

E2

Proteine

11. Tag

Metabolic Control Analysis (MCA)

Ursula Kummer, Sven Sahle,
Femke Mensonides, Irina Surovtsova, Jürgen Zobeley

Darstellung Teilweise nach einer Vorlesung von Edda Klipp

Fragestellung

- Wie wirken sich Änderungen, die ein Enzym betreffen, auf das gesamte System aus?
 - Welche Modifikatoren haben den größten Einfluß auf den Umsatz des Stoffwechselfpads?

Fragestellung

- Können wir systematisch von den Eigenschaften der einzelnen Enzyme auf das gesamte System schließen?
 - Welche Bedeutung haben Enzymeigenschaften, die wir in vitro gemessen haben, in der lebenden Zelle?
 - Welcher Schritt eines Stoffwechselfpades hat den größten Einfluß auf den Flux? Gibt es einen geschwindigkeitsbestimmenden Schritt?

Fragestellung: Beispiele

- Biotechnologische Anwendung:
Ein Stoff soll möglichst effizient produziert werden. Welches Enzym muß ich aktivieren, um den größten Effekt zu erzielen?
- Medizinische Anwendung:
Bei einer Stoffwechselstörung findet Überproduktion eines Metaboliten statt. Welche Reaktionen sollte man modifizieren, um die Überproduktion zu drosseln?

MCA

Wir suchen eine Methode, mit der wir

- Auswirkungen von Änderungen in Parametern beschreiben können
- Kenntnisse über einzelne Reaktionen mit Kenntnissen über das Gesamte System in Beziehung setzen können

Im Allgemeinen ist das ein zu kompliziertes Problem. Da hilft nur ausprobieren.

Daher müssen wir uns einschränken:

- Wir betrachten nur den Steady State
- Wir kümmern uns nur um kleine Änderungen der Parameter (Linearisierung)

-> **Metabolic Control Analysis**

MCA

Die MCA wurde in den 70er Jahren entwickelt:

- 1973 Kacser/Burns
- 1974 Heinrich/Rapoport

Die heute gebräuchlichste mathematische Formulierung geht auf Chr. Reder (1988) zurück

MCA (Begriffsklärung)

Verschiedene Größen im Modell spielen unterschiedliche Rollen:

- Kontrollierende **Parameter**: Geschwindigkeits- und Bindungskonstanten, Enzymkonzentrationen (wenn sie im Modell als konstant betrachtet werden), ...
- Kontrollierte **Variablen**: Konzentrationen der Metaboliten, Flüsse, ...

Die Aufteilung hängt vom Modell ab!

Die Abhängigkeiten werden mathematisch durch partielle Ableitungen beschrieben.

Koeffizienten

Die MCA definiert sog. Koeffizienten, das sind Zahlenwerte, die den Einfluß von Parametern auf verschiedene Systemgrößen beschreiben.

Es gibt zwei Typen von Koeffizienten: **lokale** und **globale**



Elastizitäten:

Einfluß einer Metabolitkonzentration oder eines Parameters auf die Reaktionsrate eines einzelnen Enzyms.
Unmittelbare Berechnung möglich, keine Systemeigenschaft.



Control Coefficients, Response Coefficients:

Einfluß eines Parameters Metabolitkonzentration oder eines Parameters auf eine Steady-State-Variable.
Systemeigenschaft, Berechnung nur im Zusammenhang des gesamten Systems möglich

Elastizitäten

Elastizitätskoeffizient der Reaktion k bezüglich des Metaboliten S_i

$$\epsilon_i^k = \frac{\partial v_k}{\partial S_i} \frac{S_i}{v_k} = \frac{\partial \ln v_k}{\partial \ln S_i}$$

Wie stark wirkt sich die Änderung einer Metabolitkonzentration auf eine Reaktionsgeschwindigkeit aus?

partielle Ableitung
(der Geschwindigkeit der Reaktion k nach der Konzentration des Metaboliten S_i)

Skalierungsfaktor
(wir sind an relativen Änderungen interessiert). Dadurch wird der Koeffizient unabhängig von den ursprünglichen Werten S_i und v_k .

Diese Ableitung kann direkt aus dem Kinetic Law berechnet werden.

Elastizitäten: Parameterelastizitäten

Elastizitätskoeffizient der Reaktion k bezüglich des Parameters p_m

$$\pi_m^k = \frac{\partial v_k}{\partial p_m} \frac{p_m}{v_k} = \frac{\partial \ln v_k}{\partial \ln p_m}$$

Wie stark wirkt sich die Änderung eines Parameters auf eine Reaktionsgeschwindigkeit aus?

Die Elastizität kann auch bezüglich eines Parameters berechnet werden.

Diese Ableitung kann ebenfalls direkt aus dem Kinetic Law berechnet werden.

Global: Control Coefficients

Das System befindet sich in einem stationären Zustand.

- Nun erfolgt eine kleine Störung **einer** Reaktion (z.B. durch Ändern der Enzymmenge oder durch Zugeben eines Modifikators)
- Die Störung führt zu einer Änderung der Reaktionsgeschwindigkeit Δv_k . Das ist die Änderung, die wir messen würden, wenn wir das Enzym separat vom übrigen System untersuchen könnten
- Diese Änderung der Reaktionsgeschwindigkeit führt zu einer Änderung des Steady State. Das System geht in einen neuen Steady State über.

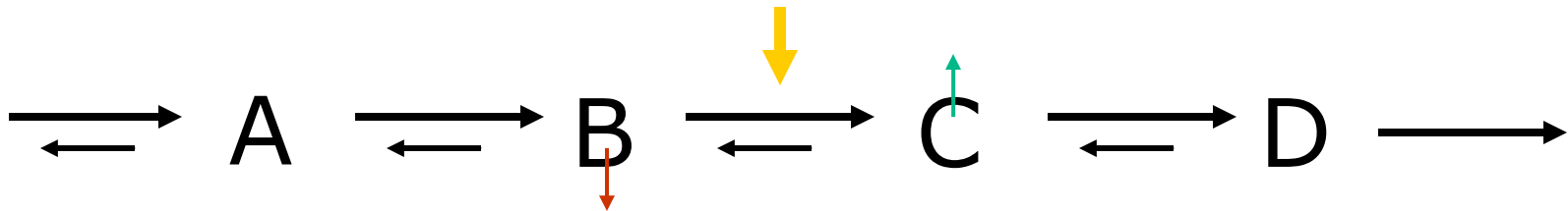
Concentration Control Coefficient


Control Coefficient der Steady-State-Konzentration des Metaboliten S_i bzgl. Änderung in der Reaktion k

$$C_k^{S_i} = \frac{\partial S_i / \partial p}{\partial v_k / \partial p} \frac{v_k}{S_i} = \frac{\partial S_i}{\partial v_k} \frac{v_k}{S_i} = \frac{\partial \ln S_i}{\partial \ln v_k}$$

Wie stark wirkt sich die Änderung einer einzelnen Reaktionsgeschwindigkeit auf die Fließgleichgewichtskonzentrationen der Metaboliten aus?

Diese Ableitung kann nicht direkt aus dem Kinetic Law der Reaktion berechnet werden. Es muß die Änderung im Steady State des gesamten Systems betrachtet werden.



Eine Änderung bei  hat direkte Auswirkungen:
Die betreffende (unabhängig betrachtete)
Reaktionsgeschwindigkeit ändert sich (angenommen, sie
wird größer). Dadurch ändern sich im neuen Steady State
alle Konzentrationen. B wird sinken, C wird steigen, die
Wirkungen auf A und D sind schwächer, aber keineswegs
zu vernachlässigen.

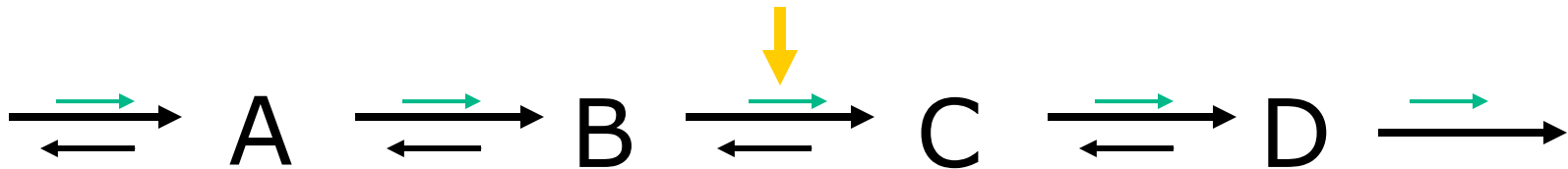
Flux Control Coefficient

Control Coefficient des Steady-State-Flusses der Reaktion j bzgl. Änderung in der Reaktion k

$$C_k^{J_j} = \frac{\partial J_j / \partial p}{\partial v_k / \partial p} \frac{v_k}{J_j} = \frac{\partial J_j}{\partial v_k} \frac{v_k}{J_j} = \frac{\partial \ln J_j}{\partial \ln v_k}$$

Wie stark wirkt sich die Änderung einer einzelnen Reaktionsgeschwindigkeit auf den stationären Fluß durch eine (andere) Reaktion aus?

Diese Ableitung kann nicht direkt aus dem Kinetic Law der Reaktion berechnet werden. Es muß die Änderung im Steady State des gesamten Systems betrachtet werden.



Eine Änderung bei ↓ hat direkte Auswirkungen:
Die betreffende (unabhängig betrachtete)
Reaktionsgeschwindigkeit ändert sich (angenommen, sie
wird größer). Dadurch ändern sich im neuen Steady State
alle Konzentrationen, was zu einem geänderten Flux führt.

Response Coefficient (z.B. Fluss)

Response Coefficient des Steady-State-Flusses der Reaktion j bzgl. Änderung des Parameters m

$$R_{p_m}^{J_j} = \frac{\partial J_j}{\partial p_m} \frac{p_m}{J_j} = \frac{\partial \ln J_j}{\partial \ln p_m}$$

Wie stark wirkt sich die Änderung eines Parameters auf den stationären Fluß durch eine Reaktion aus?

Diese Ableitung kann nicht direkt aus dem Kinetic Law der Reaktion berechnet werden. Es muß die Änderung im Steady State des gesamten Systems betrachtet werden.

Entsprechend sind Response Coefficients für Konzentrationen definiert.

Unskalierte Koeffizienten

In manchen Fällen ist es sinnvoll, die Koeffizienten ohne den Skalierungsfaktor zu betrachten.

Beispiel: Wenn ein Steady-State-Wert oder Parameter gleich Null ist. Dann ist die Skalierung (bzw. der Logarithmus) nicht möglich.

Summationstheoreme

Gedankenexperiment:

Was passiert, wenn man alle Reaktionen um einen gewissen Faktor beschleunigt und dann ein neues Fließgleichgewicht abwartet?

Flüsse: Alle Flüsse sind um den selben Faktor schneller

Konzentrationen: Ändern sich nicht.

Summationstheoreme

Aus dem Gedankenexperiment ergibt sich (nach ein paar Umformungen):

$$\sum_i C_i^{J_j} = 1$$

Die Summe der Flux Control Coefficients für einen Flux ist 1.
Die Enzyme teilen sich die Kontrolle über einen Flux.

$$\sum_i C_i^{S_j} = 0$$

Die Summe der Concentration Control Coefficients für einen Metaboliten ist 0.
Einige Enzyme erhöhen die Konzentration, andere senken sie.

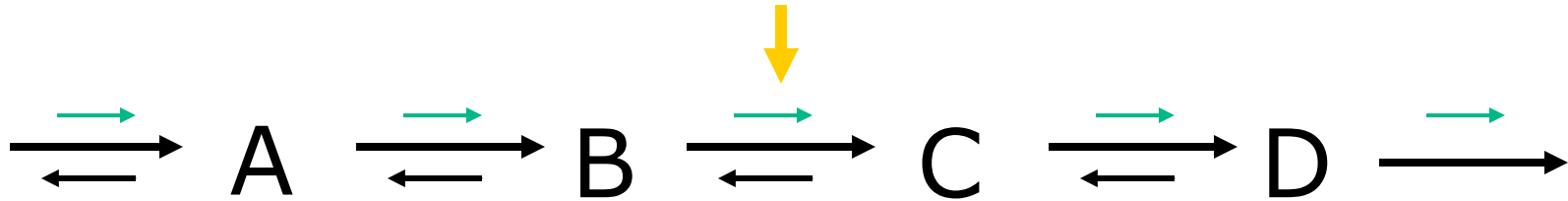
Konnektivitätstheoreme

Es gibt einen mathematischen Zusammenhang zwischen Elastizitäten und Control Coefficients. Er erlaubt es, wenn alle Elastizitäten kennt, die Control Coefficients zu berechnen (und umgekehrt). Damit sind lokale und globale Größen verknüpft.

$$\sum_{i=1}^r C_{v_i}^{J_m} \varepsilon_{S_j}^{v_i} = 0$$

$$\sum_{i=1}^r C_{v_i}^{S_k} \varepsilon_{S_j}^{v_i} = -\delta_{jk}$$

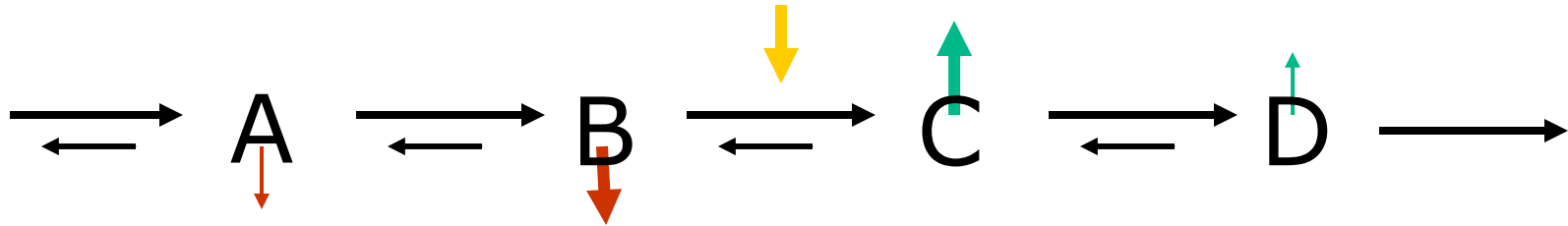
Allgemeine Eigenschaften



Die **Flußregulation** ist im Allgemeinen auf alle Enzyme verteilt. Für eine lineare Kette gilt:

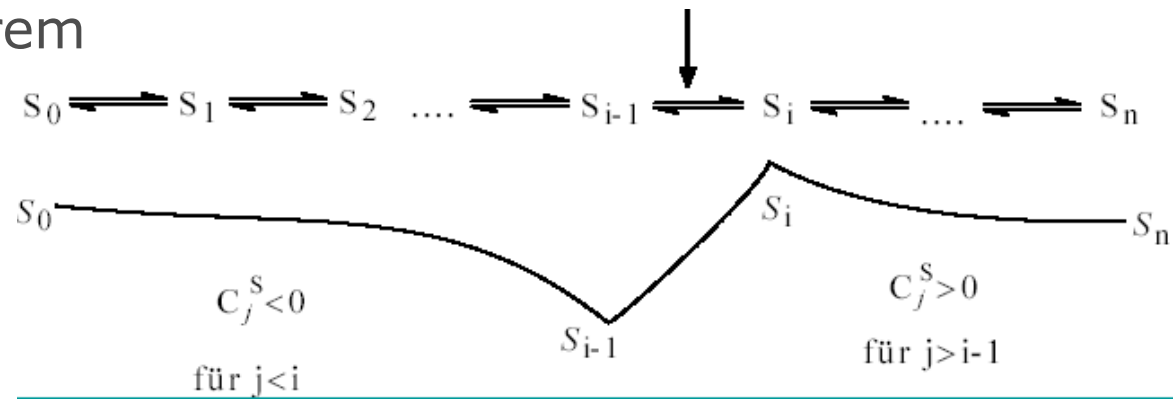
- Tendenziell ist der Einfluß der Enzyme am Anfang eines Pfades größer
- Tendenziell ist der Einfluß langsamer Enzyme größer

Allgemeine Eigenschaften



Für die **Konzentrationsregulation** gilt:

- Ein Enzym wirkt positiv auf die Konzentration seiner Produkte, negativ auf die Konzentration seiner Substrate.
- Der Effekt läßt mit dem Abstand nach
- Cross-Over-Theorem



Beispiele



Irreversible Kette

Beispiele

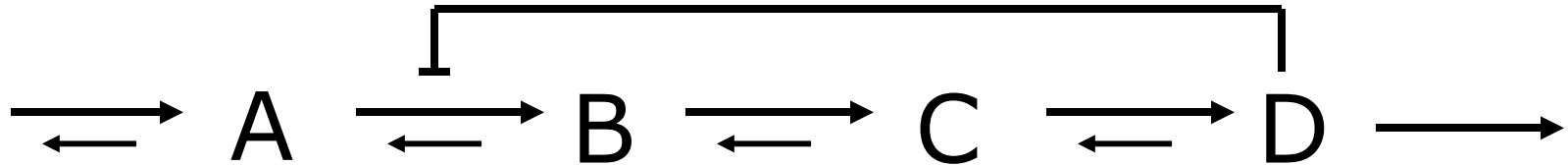


Irreversible Kette

Der Fluß wird ausschließlich vom ersten Schritt bestimmt

Die Konzentrationen hängen ausschließlich vom 1. Schritt und dem nach dem Metaboliten folgenden ab

Beispiel2



- Für die Flußkontrolle wird der letzte Schritt wichtiger