

Modellierung und Simulation in der Biochemie

Ursula Kummer

Vorlesung 7

MCA cont.

Übersicht

- kurze Wdh.
- MCA (Metabolic Control Analysis)

Mit Material von Edda Klipp (MCA)

Koeffizienten der Kontrolltheorie

Stoffwechselsysteme sind Netzwerke; ihr Gesamtverhalten beruht auf der Struktur des Netzes und den Eigenschaften der einzelnen Komponenten.

Es gibt zwei Typen von Koeffizienten : lokale und globale



Elastizitätskoeffizienten

quantifizieren die Empfindlichkeit einer Rate für die Änderung einer Konzentration oder eines Parameters

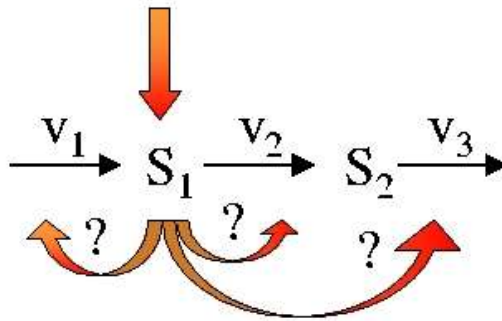
direkt, unmittelbar
(kein steady state)

Kontrollkoeffizienten Responsekoeffizienten

Quantitatives Maß für Änderung einer steady-state Variablen

Erreichen eines neuen steady states
Abhängig von Netzwerkstruktur

Lokal: Elastizitätskoeffizienten



Frage: Wie empfindlich (sensitiv) ist die Geschwindigkeit einer Enzymreaktion gegenüber kleinen Änderungen einer Metabolit-Konzentration?

Betrachten des Enzyms als isoliert,
Gesucht: unmittelbarer Effekt

$$\epsilon_{ki} = \left(\frac{S_i}{v_k} \frac{\Delta v_k}{\Delta S_i} \right)_{\Delta S_i \rightarrow 0} = \frac{S_i}{v_k} \frac{\partial v_k}{\partial S_i} = \frac{\partial \ln v_k}{\partial \ln S_i}$$

Elastizitätskoeffizient der
Reaktion k bezüglich des
Metaboliten S_i

Parameterelastizität

ε -Elastizitäten enthalten die Ableitungen bezüglich der Metabolitkonzentrationen (einer Variablen!).

π -Elastizitäten enthalten die Ableitungen bezüglich der anderen Parameter (kinetischer Konstanten, Enzymkonzentration,...)

$$\pi_{km} = \frac{\partial \ln v_k}{\partial \ln p_m}$$

Global: Kontrollkoeffizienten

1. Das System metabolischer Reaktionen ist im stationären Zustand.
2. Es erfolgt eine kleine Störung irgendeiner Reaktion (Zufügen von Enzym, Zufügen von Metabolit,....)
3. Das System geht in einem neuen (nahen) stationären Zustand über.

Wie stark ändern sich die steady state- Variablen (Flüsse, Konzentrationen) auf Grund der Störung einer einzigen Reaktion?

Definition der Kontrollkoeffizienten

$$C_k^{J_j} = \left(\frac{v_k \Delta J_j}{J_j \Delta v_k} \right)_{\Delta v_k \rightarrow 0} = \frac{v_k}{J_j} \frac{\partial J_j}{\partial v_k} = \frac{\partial \ln J_j}{\partial \ln v_k}$$

Flußkontrollkoeffizient

Δv_k - Ratenänderung der k-ten Reaktion unter isolierten, festen Bedingungen

ΔJ_j - resultierende Änderung des steady-state Flusses durch die j-te Reaktion

v_k / J_j - dieser Faktor dient der Normierung

$$C_k^{S_i} = \left(\frac{v_k \Delta S_i}{S_i \Delta v_k} \right)_{\Delta v_k \rightarrow 0} = \frac{v_k}{S_i} \frac{\partial S_i / \partial p_k}{\partial v_k / \partial p_k} = \frac{\partial \ln S_i}{\partial \ln v_k}$$

**Konzentrations-
kontrollkoeffizient**

ΔS_i - resultierende Änderung des steady-state Konzentration von S_i

Wahl der Störparameter

Die Änderung von v_k beruht auf der Änderung irgendeines Parameters p_k , der nur diese k -te Reaktion beeinflusst. Dies können die Enzymkonzentration oder Inhibitoren und Aktivatoren oder auch Änderungen von pH-Wert oder Temperatur sein. Die Gleichung für die FKK lautet daher ausführlich

$$C_k^{J_j} = \frac{v_k \frac{\partial J_j}{\partial p_k}}{J_j \frac{\partial v_k}{\partial p_k}}$$

Es muss gelten:

Änderung von p_k wirkt direkt nur auf v_k und auf keine andere Reaktion

$$\frac{\partial v_k}{\partial p_k} \neq 0, \quad \frac{\partial v_l}{\partial p_k} = 0 \quad (l \neq k)$$

Die Flußkontrollkoeffizienten sind dann unabhängig von der Wahl des geänderten Parameters p_k . Sie können daher als Maß für den Grad, in dem Reaktion k einen gegebenen Fluß im stationären Zustand kontrolliert, interpretiert werden.

Responsekoeffizienten, global

Betrachten: das vollständige System im stationären Zustand.

Dieser Zustand wird insbesondere durch die Werte der Parameter bestimmt; Parameteränderungen beeinflussen die Lage des stationären Zustandes.

Die Empfindlichkeit der steady-state-Variablen bezüglich einer Parameteränderung wird durch die Responsekoeffizienten ausgedrückt.

$$R_{p_m}^{J_k} = \frac{\partial \ln J_k}{\partial \ln p_m} = \frac{(\delta J_k / J_k)_{t \rightarrow \infty}}{(\delta p_m / p_m)_{t=0}}$$

$$R_{p_m}^{S_i} = \frac{\partial \ln S_i}{\partial \ln p_m} = \frac{(\delta S_i / S_i)_{t \rightarrow \infty}}{(\delta p_m / p_m)_{t=0}}$$

Additivität:
$$R_{p_m}^{J_k} = \sum_j C_{v_j}^{J_k} \pi_{p_m}^{v_j}$$

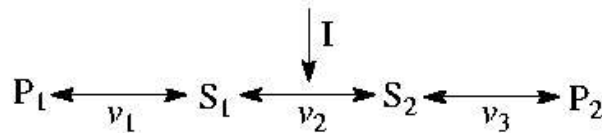
wenn mehrere Reaktionen sensitiv für diesen Parameter sind

$$C_{v_j}^{J_k} = \frac{R_m^k}{\pi_m^j} = \frac{\partial \ln J_k / \partial \ln p_m}{\partial \ln v_j / \partial \ln p_m}$$

wenn Parameter m nur auf eine einzige Reaktion j wirkt

Beispiel, 1

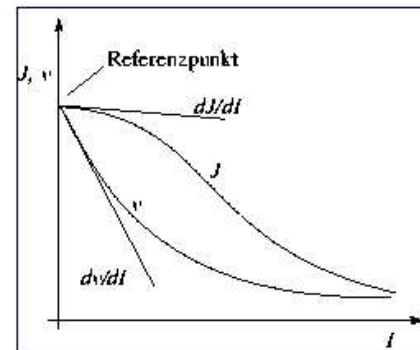
Zu einer biochemischen Reaktion wird Inhibitor zugefügt



v_2 wird sofort kleiner
 S_2 sinkt, damit v_3 kleiner,
 S_1 staut sich, dann v_1 sinkt.

Experimentell bestimmbare Größen

Flußkontrollkoeffizient



$$\pi_I^{v_2} = \partial \ln v_2 / \partial \ln I$$

$$R_I^J = \partial \ln J / \partial \ln I$$

$$C_{v_2}^J = \frac{R_I^J}{\pi_I^{v_2}} = \frac{\partial \ln J / \partial \ln I}{\partial \ln v_2 / \partial \ln I}$$

Die Theoreme der Kontrolltheorie

Das Problem:

Die Flüsse J können mathematisch i.a. nicht als Funktionen der Reaktionsgeschwindigkeiten v ausgedrückt werden. Wie lassen sich die globalen Kontrollkoeffizienten aus den lokalen (eventuell meßbaren) Änderungen berechnen ??

Die Lösung:

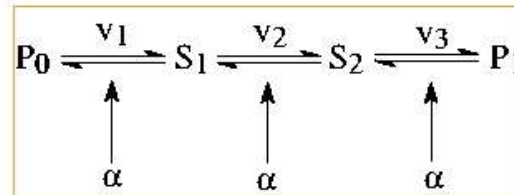
Die Arbeit mit den Kontrollkoeffizienten wird durch die Existenz verschiedener Theoreme wesentlich erleichtert.

Hier sollen zunächst die Theoreme genannt und an Beispielen erläutert, dann erst die mathematische Ableitung der Theoreme dargestellt werden.

Die Summationstheoreme

Gedankenexperiment: Was passiert, wenn wir dieselbe fraktionelle Änderung α in den lokalen Geschwindigkeiten aller Schritte des Systems durchführen ?

$$\frac{\partial v_1}{v_1} = \frac{\partial v_2}{v_2} = \frac{\partial v_3}{v_3} = \alpha$$



Antwort: Der Fluss J muss ebenfalls um den Faktor α ansteigen. Da aber alle Raten im gleichen Verhältnis ansteigen, bleiben die Konzentration der variablen Metaboliten S_1 und S_2 unverändert.

Summationstheorem

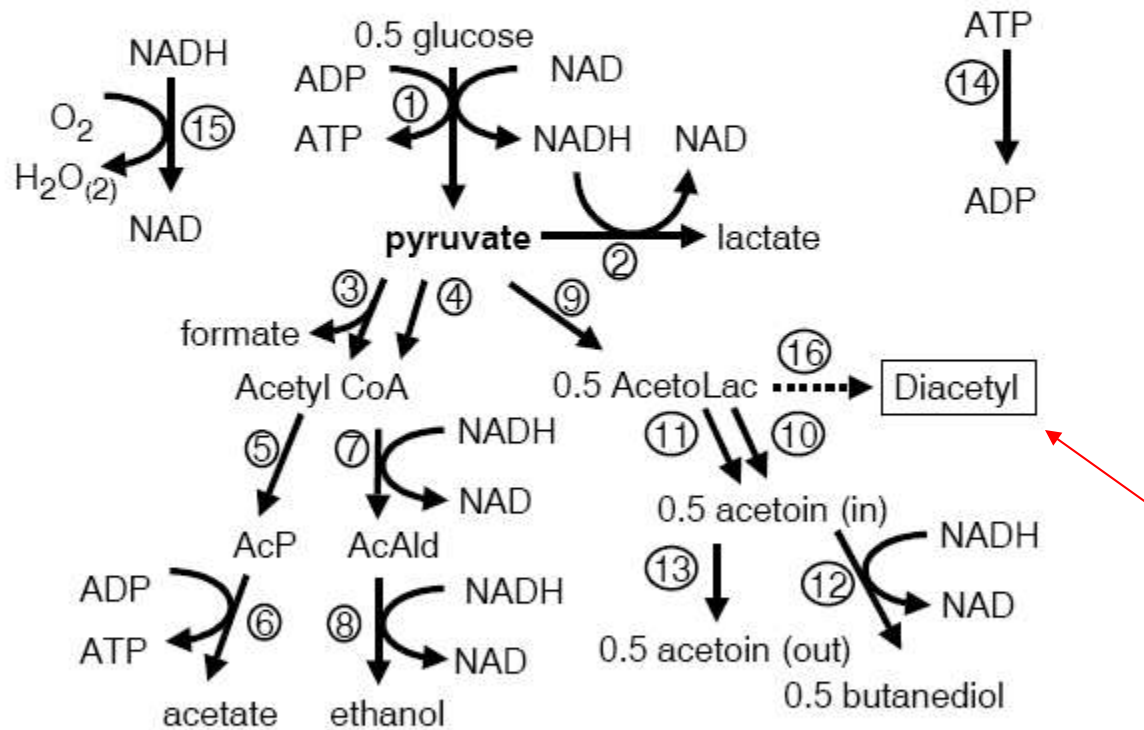
$$\sum_{k=1}^r C_{v_k}^{J_j} = 1$$

Die Flusskontrollkoeffizienten eines Stoffwechselweges addieren sich zu 1.
Die Enzyme teilen sich die Kontrolle über den Fluss.

$$\sum_{k=1}^r C_{v_k}^{S_i} = 0$$

Die Konzentrationskontrollkoeffizienten addieren sich zu Null.
Während einige Enzyme eine Metabolitkonzentration erhöhen, senken andere sie.

Beispiel



Reactions included in the model to describe the distribution of carbon from pyruvate in *L. lactis*. Numbers in circles indicate the following enzymes or steps:

- 1 Lumped glycolysis;
- 2 Lactate dehydrogenase
- 3 Pyruvate formate lyase
- 4 Pyruvate dehydrogenase
- 5 Phosphotransacetylase
- 6 Acetate kinase
- 7 Acetaldehydedehydrogenase
- 8 Alcohol dehydrogenase
- 9 Acetolactate synthase (ALS)
- 10 Acetolactate decarboxylase
- 11 Non-enzymatic Acetolactate decarboxylation
- 12 Acetoin dehydrogenase
- 13 Acetoin efflux
- 14 ATP-ase
- 15 NADH-oxidase (NOX)

Beispiel cont.

The model predicted that in wild type 97% of the glucose will be converted to lactate, in agreement with our observations. Our interest was to increase the flux through ALS, that converts pyruvate into acetolactate, a precursor for diacetyl formation. MCA showed that the control of ALS on its own flux is close to 1 under anaerobic conditions and 0.64 under aerobic conditions. Often, when the aim is to increase the flux through a branch of a pathway, the first enzyme in that branch is over-expressed. The high control coefficient of ALS on its own flux seems to agree with such a strategy. However, MCA indicated that two other enzymes have a much higher control on the flux through ALS. First, LDH which has a very large negative control coefficient (-4.9) and secondly, NOX (NADH oxidase) which has a large positive control (1.6). This indicates that manipulation of these enzymes may be more efficient with respect to increasing the flux through ALS than overexpressing ALS.

Software

Gepasi

- frei für Windows erhältlich

Jarnac

- frei für Windows erhältlich

Copasi

- siehe Demo

