

Задача оптимального керування стадією відпалу полімеразно-ланцюгової реакції

В. П. Марценюк, А. С. Сверстюк, О. М. Кучвара

Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського, Україна

Резюме

Вступ. Для мінімізації часу проведення полімеразно-ланцюгової реакції необхідно дослідити математичну модель стадії елонгації, щодо керованості.

Постановка задачі. Методологія. Для ефективного використання методів полімеразно-ланцюгової реакції, доцільно провести дослідження керованості стадії відпалу. Таким чином задача математичного моделювання і відповідних розрахунків полягає в оцінюванні мінімально необхідного часу реалізації досліджуваної стадії, що в загальному випадку забезпечить досягнення мінімального часу проведення полімеразно-ланцюгової реакції.

Мета роботи. Дослідження керованості стадією відпалу полімеразно-ланцюгової реакції.

Результати дослідження. Застосовано загальну методологію керування для отримання розв'язку задачі оптимального перебігу стадії відпалу у полімеразно-ланцюговій реакції.

У досліджуваній моделі використано рівняння Арреніуса, яке враховує залежність швидкості реакції від абсолютної температури. Дана залежність може бути використана при дослідженні стадії відпалу полімеразно-ланцюгової реакції, оскільки керуючим впливом при цьому є саме температура. Застосовано принцип максимума Понтрягина до задачі оптимального керування стадії відпалу та сформульовано необхідну умову оптимальності.

Висновок. Отримані результати необхідні для чисельного обчислення оптимального керування досліджуваної стадії та допоможуть мінімізувати необхідний час реалізації стадії відпалу.

Ключові слова: полімеразна ланцюгова реакція; стадія відпалу; оптимальне керування; принцип максимума Понтрягина.

Клин. информат. и Телемед. 2015. Т.11. Вып.12. с.26–30

1. Вступ

Відомо, що полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР або PCR) — експериментальний метод молекулярної біології, спосіб значного збільшення малих концентрацій бажаних фрагментів дезоксирибонуклеїнової кислоти (ДНК) в біологічному матеріалі (пробі). Крім простого збільшення числа копій ДНК (цей процес називається ампліфікацією), ПЛР дозволяє проводити безліч інших маніпуляцій з генетичним матеріалом (введення мутацій, зрощення фрагментів ДНК), і широко використовується в біологічній і медичній практиці, наприклад для клонування генів, введення мутацій, виділення нових генів, секвенування, для створення і визначення генетично модифікованих організмів, діагностики захворювань (спадкових, інфекційних), ідентифікації малих кількостей ДНК, встановлення батьківства [1].

2. Постановка задачі

Реакція ПЛР базується на багаточисленному копіюванні (селективній ампліфікації) досліджуваної ДНК ферментом ДНК-полімеразою. Утворені копії ДНК ідентифікують за допомогою методу електрофорезу.

При проведенні ПЛР виконується 20-35 циклів [1], кожен з яких складається з трьох стадій (рис. 1 (а, б, в)).

Дволанцюгову ДНК-матрицю нагрівають до 94–96 °С (або до 98 °С, якщо використовується особливо термостабільна полімераза) на 0,5–10 хв., щоб ланцюги ДНК розділилися. Ця ста-

дія називається денатурацією — руйнуються водневі зв'язки між двома ланцюгами (рис. 1 (а)). Іноді перед першим циклом проводять попереднє прогрівання реакційної суміші протягом 2–5 хв. для повної денатурації матриці і праймерів.

Коли ланцюги розійшлися, температуру знижують, щоби праймери могли зв'язатися з одноланцюговою матрицею (рис. 1 (б)). Ця стадія називається відпалом (англ. annealing). Температура відпалу залежить від праймерів і зазвичай вибирається на 4–5 °С нижче за їх температуру плавлення. Час стадії — 0,5–2 хв.

ДНК-полімераза реплікує матричний ланцюжок, використовуючи праймер як затравку. Це так звана стадія елонгації (рис. 1 (в)). Температура елонгації залежить від полімерази. Полімерази Taq і Pfu, що найчастіше використовуються, найактивніші за 72 °С. Час елонгації залежить як від типу ДНК-полімерази, так і від довжини фрагмента, який ампліфікують. Середня швидкість елонгації — 1000 пар основ за 1 хв. Після закінчення всіх циклів часто проводять додаткову стадію фінальної елонгації, щоб добувати всі одноланцюжкові фрагменти. Ця стадія триває 10–15 хв.

Для ефективного проведення ПЛР необхідно забезпечити багатостадійний циклічний режим зміни температури. Кожна стадія циклу (денатурація, відпал, елонгація) повинна відбуватися при певних температурах та на протязі відповідного часу. В іншому випадку необхідних перетворень молекул ДНК може не відбутися. Таким чином задача математичного моделювання і відповідних розрахунків полягає в оцінюванні мінімально необхідного часу реалізації кожної стадії циклу, що в загальному випадку забезпечить досягнення мінімального часу проведення ПЛР.

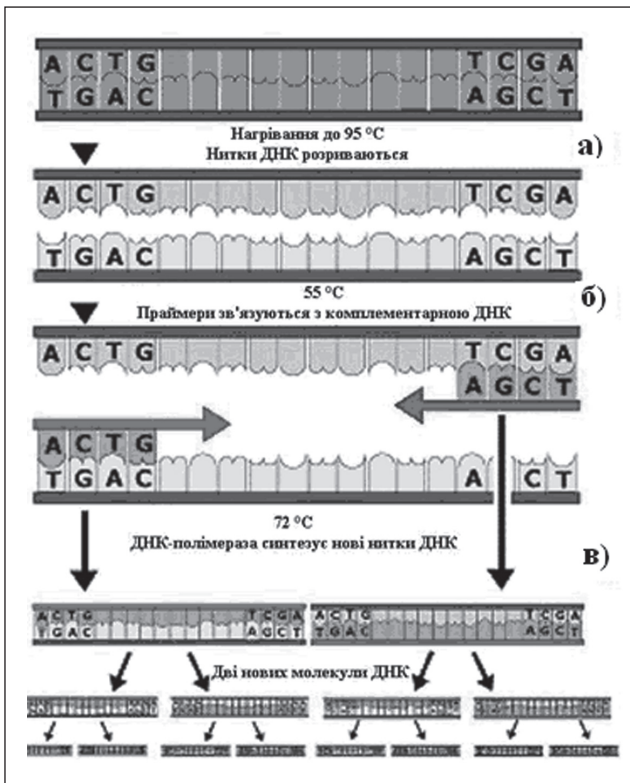


Рис. 1. Схема полімеразно-ланцюгової реакції: а) денатурація; б) відпал; с) елонгація. Основи, що входять до складу нуклеотидів: аденін [A] і гуанін [G], цитозин [C] і тимін [T].

У багатьох роботах [2–5] наведені різні моделі ПЛР, однак для ефективнішого використання методів ПЛР, доцільно провести дослідження керування даних моделей.

Метою даної роботи є дослідження керування стадією відпалу ПЛР за допомогою температури, яка запропонована в роботі [5].

3. Результати дослідження

3.1. Теоретичні основи оптимального керування в ПЛР

У задачах оптимального керування ПЛР за допомогою температури варто розглядати таку множину керувань:

$$U = \{u(t) : a \leq u(t) \leq b, \quad t_1 \leq t \leq t_2, \quad u(t) - \text{вимірний}\}.$$

Тут $a, b, t_1, t_2 > 0$.

Припускається, що стан системи $x(t) \in R^n$ при заданому керуванні $u \in U$ визначається системою звичайних диференціальних рівнянь:

$$\begin{aligned} \frac{dx(t)}{dt} &= f(t, x, u), \\ x(t_0) &= x_0 \end{aligned} \quad (1)$$

де $f: R \times R^n \times R \rightarrow R^n$ є неперервною і має неперервні перші частинні похідні відносно x та u . Оскільки припускається, що $u(t)$ є вимірною та обмеженою, то права частина системи (1) є неперервною відносно x і лише вимірною відносно t для фіксо-

ваного x . Отже, розв'язки (1) є абсолютно неперервними функціями, що задовольняють (1) майже скрізь. При таких умовах існування розв'язку (1) $x(t, u)$ доведено в роботах [6, 7].

Задача оптимального керування містить критерій якості $J[u]$ вигляду:

$$J[u] = \int_{t_1}^{t_2} L(t, x, u) dt + \phi(x(t_2)),$$

де L – задана дійснозначна функція і ϕ – неперервнодиференційовна дійснозначна функція. Метою є знаходження керування $u^* \in U$, такого що

$$J[u^*] = \inf_{u \in U} J[u]. \quad (2)$$

Після того, як описано модель та визначено критерій якості в теорії оптимального керування ставлять ряд задач [8]:

- доведення існування оптимального керування;
- опис побудови оптимального керування;
- доведення єдиності оптимального керування;
- чисельне обчислення оптимального керування;
- дослідження залежності оптимального керування від параметрів моделі.

Достатні умови існування оптимального керування для задач (1)–(2) без термінальної складової в критерії якості наведено в роботах [8, 9].

Теорема 1. Розглядається задача оптимального керування (1)–(2) на фіксованому інтервалі $[t_1, t_2]$. Припустимо, що:

- 1) існує стала $M > 0$ така, що $\|x(t, u)\| \leq M$ для всіх $u \in U$ та $t_1 \leq t \leq t_2$;
- 2) L є напівнеперервною знизу;
- 3) множина $D^+ = \{(y^0, y) : \exists v \in U, y = f(t, x, v), y^0 \geq L(t, x, v)\}$ є опуклою для $(t, x) \in [t_1, t_2] \times \{x \mid \|x\| \leq M\}$.

Тоді існує оптимальне керування $u^* \in U$.

Опис побудови оптимального керування для задач (1)–(2) дає принцип максимуму Понтрягіна з термінальною складовою [10, 11].

Теорема 2. Нехай $u^* \in U$ – оптимальне керування в задачі (1)–(2). Тоді існує спряжена функція $\lambda: R \rightarrow R^n$ така, що $x(t, u^*)$, u^* , λ задовольняють систему:

$$\begin{aligned} \frac{dx(t)}{dt} &= f(t, x, u^*), \\ x(t_1) &= x_1 \end{aligned} \quad (3)$$

та спряжену систему:

$$\begin{aligned} \frac{d\lambda(t)}{dt} &= -\frac{\partial H}{\partial x} = -L_x(t, x, u^*) - \lambda^T f_x(t, x, u^*), \\ \lambda(t_2) &= \phi'(x(t_2)), \quad \text{умова трансвертальності} \end{aligned} \quad (4)$$

де функція Гамільтона–Понтрягіна H задається як:

$$H(t, x, u) = L(t, x, u) + \lambda^T f(t, x, u). \quad (5)$$

3.2. Задача оптимального керування стадією відпалу в ПЛР

Розглядається модель ПЛР стадії відпалу, яка запропонована в роботі [5]:

$$\frac{ds}{dt} = -k_1 s p \quad (6)$$

$$\frac{dp}{dt} = -k_1 sp \quad (7)$$

$$\frac{ds'}{dt} = +k_1 sp \quad (8)$$

У формулах (6–8): s – одноланцюгова ДНК, p – молекула праймер, s' – одноланцюгова ДНК зв'язана з праймером, k_1 – зворотня швидкість реакції для відпалу.

При проведенні фази відпалу ПЛР керуючим впливом є температура [3, 4]. Залежність швидкості реакції k від абсолютної температури T описується рівнянням Арреніуса [12]:

$$k = Ae^{-E_a/RT}, \quad (9)$$

де A характеризує частоту зіткнень молекул, R – універсальна газова стала, E_a – енергія активації.

Виходячи з рівняння Арреніуса (9) система диференціальних рівнянь для стадії відпалу (6)–(8) може бути уточнена таким чином:

$$\frac{ds}{dt} = -k_1 e^{-\frac{r}{T}} sp \quad (10)$$

$$\frac{dp}{dt} = -k_1 e^{-\frac{r}{T}} sp \quad (11)$$

$$\frac{ds'}{dt} = +k_1 e^{-\frac{r}{T}} sp \quad (12)$$

з відповідними початковими умовами:

$$s(t_1) = s_0, p(t_1) = p_0, s'(t_1) = s_0. \quad (13)$$

У системі диференціальних рівнянь (10–12) $r = \frac{E_a}{R}$ – стала.

Вважаємо, що $T = T(t)$ – функція керування.

Припускаємо, що $T(t) \in [T_e^{\min}, T_e^{\max}]$.

Для стадії відпалу метою є отримати якнайбільше одноланцюгових ДНК, які зв'язані з праймером s' , при цьому витративши якнайменше праймеру p , тобто:

$$J(s, p, s') = \int_{t_1}^{t_2} (s'^2(t) - Wp^2(t)) dt \rightarrow \inf_{T \in U}$$

Тут W – ваговий коефіцієнт, U – множина кусково-неперервних функцій $T(t) \in [T_e^{\min}, T_e^{\max}]$.

Біологічно значимою областю є:

$$\Omega_1 = (s, p, s') \in R_+^3 \quad (14)$$

що накладає фазові обмеження:

$$s \geq 0, p \geq 0, s' \geq 0, \quad (15)$$

Отже, метою є визначення оптимального керування $T^* \in U$, що задовольняє:

$$J[T^*] = \inf_{T \in U} J[T]. \quad (16)$$

На основі Теорема 1 ми бачимо, що оптимальне керування в задачі (10)–(16) існує, оскільки підінтегральний вираз в критерії якості є опуклою функцією, а траєкторія системи належить простору L^∞ .

Застосуємо Теорему 2 для отримання необхідних умов оптимальності. Функція Гамільтона–Понтрягіна має вигляд:

$$H = s'^2 - Wp^2 + \lambda_1(-k_1 e^{-\frac{r}{T}} sp) + \lambda_2(-k_1 e^{-\frac{r}{T}} sp) + \lambda_3(+k_1 e^{-\frac{r}{T}} sp) \quad (17)$$

Отже, з Теорема 2 маємо спряжену систему:

$$\frac{d\lambda_1}{dt} = -\frac{\partial H}{\partial s} = k_1 e^{-\frac{r}{T}} p(\lambda_1 + \lambda_2 - \lambda_3),$$

$$\frac{d\lambda_2}{dt} = -\frac{\partial H}{\partial p} = 2Wp + k_1 e^{-\frac{r}{T}} s(\lambda_1 + \lambda_2 - \lambda_3), \quad (18)$$

$$\frac{d\lambda_3}{dt} = -\frac{\partial H}{\partial s'} = -2s'.$$

Позначимо:

$$\Phi(t) = \lambda_1(-k_1 e^{-\frac{r}{T}} sp) + \lambda_2(-k_1 e^{-\frac{r}{T}} sp) + \lambda_3(+k_1 e^{-\frac{r}{T}} sp) \quad (19)$$

Враховуючи (19) функцію Гамільтона–Понтрягіна (17) запишемо у вигляді:

$$H = d^2 - Wq^2 + e^{-\frac{r}{T}} [\Phi(t)]. \quad (20)$$

Звідси бачимо, що максимальні значення H будуть досягатися при $T = T^*(t)$, де:

$$T^*(t) = \begin{cases} T_e^{\min}, & \text{якщо } \Phi(t) > 0 \\ T_e^{\max}, & \text{якщо } \Phi(t) < 0 \\ \text{будь-яке з } [T_e^{\min}, T_e^{\max}], & \text{якщо } \Phi(t) = 0 \end{cases} \quad (21)$$

Отже, оптимальні траєкторія (s^*, p^*, s'^*) на керування T^* можуть бути побудовані в результаті розв'язку крайової задачі:

$$\begin{aligned} \frac{ds}{dt} &= -k_1 e^{-\frac{r}{T}} sp \\ \frac{dp}{dt} &= -k_1 e^{-\frac{r}{T}} sp \\ \frac{ds'}{dt} &= +k_1 e^{-\frac{r}{T}} sp \\ \frac{d\lambda_1}{dt} &= -\frac{\partial H}{\partial s} = k_1 e^{-\frac{r}{T}} p(\lambda_1 + \lambda_2 - \lambda_3), \\ \frac{d\lambda_2}{dt} &= -\frac{\partial H}{\partial p} = 2Wp + k_1 e^{-\frac{r}{T}} s(\lambda_1 + \lambda_2 - \lambda_3), \\ \frac{d\lambda_3}{dt} &= -\frac{\partial H}{\partial s'} = -2s'. \end{aligned} \quad (22)$$

З крайовими умовами:

$$s(t_1) = s_0, p(t_1) = p_0, s'(t_1) = s'_0; \lambda_1(t_2) = 0, \lambda_2(t_2) = 0, \lambda_3(t_2) = 0.$$

$$T^* = (s^*, p^*, s'^*, \lambda_1^*, \lambda_2^*, \lambda_3^*)$$

з крайовими умовами:

$$T^{**} = (s^{**}, p^{**}, s'^{**}, \lambda_1^{**}, \lambda_2^{**}, \lambda_3^{**}).$$

Теорема 3. Для досить малого значення t_2 розв'язок системи (22) є єдиним.

Доведення. Припустимо навпаки, що існують два розв'язки (22), а саме:

$$T^* = (s^*, p^*, s'^*, \lambda_1^*, \lambda_2^*, \lambda_3^*)$$

$$T^{**} = (s^{**}, p^{**}, s'^{**}, \lambda_1^{**}, \lambda_2^{**}, \lambda_3^{**}).$$

Праві частини системи (22) є Ліпшицевими функціями аргументів $s, q, s', \lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$. Звідси існує стала $C > 0$ така, що:

$$\|T'(t) - T''(t)\| \leq \int_{t_1}^{t_2} C (\|T'(s) - T''(s)\|) ds. \quad (23)$$

Застосовуючи до (23) теорему про середнє значення, маємо, що існує момент часу $\xi: t_1 \leq \xi \leq t_2$ такий, що:

$$\|T'(t) - T''(t)\| \leq t_2 C (\|T'(\xi) - T''(\xi)\|).$$

при всіх $t \in [t_1, t_2]$. Якщо ж виберемо t_2 таким, що $t_2 < \frac{1}{C}$, то отримуємо суперечність.

4. Висновок

Сформульовано задачу оптимального керування протікання стадії відпалу у ПЛР. Застосовано принцип максимума Понтрягіна до задачі оптимального керування та сформульовано необхідну умову оптимальності. Отримані результати необхідні для чисельного обчислення оптимального керування досліджуваної стадії, а також допоможуть мінімізувати необхідний час реалізації стадії відпалу, що в загальному випадку забезпечить досягнення мінімального часу проведення ПЛР.

У подальших дослідженнях потрібно дослідити, щодо керованості інші стадії ПЛР та провести відповідне чисельне обчислення оптимального керування.

Дослідження проводилися з дотриманням національних норм біоетики та положень Гельсінської декларації (у редакції 2013 р.). Автори статті – В. П. Марценюк, А. С. Сверстюк – підтверджують, що у них відсутній конфлікт інтересів.

Література

1. Путинцева Г. Й. Медична генетика: підручник. К., 2008, 392 с.
2. Aach J., Church G. M. Mathematical models of diffusion-constrained polymerase chain reactions: basis of high-throughput nucleic acid assays and simple self-organizing systems. *J. of Theoretical Biology*, 2004, vol. 228, pp. 31–46.
3. Pfaffl M. W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Oxford Journals Science & Mathematics Nucleic Acids Research*, vol. 29, no. 900, pp. 45–51.
4. Xiangchun X., Sinton D., Dongqing L. Thermal end effects on electroosmotic flow in capillary. *Int. J. of Heat and Mass transfer*, 2004, vol. 47, iss. 14–16, pp. 3145–3157.
5. Stone E., Goldes J., Garlick M. A multi-stage model for quantitative PCR. *Mathematical biosciences and engineering*, 2000, vol. 00, no. 0, pp. 1–17.
6. Lukes D. L. *Differential Equations: Classical to Controlled*. Academic Press, New York, 1982, vol. 162, 322 p.
7. Piccinini L. C., Stampacchia G., Vidossich G. Ordinary Differential Equations. In *Rn. Problems and Methods Ordinary*. Springer-Verlag Publ., Berlin-Heidelberg-New York-Tokyo, 1984, vol. XII, 385 p.
8. Macki J., Strauss A. *Introduction to Optimal Control Theory*. Springer-Verlag Publ., New York, 1982, vol. XIV, 168 p.
9. Fleming W. H., Rishel R. W. *Deterministic and Stochastic Optimal Control*. Springer Verlag Publ., New York, 1975, vol. XIII, 222 p.
10. Kamien M. I., Schwartz N. L. *Dynamic Optimization*. North-Holland Publ., Amsterdam, 1991, vol. 3, 272 p.
11. Понтрягин Л. С., Болтянский В. Г., Гамкрелидзе Р. В., Мищенко Е. Ф. Математическая теория оптимальных процессов. М., 1983, 393 с.
12. Kelly K., Kostin M. Non-Arrhenius rate constants involving diffusion and reaction. *J. of Chemical Physics*, 1986, vol. 85, iss. 12, pp. 7318–7335.

Задача оптимального управления стадией отжига полимеразной цепной реакции

В. П. Марценюк, А. С. Сверстюк, А. М. Кучвара

Тернопольский государственный медицинский университет им. И. Я. Горбачевского, Украина

Резюме

Введение. Для минимизации времени проведения полимеразной цепной реакции необходимо исследовать математическую модель стадии элонгации, по управляемости.

Постановка задачи. Методология. Для эффективного использования методов полимеразной цепной реакции, целесообразно провести исследования управляемости стадии отжига. Таким образом, задача математического моделирования и соответствующих расчетов заключается в оценке минимально необходимого времени реализации исследуемой стадии, что в общем случае обеспечит достижение минимального времени проведения полимеразной цепной реакции.

Цель работы. Исследование управляемости стадией отжига полимеразной цепной реакции.

Результаты исследования. Применено общую методологию управления для получения решения задачи оптимального течения стадии отжига полимеразно-цепной реакции.

В исследуемой модели использовано уравнение Аррениуса, которое учитывает зависимость скорости реакции от абсолютной температуры. Данная зависимость может быть использована при исследовании стадии отжига полимеразной цепной реакции, поскольку управляющим воздействием при этом является именно температура. Применен принцип максимума Понтрягина к задаче оптимального управления стадией отжига и сформулированы необходимые условия оптимальности.

Заключение. Полученные результаты необходимы для численного вычисления оптимального управления исследуемой стадией и помогут минимизировать необходимое время реализации стадии отжига.

Ключевые слова: полимеразно-цепная реакция; стадия отжига; оптимальное управление; принцип максимума Понтрягина.

Exercise of optimal control of annealing stage of polymerase chain reaction

V. P. Martsenyuk, A. S. Sverstyuk, O. M. Kuchvara

I. Ya. Horbachevsky Ternopil State Medical University, Ukraine

e-mail: sverstyuk@ukr.net

Abstract

Introduction. It is necessary to study the mathematical model of the elongation stage regarding handling to minimize the time of the polymerase chain reaction.

Formulation of the problem. Methodology. In order to use the methods of the polymerase chain reaction, it is necessary to study the annealing stage handling. Thus the problem of mathematical modeling and corresponding calculations is to assess the minimum time required for implementation of the study phase. In general it provides the minimum of polymerase chain reaction time.

The object is to study the annealing stage handling of the polymerase chain reaction.

Study results. General methodology of handling is applied to get the problem solution of optimal flow by the annealing stage of the polymerase chain reaction.

In the studied model Arrhenius equation is used, which takes into account the dependence of reaction rate on the absolute temperature. This dependence can be used to study the annealing stage of the polymerase chain reaction, because temperature has the control action. Pontryagin maximum principle is applied to the problem of the optimal handling of the annealing stage and the necessary condition of the optimality is formulated.

Conclusion. The results are needed for the numerical calculation of optimal control of the studied stage and help minimize the time required for the implementation of the annealing stage.

Key words: Polymerase chain reaction; Annealing stage; Optimal control; Pontryagin's maximum principle.

©2015 Institute Medical Informatics and Telemedicine Ltd, ©2015 Ukrainian Association of Computer Medicine. Published by Institute of Medical Informatics and Telemedicine Ltd. All rights reserved.

ISSN 1812-7231 *Klin.inform.telemed.* Volume 11, Issue 12, 2015, Pages 26–30

<http://uacm.kharkov.ua/eng/index.shtml?e-klininfo-ujournal.htm>

References (12)

References

- Putintseva G. Y. *Medychna henetyka: pidruchnyk* [Medical genetics: a textbook]. K., 2008, 392 p. (In Ukr.).
- Aach J., Church G. M. Mathematical models of diffusion-constrained polymerase chainreactions: basis of high-throughput nucleic acid assays and simple self-organizing systems. *J. of Theoretical Biology*, 2004, vol. 228, pp. 31–46.
- Pfaffl M. W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Oxford Journals Science & Mathematics Nucleic Acids Research*, vol. 29, no. 900, pp. 45–51.
- Xiangchun X., Sinton D., Dongqing L. Thermal end effects on electroosmotic flow in capillary. *Int. J. of Heat and Mass transfer*, 2004, vol. 47, iss. 14–16, pp. 3145–3157.
- Stone E., Goldes J., Garlick M. A multi-stage model for quantitative PCR. *Mathematical biosciences and engineering*, 2000, vol. 00, no. 0, pp. 1–17.
- Lukes D. L. *Differential Equations: Classical to Controlled*. Academic Press, New York, 1982, vol. 162, 322 p.
- Piccinini L. C., Stampacchia G., Vidossich G. *Ordinary Differential Equations. In Rn. Problems and Methods Ordinary*. Springer-Verlag Publ., Berlin-Heidelberg-New York-Tokyo, 1984, vol. XII, 385 p.
- Macki J., Strauss A. *Introduction to Optimal Control Theory*. Springer-Verlag Publ., New York, 1982, vol. XIV, 168 p.
- Fleming W. H., Rishel R. W. *Deterministic and Stochastic Optimal Control*. Springer Verlag Publ., New York, 1975, vol. XIII, 222 p.
- Kamien M. I., Schwartz N. L. *Dynamic Optimization*. North-Holland Publ., Amsterdam, 1991, vol. 3, 272 p.
- Pontryagin L. S., Boltyanskiy V. G., Gamkrelidze R. V., Mischenko E. F. *Matematycheskaya teoriya optimalnyh*

protssesov [The mathematical theory of optimal processes]. M., 1983, 393 p. (In Russ.)

- Kelly K., Kostin M. Non-Arrhenius rate constants involving diffusion and reaction. *J. of Chemical Physics*, 1986, vol. 85, iss. 12, pp.7318–7335.

Листування

к.т.н., доцент **А. С. Сверстюк**

Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського, кафедра медичної інформатики вул. Руська, 12, Тернопіль, 46001, Україна
 тел.: 067 769 59 68

ел. пошта: sverstyuk@ukr.net