

TS. Hồ Khánh Lâm

Tập đoàn Bưu chính Viễn thông Việt Nam (VNPT)

Tác giả liên hệ: lamhokhanh@gmail.com

Ngày nhận: 20/4/2023

Ngày nhận bản sửa: 14/6/2023

Ngày duyệt đăng: 26/6/2023

Tóm tắt

Petri Net được sử dụng để mô hình hoá, phân tích và mô phỏng các quá trình hóa học và sinh hóa. Petri Net được phát minh năm 1962 bởi Carl Adam Petri nhằm mục đích mô tả các quá trình hoá học. Năm 1993, Reddy lần đầu tiên trong sinh học đã sử dụng Petri Net để mô hình và phân tích chất lượng các đường dẫn trao đổi chất (Reddy và Mavrovouniotis). Kể từ đó, Petri Net được sử dụng để mô hình hóa và mô phỏng một số loại quá trình sinh hóa, chủ yếu trong các hệ thống sinh học phân tử, cũng như trong các bệnh tật và các mô hình sinh thái. Hơn nữa, các loại Petri Net được sử dụng rộng rãi để mô hình hoá, phân tích và mô phỏng nhiều quá trình sinh hóa phức tạp và đa dạng trong nhiều nghiên cứu y học, hóa học và sinh học. Bài báo này trình bày một số ví dụ mô hình Petri Net các quá trình hóa sinh như các mô hình các đường dẫn trao đổi chất.

Từ khóa: Mô hình Petri Net, quá trình sinh hóa, đường dẫn trao đổi chất.

Petri Net Model of Biochemical Processes

Dr. Ho Khanh Lam

Vietnam Posts and Telecommunications Group (VNPT)

Corresponding author: lamhokhanh@gmail.com

Abstract

Petri Nets (PN) have found extensive applications in modeling, analyzing, and simulating both chemical and biochemical processes. In the field of biology, Reddy was the first to utilize PN in 1993 to develop models and perform qualitative analysis of metabolic pathways (Reddy and Mavrovouniotis). Since then, various types of biological processes have been modeled and simulated using PN, primarily in molecular biological systems, but also in disease and ecological models. PN models have also been widely adopted in modern medical, chemical, and biological studies to enable the modeling, analysis, and simulation of complex and diverse biochemical processes. This paper presents a few examples of Petri Net models that have been utilized as models of metabolic pathways in biochemical processes.

Keywords: Petri net Model, biochemical process, metabolic pathway.

1. Giới thiệu

1.1. Petri Net

Petri Net (PN) [1-3] là một đồ thị song hướng có trọng số được xác định bởi 4 bộ: tập hợp các vị trí P (place), tập hợp các chuyển tiếp T (transition), hàm vào I (input function) và hàm ra O (output

function), được biểu diễn bởi các phương trình:

$$PN = (P, T, I, O) \quad (1)$$

Trong đó:

$$\left. \begin{aligned} P &= \{p_1, p_2, \dots, p_m\}; m \geq 0 \\ T &= \{t_1, t_2, \dots, t_n\}; n \geq 0 \\ P \cap T &= \emptyset; \\ I: T &\rightarrow P^\infty \\ O: P^\infty &\rightarrow T \end{aligned} \right\} \quad (2)$$

Như vậy, đối với một vị trí p_j bất kỳ trong PN, sẽ có chuyển tiếp đến T_i (p_j khi đó, là vị trí vào của chuyển tiếp này), tương tự sẽ có chuyển tiếp ra T_i' khi p_j là vị trí ra của chuyển tiếp này.

Gọi $O(t_i)$ là tập hợp các vị trí mà ở đó, có các chuyển tiếp ra T_i' . $I(t_i)$ là tập hợp các vị trí mà ở đó, có các chuyển tiếp vào/đến T_i và A là tập hợp các cung được hình thành bởi các cặp cung ra (p_j, t_i) , hoặc các cặp cung vào (t_i, p_j) . Ta viết được:

$$\left. \begin{aligned} I(t_i) &= \{p_j \in P : (p_j, t_i) \in A\} \\ O(t_i) &= \{p_j \in P : (t_i, p_j) \in A\} \end{aligned} \right\} \quad (3)$$

Phương trình thứ nhất cho thấy: vị trí p_j là vị trí vào/đến của chuyển tiếp t_i nếu $p_j \in I(t_i)$, và phương trình thứ 2 thể hiện p_j là vị trí ra nếu $p_j \in O(t_i)$.

Như vậy, Petri Net có hai tập hợp các nút (vị trí và chuyển tiếp) và một tập hợp các cung nối các cặp nút (vị trí, trạng thái).

Nếu Petri Net có trọng số, thì W là các giá trị nguyên được ghi trên cung là trọng số của cung và nó chỉ ra số cung (cùng hướng) nối từng cặp nút (vị trí, chuyển tiếp) trong trường hợp có nhiều cung nối cặp nút). Petri Net có trọng số được biểu diễn ở dạng:

$$PN = (P, T, A, W) \quad (4)$$

Trong đó: $A \subseteq (PxT) \cup (TxP)$ là tập hợp các cung của các cặp vị trí -

chuyển tiếp (p_j, t_i) hoặc từ các cặp chuyển tiếp - vị trí (t_j, p_i) .

Ta có các biểu diễn của trọng số như sau:

$w: A \rightarrow \{1, 2, 3, \dots\}$ là hàm trọng số trên các cung.

$w(p_j, t_i)$: là trọng số, hay số cung đi từ vị trí p_j đến chuyển tiếp t_i .

$w(p_j, t_i) = 0$ khi $p_j \notin I(t_i)$: p_j không thuộc tập hợp vào I của các chuyển tiếp t_i ;

$w(t_i, p_j)$: là trọng số, hay số cung đi từ chuyển tiếp t_i đến vị trí p_j .

$w(t_i, p_j) = 0$ khi $p_j \notin O(t_i)$: p_j không thuộc tập hợp ra O của các chuyển tiếp t_i ;

Nếu không có giá trị trọng số gắn trên cung thì cung này có trọng số mặc định = 1, tức là, chỉ có 1 cung nối giữa vị trí và chuyển tiếp.

Khi chỉ có một cung vào và một cung ra nối các cặp nút (vị trí, chuyển tiếp) và (chuyển tiếp, vị trí) thì đó là Petri Net thông thường OPN (Ordinary PN).

Petri Net được biểu diễn bằng đồ thị gồm: các vòng tròn - là các vị trí, các thanh đậm (hay hộp chữ nhật) - là các chuyển tiếp, các mũi tên - là các cung nối các vị trí và các chuyển tiếp, và các dấu tròn nhỏ tô màu (đen) bên trong các vị trí - là các thẻ (token).

Petri Net có đánh dấu MPN (Marked Petri Net) được định nghĩa bởi 5 bộ:

$$MPN = (P, T, A, W, M_0) \quad \text{hay}$$

$$MPN = (PN, M_0)$$

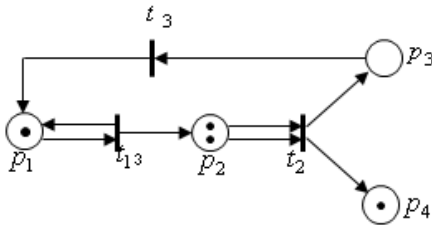
Trong đó, M_0 - đánh dấu ban đầu của tập hợp các vị trí trong PN.

Trạng thái của MPN được xác định bởi đánh dấu của PN. Sự kích hoạt các chuyển tiếp làm thay đổi trạng thái của Petri Net. Không gian các trạng thái của Petri Net gồm có n vị trí, là một tập hợp tất cả các đánh dấu, ký hiệu là N^n .

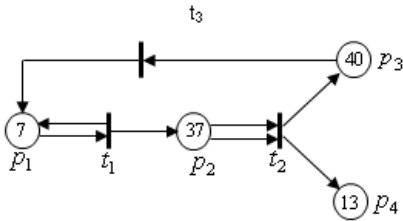
Đánh dấu

$M = [M(p_1), M(p_2), \dots, M(p_n)] \in N$ là vector hàng, trong đó, n là số nguyên dương, và $M(p_i)$ là số thẻ ở vị trí p_i . Ví dụ Petri Net cho ở hình 1 có đánh dấu là $M_0 = [1, 2, 0, 1]$.

Khi có nhiều thẻ trong vị trí thì sử dụng các số để thay thế biểu diễn thẻ, ví dụ Petri Net ở Hình 1 có đánh dấu $M_0 = [1, 2, 0, 1]$ và Hình 2 có đánh dấu $M_0 = [7, 37, 40, 13]$.



Hình 1. PN có đánh dấu $M_0 = [1, 2, 0, 1]$



Hình 2. PN có đánh dấu $M_0 = [7, 37, 40, 13]$

1.2. Quy tắc thực hiện đánh dấu Petri Net

Trong MPN, các chuyển tiếp có thể được phép hay không được phép kích hoạt. Sự kích hoạt các chuyển tiếp dẫn đến sự phân bố lại các thẻ trong các vị trí, và kết quả là tạo ra đánh dấu mới. Đánh dấu của Petri Net được thực hiện nhờ các quy tắc cho phép và kích hoạt các chuyển tiếp sau đây:

- Khi vị trí P_j vừa là vị trí vào vừa là vị trí ra của chuyển tiếp t_i , thì sự kích

hoạt của chuyển tiếp t_i lấy đi một số thẻ bằng chính trọng số $w(p_j, t_i)$ từ vị trí vào $p_j, p_j \in I(t_i)$, và từ vị trí ra P_j của t_i được bổ sung thêm số thẻ mới bằng trọng số $w(t_i, p_j)$ từ t_i đến P_j . Đánh dấu mới của vị trí P_j sẽ là:

$$M'(p_j) = M(p_j) - w(p_j, t_i) + w(t_i, p_j) ; i = 1, 2, \dots, n ; j = 1, 2, \dots, m \quad (5)$$

Trong đó, $M(p_j)$: số thẻ của vị trí vào P_j trước khi kích hoạt chuyển tiếp t_i ; và $w(p_j, t_i)$: trọng số của cung đi từ vị trí vào P_j đến t_i ; $w(t_i, p_j)$: trọng số của cung từ t_i đến vị trí ra P_j .

Nếu có vị trí P_k là vị trí ra của chuyển tiếp t_i , khi đó, đánh dấu mới của P_k sẽ là :

$$M'(p_k) = M(p_k) + w(t_i, p_k) ; i = 1, 2, \dots, n ; k = 1, 2, \dots, m \quad (6)$$

Trong đó, $w(t_i, p_k)$: trọng số của cung vào vị trí P_k từ chuyển tiếp t_i

- Chuyển tiếp t_i chỉ có thể kích hoạt trong trường hợp nó được phép.
- Chuyển tiếp t_i được coi là được

phép nếu mỗi vị trí P_j vào của t_i có số thẻ lớn hơn hay bằng số các cung đi từ vị trí P_j đến t_i , nghĩa là:

$$M(p_j) \geq w(p_j, t_i); \text{ với tất cả } p_j \in I(t_i) \quad (7)$$

• Các thẻ trong vị trí vào p_j , mà chúng cho phép chuyển tiếp t_i kích hoạt, được gọi là các thẻ cho phép của chuyển tiếp t_i .

Với Petri Net cho ở hình 1, ta có đánh dấu ban đầu của nó là $M_0 = [1,2,0,1]$. Nhận thấy rằng chỉ có các chuyển tiếp t_1 và t_2 được phép vì: t_1 có số thẻ ở vị trí vào p_1 (p_1 vừa là vị trí vào vừa là vị trí ra của t_1) bằng $M_0(p_1) = 1 = w(p_1, t_1) = 1$; và t_2 : $M_0(p_2) = 2 = w(p_2, t_2) = 2$; chuyển tiếp t_3 không được phép vì vị trí vào p_3 không có thẻ, nghĩa là: $M_0(p_3) = 0 < w(p_3, t_3) = 1$;

Khi chuyển tiếp t_1 kích hoạt:

Nó lấy đi 1 thẻ từ p_1 chuyển cho p_1 và p_2 :

$$M'(p_1) = M_0(p_1) - w(p_1, t_1) + w(t_1, p_1) = 1 - 1 + 1 = 1$$

$$M'(p_2) = M_0(p_2) + w(t_1, p_2) = 2 + 1 = 3$$

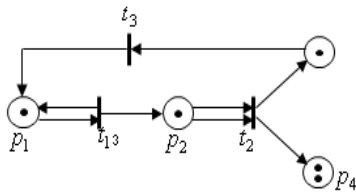
Khi chuyển tiếp t_2 kích hoạt:

Nó lấy đi 2 thẻ từ p_2 và bổ xung thêm 2 thẻ cho p_3, p_4 :

$$M''(p_2) = M'(p_2) - w(p_2, t_2) = 3 - 2 = 1$$

$$M'(p_3) = M_0(p_3) + w(t_2, p_3) = 0 + 1 = 1$$

$$M'(p_4) = M_0(p_4) + w(t_2, p_4) = 1 + 1 = 2$$



Hình 3: Đánh dấu của PN sau khi kích hoạt các chuyển tiếp t_1, t_2

Như vậy, sau khi kích hoạt các chuyển tiếp t_1 và t_2 , ta có đánh dấu kết quả: $M_1 = [1,1,1,2]$ và đồ thị kết quả cho ở Hình 3. Ở đánh dấu này thì chuyển tiếp t_1 và t_3 được phép kích hoạt.

1.3. Ma trận liên thuộc và đẳng thức trạng thái

Các hệ thống được mô phỏng bởi Petri Net cũng có thể được mô tả bằng các đẳng thức ma trận, các đẳng thức trạng thái của chúng.

Ma trận liên thuộc (Incidence Matrix):

Đối với một $PN=(P,T,A,W)$ gồm n chuyển tiếp và m vị trí, ma trận liên thuộc $A = [a_{ij}]$ là một ma trận $n \times m$ các số nguyên, trong đó, số hàng $i = 1, \dots, n$ tương ứng với các chuyển tiếp, số cột $j = 1, \dots, m$ tương ứng với các vị trí, và được viết là [2, 3]:

$$a_{ij} = a_{ij}^+ - a_{ij}^- \quad (8)$$

Trong đó, $a_{ij}^+ = w(i, j)$ là trọng số của cung ra từ chuyển tiếp t_i đến vị trí ra p_j của nó và $a_{ij}^- = w(j, i)$ là trọng số của cung từ vị trí vào p_j đến chuyển tiếp t_i .

Nhận thấy a_{ij}^-, a_{ij}^+ , và a_{ij} thể hiện tương ứng số thẻ bị lấy ra, số thẻ được thêm vào, và số thẻ bị thay đổi trong vị trí j khi chuyển tiếp i kích hoạt một lần. Chuyển tiếp i được phép kích hoạt ở đánh dấu M nếu số thẻ ở trong vị trí vào j lớn hơn hoặc bằng trọng số của cung từ vị trí j đến chuyển tiếp i , nghĩa là:

$$a_{ij}^- \leq M(j), \quad j = 1, 2, \dots, m \quad (9)$$

Đẳng thức trạng thái:

Khi viết các đẳng thức ma trận, ta viết một đánh dấu M_k là một vector $m \times 1$ cột.

Thành phần thứ j của M_k cho số thẻ trong vị trí j ngay sau kích hoạt lần thứ k trong

chuỗi kích hoạt. Kích hoạt thứ k hay vector điều khiển u_k là một vector $n \times 1$ cột gồm có $(n-1)$ số 0 và chỉ một số 1 ở vị trí thứ i chỉ ra rằng chuyển tiếp i kích hoạt ở kích hoạt thứ k . Bởi vì hàng thứ i của ma trận liên thuộc A chỉ sự thay đổi do kích hoạt chuyển tiếp i , nên ta có thể viết đẳng thức trạng thái sau đây cho mạng Petri [2-5]

$$M_k = M_{k-1} + A^T u_k, k = 1, 2, \dots \quad (10)$$

Trong đó, ma trận A^T là ma trận chuyển vị của A có được bằng chuyển các hàng thành các cột của ma trận A .

Cho rằng đánh dấu đích M_d đạt được từ đánh dấu ban đầu M_0 nhờ chuỗi kích hoạt $\{u_1, u_2, \dots, u_d\}$. Khi đó, đẳng thức trạng thái (10) được viết cho $i = 1, 2, \dots, d$ và lấy tổng, ta được:

$$M_d = M_0 + A^T \sum_{k=1}^d u_k \quad (11)$$

Hay: $A^T x = \Delta M \quad (12)$

Trong đó, $\Delta M = M_d - M_0, x = \sum_{k=1}^d u_k$

Giá trị x là vector $n \times 1$ cột của các số nguyên dương và nó được gọi là vector đếm số lần kích hoạt (firing count vector). Thành phần thứ i của x thể hiện số lần mà chuyển tiếp i phải kích hoạt để chuyển trạng thái từ M_0 đến M_d .

Từ các đẳng thức trạng thái trên, ta có các bất biến (invariants) sau đây:

S-Invariants: là các bất biến S - là các nghiệm cho đẳng thức:

$$Ay = 0, y \geq 0 \quad (13)$$

Trong đó, A - ma trận liên thuộc, y - vector $m \times 1$. Các cửa vào khác 0 trong y tạo thành hỗ trợ của một bất biến S . Hỗ trợ của S-invariant là tập hợp các vị trí mà số

thể không thay đổi với bất kỳ chuỗi kích hoạt nào từ đánh dấu ban đầu M_0 .

T-invariants: là các bất biến T- là các nghiệm cho đẳng thức:

$$A^T x = 0, x \geq 0 \quad (14)$$

Trong đó, x là vector $n \times 1$. Hỗ trợ của T-invariant thể hiện vector số kích hoạt các chuyển tiếp phải kích hoạt, từ đánh dấu ban đầu M_0 , để đưa Petri Net trở về lại M_0 .

2. Mô hình Petri Net của đường dẫn trao đổi chất

2.1. Quá trình trao đổi chất

Một quá trình trao đổi chất (methabolic pathway) là một tập hợp các phản ứng hóa học, sinh hóa tương tác các sản phẩm gắn liền với quá trình trao đổi chất mà chúng thay đổi cấu trúc hóa học. Từng phản ứng hóa học biến đổi một số phân tử thành các sản phẩm khác, và nó được gây xúc tác bởi một hay một số enzyme. Các enzyme không mất đi trong phản ứng, ngay cả khi chúng cần thiết và được sử dụng trong khi phản ứng xảy ra. Sản phẩm của một đầu vào phản ứng hóa học có thể lại là một chất của các phản ứng tiếp theo khác. Đối với quá trình có n phản ứng và m phân tử, tập hợp các hệ số tỷ lượng được biểu diễn bởi ma trận hợp thức tỷ lượng (stoichiometric matrix) với n cột và m hàng. Mỗi phân tử của ma trận chính

là hệ số hợp thức tỷ lượng n_{ij} , thể hiện số mol chất mà theo đó, các phân tử thứ i tham gia trong phản ứng thứ j , cũng chính là sự biến đổi lượng mol chất thứ i do phản ứng thứ j . Để thuận tiện trong điều khiển mạng PN, hệ số tỷ lượng các chất tham gia phản ứng được coi là có các giá trị âm (do tiêu dùng vào phản ứng) và hệ số tỷ lượng của các sản phẩm phản ứng có giá trị dương. Các hệ số của các enzyme thường bằng 0, vì chúng được tham gia vào phản ứng và sau đó, được giải phóng khi phản ứng kết thúc. Mô phỏng quá trình trao đổi

chất cần thông tin từ nhiều nguồn: cơ chế các hoạt động sinh hóa, cơ chế các hoạt động của các bộ gen, của các quá trình sống, được mô tả và phân tích.

Để đánh giá toàn diện đặc tính của quá trình trao đổi chất, cần phải xác định các thành phần (các phản ứng, các enzyme, các phân tử chất phản ứng và các sản phẩm) và các quan hệ định lượng giữa các

chất phản ứng và các sản phẩm trong phản ứng hóa học được cân bằng, được thể hiện qua các hệ số tỷ lệ hợp thức của phản ứng, cũng như nồng độ tối thiểu các enzyme, độ pH,... Với mỗi phản ứng, tốc độ phản ứng phụ thuộc nồng độ của các chất tham gia phản ứng, cũng như nhiệt độ, xúc tác enzyme và được đặc trưng bởi hằng số tốc độ phản ứng và bậc của phản ứng.

Bảng 1. Sự tương ứng giữa quá trình trao đổi chất và PN

Các phần tử của quá trình	Các phần tử của PN
Các chất chuyển hóa, các enzym, các hợp chất	Các vị trí
Các phản ứng, các tương tác	Các chuyển tiếp
Các chất nền, chất phản ứng	Các vị trí vào
Các sản phẩm của phản ứng	Các vị trí ra
Các hệ số tỷ lệ hợp thức	Các trọng số của cung
Số lượng các chất xúc tác, các enzym, các hợp chất	Số lượng các thể trên các vị trí
Các quy luật động học của các phản ứng	Các tốc độ chuyển tiếp

2.2. Các thành phần cơ bản của mô hình PN cho các cấu trúc hệ phản ứng sinh hóa

Để PN thể hiện quá trình trao đổi chất, bước đầu tiên phải mô tả cấu trúc hệ sinh hóa cùng cơ chế của phản ứng hóa sinh trong quá trình trao đổi chất trong sự tương ứng với các phần tử của mạng PN. Bảng 1 chỉ ra sự tương ứng giữa các phần tử của quá trình trao đổi chất và các phần tử của PN. Hình 4 thể hiện các thành phần cơ bản của PN được xây dựng cho các cấu trúc của các mạng phản ứng sinh hóa [3], trong đó, các vị trí là các vòng tròn, các chuyển tiếp là các ô vuông. Các chuyển tiếp có 2 ô vuông đồng tâm là các chuyển tiếp macro, chúng cho phép thiết kế các mạng phân lớp. Chúng được sử dụng như là các rút gọn cho các phản ứng thuận nghịch. Hai cung đối diện nhau ở một chuyển tiếp thể hiện các cung đọc, như thể hiện ở các Hình 4(d) và 4(e), chúng thiết

lập các điều kiện ở các phía cho sự kích hoạt của một chuyển tiếp.

Hình 4(a) thể hiện một phản ứng đơn giản: $A \rightarrow B$.

Hình 4(b) thể hiện phản ứng thuận nghịch: $A \leftrightarrow B$.

Hình 4(c) thể hiện phân lớp của (b).

Hình 4(d) thể hiện phản ứng enzyme đơn giản.

Hình 4(e) thể hiện phản ứng enzymy thuận nghịch, động học enzyme (hay động học Michaelis-Menten)

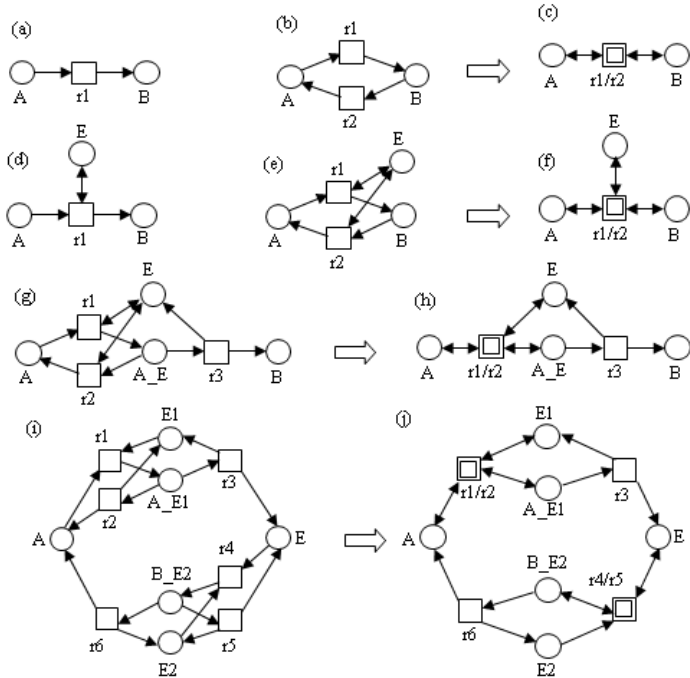
Hình 4(f) thể hiện phân lớp của (e).

Hình 4(g) thể hiện phản ứng enzyme, động học tác dụng khối lượng, $A + E \leftrightarrow A_E \rightarrow B + E$.

Hình 4(h) thể hiện phân lớp của (g).

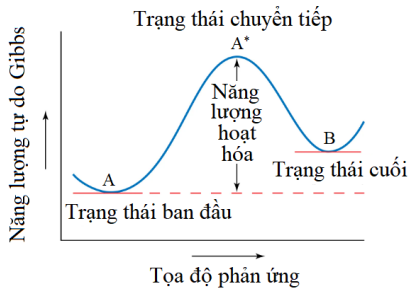
Hình 4(i) thể hiện 2 phản ứng enzyme, động học tác dụng khối lượng, tạo thành một chu trình.

Hình 4(j) thể hiện phân lớp của (i)



Hình 4: Các thành phần cơ bản của một PN cho các cấu trúc của một hệ phản ứng hóa sinh tương ứng

Để hiểu rõ sự tương quan của các thành phần tham gia phản ứng với biểu tượng, ký hiệu dùng trong lý thuyết mô hình Petri Net, chúng ta nêu lại sơ đồ phản ứng bậc 1 theo lý thuyết trạng thái chuyển tiếp dưới đây cho phản ứng đơn giản nhất $A \rightarrow B$ (Hình 5). Trong đó, A: chất đầu vào (tác chất), A*: chất đầu ở trạng thái hoạt hóa (hợp chất trung gian), B: sản phẩm của phản ứng.

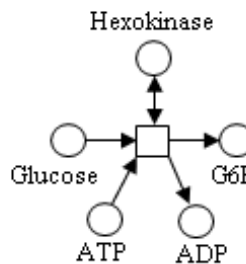


Hình 5. Sơ đồ phản ứng bậc 1 theo lý thuyết trạng thái chuyển tiếp

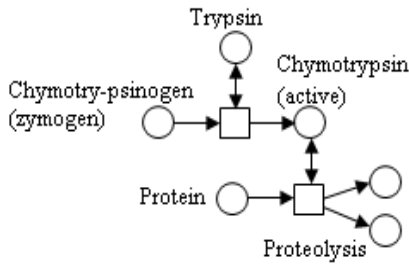
2.3. Mô hình PN của quá trình trao đổi chất

Trong PN cho ở Hình 6(a), mỗi vị trí thể hiện một hợp chất và ở Hình 6(b), hai vị trí thể hiện cùng một loại hợp chất: một vị trí thể hiện zynogen không hoạt hóa và

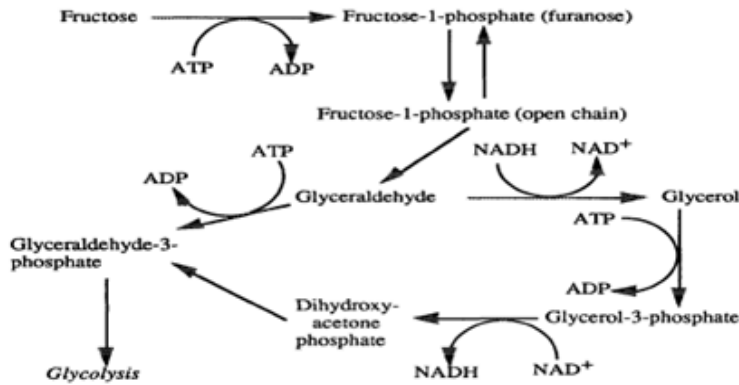
vị trí khác thể hiện enzym Chrymotrypsin được hoạt hóa [4,5]. Nếu ta muốn phân tách các hợp chất dựa trên vị trí của chúng trong tế bào (hoặc cơ quan tế bào), ta có thể có các vị trí khác nhau thể hiện cùng một hợp chất. Ví dụ, các nhóm ATP (Adenosine triphosphate) bên trong và bên ngoài mitochondrion trong một tế bào là khác nhau và nồng độ tương đối của chúng được xác định thông qua quá trình vận chuyển lựa chọn. Như vậy, ta có thể có 2 vị trí, một thể hiện hợp chất bên trong và vị trí khác thể hiện hợp chất bên ngoài mitochondrion.



Hình 6(a). G6P: Glucose-6-Phosphate



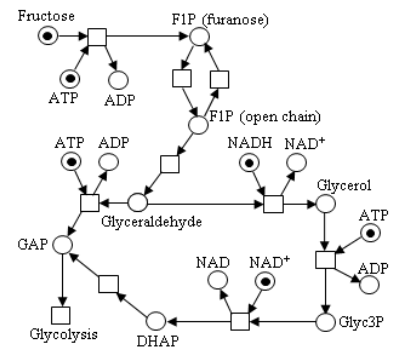
Hình 6(b). Các vị trí thể hiện zymogen và các enzym khác



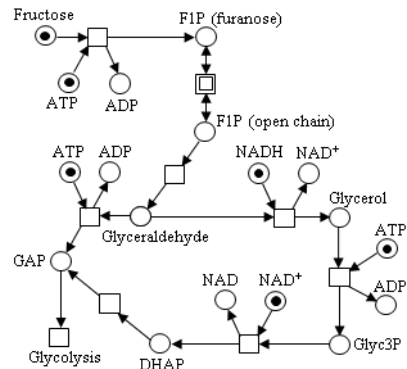
Hình 7. Trao đổi chất của Fructosa trong gan. Tất cả các phản ứng được xúc tác bởi các enzyme

Bằng cách tương tự, sử dụng các chuyển tiếp để thể hiện các phản ứng riêng hoặc loạt các phản ứng nối tiếp khi các hợp chất trung gian không cần phải là mối quan tâm. Các thẻ chỉ ra sự có mặt của hợp chất. Trọng số các cung thể hiện hệ số tỷ lệ của hợp chất trong các phản ứng, và hướng của cung dựa vào nhiệt động học của phản ứng.

Hình 7 là quá trình trao đổi chất của Fructosa trong gan (pp.454, Voet and Voet 1990) [4,5]. Tất cả các phản ứng được xúc tác bởi các enzym. Mô hình PN của quá trình này được thể hiện ở Hình 8 và mô hình PN rút gọn cho ở Hình 9. Để đơn giản hóa mô hình PN, có thể cho phép cùng một vị trí xuất hiện nhiều lần trong mô hình PN, ví dụ như ATP. Để mô phỏng, ta coi những xuất hiện của ATP thể hiện một vị trí trong PN.



Hình 8. Mô hình PN của quá trình trao đổi chất cho ở Hình 3.



Hình 9. Mô hình PN rút gọn từ mô hình PN cho ở Hình 8

Mô hình Petri Net thể hiện quá trình trao đổi chất với các đặc tính hành vi của Petri net [2-5], đó là:

Tính tích cực (**Liveness**): một đánh dấu được coi là tích cực (live marking) nếu bắt đầu từ đánh dấu ban đầu M_0 , và không quan trọng chuỗi kích hoạt các chuyển tiếp sẽ xảy ra như thế nào, có thể kích hoạt một chuyển tiếp bất kỳ nào cho trong chuỗi kích hoạt tiếp theo. Nếu đánh dấu M_0 là tích cực thì Petri Net sẽ không bao giờ bị khóa chết, và có thể kích hoạt bất kỳ chuyển tiếp nào nhờ tiếp tục thêm chuỗi kích hoạt. Đặc tính tích cực của đánh dấu chính là sự đảm bảo không có trạng thái bị khóa chết trong Petri Net. Đối với một quá trình trao đổi chất thì đặc tính tích cực của mô hình Petri Net là một điều kiện bắt buộc mà, trong bất kỳ trạng thái nào của quá trình biến đổi sinh học, tất cả các phản ứng riêng biệt đều có khả năng hoạt hóa. Nếu PN cho ở Hình 8 hay Hình 9 có đặc tính hành vi tích cực, thì một thẻ của từng ATP, NAD⁺, NADH, và Fructose là đủ để kích hoạt từng enzyme tác động ít nhất một lần.

Tính đạt được (**Reachability**): là cơ sở để nghiên cứu các đặc tính động của bất kỳ hệ thống nào. Tính đạt được là số các đánh dấu có thể đạt được nhờ một chuỗi kích hoạt liên tiếp các chuyển tiếp từ đánh dấu ban đầu M . Một đánh dấu M_n được gọi là đạt được từ một đánh dấu ban đầu M_0 nếu tồn tại một chuỗi các kích hoạt $\sigma = t_1 t_2 \dots t_n$ chuyển đánh dấu M_0 đến đánh dấu M_n . Một điều kiện cần thiết này là cần có sự tồn tại một nghiệm không âm cho đẳng thức (12). Điều kiện này là đủ nếu bổ sung yêu cầu sau đây. Tất cả các đánh dấu trong chuỗi kích hoạt từ đánh dấu M_0 đến đánh dấu M_n phải được phủ,

nghĩa là phải tồn tại một đánh dấu tối thiểu mà các chuyển tiếp trong chuỗi kích hoạt từ M_0 đến M_n được phép.

Tính đạt được của một đánh dấu từ một số đánh dấu khác, trong mô hình Petri Net của một quá trình trao đổi chất xác định khả năng hình thành một tập hợp xác định của các chất chuyển hóa của sản phẩm từ một tập hợp khác của các chất chuyển hóa của phản ứng, bằng một số chuỗi phản ứng được quyết định bởi (các) chuỗi kích hoạt của Petri Net. Điều kiện đủ có thể nhận biết như là sự cần thiết cho sự hiện diện của một số hợp chất thiết yếu, như các enzyme cho các phản ứng cụ thể. Trong mô hình PN của quá trình chuyển hóa Fructose, đường dẫn đến Glycolysis có thể vì có ít nhất một chuỗi kích hoạt từ Fructose đến GAP (Fructose, FIP, Glyceraldehyde, GAP, và cuối cùng là Glycolysis).

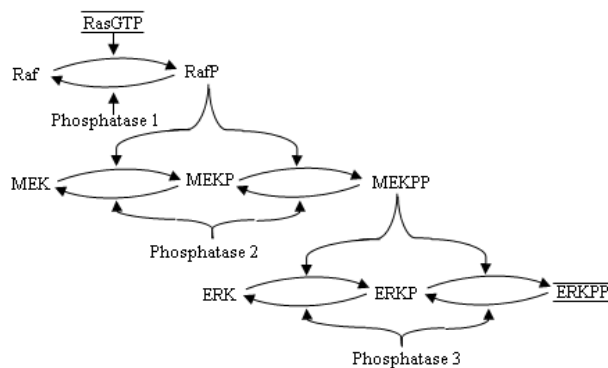
Tính thuận nghịch (**Reversibility**): một Petri Net được gọi là có tính thuận nghịch nếu đối với mọi đánh dấu M , đánh dấu ban đầu M_0 luôn đạt được từ M . Đánh dấu M' là đánh dấu quen thuộc (home state) nếu nó đạt từ tất cả đánh dấu khác trong tập hợp tất cả các kích hoạt có thể của Petri Net. Hầu hết các quá trình trao đổi chất không thể thuận nghịch theo nghĩa đen, do tính chất không thuận nghịch nhiệt động học của nhiều phản ứng. Tuy nhiên, một cặp quá trình trao đổi chất có tính thuận nghịch có thể được mô hình hóa và phân tích bởi Petri Net là hệ Glycolysis-Gluconeogenesis.

Tính công bằng (**Fairness**): có hai khái niệm về tính công bằng: công bằng hữu hạn và công bằng toàn cục (không điều kiện). Hai chuyển tiếp t_1 và t_2 trong Petri Net được gọi là trong một quan hệ công bằng hữu hạn (bounded-fair, B-fair) nếu số lần lớn nhất mà một trong hai

chuyển tiếp có thể kích hoạt là hữu hạn trong khi chuyển tiếp còn lại không kích hoạt. Một PN (N, M_0) được gọi là mạng công bằng nếu từng cặp chuyển tiếp trong mạng ở trong quan hệ công bằng B-fair. Chuỗi kích hoạt σ được gọi là công bằng toàn cục nếu nó hữu hạn hoặc từng chuyển tiếp trong mạng xuất hiện thường xuyên không giới hạn trong σ . Một Petri Net được gọi là mạng công bằng toàn cục nếu từng chuỗi kích hoạt σ từ đánh dấu M trong $R(M_0)$ là công bằng toàn cục. Quá trình trao đổi chất, mà có đặc tính của công bằng toàn cục, cho thấy sự tồn tại của một trạng thái hoạt hóa liên tục bắt đầu từ trạng thái ban đầu mà không có sự can thiệp từ bên ngoài. Điều này có thể dẫn đến sự hình thành của một số hợp chất với số lượng vô hạn. Mặc dù không hoàn toàn sáng tỏ, một đặc điểm quan trọng của quá trình đông máu (blood-coagulation pathway) là khả năng của quá trình được kích hoạt bởi một chấn thương mô tương đối nhỏ, mà nó dẫn đến một loạt các phản ứng gần như liên tục, dẫn đến liên kết chéo Fibrin tại vị trí tổn thương. Bằng trực giác, chúng ta có thể mong đợi rằng mô hình Petri Net của quá trình đông máu là công bằng trên toàn cục.

Hình 10 thể hiện quá trình báo hiệu Protein Kinase được kích hoạt bởi Mitogen MAPK/ERK (Mitogen-Activated Protein Kinase signaling pathway/Extracellular-signal-Regulated Kinase cũng được gọi là Ras-Raf-MEK-ERK pathway) [3,6,7,8]. Đây là chuỗi các protein trong tế bào truyền tín hiệu từ một phần tử nhận (receptor) trên bề mặt của tế bào đến DNA trong nhân của tế bào. Tín hiệu bắt đầu khi một phân tử báo hiệu (signaling molecule) gắn kết với phần tử nhận trên bề mặt của tế bào và kết thúc khi DNA ở trong nhân thể hiện một protein và gây ra thay đổi trong tế bào, như phân chia tế bào. Quá trình gồm có nhiều protein, gồm MAPK (nguyên gốc gọi là ERK) truyền thông tin bổ sung các nhóm phosphate vào protein láng giềng, mà nó hoạt động như là một chuyển mạch "on/off". Khi một trong các protein trong quá trình bị biến đổi, nó có thể bị mắc kẹt ở vị trí "on" hoặc "off", đó là bước cần thiết trong sự phát triển của nhiều bệnh ung thư. Các thành phần của quá trình MAPK/ERK đã được nghiên cứu và tìm thấy trong các tế bào ung thư. Các loại thuốc chữa trị ung thư chính là để đảo ngược mắc kẹt tại chuyển mạch "on" hay "off". Các quá trình báo hiệu MAPK có đặc tính chung:

Các tác nhân \rightarrow MAPKKK \rightarrow MAPKK \rightarrow MAPK \rightarrow Đáp ứng sinh học [3,6,8,9].



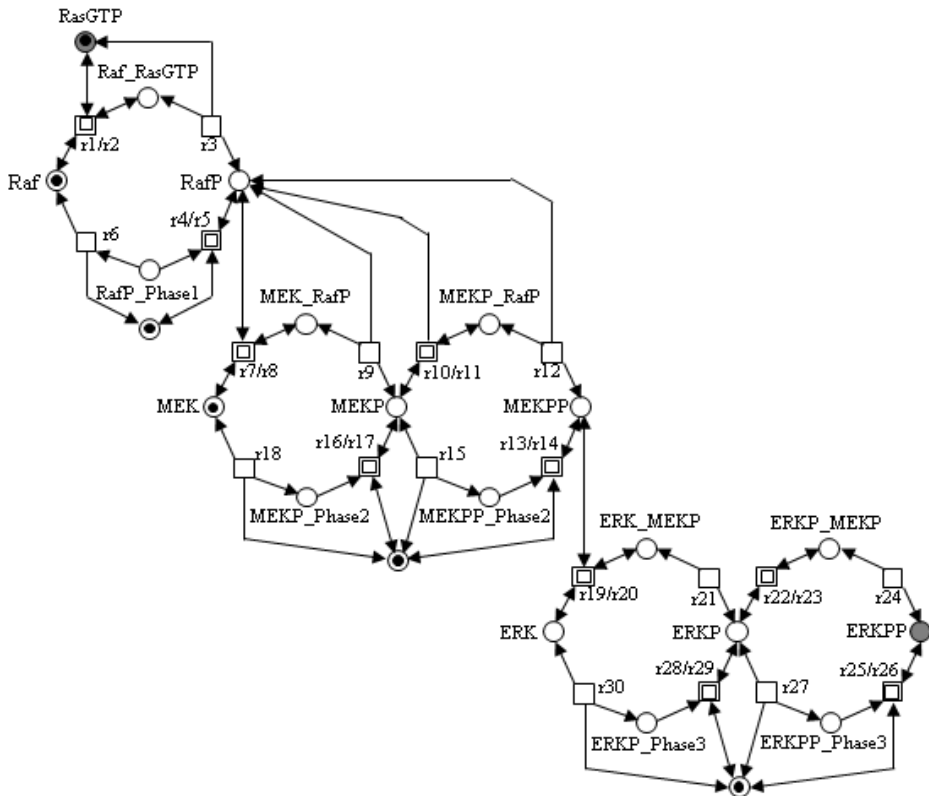
Hình 10. Quá trình MAPK

MPKKK là kinaza của MAPK và MAPKKK là kinaza của MAPKKK. Trong hầu hết các trường hợp MAPKKK được

tác động nhờ các protein G nhỏ như Ras, Rac và Rap1, tuy vậy, nó cũng có thể được tác động bởi các enzym khác. Hình 10 là

một quá trình báo hiệu MAPK chính của các protein Ras-GTP. Nó mô tả cấu trúc module đặc trưng cho cascade báo hiệu. Mỗi lớp tương ứng với các protein riêng biệt. Protein Raf ở lớp đầu tiên chỉ là một kết hợp photpho. Các protein trong hai lớp MEK và ERK tương ứng, có thể kết hợp photpho đơn hoặc kép. Trong từng lớp, các phản ứng chuyên tiếp được xúc tác nhờ các kinaza và các phản ứng thuận nghịch nhờ các phosphatase (phosphatase 1, phosphatase 2, phosphatase 3). Các kinaza

trong các lớp MEK và ERK là các dạng kết hợp phospho của các protein trong lớp trước. Từng bước kết hợp phospho/tách phospho áp dụng các động học khối lượng tương ứng với mẫu: $A + E \leftrightarrow AE \rightarrow B + E$. Thành phần đầu tiên của quá trình MAPK là tín hiệu vào Ras-GTP ứng với vị trí vào luôn được phép kích hoạt, và ERKPP là tín hiệu ra ứng với vị trí được tô đậm. Quá trình này được mô hình bởi PN cho ở Hình 11 [3,6].



Hình 11. Mô hình PN của quá trình tín hiệu của MARK cho ở Hình 10.

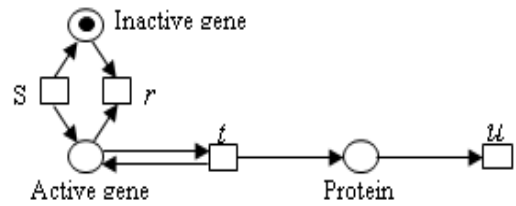
3. Mô hình TPN cho một số quá trình hoá học

Các mạng phản ứng sinh hóa thường được biểu diễn bằng các phương trình vi phân thông thường ODE (ordinary differential equations) hoặc các phương trình tốc độ phản ứng RRE (reaction rate equations), và cả hai có thể chuyển đổi sang nhau. Các RRE có thể chuyển đổi sang PN có thời gian liên tục (CTPN) hoặc

stochastic (STPN hay SPN) [2,3,10,11]. Sự chuyển đổi này cho phép tính các quá trình thời gian phản ứng tối thiểu và tối đa (nếu tồn tại) giữa hai tình huống của hệ thống, nghĩa là, hai trạng thái của mô hình TPN của phản ứng sinh hóa.

Goss và Peccoud đã sử dụng SPN [11] như là công cụ mô hình sinh học của các mô hình stochastic. Họ cho rằng quá trình stochastic trong biểu diễn SPN tương ứng

với dạng thức hóa học chính gốc (chemical master equation). Họ sử dụng các công cụ mô phỏng UltraSAN chuẩn để mô hình hiệu năng và mô phỏng các mô hình. Trong SPN, tốc độ chuyển tiếp là hằng số tốc độ stochastic. Tốc độ của phản ứng hóa học sẽ là hằng số tốc độ stochastic $C \times m(Product)$, trong đó, m là đánh dấu hiện thời. Như vậy, các tốc độ phụ thuộc đánh dấu được sử dụng trong SPN khi chúng được sử dụng cho các phản ứng sinh hóa. Goss và Peccoud đưa ra ví dụ tổng hợp protein như sau:



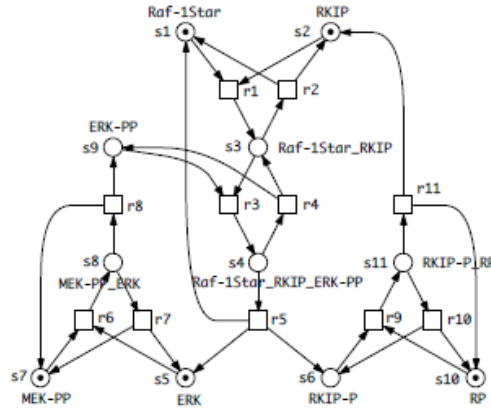
Hình 12. SPN của tổng hợp protein

- Một gen được thể hiện ban đầu không tích cực, nhưng có thể sau đó sẽ tích cực.
- Khi gen được tích cực thì protein có thể tạo ra.
- Một khi protein được tạo ra nó có thể suy biến.

Như vậy, có một SPN như cho ở Hình 12. Với SPN này, cần có phân tích cấu trúc, phân tích số, và mô phỏng. Tuy nhiên, không gian trạng thái của SPN này lại rất lớn nếu có nhiều protein, nên phân tích số là không khả dụng. Để giới hạn, Goss và Peccoud hạn chế số lượng protein = 100, gán thời gian cho chuyển tiếp t , tính các số đo quan tâm-số lượng các phân tử protein cho các trường hợp phân tích trạng thái bền vững (Steady state analysis), và trạng thái tức thời (transient analysis), như được trình bày tại Bảng 2 dưới đây:

Bảng 2. Số lượng các phân tử protein trong mô hình SPN cho ở Hình 12

	Mean	Variance
Transient analysis (time t = 10)		
Symbolic solution	1.488	1.858
Numerical solution	1.488	1.858
Simulation	1.481 ± 0.004	1.852 ± 0.011
Transient analysis (time t = 100)		
Symbolic solution	7.202	8.334
Numerical solution	7.202	8.334
Simulation	7.171 ± 0.009	8.315 ± 0.039
Steady state analysis		
Symbolic solution	8.333	9.487
Numerical solution	8.333	9.487
Simulation	8.333 ± 0.031	9.487 ± 0.100



Hình 13. PN cho mô hình lồi của quá trình RKIP

Xét PN cho mô hình lồi của quá trình RKIP (Raf-1 Kinase Inhibitor Protein Pathway) cho ở Hình 8 [12]. Mô hình này có 11 vị trí và 11 chuyển tiếp. Các vị trí s_1, \dots, s_{11} thể hiện các protein hoặc các tổng hợp protein. Các tổng hợp được biểu thị bằng dấu $_$ giữa các tên protein, và kết hợp phospho nhờ dấu $-P$ hoặc $-PP$ đặt ở đầu tên. Các chuyển tiếp r_1, \dots, r_{11} thể hiện các phản ứng. Bổ sung các tốc độ phản ứng cho tất cả các chuyển tiếp của mô hình PN, ta có được SPN. Trong PN của đường dẫn RKIP, hàm tốc độ của từng chuyển tiếp và các hằng số tốc độ được cho ở Bảng 3, và các hàm tốc độ của từng vị trí s_1, \dots, s_{11} tương ứng các chất được hỗ trợ bởi nồng độ trung bình của các chất trong trạng thái bền vững của PN được cho ở

Bảng 3. Các tốc độ cho các chuyển tiếp của PN RKIP

Transition	Rate	Rate
r_1	$c1_{s1_s2}$	0.053
r_2	$c2_{s3}$	0.0072
r_3	$c3_{s3_s9}$	0.625
r_4	$c4_{s4}$	0.00245
r_5	$c5_{s4}$	0.0315
r_6	$c6_{s5_s7}$	0.8
r_7	$c7_{s8}$	0.0075
r_8	$c8_{s8}$	0.071
r_9	$c9_{s6_s10}$	0.92
r_{10}	$c10_{s11}$	0.00122
r_{11}	$c11_{s11}$	0.87

Bảng 4. Các tốc độ cho các vị trí của PN RKIP

Các chất	Các vị trí s_i	Concentration
Raf-1*	s_1	0.2133
RKIP	s_2	0.1727
Raf-1*_RKIP	s_3	0.2163
Raf-1*_RKIP_ERK-	s_4	0.5704
ERK	s_5	0.0332
RKIP-P	s_6	0.0200
MEK-PP	s_7	0.7469
MEK-PP_ERK	s_8	0.2531
ERK-PP	s_9	0.1433
RP	s_{10}	0.9793
RKIP-P_RP	s_{11}	0.0207

Bây giờ có thể tính được các tốc độ v_1, \dots, v_{11} của các chuyển tiếp trong trạng thái bền vững nhờ sử dụng các hàm tốc độ của chúng cho ở Bảng 3 và các dữ liệu từ cả Bảng 3 và 4. Sau đó, thời gian trễ kích hoạt τ_i cho từng chuyển tiếp r_i nhận được do tương tác tốc độ trong trạng thái bền vững. Kết quả cho ở Bảng 5.

Tài liệu tham khảo

- [1]. Peterson, James Lyle (1981), *Petri Net Theory and the Modeling of Systems*. Prentice Hall. ISBN 0-13-661983-5.
- [2]. TS Hồ Khánh Lâm, *Mạng Petri Lý thuyết và ứng dụng*. Sách NXB KHKT, 2015.
- [3]. Hồ Khánh Lâm, Trần Trung, *Mạng Petri: Nguyên lý cơ bản, Ứng dụng trong hóa học công nghiệp, hóa sinh*. NXB GD VN, 8/2013.
- [4]. Venkatramana N. Reddy, and other (1992), “*Petri Net Representations in Metabolic Pathways*.”
- [5]. Michael Liebman, “*Petri Net representations in metabolic pathways*”. International Conference on Intelligent Systems for Molecular Biology; ISMB. International Conference on Intelligent Systems for Molecular Biology · February 1993.
- [6]. Monika Heiner, David Gilbert, Robin Donaldson (2008), “*Petri Nets for Systems and Synthetic Biology*.”
- [7]. D. Angeli, P. De Leenheer, and E. Sontag (2007), “*A Petri net approach to persistence analysis in chemical reaction networks*,” in I. Queinnec, S. Tarbouriech, G. Garcia, and S-I. Niculescu (eds), *Biology and Control Theory: Current Challenges* (Lecture Notes in Control and Information Sciences Volume 357), Springer-Verlag, Berlin, pp.181-216.
- [8]. Pongali Raghavendra, Thammineni Pullaiah, *Cellular and Molecular Diagnostics*. <https://www.sciencedirect.com/topics/neuroscience/mapk-erk-pathway>
- [9]. Marie Cargnello and Philippe P. Roux, *Activation and Function of the MAPKs and Their Substrates, the MAPK-Activated Protein Kinases*. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2011 Mar; 75(1): 50–83. doi: 10.1128/MMBR.00031-10.
- [10]. L. Popova-Zeugmann, Monika Heiner, Ina Koch (2005), *Time Petri Nets for Modelling and Analysis of Biochemical Networks*.
- [11]. Peter J. E. Goss, Jean Peccoud, *Quantitative modeling of stochastic system in molecular biology by using stochastic Petri nets*. Communicated by Herman Chernoff, Harvard University, Cambridge, MA, January 20, 1998 (received for review November 20, 1997).
- [12]. Ina Kock, Monika Heiner (2004), *Qualitative modeling and analysis of biochemical pathways*.
- [13]. Paolo Baldan, Nicoletta Cocco, Andrea Marin, Marta Simeoni, *Petri nets for modelling metabolic pathways: a survey*. <https://link.springer.com/article/10.1007/s11047-010-9180-6>