε μια γειτονιά του σημείου αυτού.

**Ορισμός σημείου ισορροπίας:** Έστω το σύστημα (4.2) και ας υποθέσουμε ότι το  $\mathbf{u}$  έχει μία σταθερή τιμή  $\mathbf{u}^*$ . Τότε, το  $\mathbf{x}^*$  αποτελεί ένα σημείο ισορροπίας του συστήματος αν  $\mathbf{f}(\mathbf{x}^*, \mathbf{u}^*) = [0 \ 0 \ \dots \ 0]^T$ .

Στόχος μας είναι να γράψουμε το σύστημα μας στην μορφή:

$$\begin{aligned}
\dot{\mathbf{x}} &= \mathbf{A}\mathbf{x} + \mathbf{B}\mathbf{u} \\
\mathbf{y} &= \mathbf{C}\mathbf{x} + \mathbf{D}\mathbf{u}
\end{aligned} \tag{4.4},$$

όπου ο  $\mathbf{A}$  είναι ένας  $n \times n$  πίνακας, ο  $\mathbf{B}$  είναι  $n \times r$ , ο  $\mathbf{C}$  είναι  $m \times n$  και ο  $\mathbf{D}$  είναι  $m \times r$ . Ένας λόγος που προσπαθούμε να προσεγγίσουμε ένα μη γραμμικό σύστημα με το γραμμικό μοντέλο της πιο πάνω μορφής είναι πως με τον τρόπο αυτό είμαστε σε θέση να εφαρμόσουμε απλές και συστηματικές τεχνικές σχεδιασμού γραμμικού ελέγχου.

Να σημειωθεί ότι ένα γραμμικοποιημένο μοντέλο είναι έγκυρο μόνο όταν το σύστημα βρίσκεται σε μία επαρκώς μικρή περιοχή γύρω από ένα σημείο ισοροπίας.

Έστω  $\mathbf{x}^* = [x_1^* \ x_2^* \ \dots \ x_n^*]^T$  ένα σημείο ισοροπίας του μη γραμμικού συστήματος στο οποίο βρίσκεται το σύστημα για  $\mathbf{u} = \mathbf{u}^* = [u_1^* \ u_2^* \ \dots \ u_r^*]^T$ . Θέτουμε  $\Delta \mathbf{x} = \mathbf{x} - \mathbf{x}^*$ , δηλαδή,

$$\Delta \mathbf{x} = \begin{bmatrix} \Delta x_1 \\ \vdots \\ \Delta x_n \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} x_1 - x_1^* \\ \vdots \\ x_n - x_n^* \end{bmatrix} \quad (4.5).$$

Θέτουμε επίσης  $\Delta \mathbf{u} = \mathbf{u} - \mathbf{u}^*$  και  $\Delta \mathbf{y} = \mathbf{y} - \mathbf{h}(\mathbf{x}^*, \mathbf{u}^*)$ . Οι νέες μεταβλητές αυτές παριστάνουν τις μεταβολές των  $\mathbf{x}$ ,  $\mathbf{u}$  και  $\mathbf{y}$  από τις τιμές τους στο σημείο ισοροπίας. Αν δούμε τις μεταβολές αυτές σαν νέα κατάσταση, είσοδο ελέγχου και έξοδο τότε η γραμμικοποίηση του συστήματος στο  $\mathbf{x}^*$  δίνεται από (Packard et al., 2002):

$$A = \left[ \frac{\partial f}{\partial \mathbf{x}} \right]_{\mathbf{x}^*, \mathbf{u}^*} = \begin{bmatrix} \frac{\partial f_1}{\partial x_1}(x_1^*, \dots, x_n^*, u_1^*, \dots, u_r^*) & \dots & \frac{\partial f_1}{\partial x_n}(x_1^*, \dots, x_n^*, u_1^*, \dots, u_r^*) \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{\partial f_n}{\partial x_1}(x_1^*, \dots, x_n^*, u_1^*, \dots, u_r^*) & \dots & \frac{\partial f_n}{\partial x_n}(x_1^*, \dots, x_n^*, u_1^*, \dots, u_r^*) \end{bmatrix} \quad (4.6),$$

$$B = \left[ \frac{\partial f}{\partial \mathbf{u}} \right]_{\mathbf{x}^*, \mathbf{u}^*} = \begin{bmatrix} \frac{\partial f_1}{\partial u_1}(x_1^*, \dots, x_n^*, u_1^*, \dots, u_r^*) & \dots & \frac{\partial f_1}{\partial u_r}(x_1^*, \dots, x_n^*, u_1^*, \dots, u_r^*) \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{\partial f_n}{\partial u_1}(x_1^*, \dots, x_n^*, u_1^*, \dots, u_r^*) & \dots & \frac{\partial f_n}{\partial u_r}(x_1^*, \dots, x_n^*, u_1^*, \dots, u_r^*) \end{bmatrix} \quad (4.7),$$

$$C = \left[ \frac{\partial \mathbf{h}}{\partial \mathbf{x}} \right]_{\mathbf{x}^*, \mathbf{u}^*} = \begin{bmatrix} \frac{\partial h_1}{\partial x_1}(x_1^*, \dots, x_n^*, u_1^*, \dots, u_r^*) & \dots & \frac{\partial h_1}{\partial x_n}(x_1^*, \dots, x_n^*, u_1^*, \dots, u_r^*) \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{\partial h_m}{\partial x_1}(x_1^*, \dots, x_n^*, u_1^*, \dots, u_r^*) & \dots & \frac{\partial h_m}{\partial x_n}(x_1^*, \dots, x_n^*, u_1^*, \dots, u_r^*) \end{bmatrix} \quad (4.8),$$

$$D = \left[ \frac{\partial \mathbf{h}}{\partial \mathbf{u}} \right]_{\mathbf{x}^*, \mathbf{u}^*} = \begin{bmatrix} \frac{\partial h_1}{\partial u_1}(x_1^*, \dots, x_n^*, u_1^*, \dots, u_r^*) & \dots & \frac{\partial h_1}{\partial u_r}(x_1^*, \dots, x_n^*, u_1^*, \dots, u_r^*) \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{\partial h_m}{\partial u_1}(x_1^*, \dots, x_n^*, u_1^*, \dots, u_r^*) & \dots & \frac{\partial h_m}{\partial u_r}(x_1^*, \dots, x_n^*, u_1^*, \dots, u_r^*) \end{bmatrix} \quad (4.9).$$

Ο πίνακας A λέγεται Ιακωβιανός (Jacobian) πίνακας του συστήματος στο σημείο  $(\mathbf{x}^*, \mathbf{u}^*)$ . Στη συνέχεια βρίσκουμε τις ιδιοτιμές του A.

- ✚ Αν και οι δύο ιδιοτιμές του J έχουν αρνητικό πραγματικό μέρος, τότε το (a,b) είναι ένα ευσταθές σημείο ισοροπίας του αρχικού συστήματος.
- ✚ Αν ο J έχει τουλάχιστον μία ιδιοτιμή με θετικό πραγματικό μέρος, τότε το (a,b) δεν είναι ευσταθές σημείο ισοροπίας του αρχικού συστήματος.

Το δυναμικό σύστημα που ρυθμίζει τον κυτταρικό κύκλο του *Xenopus laevis* και το οποίο μελετήσαμε έχει επτά μεταβλητές κατάστασης, μία μεταβλητή εισόδου (την



παράμετρο  $k_1$ ) και επτά μεταβλητές εξόδου (τις μεταβλητές κτάστασης). Συνεπώς, μπορεί να γραφτεί ως εξής:

$$\begin{aligned} \dot{\mathbf{x}} &= \mathbf{A}\mathbf{x} + \mathbf{B}u \\ \mathbf{y} &= \mathbf{C}\mathbf{x} + \mathbf{D}u \end{aligned} \quad (4.10),$$

όπου ο  $\mathbf{A}$  είναι ένας  $7 \times 7$  πίνακας, ο  $\mathbf{B}$  είναι  $7 \times 1$ , ο  $\mathbf{C}$  είναι  $7 \times 7$  και ο  $\mathbf{D}$  είναι  $7 \times 1$ . Πιο αναλυτικά από τους πίνακες (4.6), (4.7), (4.8), (4.9) έχουμε:

$$\mathbf{A} = \left[ \frac{\partial f}{\partial \mathbf{x}} \right]_{\mathbf{x}^*, u^*} = \begin{bmatrix} \frac{\partial f_1}{\partial x_1}(\mathbf{x}_1^*, \dots, \mathbf{x}_7^*, u^*) & \dots & \frac{\partial f_1}{\partial x_7}(\mathbf{x}_1^*, \dots, \mathbf{x}_7^*, u^*) \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{\partial f_7}{\partial x_1}(\mathbf{x}_1^*, \dots, \mathbf{x}_7^*, u^*) & \dots & \frac{\partial f_7}{\partial x_7}(\mathbf{x}_1^*, \dots, \mathbf{x}_7^*, u^*) \end{bmatrix} \quad (4.11),$$

$$\mathbf{B} = \left[ \frac{\partial f}{\partial u} \right]_{\mathbf{x}^*, u^*} = \begin{bmatrix} \frac{\partial f_1}{\partial u}(\mathbf{x}_1^*, \dots, \mathbf{x}_7^*, u^*) \\ \vdots \\ \frac{\partial f_7}{\partial u}(\mathbf{x}_1^*, \dots, \mathbf{x}_7^*, u^*) \end{bmatrix} \quad (4.12),$$

$$\mathbf{C} = \left[ \frac{\partial h}{\partial \mathbf{x}} \right]_{\mathbf{x}^*, u^*} = \begin{bmatrix} \frac{\partial h_1}{\partial x_1}(\mathbf{x}_1^*, \dots, \mathbf{x}_7^*, u^*) & \dots & \frac{\partial h_1}{\partial x_7}(\mathbf{x}_1^*, \dots, \mathbf{x}_7^*, u^*) \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{\partial h_7}{\partial x_1}(\mathbf{x}_1^*, \dots, \mathbf{x}_7^*, u^*) & \dots & \frac{\partial h_7}{\partial x_7}(\mathbf{x}_1^*, \dots, \mathbf{x}_7^*, u^*) \end{bmatrix} \quad (4.13),$$

$$\mathbf{D} = \left[ \frac{\partial h}{\partial u} \right]_{\mathbf{x}^*, u^*} = \begin{bmatrix} \frac{\partial h_1}{\partial u}(\mathbf{x}_1^*, \dots, \mathbf{x}_7^*, u^*) \\ \vdots \\ \frac{\partial h_7}{\partial u}(\mathbf{x}_1^*, \dots, \mathbf{x}_7^*, u^*) \end{bmatrix} \quad (4.14).$$

Το  $(\mathbf{x}^*, u^*)$  είναι ένα σημείο ασταθούς ισορροπίας του συστήματος του οποίου οι τιμές των μεταβλητών και της παραμέτρου φαίνονται στον Πίνακα 7. Η γραμμικοποίηση του συστήματος και ο αριθμητικός υπολογισμός των πινάκων  $\mathbf{A}$ ,  $\mathbf{B}$ ,  $\mathbf{C}$ ,  $\mathbf{D}$  έγιναν με το MATLAB και ο αντίστοιχος κώδικας με τα απαραίτητα σχόλια βρίσκεται στο παράρτημα.

### 4.2.3 Παρουσίαση του συστήματος στο χώρο κατάστασης (state-space)

Η κλασική θεωρία ελέγχου και οι μέθοδοι αυτής (όπως η μέθοδος root locus) βασίζονται σε μία απλή εισόδου - εξόδου περιγραφή του plant, που συνήθως εκφράζεται με την μορφή μίας συνάρτησης μεταφοράς. Οι μέθοδοι αυτές δεν κάνουν καθόλου χρήση της εσωτερικής δομής του μοντέλου και μας περιορίζουν σε συστήματα μίας εισόδου – μίας εξόδου (SISO) και επιτρέπουν μόνο περιορισμένο

έλεγχου της συμπεριφοράς του κλειστού βρόγχου όταν γίνεται χρήση ελέγχου με ανάδραση.

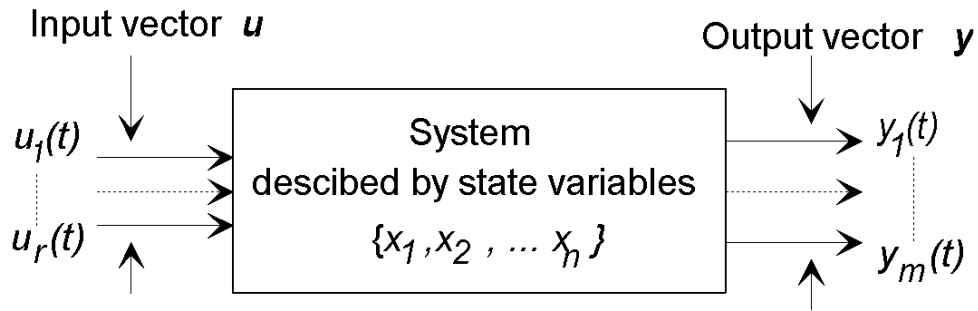
Η σύγχρονη θεωρία ελέγχου ξεπερνά πολλούς από τους περιορισμούς αυτούς χρησιμοποιώντας μια πολύ «αποδοτικότερη» περιγραφή της δυναμικής του μοντέλου. Η κατάσταση-χώρου (state – space) παρουσίαση του συστήματος όπως αποκαλείται περιγράφει την δυναμική του με ένα σύστημα συνδυαζόμενων διαφορικών εξισώσεων πρώτης τάξης του οποίου οι μεταβλητές ονομάζονται state μεταβλητές, μαζί με ένα σύστημα αλγεβρικών εξισώσεων που συνδυάζουν τις state μεταβλητές με τις φυσικές μεταβλητές εξόδου.

Ο όρος κατάσταση (state) ενός δυναμικού συστήματος αναφέρεται σε ένα ελάχιστο σύνολο μεταβλητών, γνωστές ως μεταβλητές κατάστασης (state variables), που περιγράφουν πλήρως το σύστημα και την απόκρισή του σε οποιοδήποτε σύνολο εισόδων. Συγκεκριμένα, ένα σύστημα του οποίου η αρχική κατάσταση καθορίζει οποιαδήποτε άλλη κατάστασή του έχει το χαρακτηριστικό ότι **(Rowell, 1997):**

Μία μαθηματική περιγραφή του συστήματος στα πλαίσια ενός ελάχιστου συνόλου μεταβλητών  $x_i(t)$ ,  $i = 1, \dots, n$  και η γνώση των μεταβλητών αυτών σε μία αρχική χρονική στιγμή  $t_0$  και των εισόδων του συστήματος για  $t \geq t_0$ , αρκούν για προβλέψουμε την μελλοντική κατάσταση του συστήματος και των εξόδων για οποιοδήποτε  $t > t_0$ .

Ο ορισμός αυτός ισχυρίζεται ότι η δυναμική συμπεριφορά ενός συστήματος που καθορίζεται από την αρχική του κατάσταση χαρακτηρίζεται πλήρως από την απόκριση του συνόλου των  $n$  μεταβλητών  $x_i(t)$ , όπου ο αριθμός  $n$  ορίζεται ως η τάξη του συστήματος.

Το σύστημα που φαίνεται στο Σχήμα 10 έχει  $r$  μεταβλητές εισόδου  $u_1(t), \dots, u_r(t)$ , και  $m$  μεταβλητές εξόδου  $y_1(t), \dots, y_m(t)$ . Αν η κατάσταση του συστήματος καθορίζεται μόνο από την αρχική του κατάσταση, η γνώση των μεταβλητών κατάστασής του ( $x_1(t_0), x_2(t_0), \dots, x_n(t_0)$ ) σε κάποια χρονική στιγμή  $t_0$  και των εισόδων  $u_1(t)$  και  $u_2(t)$  για  $t \geq t_0$  είναι επαρκής για να προβέψουμε οποιαδήποτε μελλοντική συμπεριφορά του συστήματος. Οι μεταβλητές κατάστασης αποτελούν μία εσωτερική περιγραφή του συστήματος η οποία χαρακτηρίζει πλήρως την κατάσταση του συστήματος οποιαδήποτε χρονική στιγμή  $t$ , και από τις οποίες οποιαδήποτε μεταβλητή εξόδου  $y_i(t)$  μπορεί να υπολογιστεί.



**Σχήμα 10.** Σχηματική αναπαράσταση ενός συστήματος. Κεντρικά απεικονίζεται το σύστημα των εξισώσεων που περιγράφεται από τις μεταβλητές κατάστασης  $x_1(t), x_2(t), \dots, x_n(t)$ , αριστερά το διάνυσμα των εισόδων  $\{u_1(t), \dots, u_r(t)\}$  και δεξιά το διάνυσμα των εξόδων  $\{y_1(t), \dots, y_m(t)\}$  (Rowell, 1997).

Το σύνολο των μεταβλητών κατάστασης που περιγράφει ένα σύστημα δεν είναι μοναδικό. Μπορούμε να επιλέξουμε πολλά διαφορετικά σύνολα μεταβλητών τα οποία αδηγούν σε πλήρη περιγραφή του συστήματος. Ωστόσο, για ένα σύστημα είναι μοναδική η τάξη  $n$  και είναι ανεξάρτητη από το σύνολο των μεταβλητών κατάστασης που επιλέγουμε. Η περιγραφή συστημάτων με την βοήθεια μεταβλητών κατάστασης μπορεί να σχεδιαστεί με φυσικές και μετρήσιμες μεταβλητές ή με μετβλητές οι οποίες δεν είναι άμεσα μετρήσιμες. Είναι δυνατό από μαθηματικής πλευράς να μετασχηματίσουμε ένα σύνολο μεταβλητών κατάστασης σε ένα άλλο. Αυτό που έχει σημασία είναι πως κάθε σύνολο πρέπει να περιγράφει πλήρως το σύστημα.

Για την μαθηματική περιγραφή ενός δυναμικού συστήματος που αναφέραμε χρησιμοποιείται η λεγόμενη κανονική μορφή. Στην κανονική μορφή το σύστημα εκφράζεται με ένα σύνολο  $n$  συνδυασμένων συνήθων διαφορικών εξισώσεων πρώτης τάξης, γνωστές ως εξισώσεις κατάστασης (state equations), στις οποίες η χρονική παράγωγος κάθε μεταβλητής κατάστασης εκφράζεται συναρτήσει των μεταβλητών κατάστασης  $x_1(t_0), x_2(t_0), \dots, x_n(t_0)$  και των εισόδων του συστήματος  $u_1(t), \dots, u_r(t)$ . Στην γενική περίπτωση η μορφή των  $n$  εξισώσεων κατάστασης είναι:

$$\begin{aligned}
 \dot{x}_1 &= f_1(\mathbf{x}, \mathbf{u}, t) \\
 \dot{x}_2 &= f_2(\mathbf{x}, \mathbf{u}, t) \\
 &\vdots \\
 \dot{x}_n &= f_n(\mathbf{x}, \mathbf{u}, t)
 \end{aligned} \tag{4.15}$$

όπου  $\dot{x}_i = \frac{dx_i}{dt}$  και κάθε μία από τις συναρτήσεις  $f_i(\mathbf{x}, \mathbf{u}, t)$ , ( $i=1, \dots, n$ ) μπορεί να είναι μία μη γραμμική εξαρτώμενη από το χρόνο συνάρτηση των μεταβλητών κατάστασης, των εισόδων του συστήματος και του χρόνου.

Συνηθίζουμε να εκφράζουμε τις εξισώσεις κατάστασης με την μορφή διανύσματος, στο οποίο το σύνολο των  $n$  μεταβλητών κατάστασης γράφεται σαν ένα διάνυσμα κατάστασης (state vector)  $\mathbf{x}(t) = [x_1(t), x_2(t), \dots, x_n(t)]^T$  και το σύνολο των  $r$  εισόδων γράφεται σαν ένα διάνυσμα εισόδου (input vector)  $\mathbf{u}(t) = [u_1(t), u_2(t), \dots, u_r(t)]^T$ . Κάθε μεταβλητή κατάστασης ένα εξαρτώμενο από το χρόνο στοιχείο του διανύσματος στήλη  $\mathbf{x}(t)$ .

Αυτή η μορφή των εξισώσεων κατάστασης παρουσιάζει ρητά τα βασικά στοιχεία που περιέχονται στον ορισμό ενός συστήματος καταστάσεων (state-determined). Δοθέντος ενός συνόλου αρχικών συνθηκών (οι τιμές των  $x_i$  σε κάποια χρονική στιγμή  $t_0$ ) και των εισόδων για  $t \geq t_0$ , οι εξισώσεις κατάστασης προσδιορίζουν ρητά τις παραγώγους όλων των μεταβλητών κατάστασης. Η τιμή κάθε μεταβλητής κατάστασης σε μία χρονική στιγμή  $t_0 + \Delta t$  μπορεί τότε να βρεθεί με άμεση ολοκλήρωση.

Η κατάσταση του συστήματος σε μία οποιαδήποτε χρονική στιγμή μπορεί να ερμηνευθεί σαν ένα σημείο ενός  $n$  – διάστατου χώρου κατάστασης και η δυναμική απόκριση  $\mathbf{x}(t)$  μπορεί να ερμηνευθεί σαν ένα μονοπάτι ή μία τροχιά στον χώρο κατάστασης.

Σε διανυσματική μορφή οι εξισώσεις κατάστασης γράφονται ως:

$$\dot{\mathbf{x}} = \mathbf{f}(\mathbf{x}, \mathbf{u}, t) \quad (4.16),$$

όπου  $\mathbf{f}(\mathbf{x}, \mathbf{u}, t)$  είναι ένα διάνυσμα συναρτήσεων με  $n$  στοιχεία  $f_i(\mathbf{x}, \mathbf{u}, t)$ .

Στην παρούσα εργασία επικεντρωνόμαστε στην περιγραφή συστημάτων τα οποία είναι γραμμικά (linear) και ανεξάρτητα χρονικά (time – invariant) (LTI), δηλαδή συστήματα που περιγράφονται από γραμμικές διαφορικές εξισώσεις με σταθερούς συντελεστές:

$$\begin{aligned} \dot{x}_1 &= a_{11}x_1 + a_{12}x_2 + \dots + a_{1n}x_n + b_{11}u_1 + \dots + b_{1r}u_r \\ \dot{x}_2 &= a_{21}x_1 + a_{22}x_2 + \dots + a_{2n}x_n + b_{21}u_1 + \dots + b_{2r}u_r \\ &\vdots \\ \dot{x}_n &= a_{n1}x_1 + a_{n2}x_2 + \dots + a_{nn}x_n + b_{n1}u_1 + \dots + b_{nr}u_r \end{aligned} \quad (4.16),$$

όπου οι συντελεστές  $a_{ij}$  και  $b_{ij}$  είναι σταθερές που περιγράφουν το σύστημα. Αυτό το σύστημα των  $n$  εξισώσεων ορίζει τις παραγώγους των μεταβλητών κατάστασης ως ένα άθροισμα των μεταβλητών κατάστασης και των εισόδων του συστήματος πολλαπλασιασμένων με τα αντίστοιχα βάρη (συντελεστές).

Το παραπάνω σύστημα μπορεί να γραφεί με την μορφή πινάκων ως:

$$\frac{d}{dt} \begin{bmatrix} x_1 \\ x_2 \\ \vdots \\ x_n \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} a_{11} & a_{12} & \cdots & a_{1n} \\ a_{21} & a_{22} & \cdots & a_{2n} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ a_{n1} & a_{n2} & \cdots & a_{nn} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} x_1 \\ x_2 \\ \vdots \\ x_n \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} b_{11} & \cdots & b_{1r} \\ b_{21} & \cdots & b_{2r} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ b_{n1} & \cdots & b_{nr} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} u_1 \\ u_2 \\ \vdots \\ u_r \end{bmatrix} \quad (4.17),$$

ή πιο συνεπτυγμένα:

$$\dot{\mathbf{x}} = \mathbf{Ax} + \mathbf{Bu} \quad (4.18),$$

όπου το διάνυσμα κατάστασης  $\mathbf{x}$  είναι ένα διάνυσμα στήλη μεγέθους  $n$ , το διάνυσμα εισόδου  $\mathbf{u}$  είναι ένα διάνυσμα στήλη μεγέθους  $r$ , ο  $\mathbf{A}$  είναι ένας  $n \times n$  τετραγωνικός πίνακας των σταθερών συντελεστών  $a_{ij}$  και  $\mathbf{B}$  είναι ένας  $n \times r$  πίνακας των συντελεστών (βαρών)  $b_{ij}$  των εισόδων.

Η έξοδος ενός συστήματος μπορεί να είναι οποιαδήποτε μεταβλητή του συστήματος η οποία ενδεχομένως μας ενδιαφέρει. Μια σημαντική ιδιότητα της περιγραφής μέσω γραμμικών εξισώσεων κατάστασης είναι ότι όλες οι μεταβλητές του συστήματος μπορούν να εκφραστούν ως γραμμικός συνδυασμός των μεταβλητών κατάστασης  $x_i$  και των εισόδων του συστήματος  $u_i$ . Μία αυθαίρετη μεταβλητή εξόδου σε ένα σύστημα  $n$  τάξης με  $r$  εισόδους γράφεται ως:

$$y(t) = c_1 x_1 + c_2 x_2 + \dots + c_n x_n + d_1 u_1 + \dots + d_r u_r \quad (4.19),$$

όπου τα  $c_i$  και  $d_i$  είναι σταθερές. Αν θέσουμε ως εξόδους  $m$  μεταβλητές του συστήματος τότε οι αντίστοιχες  $m$  εξισώσεις γράφονται ως:

$$\begin{aligned} y_1 &= c_{11}x_1 + c_{12}x_2 + \dots + c_{1n}x_n + d_{11}u_1 + \dots + d_{1r}u_r \\ y_2 &= c_{21}x_1 + c_{22}x_2 + \dots + c_{2n}x_n + d_{21}u_1 + \dots + d_{2r}u_r \\ &\vdots \\ y_m &= c_{m1}x_1 + c_{m2}x_2 + \dots + c_{mn}x_n + d_{m1}u_1 + \dots + d_{mr}u_r \end{aligned} \quad (4.20).$$

Σε μορφή πινάκων το σύστημα γράφεται:

$$\begin{bmatrix} y_1 \\ y_2 \\ \vdots \\ y_m \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} c_{11} & c_{12} & \cdots & c_{1n} \\ c_{21} & c_{22} & \cdots & c_{2n} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ c_{m1} & c_{m2} & \cdots & c_{mn} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} x_1 \\ x_2 \\ \vdots \\ x_n \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} d_{11} & \cdots & d_{1r} \\ d_{21} & \cdots & d_{2r} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ d_{m1} & \cdots & d_{mr} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} u_1 \\ u_2 \\ \vdots \\ u_r \end{bmatrix} \quad (4.21),$$

ή σε συνεπτυγμένη μορφή:

$$\mathbf{y} = \mathbf{Cx} + \mathbf{Du} \quad (4.22),$$

όπου  $\mathbf{y}$  είναι ένα διάνυσμα στήλη των μεταβλητών εξόδου  $y_i(t)$ ,  $\mathbf{C}$  είναι ένας  $m \times n$  πίνακας των σταθερών συντελεστών  $c_{ij}$ , τα βάρη δηλαδή των μεταβλητών κατάστασης

και  $D$  είναι ο μηδενικός πίνακας. Επομένως η εξίσωση εξόδου απλοποιείται στην ακόλουθη εξίσωση:

$$y = Cx \quad (4.23).$$

Η πλήρης περιγραφή ενός γραμμικού χρονικά ανεξάρτητου συστήματος περιλαμβάνει:

- ✚ ένα σύστημα  $n$  εξισώσεων κατάστασης εκφρασμένες σε μορφή πινάκων και
- ✚ ένα σύστημα εξισώσεων εξόδου που συνδέουν τις μεταβλητές εξόδου που μας ενδιαφέρουν με τις μεταβλητές κατάστασης και τις εισόδους και είναι εκφρασμένες σε μορφή πινάκων.

Αν θέλουμε να μοντελοποιήσουμε ένα σύστημα δεν έχουμε παρά να εξάγουμε τα στοιχεία των πινάκων και να γράψουμε το μοντέλο του συστήματος στη μορφή (4.10).

Οι πίνακες  $A$  και  $B$  εξαρτώνται και καθορίζονται από την δομή και τα στοιχεία του συστήματος. Οι πίνακες των εξισώσεων εξόδου  $C$  και  $D$  καθορίζονται από την επιλογή των μεταβλητών εξόδου.

Συνοπτικά η διαδικασία μοντελοποίησης βασίζεται στα ακόλουθα βήματα (Rowell, 1997):

1. Καθορισμός της τάξης  $n$  του συστήματος και επιλογή ενός συνόλου μεταβλητών κατάστασης.
2. Δημιουργία ενός συστήματος εξισώσεων κατάστασης και των πινάκων  $A$  και  $B$  με τη χρήση μιας καλά ορισμένης μεθοδολογίας.
3. Καθορισμός ενός κατάλληλου συστήματος εξισώσεων κατάστασης και εξαγωγή των πινάκων  $C$  και  $D$ .

Στην προηγούμενη παράγραφο εξάγαμε τους πίνακες  $A$ ,  $B$ ,  $C$  και  $D$  μέσα από την γραμμικοποίηση του συστήματος. Μένει λοιπόν ο ορισμός του μοντέλου σε μορφή state – space το οποίο έγινε με το MATLAB και ο αντίστοιχος κώδικας βρίσκεται στο παράρτημα.

#### 4.2.4 Τοποθέτηση πόλων

Ο σχεδιασμός ενός ρυθμιστή με pole placement αποτελεί μία μέθοδο σχεδιασμού που στηρίζεται στην εξής παρατήρηση (Golnaraghi & Kuo, 2009): Γνωρίζοντας την σχέση ανάμεσα στους πόλους του κλειστού βρόγχου και την λειτουργία του συστήματος θα μπορούσαμε να πραγματοποιήσουμε με επιτυχία τον σχεδιασμό προσδιορίζοντας την θέση των πόλων αυτών. Ως πόλοι αναφέρονται οι ρίζες της χαρακτηριστικής εξίσωσης. Απαραίτητη προϋπόθεση για την εφαρμογή της μεθόδου είναι ότι το σύστημα πρέπει να είναι ελέγξιμο.

Όπως έχουμε ήδη αναφέρει θα επιχειρήσουμε να ελέγξουμε το σύστημα ρύθμισης του κυτταρικού κύκλου του *Xenopus laevis* με τη χρήση ανάδρασης (state feedback) με ολοκληρωτικό έλεγχο (integral control) ο οποίος συνίσταται ουσιαστικά στον σχεδιασμό ενός PI ρυθμιστή σε συνδυασμό με ανάδραση σταθερού κέρδους (Golnaraghi & Kuo, 2009).

Η σχηματική δαναπαράσταση ενός συστήματος με ανάδραση σταθερού κέρδους και ανάδραση ολοκληρωτικού ελέγχου της εξόδου απεικονίζεται στο Σχήμα 11. Για ένα Single Input – Single Output (SISO) σύστημα, ο ολοκληρωτικός έλεγχος προσθέτει ένα στοιχείο ολοκλήρωσης στο σύστημα. Οι δυναμικές εξισώσεις που περιγράφουν το σύστημα αυτό γράφονται ως:

$$\frac{dx(t)}{dt} = Ax(t) + Bu(t) \quad (4.24)$$

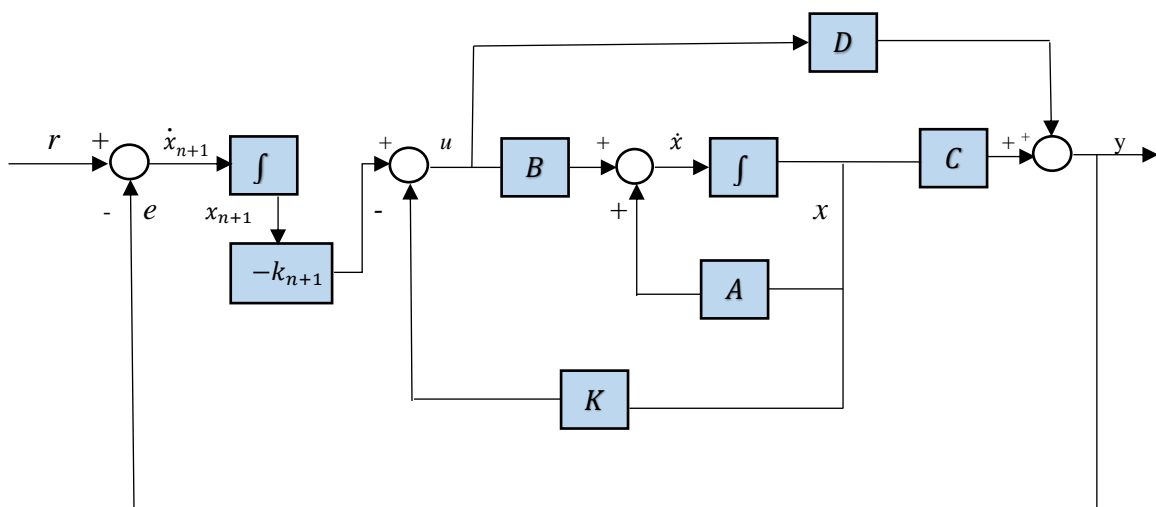
$$\frac{dx_{n+1}(t)}{dt} = r(t) - y(t) \quad (4.25)$$

$$y(t) = Cx(t) + Du(t) \quad (4.26),$$

όπου  $x(t)$  είναι το  $n \times 1$  διάνυσμα κατάστασης, τα βαθμωτά  $u(t)$  και  $y(t)$  είναι αντίστοιχα σήμα ενεργοποίησης και η έξοδος και το βαθμωτό  $r(t)$  είναι η είσοδος αναφοράς. Τα  $A, B, C, D$  συμβολίζουν τους πίνακες των συντελεστών οι οποίοι έχουν τις κατάλληλες διαστάσεις. Το σήμα ενεργοποίησης  $u(t)$  συνδέεται με τις μεταβλητές κατάστασης μέσω της σχέσης:

$$u(t) = -Kx(t) - k_{n+1}x_{n+1}(t) \quad (4.27),$$

όπου  $K = [k_1 \ k_2 \ k_3 \ \dots \ k_n]$  το διάνυσμα σταθερού κέρδους (με πραγματικά στοιχεία) και  $k_{n+1}$  το βαθμωτό κέρδος ολοκληρωτικής ανάδρασης.



**Σχήμα 11.** Σχηματικό διάγραμμα ενός συστήματος ελέγχου με *state feedback* και ολοκληρωτική ανάδραση εξόδου. Όπως βλέπουμε η έξοδος του  $(n+1)^{οη}$  ολοκληρωτικού στοιχείου δηλώνεται ως  $x_{n+1}$  (Golnaraghi & Kuo, 2009).

Αντικαθιστώντας την εξίσωση (4.27) στην (4.24) και σε συνδιασμό με την (4.25), οι  $n + 1$  εξισώσεις κατάστασης του συνολικού συστήματος με σταθερού κέρδους και ολοκληρωτική ανάδραση γράφονται:

$$\frac{d\bar{x}(t)}{dt} = (\bar{A} - \bar{B}\bar{K})\bar{x}(t) + \begin{bmatrix} \mathbf{0} \\ 1 \end{bmatrix} r(t) \quad (4.28),$$

όπου

$$\bar{x}(t) = \begin{bmatrix} \frac{dx(t)}{dt} \\ \frac{dx_{n+1}}{dt} \end{bmatrix} \text{ διάστασης } (n + 1) \times 1 \quad (4.29),$$

$$\bar{A} = \begin{bmatrix} A & 0 \\ -C & 0 \end{bmatrix} \text{ διάστασης } (n + 1) \times (n + 1), \bar{B} = \begin{bmatrix} B \end{bmatrix} \text{ διάστασης } (n + 1) \times 1 \quad (4.30),$$

$$\bar{K} = [K \ k_{n+1}] = [k_1 \ k_2 \ k_3 \ \dots \ k_n \ k_{n+1}] \text{ διάστασης } 1 \times (n + 1) \quad (4.31).$$

Ακόμη, με αντικατάσταση της εξίσωσης (4.27) στην (4.26), η εξίσωση εξόδου του συνολικού συστήματος γράφεται:

$$y(t) = \bar{C}\bar{x}(t) \quad (4.32),$$

$$\text{Όπου } \bar{C} = [C - DK \ DK] \text{ διάστασης } [1 \times (n + 1)] \quad (4.33).$$

Αντικείμενα του σχεδιασμού αποτελούν τα ακόλουθα:

1. Η steady – state τιμή της εξόδου  $y(t)$  ακολουθεί μία βηματική συνάρτηση εισόδου με μηδενικό σφάλμα, δηλαδή:

$$e_{ss} = \lim_{t \rightarrow \infty} e(t) = 0 \quad (4.34).$$

2. Οι  $n + 1$  ιδιοτιμές του  $(\bar{A} - \bar{B}\bar{K})$  τοποθετούνται στις επιθυμητές θέσεις. Απαραίτητη προϋπόθεση ώστε να γίνει αυτό είναι το ζεύγος  $[\bar{A}, \bar{B}]$  να είναι πλήρως ελέγξιμο.

Τα βήματα της μεθόδου αναλυτικά είναι τα εξής:

1. Υπολογίζουμε τους πίνακες  $\bar{A}$ ,  $\bar{B}$ ,  $\bar{C}$ .
2. Βρίσκουμε την χαρακτηριστική εξίσωση του συστήματος κλειστού βρόγχου:

$$|sI - \bar{A} + \bar{B}\bar{K}| = 0 \Rightarrow$$



$$\begin{vmatrix} s - \bar{a}_{1,1} + \bar{b}_1 k_1 & -\bar{a}_{1,2} + \bar{b}_1 k_2 & \cdots & -\bar{a}_{1,n+1} + \bar{b}_1 k_{n+1} \\ -\bar{a}_{2,1} + \bar{b}_2 k_1 & s - \bar{a}_{2,2} + \bar{b}_2 k_2 & \cdots & -\bar{a}_{2,n+1} + \bar{b}_2 k_{n+1} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ -\bar{a}_{n+1,1} + \bar{b}_{n+1} k_1 & -\bar{a}_{n+1,2} + \bar{b}_{n+1} k_2 & \cdots & s - \bar{a}_{n+1,n+1} + \bar{b}_{n+1} k_{n+1} \end{vmatrix} = 0 \Rightarrow$$

$$c_1 s^{n+1} + c_2 s^n + \cdots + c_{n+1} s + c_{n+2} = 0 \quad (4.35),$$

όπου  $c_1, c_2, \dots, c_{n+2}$  είναι οι συντελεστές του πολυωνύμου που προκύπτει από την ανάπτυξη της ορίζουσας  $(n + 1)$  τάξης του αριστερού μέλους της παραπάνω εξίσωσης. Να σημειωθεί ότι οι συντελεστές αυτοί είναι εκφρασμένοι συναρτήσει των  $k_1, k_2, \dots, k_{n+1}$ .

3. Σκοπός μας είναι η εύρεση του κατάλληλου  $\bar{K}$  έτσι ώστε το χαρακτηριστικό πολυώνυμο να έχει τις ρίζες που εμείς επιθυμούμε. Έστω ότι θέλουμε να τοποθετήσουμε τους πόλους του συστήματος στις θέσεις:  $s_1, s_2, \dots, s_{n+1}$ . Αυτό σημαίνει πως οι  $s_1, s_2, \dots, s_{n+1}$  θα αποτελούν τις ρίζες του χαρακτηριστικού πολυωνύμου. Συνεπώς η χαρακτηριστική εξίσωση μπορεί να γραφτεί ως:

$$(s - s_1)(s - s_2) \cdots (s - s_{n+1}) = 0 \Rightarrow$$

$$d_1 s^{n+1} + d_2 s^n + \cdots + d_{n+1} s + d_{n+2} = 0 \quad (4.35),$$

όπου οι συντελεστές  $d_1, d_2, \dots, d_{n+2}$  είναι εκφρασμένοι συναρτήσει των  $k_1, k_2, \dots, k_{n+1}$ .

4. Εξισώνοντας λοιπόν τις εξισώσεις (4.34) και (4.35) έχουμε:

$$c_1 s^{n+1} + c_2 s^n + \cdots + c_{n+1} s + c_{n+2} = d_1 s^{n+1} + d_2 s^n + \cdots + d_{n+1} s + d_{n+2}.$$

Εξισώνοντας τώρα τους συντελεστές των πολυωνύμων στα δύο μέλη της τελευταίας εξίσωσης μπορούμε εύκολα να υπολογίσουμε το  $\bar{K} = [k_1 \ k_2 \ k_3 \ \cdots \ k_n \ k_{n+1}]$ .

### 4.3 Απόκριση κλειστού βρόγχου του σημείου ασταθούς ισορροπίας

Όπως έχει ήδη αναφερθεί στην εισαγωγή της εργασίας, σκοπός του κεφαλαίου αυτού είναι η σταθεροποίηση του σημείου ασταθούς ισορροπίας (Πίνακας 7) που έχουμε επιλέξει από το διάγραμμα διακλάδωσης των λύσεων (Γράφημα 5). Αυτό ευελπιστούμε να πετύχουμε με τον PI ρυθμιστή που σχεδιάσαμε. Προκειμένου όμως να διαπιστώσουμε την ορθή λειτουργία του συστήματος ρύθμισης πρέπει πρώτα να μελετήσουμε την απόκριση κλειστού βρόγχου (closed loop response).

Στην αρχή του κεφαλαίου, μιλώντας για τον μηχανισμό ανάδρασης, περιγράψαμε τον έλεγχο κλειστού βρόγχου με αναλογική ρύθμιση (Σχήμα 8). Η

ακριβής έξοδος του συστήματος συνδέεται με την ζητούμενη μέσω της σχέσης (4.4). Βλέπουμε λοιπόν ότι η τιμή της ακριβούς εξόδου είναι ανάλογη προς την τιμή της επιθυμητής εξόδου, εξού και αναλογική ρύθμιση. Στην περίπτωση αυτή, ο έλεγχος έγγειται στον προσδιορισμό του κατάλληλου κέρδους έτσι ώστε για δεδομένη είσοδο να επιτυγχάνεται η ζητούμενη έξοδος.

Ωστόσο για τις ανάγκες της παρούσας εργασίας, επιλέξαμε τον σχεδιασμό ενός PI (αναλογικού – ολοκληρωτικού) ρυθμιστή (Σχήμα 9). Μετρούμενη και επιθυμητή έξοδος τώρα συνδέονται με την σχέση (4.8). Η διαφορά είναι πως έχουμε την προσθήκη του ολοκληρωτικού στοιχείου (Εξίσωση 4.7) συνεπώς για να ρυθμίσουμε το σύστημά μας θα πρέπει να προσδιορίσουμε επιπλέον το κέρδος ολοκλήρωσης. Ο καθορισμός των κερδών έτσι ώστε το σύστημα να είναι ευσταθές, έγινε με την μέθοδο pole placement. Η ανάδραση στον ρυθμιστή που σχεδιάσαμε συσνίσταται στο γεγονός ότι η μεταβλητή ρύθμισης  $k_1$  που αποτελεί την είσοδο του συστήματος δεν έχει σταθερή τιμή όπως όταν ζητούσαμε την απόκριση ανοικτού βρόγχου, αλλά εξαρτάται από τις 7 μεταβλητές κατάστασης του γραμμικοποιημένου συστήματος. Η ποσότητα  $k_1$  προσδιορίζεται ως εξής:

$$k_1 = k_1^* - K_p(y - y^*) - K_i \sum_{j=1}^7 (|y_j - y_j^*|) \quad (4.36),$$

όπου

$y^*$  και  $k_1^*$  είναι το διάνυσμα με τις steady - state τιμές των μεταβλητών και η steady – state τιμή της παραμέτρου αντίστοιχα στο σημείο ασταθούς ισορροπίας και φαίνονται στην Εικόνα 6. Οι τιμές αυτές αποτελούν τις επιθυμητές εξόδους,

$K_p$  και  $K_i$  είναι το διάνυσμα με τα αναλογικά κέρδη και το ολοκληρωτικό κέρδος αντίστοιχα που υπολογίστηκαν με το pole placement και

$y$  είναι το διάνυσμα με τις ακριβείς εξόδους.

Μέσα από προσομοιώσεις που πραγματοποιήθηκαν πήραμε την απόκριση του συστήματος με τον PI ρυθμιστή θέτοντας ως αρχικές συνθήκες τις τιμές του  $y^*$  με την προσθήκη κάποιας διαταραχής.

### 4.3.1 Προσομοίωση παρουσία του PI ρυθμιστή

Σε αυτό το κομμάτι τρέξαμε κάποιες προσομοιώσεις του συστήματος ρύθμισης με αναλογική και ολοκληρωτική ανάδραση που σχεδιάσαμε και λάβαμε την απόκρισή του. Με τη χρήση και πάλι του MATLAB πραγματοποιήθηκε η επίλυση του συστήματος με αριθμητική ολοκλήρωση. Συγκεκριμένα, όπως και στην προσομοίωση ανοικτού βρόγχου τρέξαμε δύο προσομοιώσεις για κάθε μία από τις 7 εξόδους του συστήματος καθώς και δύο επιπλέον για την μεταβλητή ρύθμισης. Για την πρώτη θέσαμε ως αρχικές συνθήκες  $v = y^* + 0.05y^*$  και για την δεύτερη  $v = y^* - 0.05y^*$ .

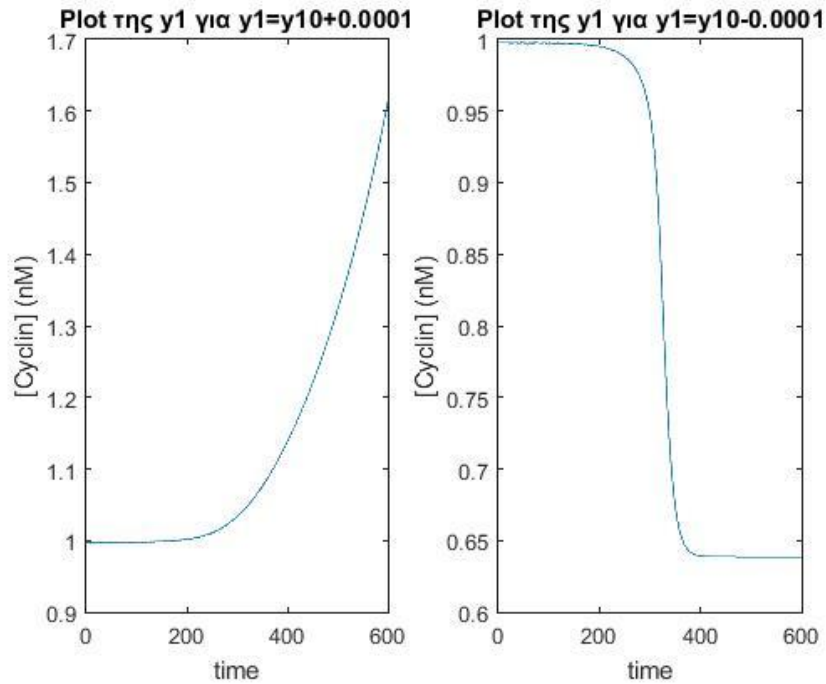
## 5. Παρουσίαση αποτελεσμάτων

---

Στο κεφάλαιο αυτό θα παρουσιάσουμε και θα εξηγήσουμε αναλυτικά τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τις προσομοιώσεις που πραγματοποιήθηκαν στα κεφάλαια 3 και 4. Να σημειωθεί πως ο αναγνώστης μπορεί να αναπαράγει όλα τα παρακάτω γραφήματα εισάγοντας στο MATLAB τους αντίστοιχους κώδικες που βρίσκονται στο Παράρτημα.

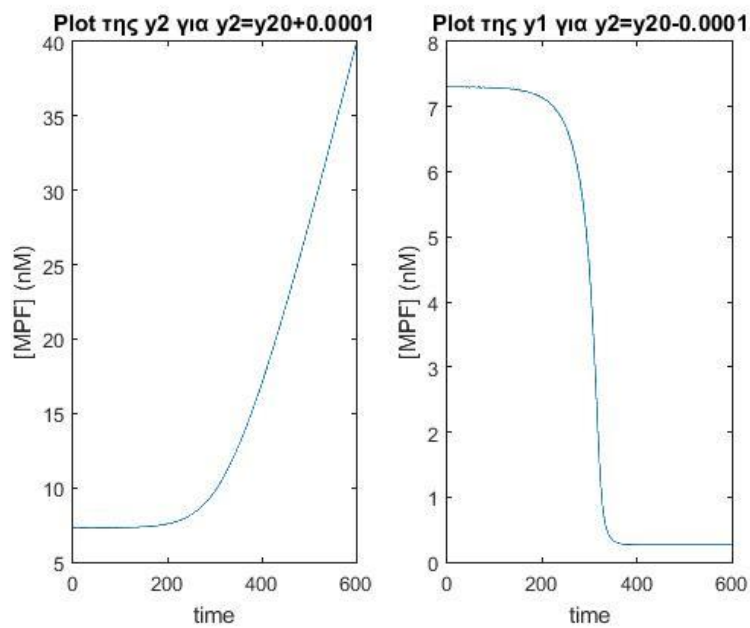
Τα επόμενα επτά γραφήματα προέκυψαν από την ανάλυση του 3<sup>ου</sup> κεφαλαίου και αφορούν την δυναμική απόκριση ανοικτού βρόγχου του συστήματος. Κάθε γράφημα αντιστοιχεί σε μία μεταβλητή εξόδου του συστήματος.

Γράφημα 6



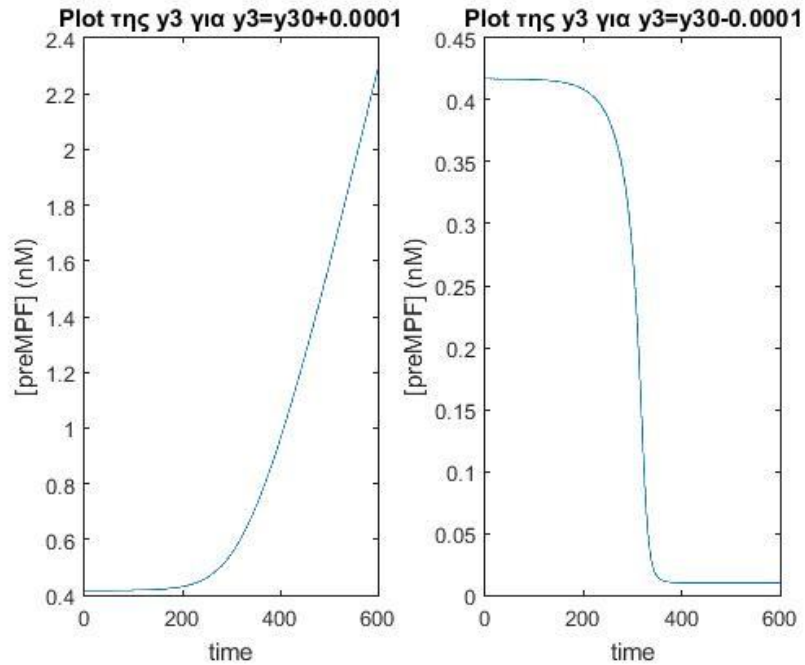
**Γράφημα 6.** Απόκριση ανοικτού βρόγχου της κυκλίνης. Αριστερά φαίνεται η καμπύλη της κυκλίνης για διαταραχή +0.0001 στις αρχικές συνθήκες και δεξιά για διαταραχή -0.0001. Ο οριζόντιος άξονας παριστάνει το χρόνο και ο κάθετος την συγκέντρωση της κυκλίνης σε nM.

Γράφημα 7



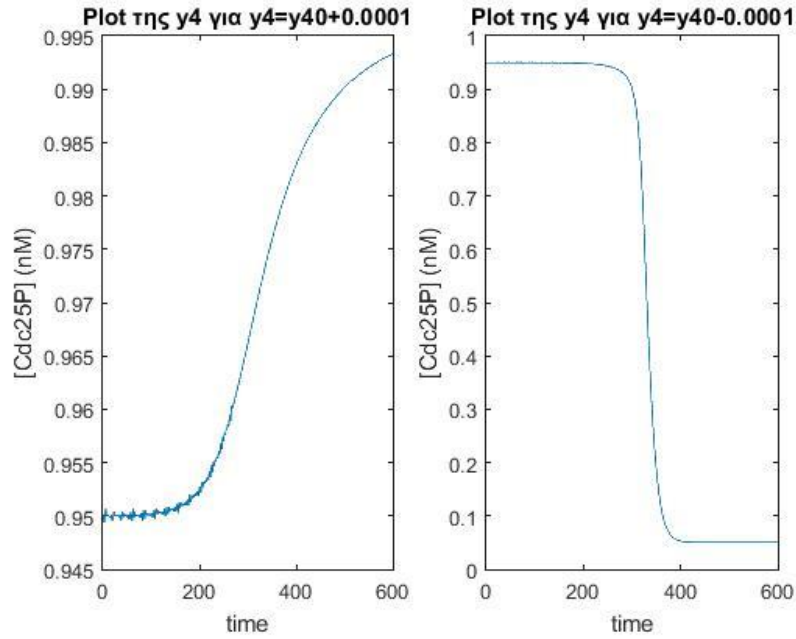
**Γράφημα 7.** Απόκριση ανοικτού βρόγχου του MPF. Αριστερά φαίνεται η καμπύλη του MPF για διαταραχή  $+0.0001$  στις αρχικές συνθήκες και δεξιά για διαταραχή  $-0.0001$ . Ο οριζόντιος άξονας παριστάνει το χρόνο και ο κάθετος την συγκέντρωση του MPF σε nM.

Γράφημα 8



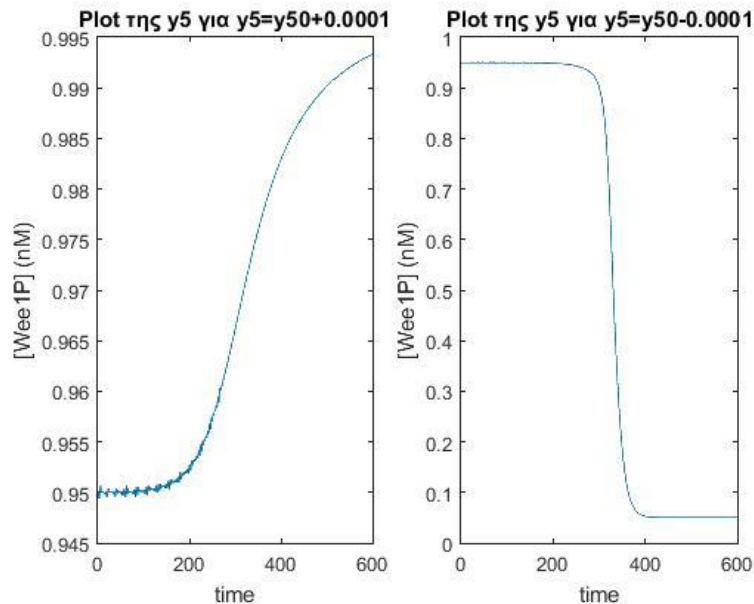
**Γράφημα 8.** Απόκριση ανοικτού βρόγχου του preMPF. Αριστερά φαίνεται η καμπύλη του για διαταραχή  $+0.0001$  στις αρχικές συνθήκες και δεξιά για διαταραχή  $-0.0001$ . Ο οριζόντιος άξονας παριστάνει το χρόνο και ο κάθετος την συγκέντρωση του preMPF σε nM.

Γράφημα 9



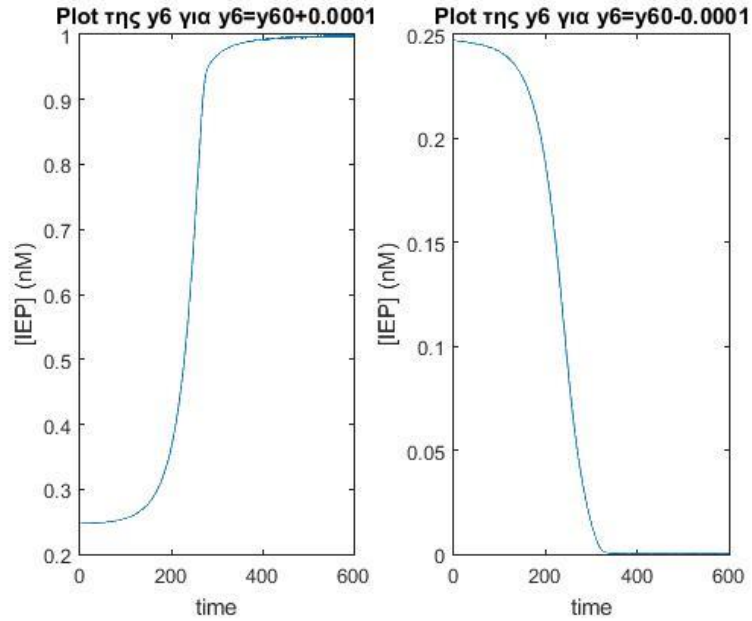
**Γράφημα 9.** Απόκριση ανοικτού βρόγχου του *Cdc25P*. Αριστερά φαίνεται η καμπύλη του *Cdc25P* για διαταραχή  $+0.0001$  στις αρχικές συνθήκες και δεξιά για διαταραχή  $-0.0001$ . Ο οριζόντιος άξονας παριστάνει το χρόνο και ο κάθετος την συγκέντρωση του *Cdc25P* σε  $nM$ .

Γράφημα 10



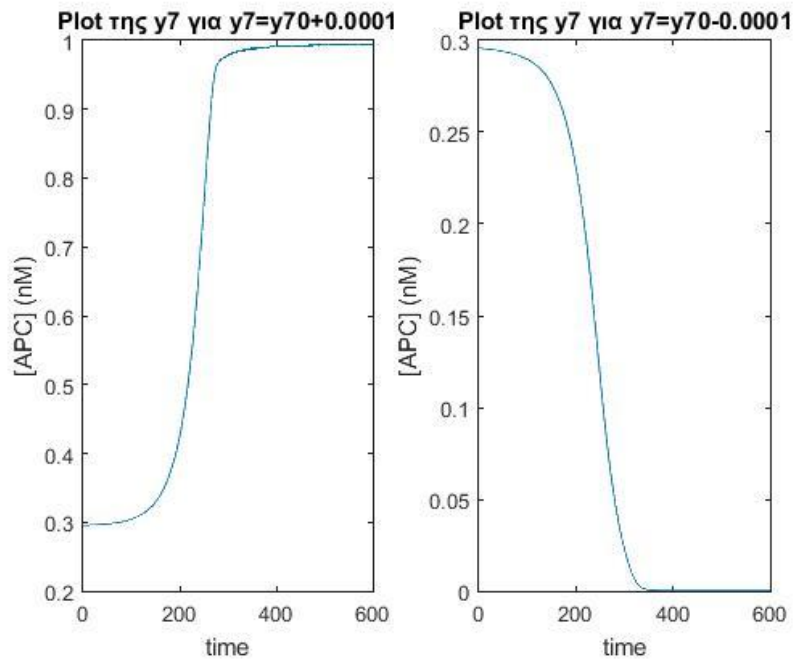
**Γράφημα 10.** Απόκριση ανοικτού βρόγχου της *Wee1P*. Αριστερά φαίνεται η καμπύλη της *Wee1P* για διαταραχή  $+0.0001$  στις αρχικές συνθήκες και δεξιά για διαταραχή  $-0.0001$ . Ο οριζόντιος άξονας παριστάνει το χρόνο και ο κάθετος την συγκέντρωση της *Wee1P* σε  $nM$ .

Γράφημα 11



**Γράφημα 11.** Απόκριση ανοικτού βρόγχου του IEP. Αριστερά φαίνεται η καμπύλη του IEP για διαταραχή  $+0.0001$  στις αρχικές συνθήκες και δεξιά για διαταραχή  $-0.0001$ . Ο οριζόντιος άξονας παριστάνει το χρόνο και ο κάθετος την συγκέντρωση του IEP σε nM.

## Γράφημα 12



**Γράφημα 12.** Απόκριση ανοικτού βρόγχου του APC. Αριστερά φαίνεται η καμπύλη του APC για διαταραχή  $+0.0001$  στις αρχικές συνθήκες και δεξιά για διαταραχή  $-0.0001$ . Ο οριζόντιος άξονας παριστάνει το χρόνο και ο κάθετος την συγκέντρωση του APC σε nM.

Τα γραφήματα 6 - 12 αναπαριστούν την μεταβολή τιμή της συγκέντρωσης κάθε μιας από τις επτά ποσότητες (μεταβλητές εξόδου) με το χρόνο αν λύσουμε με αριθμητική ολοκλήρωση το διαφορικό μας σύστημα λαμβάνοντας ως αρχικές συνθήκες τις τιμές του Πίνακα 7, δηλαδή ενός σημείου ασταθούς ισορροπίας και επιβάλλοντας κάποια διαταραχή. Κάθε γράφημα αποτελείται από δύο διαγράμματα. Αριστερά φαίνεται το διάγραμμα για διαταραχή +0.0001 στην αρχική τιμή της μεταβλητής, και δεξιά για διαταραχή -0.0001, όπως δηλώνει και ο τίτλος του κάθε διαγράμματος. Σε κάθε γράφημα ο οριζόντιος άξονας και των δύο διαγραμμάτων αναπαριστά μονάδες χρόνου ενώ ο κάθετος άξονας την συγκέντρωση της εκάστοτε ποσότητας σε nM. Οι προσομοιώσεις όλων των μεγεθών έγιναν για χρόνο 600 χρονικές μονάδες. Έυκολα παρατηρούμε πως όταν μειώνουμε ελάχιστα τις αρχικές συνθήκες, οι τιμές των μεταβλητών μετα από κάποιο χρόνο σταθεροποιούνται. Επίσης, όταν αυξάνουμε ελάχιστα τις αρχικές συνθήκες κάποιες μεταβλητές οδηγούνται στο άπειρο ενώ κάποιες άλλες σε άπειρη ταλάντωση.

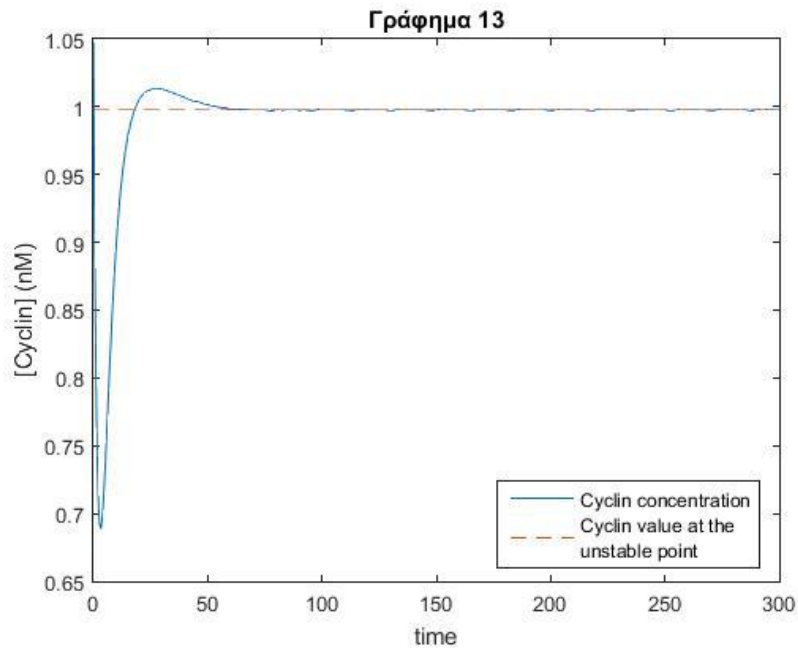
Επιπλέον μπορούμε να ανοίξουμε από το MATLAB τους πίνακες που περιέχουν τις τελικές τιμές των μεταβλητών όπως προκύπτουν από την επίλυση του συστήματος με την επιβολή διαταραχής -0.0001 στις αρχικές συνθήκες και τις πιο κοντινές σε αυτές διακριτές τιμές των σημείων της καμπύλης των λύσεων (Γράφημα 5). Οι τιμές αυτές βρίσκονται συγκεντρωμένες στον Πίνακα 8.

Μεταβλητές/Παράμετρος	Τιμές προσομοίωσης για $y=y^*-0.0001$	Τιμές καμπύλης λύσεων	Αποκλίσεις κατ' απόλυτη τιμή
$y_1$	0.638701673660175	0.635535501922366	0.003166171737809
$y_2$	0.267446416353566	0.266046772772576	0.00139964358099
$y_3$	0.0100237352969222	0.00997021748849929	0.00005351780842291
$y_4$	0.0508516911294581	0.0505735906279091	0.000278100501549
$y_5$	0.0508516911294581	0.0505735906279091	0.000278100501549
$y_6$	0.000366008877844702	0.000363999837481648	0.000002009040363054
$y_7$	0.000362492215609444	0.000360525763850261	0.000001966451759183
$k_1$	0.4730515	0.470756176331565	0.002295323668435

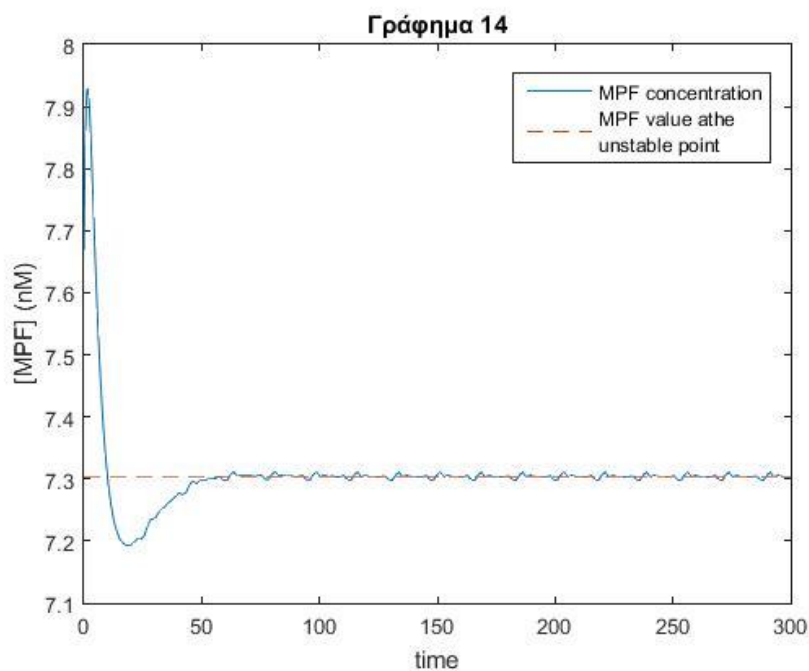
**Πίνακας 8.** Οι τιμές της καμπύλης λύσεων και της προσομοίωσης για διαταραχή -0.0001 για τις μεταβλητές και την παράμετρο το συστήματος. Συγκεκριμένα η πρώτη στήλη περιλαμβάνει τις μεταβλητές  $y_1, \dots, y_7$  και την παράμετρο  $k_1$ . Η δεύτερη στήλη περιλαμβάνει την σταθερή τιμή της παραμέτρου και τις τελικές τιμές των μεταβλητών όπως προέκυψαν από την επίλυση του συστήματος επιλέγοντας ως αρχική κατάσταση το σημείο ασταθούς ισορροπίας και επιβάλλοντας μια διαταραχή -0.0001. Η τρίτη στήλη του πίνακα περιλαμβάνει τις τιμές των μεγεθών αυτών για ένα σημείο της καμπύλης λύσεων το οποίο ανήκει στον ευσταθή κλάδο. Τέλος, στην τέταρτη στήλη βρίσκονται οι διαφορές μεταξύ των τιμών της δεύτερης και της τρίτης στήλης κατ' απόλυτη τιμή.



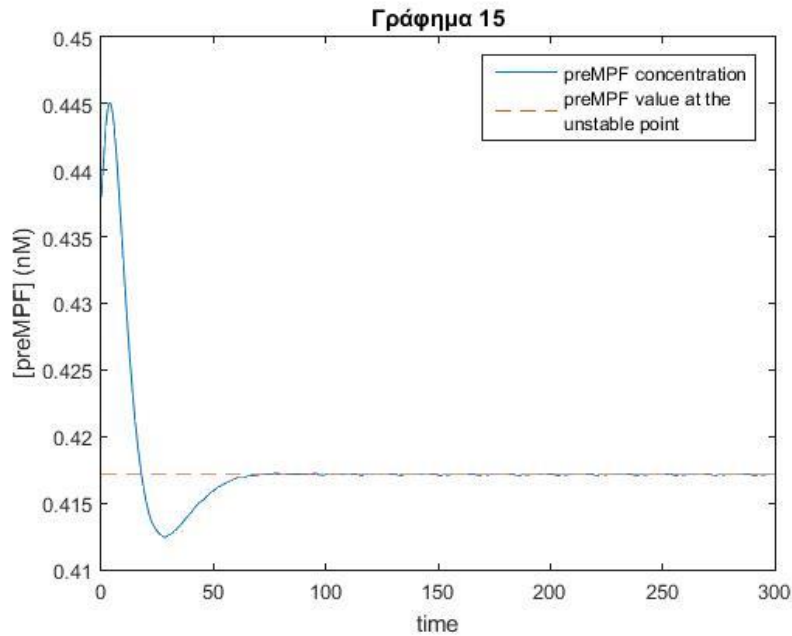
Στη συνέχεια παραθέτουμε τα γραφήματα που προέκυψαν από την ανάλυση του 4<sup>ου</sup> κεφαλαίου, δηλαδή τις προμοιώσεις που έγιναν για την διερεύνηση της απόκρισης κλειστού βρόγχου του συστήματος ανάδρασης με τον PI ρυθμιστή.



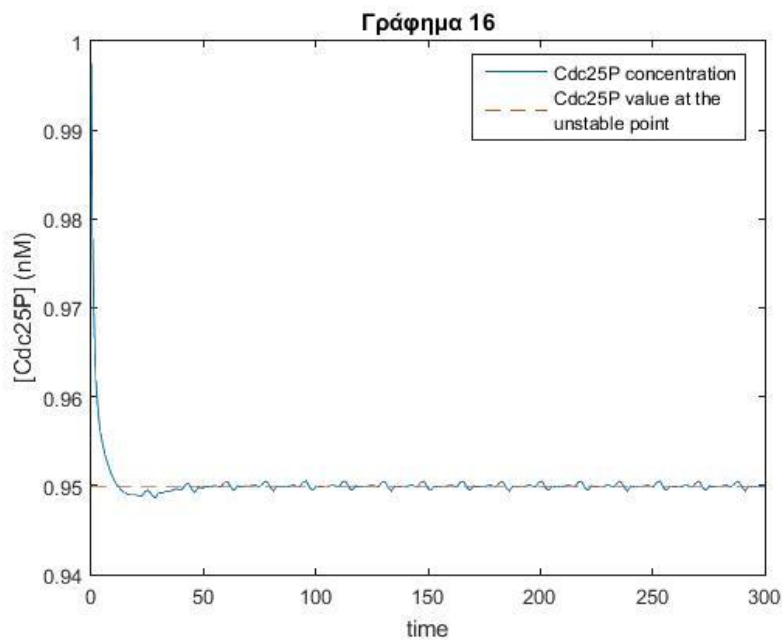
**Γράφημα 13.** Απόκριση κλειστού βρόγχου της κυκλίνης για διαταραχή  $+0.05$  επί των αρχικών συνθηκών. Η μπλε καμπύλη απεικονίζει την μεταβολή της κυκλίνης και η κόκκινη διακεκομμένη γραμμά την τιμή της κυκλίνης στο σημείο ισορροπίας. Ο οριζόντιος άξονας παριστάνει το χρόνο και ο κάθετος την συγκέντρωση της κυκλίνης σε nM.



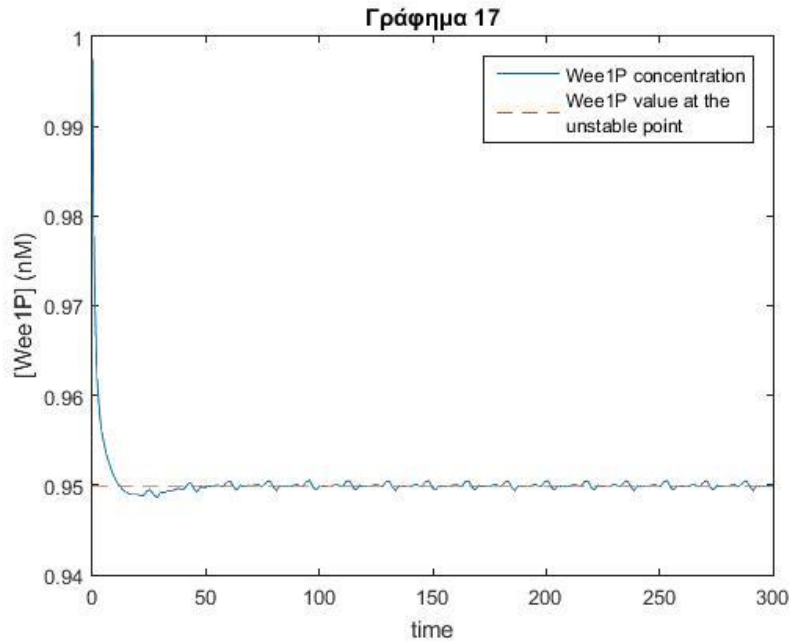
**Γράφημα 14.** Απόκριση κλειστού βρόγχου του *MPF* για διαταραχή  $+0.05$  επί των αρχικών συνθηκών. Η μπλε καμπύλη απεικονίζει την μεταβολή του *MPF* και η κόκκινη διακεκομμένη γραμμή την τιμή του *MPF* στο σημείο ισορροπίας. Ο οριζόντιος άξονας παριστάνει το χρόνο και ο κάθετος την συγκέντρωση του *MPF* σε *nM*.



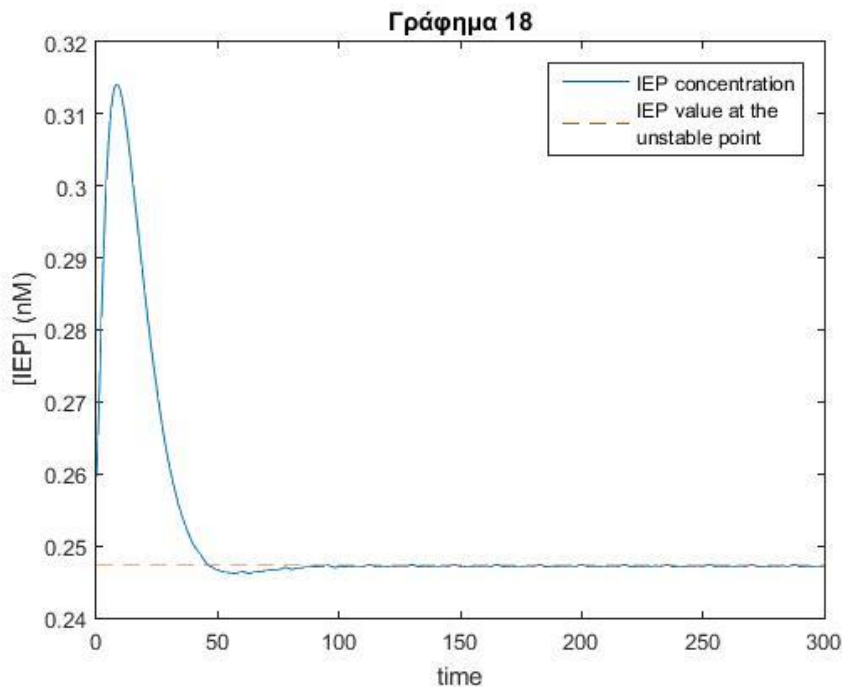
**Γράφημα 15.** Απόκριση κλειστού βρόγχου του *preMPF* για διαταραχή  $+0.05$  επί των αρχικών συνθηκών. Η μπλε καμπύλη απεικονίζει την μεταβολή του *preMPF* και η κόκκινη διακεκομμένη γραμμή την τιμή της *preMPF* στο σημείο ισορροπίας. Ο οριζόντιος άξονας παριστάνει το χρόνο και ο κάθετος την συγκέντρωση του *preMPF* σε *nM*.



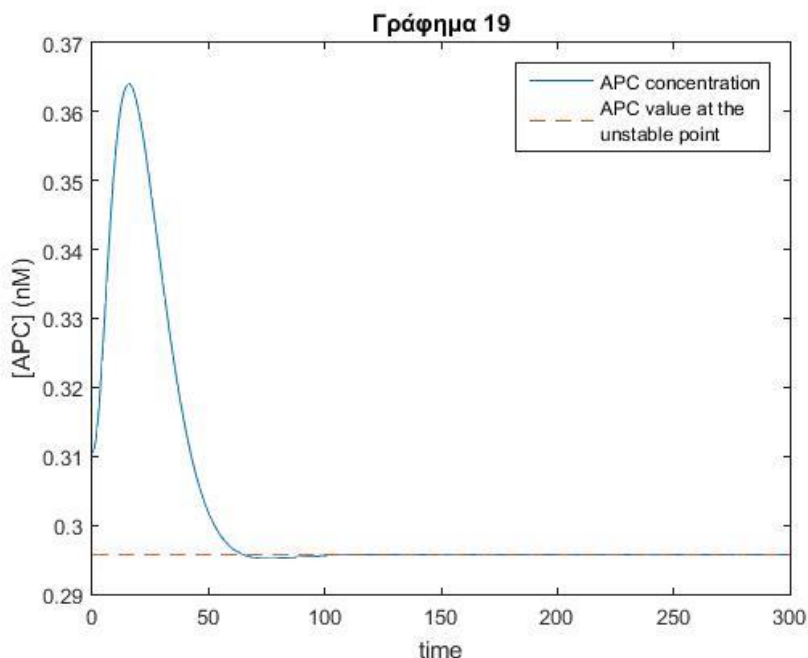
**Γράφημα 16.** Απόκριση κλειστού βρόγχου του *Cdc25P* για διαταραχή  $+0.05$  επί των αρχικών συνθηκών. Η μπλε καμπύλη απεικονίζει την μεταβολή του *Cdc25P* και η κόκκινη διακεκομμένη γραμμή την τιμή του *Cdc25P* στο σημείο ισορροπίας. Ο οριζόντιος άξονας παριστάνει το χρόνο και ο κάθετος την συγκέντρωση του *Cdc25P* σε  $nM$ .



**Γράφημα 17.** Απόκριση κλειστού βρόγχου της *Wee1P* για διαταραχή  $+0.05$  επί των αρχικών συνθηκών. Η μπλε καμπύλη απεικονίζει την μεταβολή της *Wee1P* και η κόκκινη διακεκομμένη γραμμή την τιμή της *Wee1P* στο σημείο ισορροπίας. Ο οριζόντιος άξονας παριστάνει το χρόνο και ο κάθετος την συγκέντρωση της *Wee1P* σε  $nM$ .

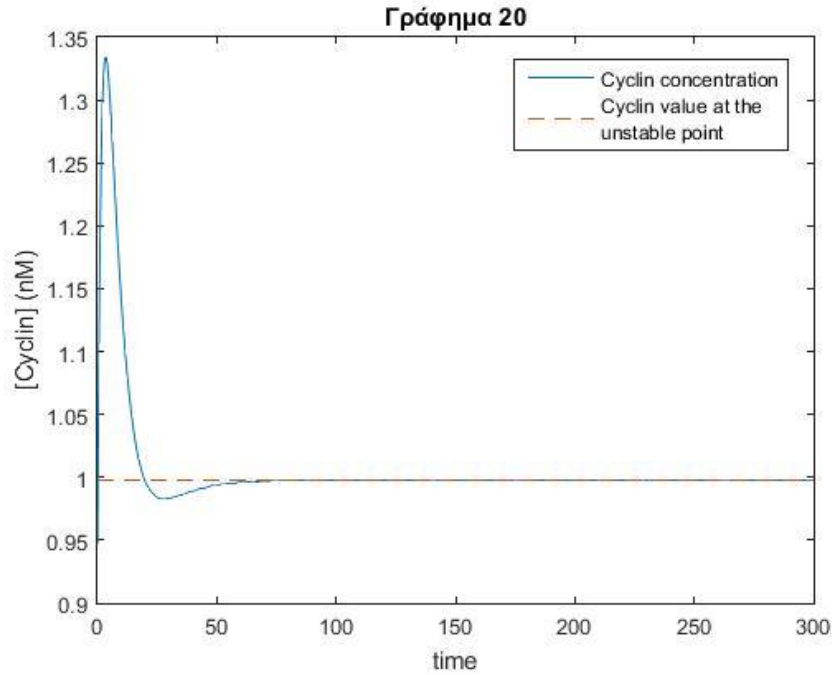


**Γράφημα 18.** Απόκριση κλειστού βρόγχου του IEP για διαταραχή  $+0.05$  επί των αρχικών συνθηκών. Η μπλε καμπύλη απεικονίζει την μεταβολή του IEP και η κόκκινη διακεκομμένη γραμμή την τιμή του IEP στο σημείο ισορροπίας. Ο οριζόντιος άξονας παριστάνει το χρόνο και ο κάθετος την συγκέντρωση του IEP σε nM.

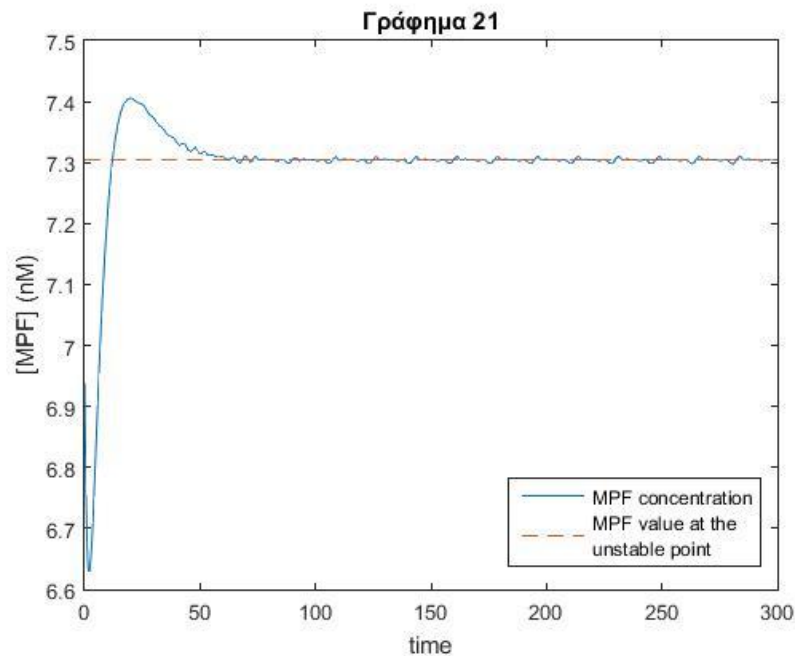


**Γράφημα 19.** Απόκριση κλειστού βρόγχου του APC για διαταραχή  $+0.05$  επί των αρχικών συνθηκών. Η μπλε καμπύλη απεικονίζει την μεταβολή του APC και η κόκκινη διακεκομμένη γραμμή την τιμή του C στο σημείο ισορροπίας. Ο οριζόντιος άξονας παριστάνει το χρόνο και ο κάθετος την συγκέντρωση του APC σε nM.

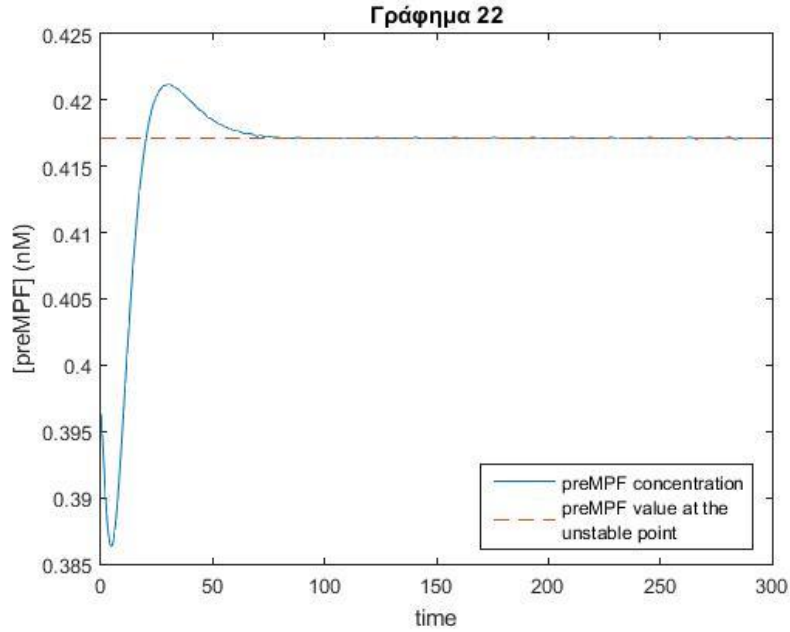
Σε κάθε ένα από τα γραφήματα 13 έως και 19 απεικονίζεται η απόκριση κλειστού βρόγχου των μεταβλητών όπως προέκυψε από τις προσομοιώσεις του συστήματος με τον PI ρυθμιστή. Η μπλε καμπύλη αναπαριστά την μεταβολή στην τιμή της συγκέντρωσης κάθε μιας από τις επτά ποσότητες (μεταβλητές εξόδου) με το χρόνο αν λύσουμε με αριθμητική ολοκλήρωση το διαφορικό μας σύστημα με τον ρυθμιστή λαμβάνοντας ως αρχικές συνθήκες τις τιμές του Πίνακα 7, δηλαδή ενός σημείου ασταθούς ισορροπίας και επιβάλλοντας κάποια διαταραχή. Τα γραφήματα αυτά αφορούν προσομοίωση για διαταραχή  $v = y^* + 0.05y^*$ . Σε κάθε ένα από τα γραφήματα αυτά ο οριζόντιος άξονας αναπαριστά μονάδες χρόνου ενώ ο κάθετος άξονας την συγκέντρωση της εκάστοτε ποσότητας σε nM. Οι κόκκινες διακεκομμένες γραμμές αναπαριστούν τις steady state τιμές των ποσοτήτων που δηλώνονται στον κάθετο άξονα στο σημείο ασταθούς ισορροπίας. Οι προσομοιώσεις όλων των μεγεθών έγιναν για χρόνο 300 χρονικές μονάδες. Παρατηρούμε πως αν αυξήσουμε τις αρχικές συνθήκες οι τιμές των συγκεντρώσεων μετά από κάποιο χρόνο σταθεροποιούνται η κάθε μία στην steady state τιμή της στο σημείο ισορροπίας.



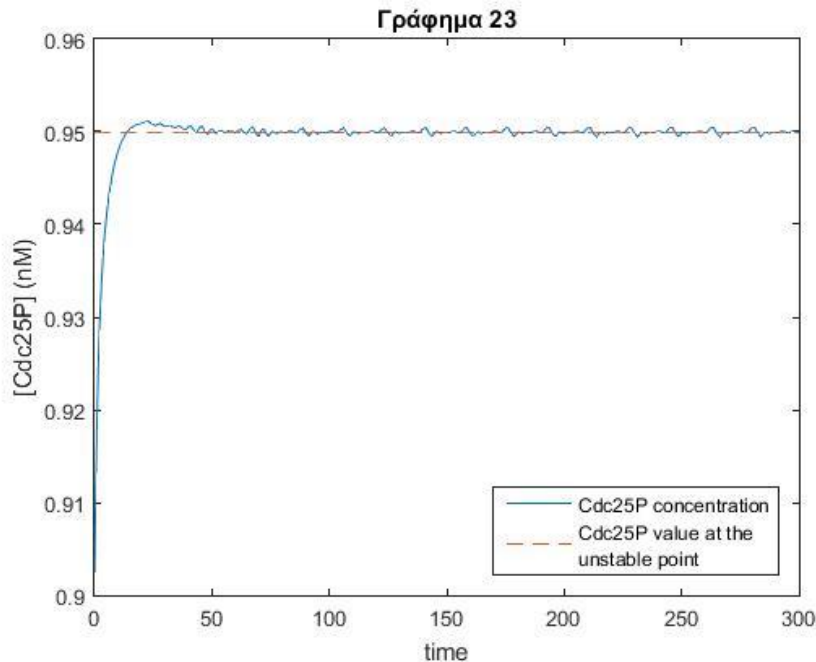
***Γράφημα 20.** Απόκριση κλειστού βρόγχου της κυκλίνης για διαταραχή  $-0.05$  επί των αρχικών συνθηκών. Η μπλε καμπύλη απεικονίζει την μεταβολή της κυκλίνης και η κόκκινη διακεκομμένη γραμμή την τιμή της κυκλίνης στο σημείο ισορροπίας. Ο οριζόντιος άξονας παριστάνει το χρόνο και ο κάθετος την συγκέντρωση της κυκλίνης σε nM.*



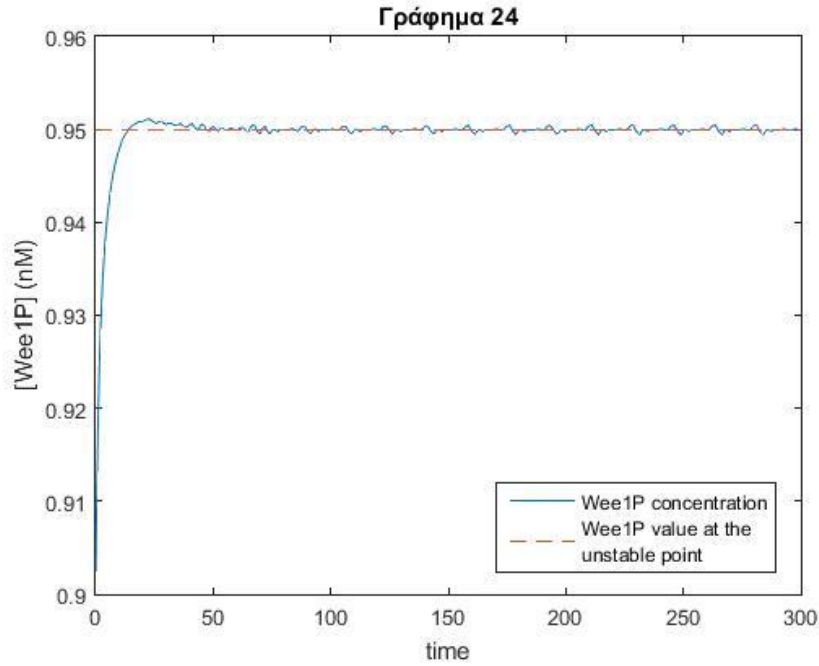
***Γράφημα 21.** Απόκριση κλειστού βρόγχου του MPF για διαταραχή  $-0.05$  επί των αρχικών συνθηκών. Η μπλε καμπύλη απεικονίζει την μεταβολή του MPF και η κόκκινη διακεκομμένη γραμμή την τιμή του MPF στο σημείο ισορροπίας. Ο οριζόντιος άξονας παριστάνει το χρόνο και ο κάθετος την συγκέντρωση του MPF σε nM.*



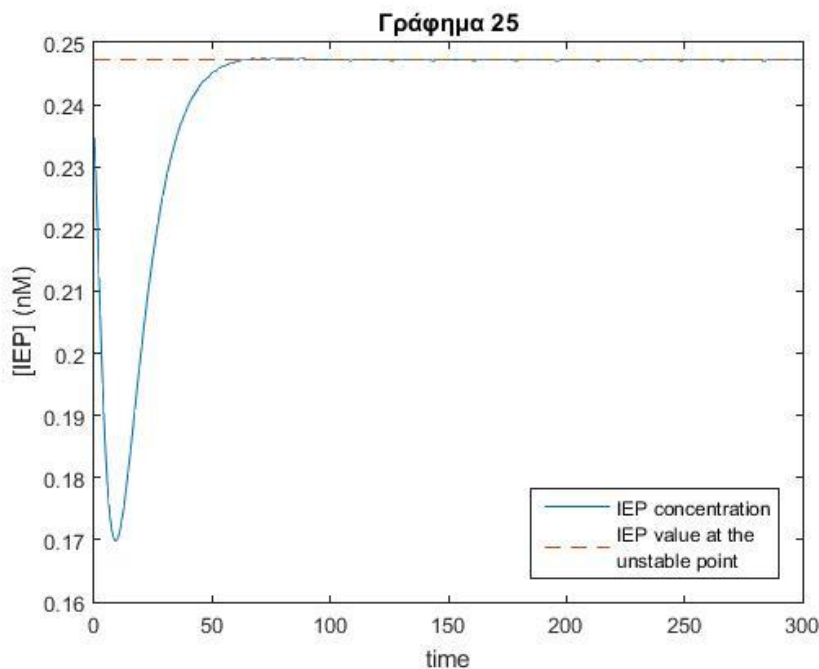
**Γράφημα 22.** Απόκριση κλειστού βρόγχου του *preMPF* για διαταραχή  $-0.05$  επί των αρχικών συνθηκών. Η μπλε καμπύλη απεικονίζει την μεταβολή του *preMPF* και η κόκκινη διακεκομμένη γραμμά την τιμή της *preMPF* στο σημείο ισορροπίας. Ο οριζόντιος άξονας παριστάνει το χρόνο και ο κάθετος την συγκέντρωση του *preMPF* σε nM.



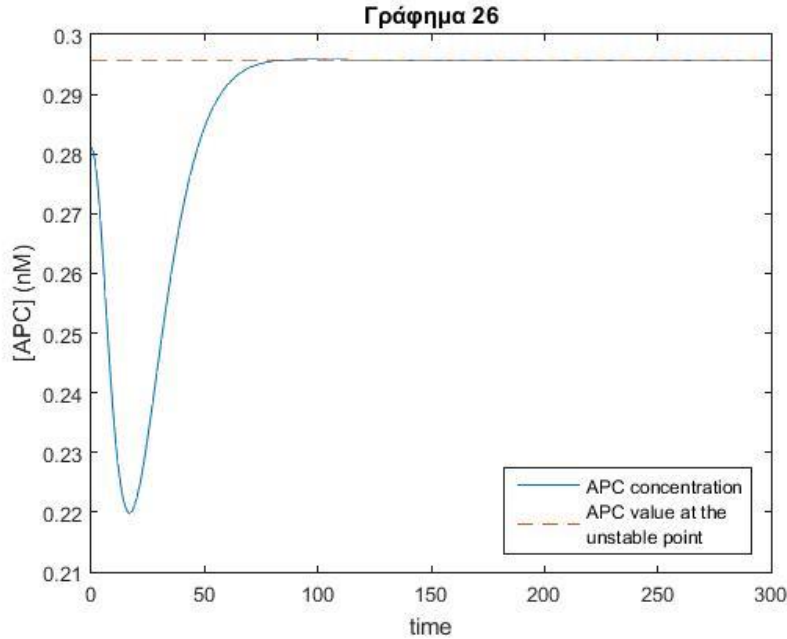
**Γράφημα 23.** Απόκριση κλειστού βρόγχου του *Cdc25P* για διαταραχή  $-0.05$  επί των αρχικών συνθηκών. Η μπλε καμπύλη απεικονίζει την μεταβολή του *Cdc25P* και η κόκκινη διακεκομμένη γραμμά την τιμή του *Cdc25P* στο σημείο ισορροπίας. Ο οριζόντιος άξονας παριστάνει το χρόνο και ο κάθετος την συγκέντρωση του *Cdc25P* σε nM.



**Γράφημα 24.** Απόκριση κλειστού βρόγχου της *Wee1P* για διαταραχή  $-0.05$  επί των αρχικών συνθηκών. Η μπλε καμπύλη απεικονίζει την μεταβολή της *Wee1P* και η κόκκινη διακεκομμένη γραμμή την τιμή της *Wee1P* στο σημείο ισορροπίας. Ο οριζόντιος άξονας παριστάνει το χρόνο και ο κάθετος την συγκέντρωση της *Wee1P* σε  $nM$ .



**Γράφημα 25.** Απόκριση κλειστού βρόγχου του *IEP* για διαταραχή  $-0.05$  επί των αρχικών συνθηκών. Η μπλε καμπύλη απεικονίζει την μεταβολή του *IEP* και η κόκκινη διακεκομμένη γραμμή την τιμή του *IEP* στο σημείο ισορροπίας. Ο οριζόντιος άξονας παριστάνει το χρόνο και ο κάθετος την συγκέντρωση του *IEP* σε  $nM$ .

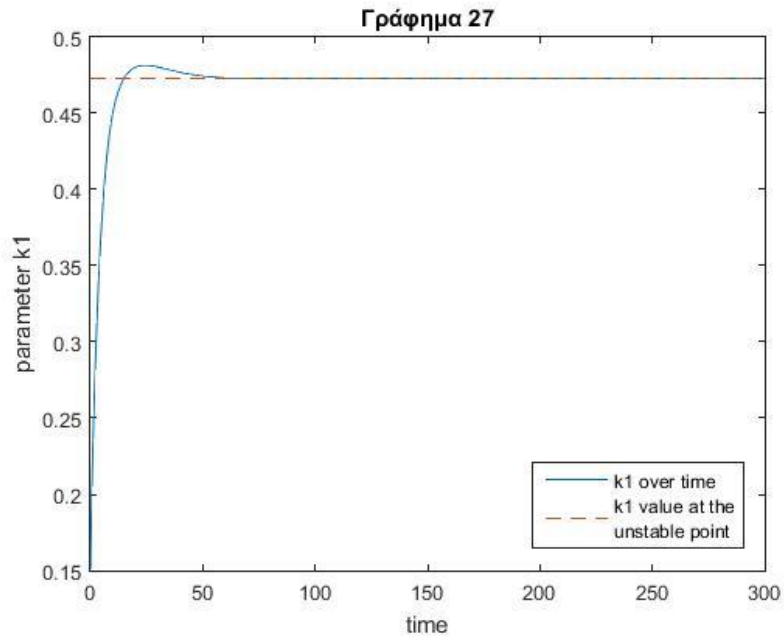


**Γράφημα 26.** Απόκριση κλειστού βρόγχου του APC για διαταραχή  $-0.05$  επί των αρχικών συνθηκών. Η μπλε καμπύλη απεικονίζει την μεταβολή του APC και η κόκκινη διακεκομμένη γραμμή την τιμή του  $C$  στο σημείο ισορροπίας. Ο οριζόντιος άξονας παριστάνει το χρόνο και ο κάθετος την συγκέντρωση του APC σε nM.

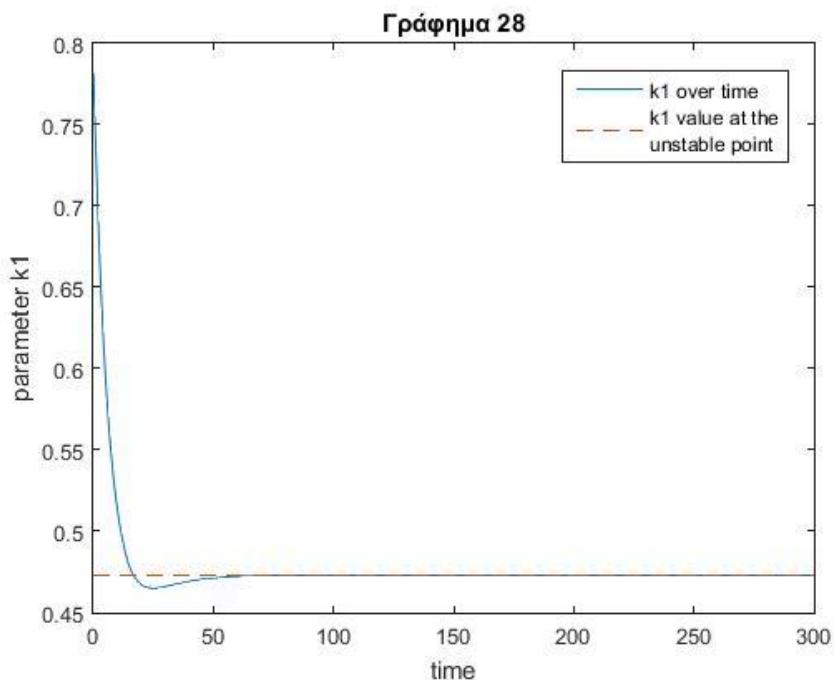
Σε κάθε ένα από τα γραφήματα 20 έως και 26 απεικονίζεται η απόκριση κλειστού βρόγχου των μεταβλητών όπως προέκυψε από τις προσομοιώσεις του συστήματος με τον PI ρυθμιστή. Η μπλε καμπύλη αναπαριστά την μεταβολή στην τιμή της συγκέντρωσης κάθε μιας από τις επτά ποσότητες (μεταβλητές εξόδου) με το χρόνο αν λύσουμε με αριθμητική ολοκλήρωση το διαφορικό μας σύστημα με τον ρυθμιστή λαμβάνοντας ως αρχικές συνθήκες τις τιμές του Πίνακα 7, δηλαδή ενός σημείου ασταθούς ισορροπίας και επιβάλλοντας κάποια διαταραχή. Τα γραφήματα αυτά αφορούν προσομοίωση για διαταραχή  $v = y^* - 0.05y^*$ . Σε κάθε ένα από τα γραφήματα αυτά ο οριζόντιος άξονας αναπαριστά μονάδες χρόνου ενώ ο κάθετος άξονας την συγκέντρωση της εκάστοτε ποσότητας σε nM. Οι κόκκινες διακεκομμένες γραμμές αναπαριστούν τις steady state τιμές των ποσοτήτων που δηλώνονται στον κάθετο άξονα στο σημείο ασταθούς ισορροπίας. Οι προσομοιώσεις όλων των μεγεθών έγιναν για χρόνο 300 χρονικές μονάδες. Παρατηρούμε πως αν μειώσουμε τις αρχικές συνθήκες οι τιμές των συγκεντρώσεων μετά από κάποιο χρόνο σταθεροποιούνται η κάθε μία στην steady state τιμή της στο σημείο ισορροπίας.

Στα επόμενα δύο γραφήματα απεικονίζεται η απόκριση κλειστού βρόγχου για την μεταβλητή ρύθμισης  $k_1$  του συστήματος. Υπενθυμίζεται ότι στην περίπτωση του κλειστού βρόγχου η τιμή της  $k_1$  δεν είναι σταθερή και για το λόγο αυτό προσομοιώνουμε την απόκρισή της.





**Γράφημα 27.** Απόκριση κλειστού βρόγχου της μεταβλητής ρύθμισης για διαταραχή  $+0.05$  επί των αρχικών συνθηκών. Η μπλε καμπύλη απεικονίζει την μεταβολή της μεταβλητής ρύθμισης και η κόκκινη διακεκομμένη γραμμή την τιμή της παραμέτρου  $k_1$  στο σημείο ισορροπίας. Ο οριζόντιος άξονας παριστάνει το χρόνο και ο κάθετος την τιμή της μεταβλητής ρύθμισης.



**Γράφημα 28.** Απόκριση κλειστού βρόγχου της μεταβλητής ρύθμισης για διαταραχή  $-0.05$  επί των αρχικών συνθηκών. Η μπλε καμπύλη απεικονίζει την μεταβολή της μεταβλητής ρύθμισης και η κόκκινη διακεκομμένη γραμμή την τιμή της παραμέτρου  $k_1$  στο σημείο ισορροπίας. Ο οριζόντιος άξονας παριστάνει το χρόνο και ο κάθετος την τιμή της μεταβλητής ρύθμισης.

Το γράφημα 27 αφορά προσομοίωση της απόκρισης κλειστού βρόγχου για διαταραχή  $v = y^* + 0.05y^*$  ενώ το 28 για διαταραχή  $v = y^* - 0.05y^*$ . Και στα δύο γραφήματα η μπλε καμπύλη αναπαριστά την μεταβολή στην τιμή της μεταβλητής ρύθμισης με το χρόνο αν λύσουμε με αριθμητική ολοκλήρωση το διαφορικό μας σύστημα με τον ρυθμιστή λαμβάνοντας ως αρχικές συνθήκες τις τιμές του Πίνακα 7, δηλαδή ενός σημείου ασταθούς ισορροπίας και επιβάλλοντας κάποια διαταραχή. Επίσης, ο οριζόντιος άξονας αναπαριστά μονάδες χρόνου ενώ ο κάθετος άξονας την παράμετρο  $k_1$ . Οι κόκκινες διακεκομμένες γραμμές αναπαριστούν την τιμή της παραμέτρου στο σημείο ασταθούς ισορροπίας. Οι προσομοιώσεις έγιναν για χρόνο 300 χρονικές μονάδες. Παρατηρούμε και πάλι πως η τιμή της μεταβλητής ρύθμισης μετά από κάποιο χρόνο σταθεροποιείται στην τιμή της  $k_1$  στο σημείο ισορροπίας ανεξάρτητα από τις αρχικές συνθήκες τις οποίες επιβάλλαμε.

## 6. Συμπεράσματα

---

Στην παρούσα διπλωματική εργασία ασχοληθήκαμε με τον μηχανισμό ρύθμισης της εισόδου και της εξόδου από την μιτωτική φάση του κυτταρικού κύκλου σε δείγματα από αυγό βατράχου *Xenopus laevis*. Σκοπός μας ήταν η μοντελοποίηση, η υπολογιστική ανάλυση και ο σχεδιασμός ενός συστήματος ρύθμισης για τον μηχανισμό αυτό. Με βάση λοιπόν τα αποτελέσματα που έχουμε εξάγει αλλά και την συνολική μας ανάλυση θα παρουσιάσουμε τα συμπεράσματα στα οποία καταλήξαμε σε σχέση με την επίτευξη των στόχων της εργασίας αλλά και τις γενικότερες παρατηρήσεις μας.

Κατ' αρχάς, από την ανάλυση του 2<sup>ου</sup> κεφαλαίου διαπιστώνουμε πως η αναπαραγωγή των αποτελεσμάτων είναι σωστή και σύμφωνη με προϋπάρχουσες μελέτες τόσο σχετικά με τις προσομοιώσεις (Novak & Tyson, 1993; Sha et al., 2003; Solomon et al., 1990) όσο και με τον πειραματικό έλεγχο (Novak & Tyson, 1993; Pomerening et al., 2005) του μοντέλου που πραγματοποιήθηκαν. Συμπεραίνουμε λοιπόν ότι η μοντελοποίηση της μιτωτικής φάσης του *Xenopus laevis* ήταν επιτυχής.

Επίσης, από τις προσομοιώσεις ανοικτού βρόγχου παρατηρήσαμε πως για διαταραχή προς τα πάνω των αρχικών τιμών οι τιμές των μεταβλητών εξόδου καταλήγουν στο άπειρο ενώ για διαταραχή προς τα κάτω σταθεροποιούνται σε κάποια τιμή. Στην πρώτη περίπτωση της προς τα πάνω διαταραχής συμπεραίνουμε πως το σύστημα οδηγείται στον ασταθή κλάδο λύσεων. Στην δεύτερη περίπτωση, εφόσον οι συγκεντρώσεις αποκτούν σταθερή τιμή από κάποια τιμή και έπειτα υποψιαζόμαστε ότι το σύστημα οδηγείται στον ευσταθή κλάδο λύσεων. Αυτό μπορούμε να το επιβεβαιώσουμε με την βοήθεια του Πίνακα 8 όπου παρατηρούμε όπως ήταν αναμενόμενο ότι οι τιμές των μεταβλητών και της σταθερής παραμέτρου της δεύτερης και της τρίτης στήλης συμπίπτουν. Αυτό σημαίνει πως αν επιλέξουμε ως αρχική κατάσταση το σημείο ασταθούς ισορροπίας και λύσουμε το σύστημα επιβάλλοντας μία διαταραχή της τάξης του  $10e-04$  στις αρχικές συνθήκες τότε το σύστημα οδηγείται σε κάποιο σημείο του ευσταθούς ισορροπίας. Ωστόσο, παρατηρούμε ότι οι τιμές των μεγεθών στις δύο στήλες δεν ταυτίζονται απόλυτα αλλά υπάρχουν κάποιες αποκλίσεις που κυμαίνονται περίπου από  $3*10e-03$  έως  $10e-05$ . Οι διαφορές αυτές παρατηρούνται διότι οι τιμές των λύσεων που υπολογίζει το MATCONT είναι διακριτές και δεδομένου ότι είναι πολύ μικρές μπορούμε να θεωρήσουμε ασφαλές το συμπέρασμά μας. Τα συμπεράσματα αυτά συμφωνούν πλήρως με τις προβλέψεις μας και την βιβλιογραφία (Devaney, 1992).

Ακόμη, οι προσομοιώσεις του 4<sup>ου</sup> κεφαλαίου έδειξαν πως με αρχικές συνθήκες τις steady state τιμές των συγκεντρώσεων και της παραμέτρου στο σημείο ασταθούς ισορροπίας και επιβάλλοντας μία μικρή διαταραχή είτε προς τα πάνω είτε προς τα κάτω, οι συγκεντρώσεις και η μεταβλητή ρύθμισης αποκτούν τις steady state τιμές. Με άλλα λόγια, το σύστημα δεν μεταβαίνει ούτε στον ευσταθή ούτε στον ασταθή

κλάδο, αλλά αντιθέτως επανέρχεται στο σημείο ασταθούς ισορροπίας. Έτσι, επιβεβαιώνεται η ορθή λειτουργία του PI ρυθμιστή που σχεδιάσαμε και η επίτευξη της σταθεροποίησης του συστήματος ως βασικός στόχος της εργασίας. Από τα αντίστοιχα γραφήματα βλέπουμε επίσης πως με την παρουσία του PI ρυθμιστή εμφανίζεται σχετικά μεγάλο overshoot και πως δεν υπάρχει σφάλμα μονιμής κατάστασης. Οι παρατηρήσεις αυτές είναι σύμφωνες με την βιβλιογραφία (Ellis, 2012).

Τέλος, θα μπορούσαμε να πούμε ότι η εργασία αυτή αποτελεί αφετηρία για περαιτέρω έρευνα τόσο πάνω στο κομμάτι των μαθηματικών όσο και σε αυτό της βιολογίας. Για παράδειγμα θα μπορούσε κανείς να ασχοληθεί με την βελτίωση του ρυθμιστή ή με την αξιοποίηση των αποτελεσμάτων της λειτουργίας του σχετικά με τον κυτταρικό κύκλο του βατράχου *Xenopus laevis*, ο οποίος να σημειώσουμε πως μοιάζει σε μεγάλο βαθμό με αυτόν του ανθρώπου, γι' άλλωστε και μελετάται σε ευρεία κλίμακα. Κατανοούμε λοιπόν πως η σημασία, η χρησιμότητα και η εφαρμογή της θεωρίας ελέγχου είναι αναμφισβήτητη και παράλληλα συνεχώς ανοιχτή σε νέα πεδία έρευνας.

## 7. Βιβλιογραφία

---

1. *Astrom, K. J., & Wittenmark, B. (1994). Adaptive Control. Addison-Wesley Longman Publishing Co., Inc., Boston MA.*
2. *Bretscher, O. (2008). Linear Algebra with Applications. Prentice Hall.*
3. *Chen, K. C., Csikasz-Nagy, A., Gyorffy, B., Val, J., Novak, B., & Tyson, J. J. (2000). Kinetic analysis of a molecular model of the budding yeast cell cycle. Molecular biology of the cell, 11(1), 369-391.*
4. *Devaney, R. L. (1992). A first course in chaotic dynamical systems. Westview Press.*
5. *Ellis, G. (2012). Control system design guide: using your computer to understand and diagnose feedback controllers. Butterworth-Heinemann.*
6. *Felix, M.A., Labbe, J. C., Doree, M., Hunt, T., & Karsenti, E. (1990). Triggering of cyclin degradation in interphase extracts of amphibian eggs by cdc2 kinase. Nature, 346:379–82.*
7. *Friedland, B. (2012). Control system design: an introduction to state-space methods. Courier Corporation.*
8. *Golnaraghi, F., & Kuo, B. C. (2009). Automatic Control Systems. Wiley Publishing.*
9. *Iooss, G., & Joseph, D. D. (1990). Elementary stability and Bifurcation theory. 2<sup>nd</sup> Edition Springer.*
10. *Kramer, E. R., Gieffers, C., Hölzl, G., Hengstschläger, M., & Peters, J. M. (1998). Activation of the human anaphase-promoting complex by proteins of the CDC20/Fizzy family. Current biology, 8(22), 1207-S4.*
11. *Kumagai, A., & Dunphy, W. G. (1995). Control of the Cdc2/cyclin B complex in Xenopus egg extracts arrested at a G2/M checkpoint with DNA synthesis inhibitors. Molecular Biology of the Cell, 6(2), 199-213.*
12. *Lorca, T., Castro, A., Martinez, A. M., Vigneron, S., Morin, N., Sigrist, S., Lehner, C., Doree, M., & Labbé, J. C. (1998). Fizzy is required for activation of the APC/cyclosome in Xenopus egg extracts. The EMBO Journal, 17(13), 3565-3575.*
13. *Lyapunov, A. M. (1992). The general problem of the stability of motion. International Journal of Control, 55(3), 531-534.*
14. *Marlovits, G., Tyson, C. J., Novak, B., & Tyson, J. J. (1998). Modeling M-phase control in Xenopus oocyte extracts: the surveillance mechanism for unreplicated DNA. Biophysical chemistry, 72(1), 169-184.*

15. Mendes, P., & Kell, D. (1998). *Non-linear optimization of biochemical pathways: applications to metabolic engineering and parameter estimation*. *Bioinformatics*, 14(10), 869-883.
16. Moles, C. G., Mendes, P., & Banga, J. R. (2003). *Parameter estimation in biochemical pathways: a comparison of global optimization methods*. *Genome research*, 13(11), 2467-2474.
17. Novak, B., & Tyson, J. J. (1993). *Numerical analysis of a comprehensive model of M-phase control in Xenopus oocyte extracts and intact embryos*. *Journal of cell science*, 106(4), 1153-1168.
18. O'Connor, C. (2008). *Cell Division: Stages of Mitosis*. *Nature Education*, 1(1), 188.
19. Packard, A., Poola, K., & Horowitz, R. (2002). *Dynamic Systems and Feedback*. Preprint.
20. Pomerening, J. R., Kim, S. Y., & Ferrell, J. E. (2005). *Systems-level dissection of the cell-cycle oscillator: bypassing positive feedback produces damped oscillations*. *Cell*, 122(4), 565-578.
21. Pomerening, J. R., Sontag, E. D., & Ferrell, J. E. (2003). *Building a cell cycle oscillator: hysteresis and bistability in the activation of Cdc2*. *Nature cell biology*, 5(4), 346-351.
22. Rowell, D., & Wormley, D.N. (1997). *System Dynamics: an introduction*. Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall.
23. Sha, W., Moore, J., Chen, K., Lassaletta, A. D., Yi, C. S., Tyson, J. J., & Sible, J. C. (2003). *Hysteresis drives cell-cycle transitions in Xenopus laevis egg extracts*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(3), 975-980.
24. Sible, J. C., & Tyson, J. J. (2007). *Mathematical modeling as a tool for investigating cell cycle control networks*. *Methods*, 41(2), 238-247.
25. Solomon, M. J., Glotzer, M., Lee, T. H., Philippe, M., & Kirschner, M. W. (1990). *Cyclin activation of p34 cdc2*. *Cell*, 63(5), 1013-1024.
26. Zwolak, J. W., Tyson, J. J., & Watson, L. T. (2005). *Parameter estimation for a mathematical model of the cell cycle in frog eggs*. *Journal of computational biology*, 12(1), 48-63.

## Παράρτημα

---

**Λίστα των βασικών συστατικών του μηχανισμού που διέπει τον μιτωτικό κύκλο και της λειτουργίας τους.**

**Ουβικουιτίνη:** Η ουβικουιτίνη είναι μια πρωτεΐνη αποτελούμενη από 76 αμινοξέα η οποία είναι ευρύτατα διαδεδομένη στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς. Η προσθήκη ενός ή λίγων μορίων ουβικουιτίνης σε μια πρωτεΐνη (μονοουβικουιτίνωση ή ολιγοουβικουιτίνωση αντίστοιχα) επηρεάζει τη δραστηριότητα της και τη θέση της μέσα στο κύτταρο. Αντίθετα, η προσθήκη πολλών μορίων ουβικουιτίνης σε μια πρωτεΐνη (πολυουβικουιτίνωση) οδηγεί στο σχηματισμό αλυσίδων ή "δέντρων" ουβικουιτίνης πάνω στην πρωτεΐνη-στόχο και τη "μαρκάρει" για μεταφορά και αποικοδόμηση στο πρωτεάσωμα.

**Πρωτεάσωμα:** Τα πρωτεασώματα είναι μεγάλα πρωτεϊνικά συμπλέγματα, στο εσωτερικό όλων των ευκαρυωτικών οργανισμών και ορισμένων βακτηρίων. Η κύρια λειτουργία τους συνίσταται στην απορρύθμιση άχρηστων ή κατεστραμμένων πρωτεϊνών μέσω της πρωτεόλυσης. Τα πρωτεασώματα είναι μέρος ενός τεράστιου μηχανισμού με τον οποίο τα κύτταρα ρυθμίζουν τη συγκέντρωση συγκεκριμένων πρωτεϊνών και απορυθμίζουν άχρηστες.

**Πρωτεασώματα και ουβικουιτίνη:** Οι πρωτεΐνες που πρόκειται να διασπαστούν ενώνονται με μια μικρή πρωτεΐνη που ονομάζεται ουβικουιτίνη. Η αντίδραση της σύνδεσης αυτής καταλύεται από ένζυμα που ονομάζονται λιγάσες ουβικουιτίνης. Μόλις η πρωτεΐνη που οδεύει προς απορύθμιση συνδεθεί με ένα μόριο ουβικουιτίνης, αυτό σηματοδοτεί σε άλλες λιγάσες να προσεγγίσουν επιπλέον μόρια ουβικουιτίνης. Το αποτέλεσμα είναι μια πολυουβικουιτινική αλυσίδα η οποία συνδέεται με το πρωτεάσωμα επιτρέποντάς του να απορρυθμίσει την προσαρτώμενη πρωτεΐνη.

**MPF (M-Phase-promoting factor):** είναι το σύστημα κυκλίνης-Cdk που πρωτο ανακαλύφθηκε σε αυγά βατράχου. Διεγείρει τις φάσεις μίτωσης και μείωσης του κυτταρικού κύκλου. Το MPF προωθεί την είσοδο στην μίτωση (M-φάση) από την προμιτωτική φάση (G2-phase) φωσφορυλιώνοντας πολλαπλές πρωτεΐνες που χρειάζονται κατά τη διάρκεια της μίτωσης. Το MPF ενεργοποιείται στο τέλος της G2-φασης από μία φωσφατάση η οποία αφαιρεί ένα ανασταλτικό φωσφορικό άλας που προστέθηκε νωρίτερα.

**Διμερές:** ένας μακρομοριακός σχηματισμός που απολείται από δύο, που συνήθως δεν συνδέονται με ομοιοπολικό δεσμό, μακρομόρια όπως πρωτεΐνες ή νουκλεϊκά οξέα.

**Ετεροδιμερές:** ένα διμερές από δύο διαφορετικά μακρομόρια.

**Υπομονάδα:** ένα απλό μόριο που συναρμολογείται (ή αποσυναρμολογείται) με άλλα μόρια για να σχηματίσουν ένα σχηματισμό.

**Cdc2 κινάση:** είναι μία πρωτεΐνη που λειτουργεί σαν μια κινάση σερίνης/θρεονίνης και παίζει βασικό ρόλο στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου.

**Κυκλίνη:** είναι οικογένεια πρωτεϊνών που ελέγχουν την αναβάθμιση των κυττάρων μέσω του κυτταρικού κύκλου ενεργοποιώντας ένζυμα Cdk.

**Φωσφορυλίωση:** χαρακτηρίζεται η διαδικασία (χημική αντίδραση) κατά την οποία μία ή περισσότερες φωσφορικές ομάδες (φωσφορυλομάδα) προστίθενται σ' ένα μόριο. Η φωσφορυλίωση και η αποφωσφορυλίωση ενεργοποιούν και απενεργοποιούν πολλά ένζυμα πρωτεϊνών οπότε και εναλλάσσουν τη λειτουργία και τη δραστηριότητά τους.

**Αποφωσφορυλίωση:** είναι η αφαίρεση μια ομάδας φωσφορικού άλατος από μία οργανική χημική ένωση με υδρόλυση.

**Θρεονίνη:** πρωτεϊνικό αμινοξύ

**Τυροσίνη:** πρωτεϊνικό αμινοξύ

**Κινάση:** ένζυμο υπεύθυνο για την φωσφορυλίωση

**Φωσφατάση:** ένζυμο υπεύθυνο για την αποφωσφορυλίωση

Παρακάτω παραθέτουμε τους κώδικες του MATLAB που χρησιμοποιήσαμε για όλα τα γραφήματα της εργασίας. Για διευκόλυνση του αναγνώστη ο κώδικας του κάθε γραφήματος γράφηκε σε script αρχεία τα οποία δίνονται πιο κάτω:

```
% Κώδικας που χρησιμοποιήθηκε για το γράφημα 1
f=@(t,y) [1-0.505*y(1)-
0.245*y(1)*y(7)+0.005*y(1)*y(2)+0.005*y(1)*y(3);0.5*y(1)-
1.005*y(2)+0.017*y(3)-0.005*y(1)*y(2)-0.005*y(1)*y(3)-
0.245*y(2)*y(7)+0.99*y(2)*y(5)+0.153*y(3)*y(4);y(2)-0.022*y(3)-
0.99*y(2)*y(5)-0.153*y(3)*y(4)-0.245*y(3)*y(7);(0.02*y(2)-
0.02*y(2)*y(4))/(1.1-y(4))-(0.1*y(4))/(1+y(4));(0.02*y(2)-
0.02*y(2)*y(5))/(1.1-y(5))-(0.1*y(5))/(1+y(5));(0.02*y(2)-
0.02*y(2)*y(6))/(1.01-y(6))-(0.15*y(6))/(0.01+y(6));(0.13*y(6)-
0.13*y(6)*y(7))/(1.01-y(6))-(0.13*y(7))/(1+y(7));(1-0.505*y(1)-
0.245*y(1)*y(7)+0.005*y(1)*y(2)+0.005*y(1)*y(3))+0.5*y(1)-
1.005*y(2)+0.017*y(3)-0.005*y(1)*y(2)-0.005*y(1)*y(3)-
0.245*y(2)*y(7)+0.99*y(2)*y(5)+0.153*y(3)*y(4)+(y(2)-0.022*y(3)-
0.99*y(2)*y(5)-0.153*y(3)*y(4)-0.245*y(3)*y(7))];
% Το σύστημα των διαφορικών εξισώσεων
[t,ya]=ode45(f,[0 200],[0 0 0 0 0 1 1 0]);
% Επίλυση του συστήματος με
% την μέθοδο ode45, για t από 0 έως 200 και με αρχικές συνθήκες
% y(1)=0, y(2)=0, y(3), y(4)=0, y(5)=0, y(6)=1, y(7)=1, y(8)=0
plot(t,ya(:,8),'b',t,ya(:,2),'r',t,ya(:,3),'y')
% Γραφική παράσταση των %συγκεντρώσεων συνολικής κυκλίνης,
% MPF, preMPF συναρτήσεων του χρόνου
xlabel('time (min) ')
% Δήλωση του άξονα x ως άξονα του χρόνου σε λεπτά
ylabel('concentration (nM)')
% Δήλωση του άξονα y ως άξονα των %συγκεντρώσεων των διάφορων μεγεθών
σε nM
```



```

legend('total cyclin', 'MPF', 'preMPF')
% Αντιστοίχιση των μεγεθών με τις καμπύλες βάση του χρώματος

% Κώδικας που χρησιμοποιήθηκε για το γράφημα 2
f=@(t,y) [-0.5*(80-y(2)-y(3))+0.005*(80-y(2)-y(3))*y(2)+0.005*(80-
y(2)-y(3))*y(3);0.5*(80-y(2)-y(3))-y(2)+0.017*y(3)-0.005*(80-y(2)-
y(3))*y(2)-0.005*(80-y(2)-
y(3))*y(3)+0.99*y(2)*y(5)+0.153*y(3)*y(4);y(2)-0.99*y(2)*y(5)-
0.153*y(3)*y(4)-0.017*y(3);((0.02*y(2)-0.02*y(2)*y(4))/(1.1-y(4)))-
((0.1*y(4))/(1+y(4)));((0.02*y(2)-0.02*y(2)*y(5))/(1.1-y(5)))-
((0.1*y(5))/(1+y(5)));((0.02*y(2)-0.02*y(2)*y(6))/(1.01-y(6)))-
((0.15*y(6))/(0.01+y(6)));((0.13*y(6)-0.13*y(6)*y(7))/(1.01-y(6)))-
((0.13*y(7))/(1+y(7)))]);
% Το σύστημα των διαφορικών εξισώσεων
[t, ya]=ode45(f, [0 40], [0 0 0 0 0 1 1]);
% Επίλυση του συστήματος με την μέθοδο ode45,
% για t από 0 έως 40 και με αρχικές συνθήκες
% y(1)=0, y(2)=0, y(3), y(4)=0, y(5)=0, y(6)=1, y(7)=1
plot(t, ya(:,2)) % Γραφική παράσταση της συγκέντρωσης MPF
% συναρτήσει του χρόνου με αρχική συνολική κυκλίνη 80 nM
xlabel('time (min) ')
% Δήλωση του άξονα x ως άξονα του χρόνου σε λεπτά
ylabel('[MPF] (nM)')
% Δήλωση του άξονα y ως άξονα της συγκέντρωσης MPF σε nM
hold on % εντολή για να σχεδιάσουμε πολλαπλά διαγράμματα στο ίδιο
% γράφημα
f=@(t,y) [-0.5*(70-y(2)-y(3))+0.005*(70-y(2)-y(3))*y(2)+0.005*(70-
y(2)-y(3))*y(3);0.5*(70-y(2)-y(3))-y(2)+0.017*y(3)-0.005*(70-y(2)-
y(3))*y(2)-0.005*(70-y(2)-
y(3))*y(3)+0.99*y(2)*y(5)+0.153*y(3)*y(4);y(2)-0.99*y(2)*y(5)-
0.153*y(3)*y(4)-0.017*y(3);((0.02*y(2)-0.02*y(2)*y(4))/(1.1-y(4)))-
((0.1*y(4))/(1+y(4)));((0.02*y(2)-0.02*y(2)*y(5))/(1.1-y(5)))-
((0.1*y(5))/(1+y(5)));((0.02*y(2)-0.02*y(2)*y(6))/(1.01-y(6)))-
((0.15*y(6))/(0.01+y(6)));((0.13*y(6)-0.13*y(6)*y(7))/(1.01-y(6)))-
((0.13*y(7))/(1+y(7)))]);
% Το σύστημα των διαφορικών εξισώσεων
[t, ya]=ode45(f, [0 40], [0 0 0 0 0 1 1]);
% Επίλυση του συστήματος με
% την μέθοδο ode45, για t από 0 έως 40 και με αρχικές συνθήκες
% y(1)=0, y(2)=0, y(3), y(4)=0, y(5)=0, y(6)=1, y(7)=1
plot(t, ya(:,2))
% Γραφική παράσταση της συγκέντρωσης MPF
% συναρτήσει του χρόνου με αρχική συνολική κυκλίνη 70 nM
hold on
f=@(t,y) [-0.5*(60-y(2)-y(3))+0.005*(60-y(2)-y(3))*y(2)+0.005*(60-
y(2)-y(3))*y(3);0.5*(60-y(2)-y(3))-y(2)+0.017*y(3)-0.005*(60-y(2)-
y(3))*y(2)-0.005*(60-y(2)-
y(3))*y(3)+0.99*y(2)*y(5)+0.153*y(3)*y(4);y(2)-0.99*y(2)*y(5)-
0.153*y(3)*y(4)-0.017*y(3);((0.02*y(2)-0.02*y(2)*y(4))/(1.1-y(4)))-
((0.1*y(4))/(1+y(4)));((0.02*y(2)-0.02*y(2)*y(5))/(1.1-y(5)))-
((0.1*y(5))/(1+y(5)));((0.02*y(2)-0.02*y(2)*y(6))/(1.01-y(6)))-
((0.15*y(6))/(0.01+y(6)));((0.13*y(6)-0.13*y(6)*y(7))/(1.01-y(6)))-
((0.13*y(7))/(1+y(7)))]);
% Το σύστημα των διαφορικών εξισώσεων
[t, ya]=ode45(f, [0 40], [0 0 0 0 0 1 1]);
% Επίλυση του συστήματος με
% την μέθοδο ode45, για t από 0 έως 40 και με αρχικές συνθήκες
% y(1)=0, y(2)=0, y(3), y(4)=0, y(5)=0, y(6)=1, y(7)=1
plot(t, ya(:,2)) % Γραφική παράσταση της συγκέντρωσης MPF
% συναρτήσει του χρόνου με αρχική συνολική κυκλίνη 60 nM

```

```

hold on
f=@(t,y) [-0.5*(50-y(2)-y(3))+0.005*(50-y(2)-y(3))*y(2)+0.005*(50-y(2)-y(3))*y(3);0.5*(50-y(2)-y(3))-y(2)+0.017*y(3)-0.005*(50-y(2)-y(3))*y(2)-0.005*(50-y(2)-y(3))*y(3)+0.99*y(2)*y(5)+0.153*y(3)*y(4);y(2)-0.99*y(2)*y(5)-0.153*y(3)*y(4)-0.017*y(3);((0.02*y(2)-0.02*y(2)*y(4))/(1.1-y(4)))-((0.1*y(4))/(1+y(4)));((0.02*y(2)-0.02*y(2)*y(5))/(1.1-y(5)))-((0.1*y(5))/(1+y(5)));((0.02*y(2)-0.02*y(2)*y(6))/(1.01-y(6)))-((0.15*y(6))/(0.01+y(6)));((0.13*y(6)-0.13*y(6)*y(7))/(1.01-y(6)))-((0.13*y(7))/(1+y(7)))]];
% Το σύστημα των διαφορικών εξισώσεων
[t,ya]=ode45(f,[0 40],[0 0 0 0 0 1 1]);
% Επίλυση του συστήματος με
% την μέθοδο ode45, για t από 0 έως 40 και με αρχικές συνθήκες
% y(1)=0, y(2)=0, y(3), y(4)=0, y(5)=0, y(6)=1, y(7)=1
plot(t,ya(:,2))
% Γραφική παράσταση της συγκέντρωσης MPF
% συναρτήσει του χρόνου με αρχική συνολική κυκλίνη 50 nM
hold on
f=@(t,y) [-0.5*(40-y(2)-y(3))+0.005*(40-y(2)-y(3))*y(2)+0.005*(40-y(2)-y(3))*y(3);0.5*(40-y(2)-y(3))-y(2)+0.017*y(3)-0.005*(40-y(2)-y(3))*y(2)-0.005*(40-y(2)-y(3))*y(3)+0.99*y(2)*y(5)+0.153*y(3)*y(4);y(2)-0.99*y(2)*y(5)-0.153*y(3)*y(4)-0.017*y(3);((0.02*y(2)-0.02*y(2)*y(4))/(1.1-y(4)))-((0.1*y(4))/(1+y(4)));((0.02*y(2)-0.02*y(2)*y(5))/(1.1-y(5)))-((0.1*y(5))/(1+y(5)));((0.02*y(2)-0.02*y(2)*y(6))/(1.01-y(6)))-((0.15*y(6))/(0.01+y(6)));((0.13*y(6)-0.13*y(6)*y(7))/(1.01-y(6)))-((0.13*y(7))/(1+y(7)))]];
% Το σύστημα των διαφορικών εξισώσεων
[t,ya]=ode45(f,[0 40],[0 0 0 0 0 1 1]);
% Επίλυση του συστήματος με
% την μέθοδο ode45, για t από 0 έως 40 και με αρχικές συνθήκες
% y(1)=0, y(2)=0, y(3), y(4)=0, y(5)=0, y(6)=1, y(7)=1
plot(t,ya(:,2))
% Γραφική παράσταση της συγκέντρωσης MPF
% συναρτήσει του χρόνου με αρχική συνολική κυκλίνη 40 nM
hold on
f=@(t,y) [-0.5*(30-y(2)-y(3))+0.005*(30-y(2)-y(3))*y(2)+0.005*(30-y(2)-y(3))*y(3);0.5*(30-y(2)-y(3))-y(2)+0.017*y(3)-0.005*(30-y(2)-y(3))*y(2)-0.005*(30-y(2)-y(3))*y(3)+0.99*y(2)*y(5)+0.153*y(3)*y(4);y(2)-0.99*y(2)*y(5)-0.153*y(3)*y(4)-0.017*y(3);((0.02*y(2)-0.02*y(2)*y(4))/(1.1-y(4)))-((0.1*y(4))/(1+y(4)));((0.02*y(2)-0.02*y(2)*y(5))/(1.1-y(5)))-((0.1*y(5))/(1+y(5)));((0.02*y(2)-0.02*y(2)*y(6))/(1.01-y(6)))-((0.15*y(6))/(0.01+y(6)));((0.13*y(6)-0.13*y(6)*y(7))/(1.01-y(6)))-((0.13*y(7))/(1+y(7)))]];
% Το σύστημα των διαφορικών εξισώσεων
[t,ya]=ode45(f,[0 40],[0 0 0 0 0 1 1]);
% Επίλυση του συστήματος με
% την μέθοδο ode45, για t από 0 έως 40 και με αρχικές συνθήκες
% y(1)=0, y(2)=0, y(3), y(4)=0, y(5)=0, y(6)=1, y(7)=1
plot(t,ya(:,2)) % Γραφική παράσταση της συγκέντρωσης MPF
% συναρτήσει του χρόνου με αρχική συνολική κυκλίνη 30 nM
hold on
f=@(t,y) [-0.5*(20-y(2)-y(3))+0.005*(20-y(2)-y(3))*y(2)+0.005*(20-y(2)-y(3))*y(3);0.5*(20-y(2)-y(3))-y(2)+0.017*y(3)-0.005*(20-y(2)-y(3))*y(2)-0.005*(20-y(2)-y(3))*y(3)+0.99*y(2)*y(5)+0.153*y(3)*y(4);y(2)-0.99*y(2)*y(5)-0.153*y(3)*y(4)-0.017*y(3);((0.02*y(2)-0.02*y(2)*y(4))/(1.1-y(4)))-((0.1*y(4))/(1+y(4)));((0.02*y(2)-0.02*y(2)*y(5))/(1.1-y(5)))-((0.1*y(5))/(1+y(5)));((0.02*y(2)-0.02*y(2)*y(6))/(1.01-y(6)))-

```

```

((0.15*y(6))/(0.01+y(6)));((0.13*y(6)-0.13*y(6)*y(7))/(1.01-y(6)))-
((0.13*y(7))/(1+y(7)))]];
% Το σύστημα των διαφορικών εξισώσεων
[t, ya]=ode45(f,[0 40],[0 0 0 0 0 1 1]);
% Επίλυση του συστήματος με
% την μέθοδο ode45, για t από 0 έως 40 και με αρχικές συνθήκες
% y(1)=0, y(2)=0, y(3), y(4)=0, y(5)=0, y(6)=1, y(7)=1
plot(t, ya(:,2))
% Γραφική παράσταση της συγκέντρωσης MPF
% συναρτήσει του χρόνου με αρχική συνολική κυκλίνη 20 nM
hold on
f=@(t,y) [-0.5*(15-y(2)-y(3))+0.005*(15-y(2)-y(3))*y(2)+0.005*(15-
y(2)-y(3))*y(3);0.5*(15-y(2)-y(3))-y(2)+0.017*y(3)-0.005*(15-y(2)-
y(3))*y(2)-0.005*(15-y(2)-
y(3))*y(3)+0.99*y(2)*y(5)+0.153*y(3)*y(4);y(2)-0.99*y(2)*y(5)-
0.153*y(3)*y(4)-0.017*y(3);((0.02*y(2)-0.02*y(2)*y(4))/(1.1-y(4)))-
((0.1*y(4))/(1+y(4)));((0.02*y(2)-0.02*y(2)*y(5))/(1.1-y(5)))-
((0.1*y(5))/(1+y(5)));((0.02*y(2)-0.02*y(2)*y(6))/(1.01-y(6)))-
((0.15*y(6))/(0.01+y(6)));((0.13*y(6)-0.13*y(6)*y(7))/(1.01-y(6)))-
((0.13*y(7))/(1+y(7)))]];
% Το σύστημα των διαφορικών εξισώσεων
[t, ya]=ode45(f,[0 40],[0 0 0 0 0 1 1]);
% Επίλυση του συστήματος με
% την μέθοδο ode45, για t από 0 έως 40 και με αρχικές συνθήκες
% y(1)=0, y(2)=0, y(3), y(4)=0, y(5)=0, y(6)=1, y(7)=1
plot(t, ya(:,2))
% Γραφική παράσταση της συγκέντρωσης MPF
% συναρτήσει του χρόνου με αρχική συνολική κυκλίνη 15 nM

% Κώδικας που χρησιμοποιήθηκε για το γράφημα 3
f=@(t,y) [1-0.505*y(1)-
0.245*y(1)*y(7)+0.005*y(1)*y(2)+0.005*y(1)*y(3);0.5*y(1)-
0.005*y(2)+0.017*y(3)-0.005*y(1)*y(2)-0.005*y(1)*y(3)-
0.245*y(2)*y(7)+0.153*y(3)*y(4);-0.022*y(3)-0.153*y(3)*y(4)-
0.245*y(3)*y(7);((0.02*y(2)-0.02*y(2)*y(4))/(1.1-y(4)))-
((0.1*y(4))/(1+y(4)));((0.02*y(2)-0.02*y(2)*y(5))/(1.1-y(5)))-
((0.1*y(5))/(1+y(5)));((0.02*y(2)-0.02*y(2)*y(6))/(1.01-y(6)))-
((0.15*y(6))/(0.01+y(6)));((0.13*y(6)-0.13*y(6)*y(7))/(1.01-y(6)))-
((0.13*y(7))/(1+y(7)));(1-0.505*y(1)-
0.245*y(1)*y(7)+0.005*y(1)*y(2)+0.005*y(1)*y(3))+(0.5*y(1)-
0.005*y(2)+0.017*y(3)-0.005*y(1)*y(2)-0.005*y(1)*y(3)-
0.245*y(2)*y(7)+0.153*y(3)*y(4))+(-0.022*y(3)-0.153*y(3)*y(4)-
0.245*y(3)*y(7))];
% Το σύστημα των διαφορικών εξισώσεων
[t, ya]=ode45(f,[0 200],[0 0 0 0 0 1 1 0]);
% Επίλυση του συστήματος με την μέθοδο ode45,
% για t από 0 έως 200 και με αρχικές συνθήκες
% y(1)=0, y(2)=0, y(3), y(4)=0, y(5)=0, y(6)=1, y(7)=1, y(8)=0
plot(t, ya(:,2), 'r', t, ya(:,8), 'b')
% Γραφική παράσταση των συγκεντρώσεων MPF και συνολικής κυκλίνης
% συναρτήσει του χρόνου
xlabel('time (min) ')
% Δήλωση του άξονα x ως άξονα του χρόνου σε λεπτά
ylabel('concentration (nM)')
% Δήλωση του άξονα y ως άξονα των συγκεντρώσεων των διάφορων μεγεθών
σε nM
legend('MPF','total cyclin')
% Αντιστοίχιση των μεγεθών με τις καμπύλες βάση του χρώματος

% Κώδικας που χρησιμοποιήθηκε για το γράφημα 6

```

```

clc
f=@(t,y) [0.4730515-(0.005*(1-y(4))+0.25*(1-y(5)))*y(1)-
0.005*y(1)*(100-y(2)-y(3));0.005*y(1)*(100-y(2)-y(3))-(0.005*(1-
y(4))+0.25*(1-y(5)))*y(2)-(0.01*y(5)+1*(1-y(5)))*y(2)+(0.017*(1-
y(4))+0.17*y(4))*y(3);-(0.005*(1-y(4))+0.25*(1-
y(5)))*y(3)+(0.01*y(5)+0.01*(1-y(5)))*y(2)-(0.017*(1-
y(4))+0.17*y(4))*y(3);((0.02*y(2)-0.02*y(2)*y(4))/(1.1-y(4)))-
((0.1*y(4))/(1+y(4)));((0.02*y(2)-0.02*y(2)*y(5))/(1.1-y(5)))-
((0.1*y(5))/(1+y(5)));((0.02*y(2)-0.02*y(2)*y(6))/(1.01-y(6)))-
((0.15*y(6))/(0.01+y(6)));((0.13*y(6)-0.13*y(6)*y(7))/(1.01-y(6)))-
((0.13*y(7))/(1+y(7)))]);
% Το σύστημα των διαφορικών εξισώσεων
[t1,ya]=ode45(f,[0 600],[0.99777864 7.3042916 0.41723561 0.95006545
0.95006545 0.24733053 0.29586836]);
% Επίλυση του συστήματος με την μέθοδο ode45,
% για t από 0 έως 600 και με αρχικές
% συνθήκες τις τιμές των μεταβλητών στο σημείο ασταθούς ισορροπίας
% αυξημένες κατά 0.0001
[t2,yb]=ode45(f,[0 600],[0.99757864 7.3040916 0.41703561 0.94986545
0.94986545 0.24713053 0.29566836]);
% Επίλυση του συστήματος με την μέθοδο ode45,
% για t από 0 έως 600 και με αρχικές
% συνθήκες τις τιμές των μεταβλητών στο σημείο ασταθούς ισορροπίας
% μειωμένες κατά 0.0001
figure % Δημιουργεί ένα κενό γράφημα
subplot(1,2,1) % Δηλώνει την θέση του παρακάτω διαγράμματος
plot(t1,ya(:,1)) % Γραφική παράσταση της μεταβλητής y1 συναρτήσει του
% χρόνου όπως προκύπτει από την επίλυση του συστήματος με διασπαράξη
%+0.0001
title('Plot της y1 για y1=y10+0.0001') % Τίτλος του παραπάνω
διαγράμματος
subplot(1,2,2) % Δηλώνει την θέση του παρακάτω διαγράμματος
plot(t2,yb(:,1)) % Γραφική παράσταση της μεταβλητής y1 συναρτήσει του
% χρόνου όπως προκύπτει από την επίλυση του συστήματος με διασπαράξη %-
0.0001
title('Plot της y1 για y1=y10-0.0001') % Τίτλος του παραπάνω
διαγράμματος

```

Τα γραφήματα 7 έως 12 αντιστοιχούν στις υπόλοιπες μεταβλητές δηλαδή τις  $y_2$  έως  $y_7$ . Αρκεί λοιπόν να τρέξω τον παραπάνω κώδικα 6 φορές διαδοχικά με μοναδική αλλαγή αυτή της μεταβλητής προς σχεδίαση και τον τίτλο βεβαίως του αντίστοιχου διαγράμματος. Συγκεκριμένα για να πάρουμε το γράφημα 7 τροποποιούμε τον παραπάνω κώδικα ως εξής:

```

figure % Δημιουργεί ένα κενό γράφημα
subplot(1,2,1) % Δηλώνει την θέση του παρακάτω διαγράμματος
plot(t1,ya(:,2)) % Γραφική παράσταση της μεταβλητής y2 συναρτήσει του
% χρόνου όπως προκύπτει από την επίλυση του συστήματος με διασπαράξη
%+0.0001
title('Plot της y2 για y2=y20+0.0001') % Τίτλος του παραπάνω
διαγράμματος
subplot(1,2,2) % Δηλώνει την θέση του παρακάτω διαγράμματος
plot(t2,yb(:,2)) % Γραφική παράσταση της μεταβλητής y2 συναρτήσει του
% χρόνου όπως προκύπτει από την επίλυση του συστήματος με διασπαράξη %-
0.0001
title('Plot της y2 για y2=y20-0.0001') % Τίτλος του παραπάνω
διαγράμματος

```

Την ίδια διαδικασία επαναλαμβάνουμε και για τις υπόλοιπες μεταβλητές.

```

% Κώδικας που χρησιμοποιήθηκε για την γραμμικοποίηση του συστήματος,
% την steady state αναπαράσταση και την εφαρμογή της μεθόδου
% poleplacement
syms y1 y2 y3 y4 y5 y6 y7 k1
% Ορισμός των μεταβλητών εισόδου και της παραμέτρου συμβολικά
f1=k1-(0.005*(1-y4)+0.25*(1-y5))*y1-0.005*y1*(100-y2-y3);
f2=0.005*y1*(100-y2-y3)-(0.005*(1-y4)+0.25*(1-y5))*y2-(0.01*y5+1*(1-
y5))*y2+(0.017*(1-y4)+0.17*y4)*y3;
f3=-(0.005*(1-y4)+0.25*(1-y5))*y3+(0.01*y5+0.01*(1-y5))*y2-(0.017*(1-
y4)+0.17*y4)*y3;
f4=(0.02*y2-0.02*y2*y4)/(1.1-y4) -(0.1*y4)/(1+y4);
f5=(0.02*y2-0.02*y2*y5)/(1.1-y5)-(0.1*y5)/(1+y5);
f5=(0.02*y2-0.02*y2*y5)/(1.1-y5)-(0.1*y5)/(1+y5);
f6=(0.02*y2-0.02*y2*y6)/(1.01-y6)-(0.15*y6)/(0.01+y6);
f7=(0.13*y6-0.13*y6*y7)/(1.01-y6)-(0.13*y7)/(1+y7);
% Το σύστημα των διαφορικών εξισώσεων
A=jacobian([f1,f2,f3,f4,f5,f6,f7],[y1,y2,y3,y4,y5,y6,y7]);
% Ο πίνακας A της steady state μορφής
g1=y1; %
g2=y2; %
g3=y3; %
g4=y4; % Οι μεταβλητές εξόδου
g5=y5; %
g6=y6; %
g7=y7; %
C=jacobian([g1,g2,g3,g4,g5,g6,g7],[y1,y2,y3,y4,y5,y6,y7]);
% Ο πίνακας C της steady state μορφής
D=jacobian([g1;g2;g3;g4;g5;g6;g7],k1);
% Ο πίνακας D της steady state μορφής
B=jacobian([f1,f2,f3,f4,f5,f6,f7],k1);
% Ο πίνακας B της steady state μορφής
k1=0.4730515; %
y1=0.99767864; %
y2=7.3041916; %
y3=0.41713561; % Οι steady state τιμές των μεταβλητών και της
y4=0.94996545; % παραμέτρου στο σημείο ασταθούς
y5=0.94996545; % ισορροπίας
y6=0.24723053; %
y7=0.29576836; %
A=eval(A); %
B=eval(B); % Αριθμητικός υπολογισμός των πινάκων
C=eval(C); % A, B, C, D της steady state μορφής
D=eval(D); %
Ao=[A [0;0;0;0;0;0;0];[1 1 1 1 1 1 1] 0]; % Οι πίνακες A και B του
Bo=[B;0]; % συστήματος ρύθμισης
p=eig(Ao); % Ιδιοτιμές του πίνακα Ao
p(1)=-0.1; % Αλλάζουμε τις μη αρνητικές ιδιοτιμές για να
p(3)=-0.08; % καταστήσουμε ευσταθές το σύστημα
p(4)=-0.09; %
K=place(Ao,Bo,p); % Υπολογισμός
Kp=[K(1) K(2) K(3) K(4) K(5) K(6) K(7)]; %αναλογικού
Ki=K(8); % και
% ολοκληρωτικού κέρδους με την
% μεθοδο pole placement

```

```

% Κώδικας που χρησιμοποιήθηκε για την επίλυση του συστήματος

```

```

x0=[0.99767864;7.3041916;0.41713561;0.94996545;0.94996545;0.24723053;
0.29576836]; % Αρχικές συνθήκες
f=@(t,y) [(0.4730515-(Kp*( [y(1);y(2);y(3);y(4);y(5);y(6);y(7)]-x0))-
(Ki*sum(abs([y(1);y(2);y(3);y(4);y(5);y(6);y(7)]-x0))))-(0.005*(1-
y(4))+0.25*(1-y(5)))*y(1)-0.005*y(1)*(100-y(2)-y(3));0.005*y(1)*(100-
y(2)-y(3))-(0.005*(1-y(4))+0.25*(1-y(5)))*y(2)-(0.01*y(5)+1*(1-
y(5)))*y(2)+(0.017*(1-y(4))+0.17*y(4))*y(3);-(0.005*(1-y(4))+0.25*(1-
y(5)))*y(3)+(0.01*y(5)+0.01*(1-y(5)))*y(2)-(0.017*(1-
y(4))+0.17*y(4))*y(3);((0.02*y(2)-0.02*y(2)*y(4))/(1.1-y(4)))-
((0.1*y(4))/(1+y(4)));((0.02*y(2)-0.02*y(2)*y(5))/(1.1-y(5)))-
((0.1*y(5))/(1+y(5)));((0.02*y(2)-0.02*y(2)*y(6))/(1.01-y(6)))-
((0.15*y(6))/(0.01+y(6)));((0.13*y(6)-0.13*y(6)*y(7))/(1.01-y(6)))-
((0.13*y(7))/(1+y(7)))]);
% Το σύστημα των διαφορικών εξισώσεων
[t1,ya]=ode45(f,[0 300],x0+0.05*x0);
% Επίλυση του συστήματος με την μέθοδο ode45,
% για t από 0 έως 300 και με αρχικές
%συνθήκες τις τιμές των μεταβλητών στο σημείο ασταθούς ισορροπίας
%αυξημένες κατά 0.05*x0
[t2,yb]=ode45(f,[0 300],x0-0.05*x0);
% Επίλυση του συστήματος με την μέθοδο ode45,
% για t από 0 έως 300 και με αρχικές
%συνθήκες τις τιμές των μεταβλητών στο σημείο ασταθούς ισορροπίας
%μειωμένες κατά 0.05*x0

% Κώδικας που χρησιμοποιήθηκε για το γράφημα 13
% Πρέπει πρώτα να έχει επιλυθεί το σύστημα
i=1; %Δημιουργία ενός διανύσματος με μήκος όσο και οι γραμμές
while i<294 %του πίνακα που προέκυψε από την αριθμητική ολοκλήρωση
za(i)=x0(1); %για διαταραχή προς τα πάνω και με στοιχεία την
i=i+1; %τιμή του πρώτου στοιχείου του διανύσματος αρχικών
end %συνθηκών
plot(t1,ya(:,1)) %Γραφική παράσταση της πρώτης μεταβλητής συναρτήσει
%του χρόνου
hold on %εντολή για να σχεδιάσουμε στο ίδιο γράφημα
plot(t1,za,'--') %Γραφική παράσταση του διανύσματος που περιέχει την
%steady state τιμή της πρώτης μεταβλητής
%συναρτήσει του χρόνου

% Κώδικας που χρησιμοποιήθηκε για το γράφημα 13β
j=1; %Δημιουργία ενός διανύσματος με μήκος όσο και οι γραμμές
while j<290 %του πίνακα που προέκυψε από την αριθμητική ολοκλήρωση
zb(j)=x0(1); %για διαταραχή προς τα κάτω και με στοιχεία την
j=j+1; %τιμή του πρώτου στοιχείου του διανύσματος αρχικών
end %συνθηκών

plot(t2,yb(:,1)) %Γραφική παράσταση της πρώτης μεταβλητής συναρτήσει
%του χρόνου
hold on %εντολή για να σχεδιάσουμε στο ίδιο γράφημα
plot(t2,zb,'--') %Γραφική παράσταση του διανύσματος που περιέχει την
%steady state τιμή της πρώτης μεταβλητής
%συναρτήσει του χρόνου

```

Με τον ίδιο τρόπο προκύπτουν και τα γραφήματα από 14 έως 26 κάνοντας φυσικά τις απαραίτητες μετατροπές στον κώδικα όσον αφορά την steady state τιμή που θα περιέχουν τα διανύσματα za και zb και ποια στήλη των διανυσμάτων ya και yb θα σχεδιαστεί.

```

% Κώδικας που χρησιμοποιήθηκε για το γράφημα 27

```

```

i=1; %Δημιουργία ενός διανύσματος za με μήκος όσο και οι γραμμές
while i<294 %του πίνακα που προέκυψε από την αριθμητική ολοκλήρωση
za(i)=0.4730515; %για διαταραχή προς τα πάνω και με στοιχεία την
i=i+1; % steady state τιμή της παραμέτρου
end
i=1;
while i<294
k1a(i)=0.4730515-
(Kp*([ya(i,1);ya(i,2);ya(i,3);ya(i,4);ya(i,5);ya(i,6);ya(i,7)]-x0))-
(Ki*sum(abs([ya(i,1);ya(i,2);ya(i,3);ya(i,4);ya(i,5);ya(i,6);ya(i,7)]
-x0))));
i=i+1;
end
%Δημιουργία ενός διανύσματος k1a με μήκος όσο και οι γραμμές του
%πίνακα που προέκυψε από την αριθμητική ολοκλήρωση για διαταραχή προς
%τα πάνω και με στοιχεία την τιμή της μεταβλητής ρύθμισης για κάθε
%βήμα της αριθμητικής ολοκλήρωσης
plot(t1,k1a) %Γραφική παράσταση του k1a συναρτήσει του χρόνου
hold on%εντολή για να σχεδιάσουμε στο ίδιο γράφημα
plot(t1,za,'--') %Γραφική παράσταση του za συναρτήσει του χρόνου

```

Για το γράφημα 28 τρέχουμε τον ίδιο κώδικα με μοναδική αλλαγή την διάσταση των διανυσμάτων k1a και za που θα πρέπει να είναι ίση με το πλήθος των γραμμών του πίνακα που προέκυψε από την αριθμητική ολοκλήρωση για διαταραχή προς τα κάτω