

# **E2**

# **Proteine**

5. Tag

Enzymkinetik –

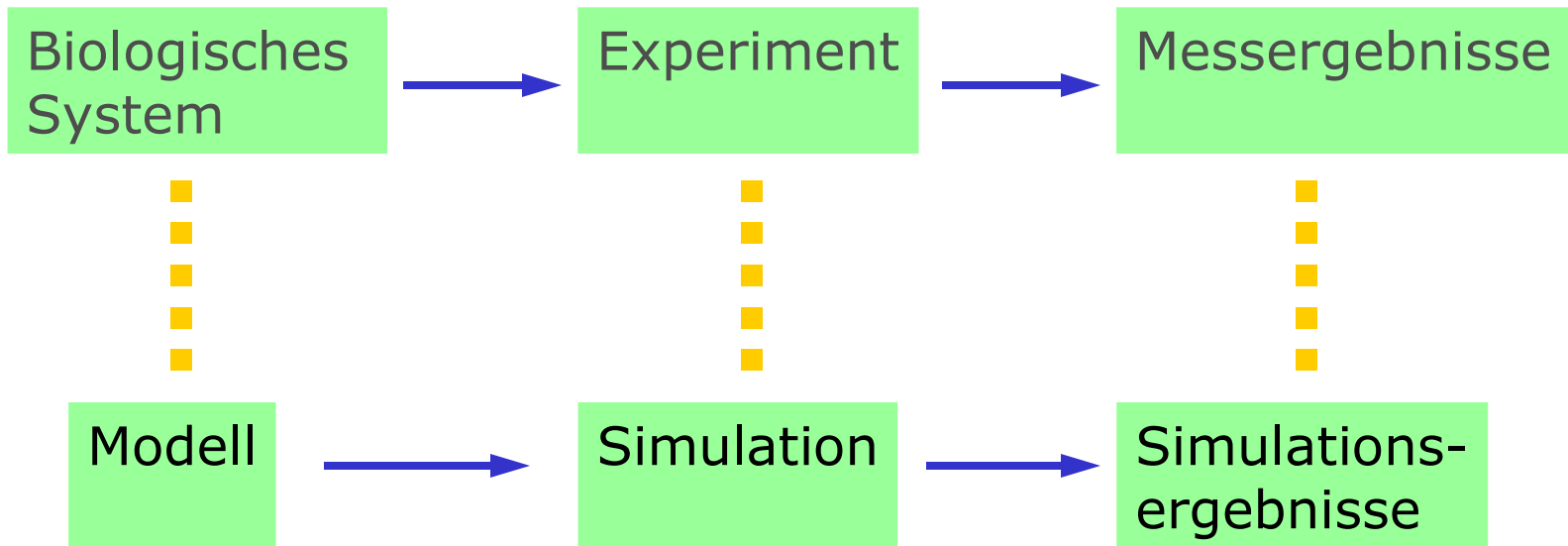
Modellierung und Simulation

Ursula Kummer, Sven Sahle,

Femke Mensonides, Irina Surovtsova, Jürgen Zobeley

# Modellierung – Simulation

Einführung



# Modellierung – Simulation

Warum?

## **Verständnis**

Wenn wir

- experimentelle Ergebnisse reproduzieren können und
- begründen können, wie wir unser Modell aufgebaut haben

sind wir im Verständnis des biologischen Systems einen großen Schritt weiter gekommen.

# Modellierung – Simulation

Warum?

## **Effizientere Planung von Experimenten**

Mit Simulationen von geeigneten Modellen können wir entscheiden, welches Experiment unsere Frage beantworten kann.

## **Simulationen sind billiger und schneller als Experimente.**

Aber: Simulationen können Experimente nicht ersetzen!

# Modellierung – Simulation

## Voraussetzungen

Der Computer soll berechnen, wie sich ein metabolisches System verhält.

## **Welche Informationen benötigen wir für eine Simulation?**

- Welches sind die Variablen? In diesem Fall die Konzentrationen der Metaboliten.
- Wodurch ändern sich die Konzentrationen? Durch die Reaktionen, die durch Enzyme katalysiert sind.
- Wie schnell laufen die Reaktionen ab? Reaktionskinetiken, kinetische Parameter.
- Anfangsbedingungen.

# Modellierung – Simulation

## **Was passiert im Computer, wenn eine Simulation berechnet wird?**

Aus den Reaktionen und den Informationen über ihre Kinetiken wird für jeden Metaboliten eine Gleichung aufgestellt (eine gewöhnliche Differentialgleichung). Mit geeigneten Programmen (z.B. Copasi) geht das automatisch.

Die Gleichungen werden in kleinen Zeitschritten berechnet (numerische Integration). Das Ergebnis wird ausgegeben.

# COPASI

Copasi ist ein Programm, mit dem man Modelle erstellen, simulieren und analysieren kann.

[www.copasi.org](http://www.copasi.org)

# Beispiel: der erste Schritt der Glycolyse



Zunächst Modellierung als einfache Reaktion erster Ordnung. ATP/ADT wird ignoriert, ebenso alle speziellen Eigenschaften der Hexokinase.





# Erstellen der Gleichungen

(Automatisch)

Ausgehend von der Reaktionsgleichung



erhalten wir die Gleichung

$$\frac{d[\text{Glu}]}{dt} = -1 \cdot v_1$$

↑  
Änderungsrate,  
auch  $d\text{Glu}/dt$  oder  
 $\text{Glu}'$

↑  
Stoichiometrie

↑  
Reaktionsgeschwindigkeit

...

entsprechend für [G6P]:

$$d\text{Glu}/dt = -1 \cdot v_1$$

$$d\text{G6P}/dt = +1 \cdot v_1$$

# Einsetzen der Reaktionskinetik

Zunächst haben wir eine einfache Massenwirkungskinetik gewählt:

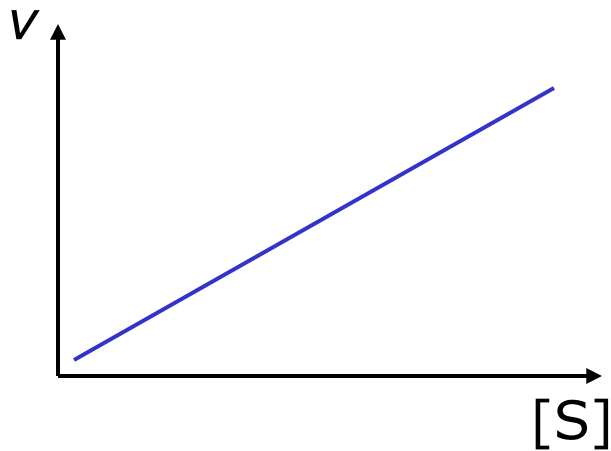
$$v_1 = k_1 \cdot \text{Glu}$$

damit erhalten wir:

$$d\text{Glu}/dt = -1 \cdot k_1 \cdot \text{Glu}$$

$$d\text{G6P}/dt = +1 \cdot k_1 \cdot \text{Glu}$$

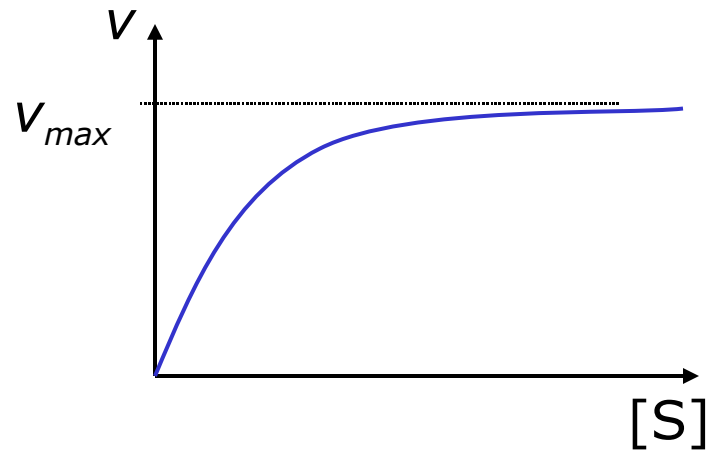
# Enzymkinetik



Massenwirkungskinetik  
erster Ordnung

mehr Substrat

-> größere Reaktions-  
geschwindigkeit



Enzymkinetik:

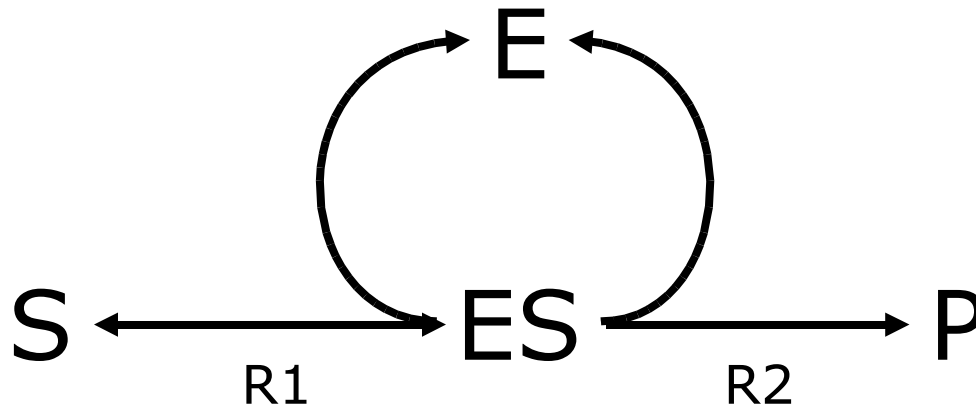
Sättigungskurve, das Enzym  
kann die Reaktion nur bis zu  
einer Maximalgeschwindigkeit  
katalysieren.

->  $V_{max}$

■ Beispiel in Copasi

# Michaelis-Menten/Briggs-Haldane Kinetik

Sehr einfache Modellvorstellung von den Elementarschritten einer enzymatischen Reaktion:



## Gleichungen für die Elementarschritte:

$$dS/dt = -k_1 \cdot S \cdot E + k_{-1} \cdot ES$$

$$dE/dt = -k_1 \cdot S \cdot E + k_{-1} \cdot ES + k_2 \cdot ES$$

$$dES/dt = +k_1 \cdot S \cdot E - k_{-1} \cdot ES - k_2 \cdot ES$$

$$dP/dt = +k_2 \cdot ES$$

Erhaltungsgrößen: Die Gesamtenzymmenge soll sich nicht ändern.  $E + ES = E_0 = \text{constant}$

Mit  $E = E_0 - ES$  ergibt sich:

$$dS/dt = -k_1 \cdot S \cdot (E_0 - ES) + k_{-1} \cdot ES$$

$$dES/dt = +k_1 \cdot S \cdot (E_0 - ES) - k_{-1} \cdot ES - k_2 \cdot ES$$

$$dP/dt = +k_2 \cdot ES$$

# Quasigleichgewichts-Annahme

Zwischen gebundenem und freiem Enzym nehmen wir ein Gleichgewicht an:

$$dES/dt = 0$$

$$0 = +k_1 \cdot S \cdot (E_0 - ES) - k_{-1} \cdot ES - k_2 \cdot ES$$

$$0 = +k_1 \cdot S \cdot E_0 - k_1 \cdot S \cdot ES - k_{-1} \cdot ES - k_2 \cdot ES$$

$$ES \cdot (k_1 \cdot S + k_{-1} + k_2) = k_1 \cdot S \cdot E_0$$

$$ES = \frac{S \cdot E_0}{\frac{k_{-1} + k_2}{k_1} + S} = \frac{S \cdot E_0}{K_M + S}$$

$$v = \frac{k_2 \cdot S \cdot E_0}{K_M + S} = \frac{v_{\max} \cdot S}{K_M + S}$$



# Vorteile der „beschreibenden“ Kinetiken

- Die Parameter der Elementarreaktionen sind häufig nicht bekannt. Die Anzahl der Parameter ist kleiner.
- Weniger Gleichungen, leichter zu berechnen (für den Computer)

Aber:

Nur unter bestimmten Voraussetzungen erlaubt.

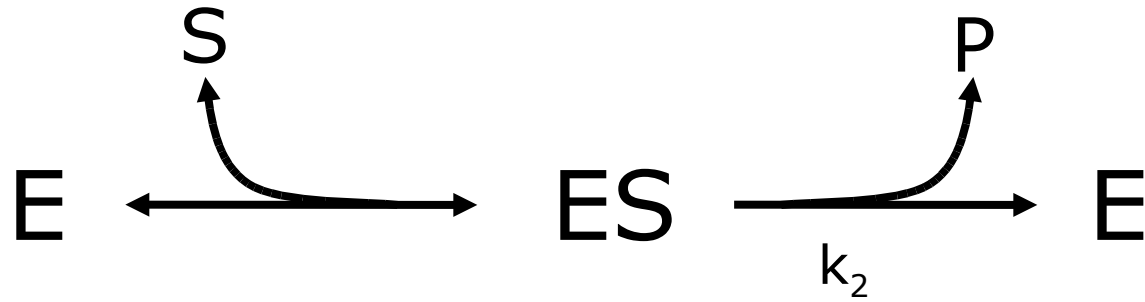


# Andere Kinetiken

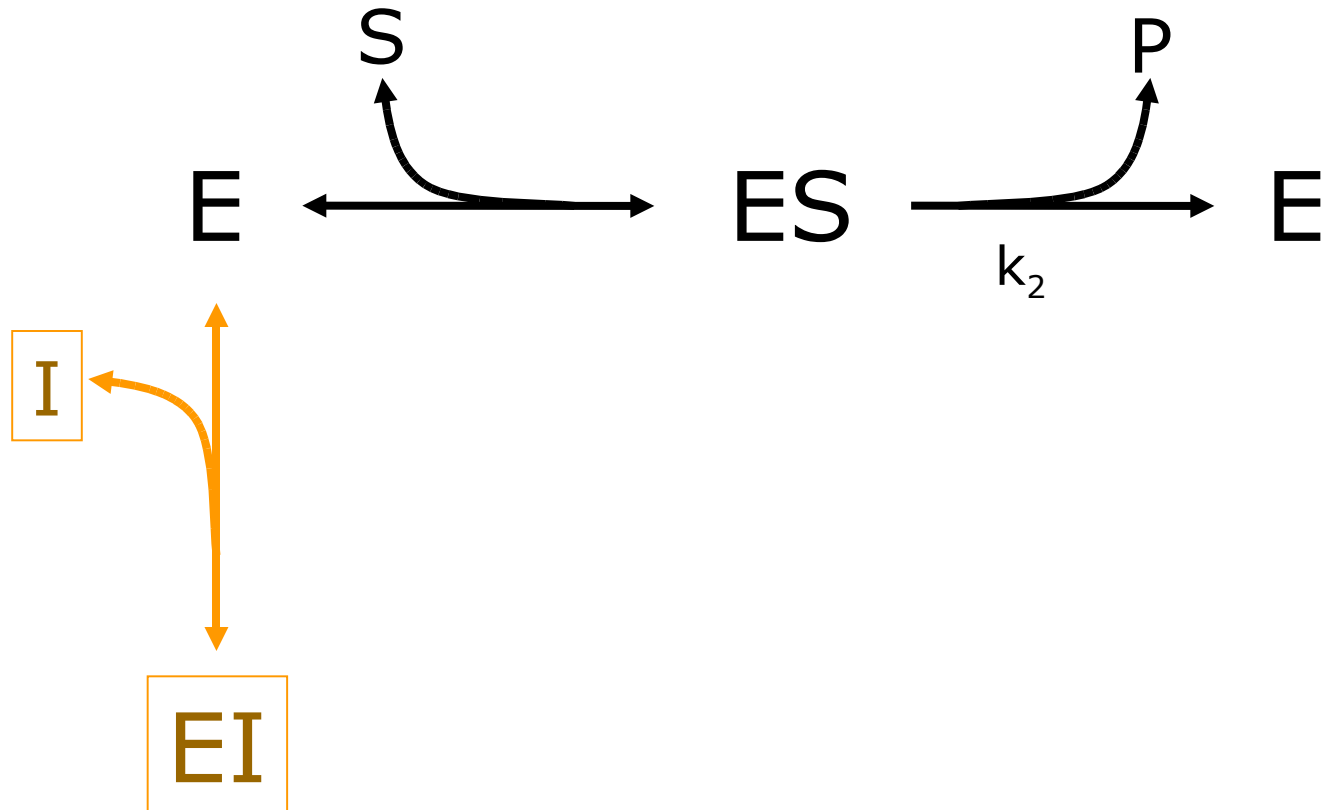
Das für die Michaelis-Menten-Kinetik angegebene Verfahren (QSSA) läßt sich auf viele andere Kinetiken anwenden, z.B. bimolekulare Reaktionen, verschiedene Inhibitionsmechanismen, usw. (s. Tag 4).

Es gibt aber auch Fälle, in denen es nicht anwendbar ist.

# Andere Kinetiken

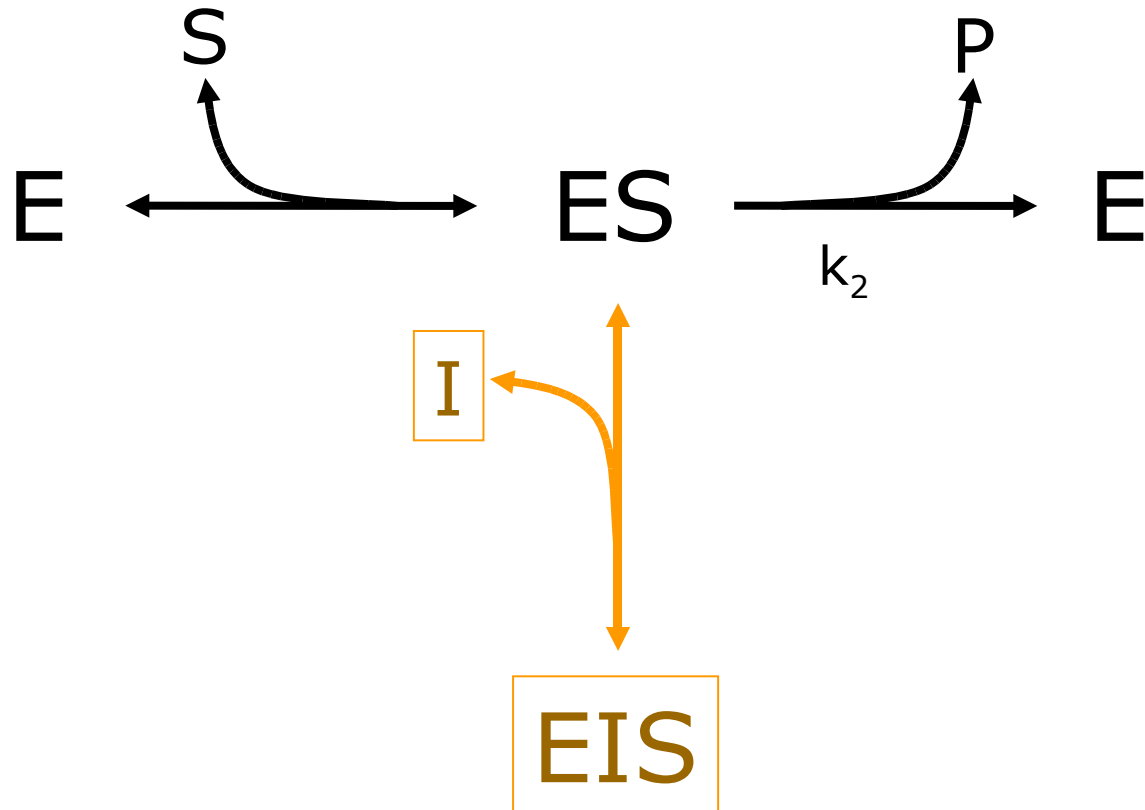


# Andere Kinetiken



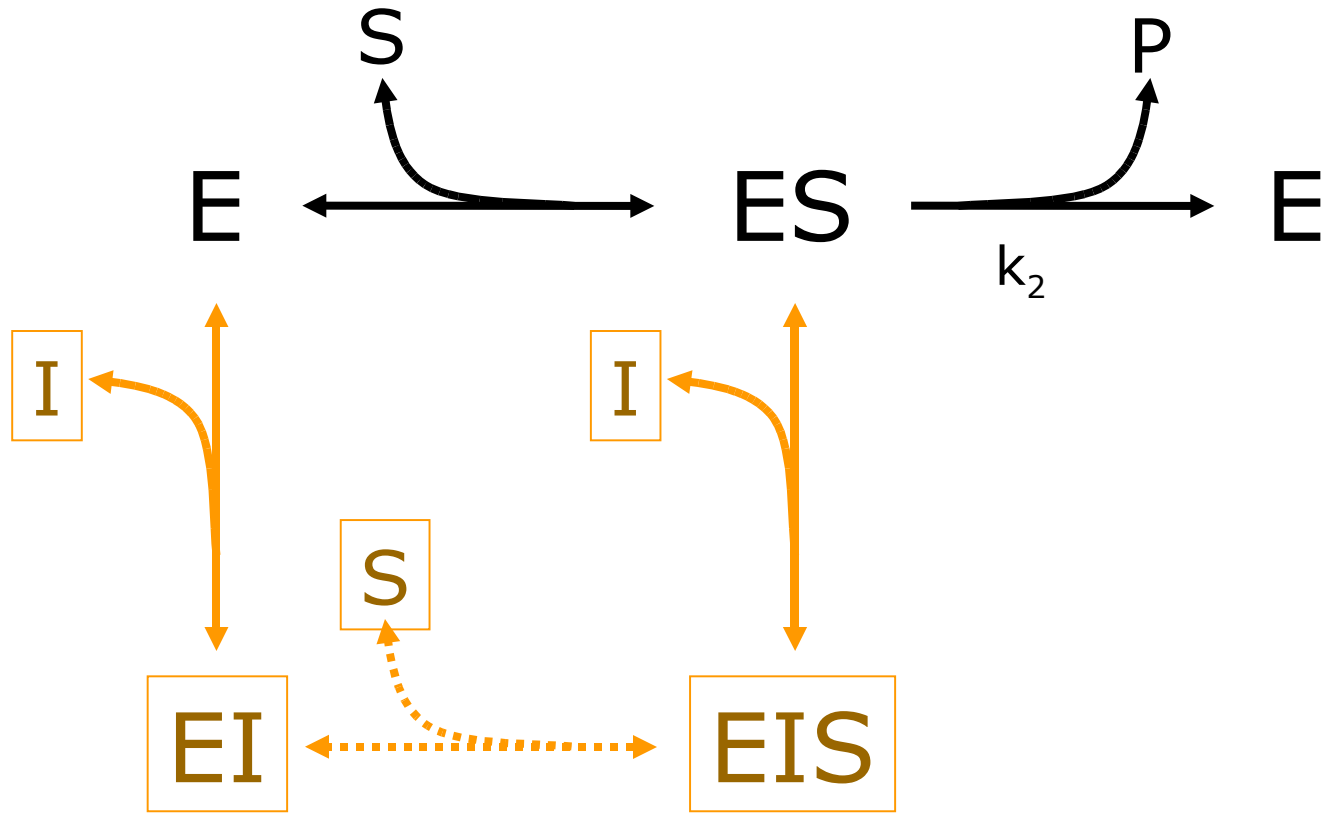
kompetitive Inhibition

# Andere Kinetiken



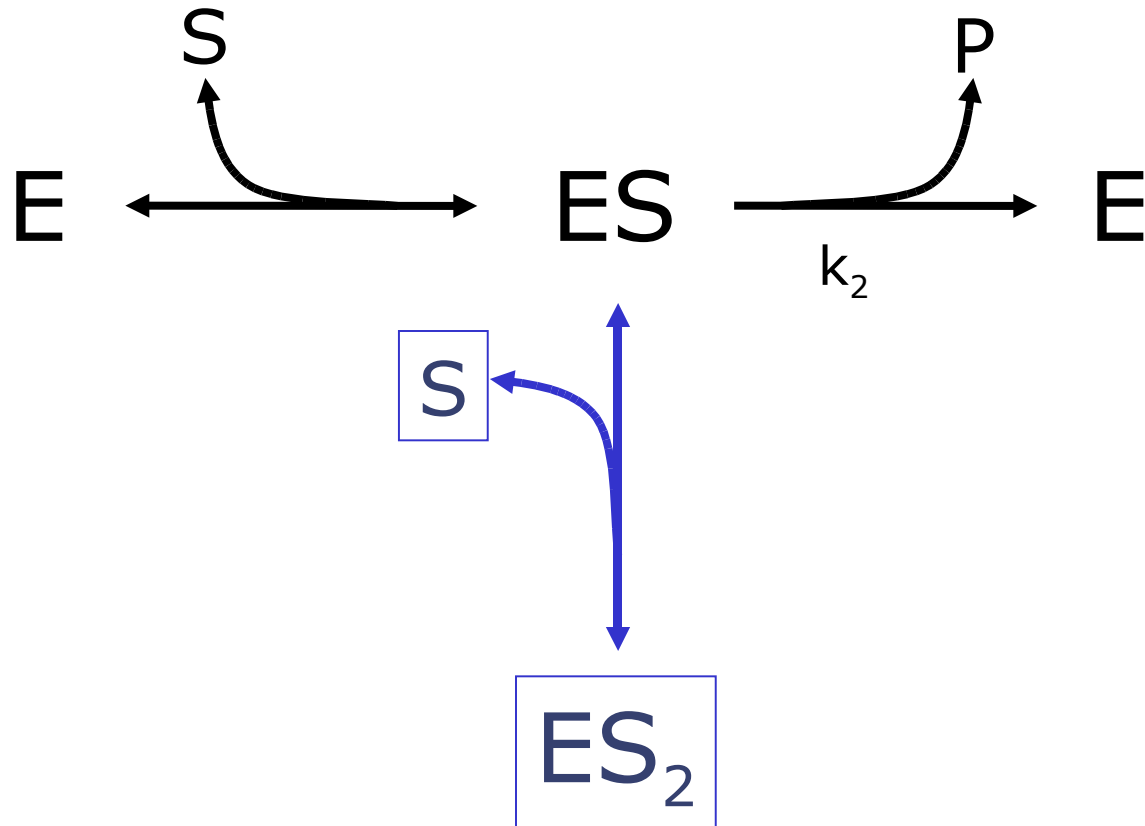
unkompetitive Inhibition

# Andere Kinetiken



nicht kompetitive Inhibition

# Andere Kinetiken

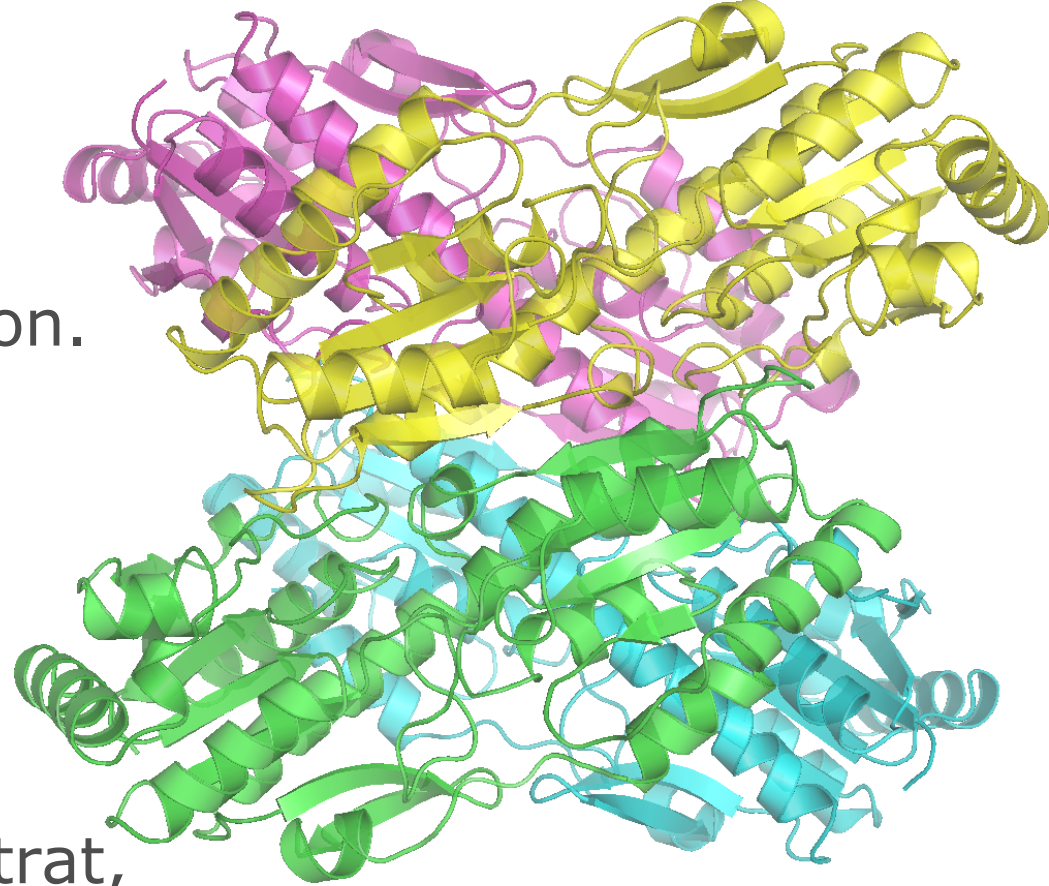


Substratinhibition

# PFK

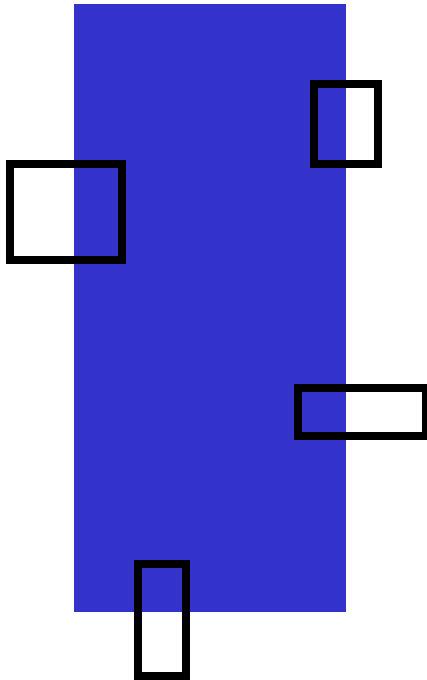
sehr komplexe Regulation.  
Das Enzym ist ein  
Tetramer, an jede  
Einheit können zahl-  
reiche Moleküle binden:

ATP, AMP, ADP, F26bP,  
Phosphoenolpyrovat, Citrat,  
Ionen, ...



Wenn man das QSSA-Verfahren anwenden wollte,  
müßte man für jede Kombination von Bindungen eine  
Gleichung aufstellen -> kombinatorische Explosion.

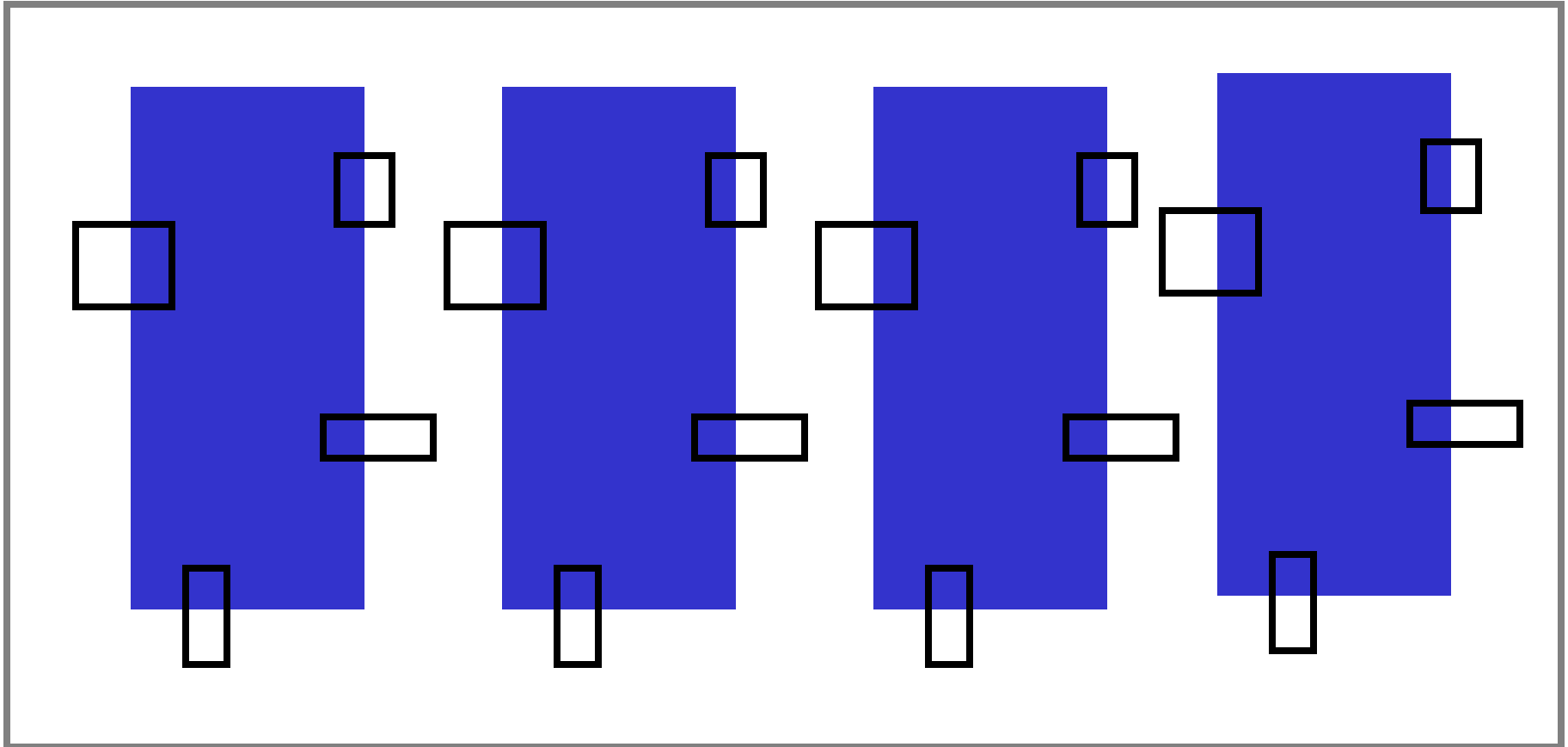
# Schematische Darstellung eines Enzyms mit mehreren Bindungsstellen (z.B. PFK)



$2^4 = 16$   
Möglichkeiten



# Tetramer:



$2^4^4 = \text{ca. } 65000$  Möglichkeiten