Моделирование метаболических путей

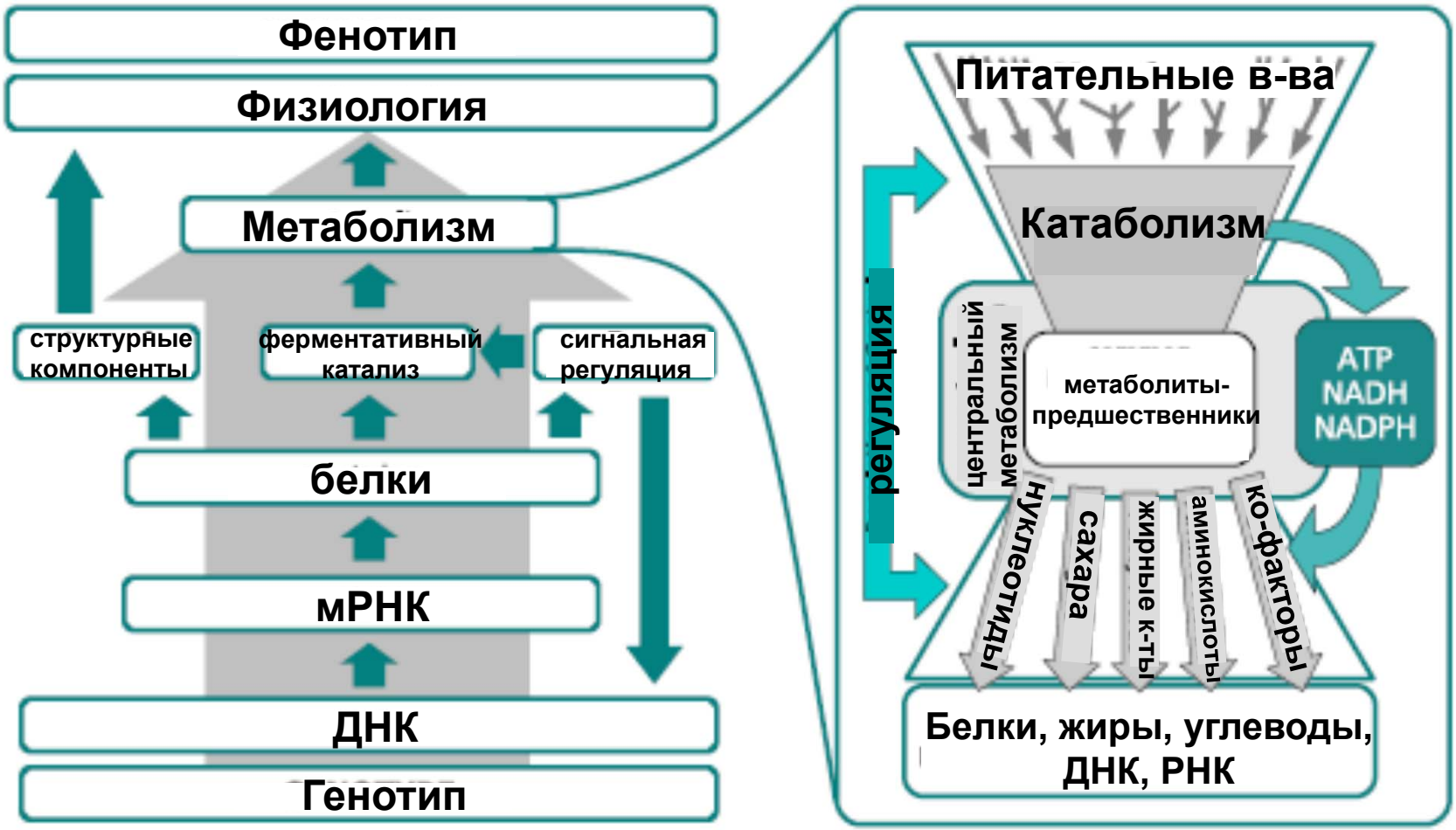
Плюснина Татьяна Юрьевна
Доц-т каф.биофизики
Биологического ф-та МГУ

Метаболи́зм (от греч. μεταβολή — «превращение, изменение»), — набор химических реакций, которые протекают в живом организме и способствуют поддержанию жизни.

Метаболический путь – совокупность метаболических реакций

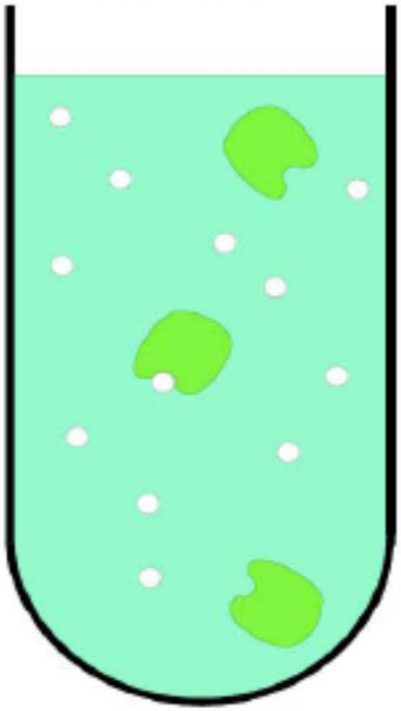
Метаболиты – субстраты и продукты, участвующие в реакциях

Организация клеточного метаболизма



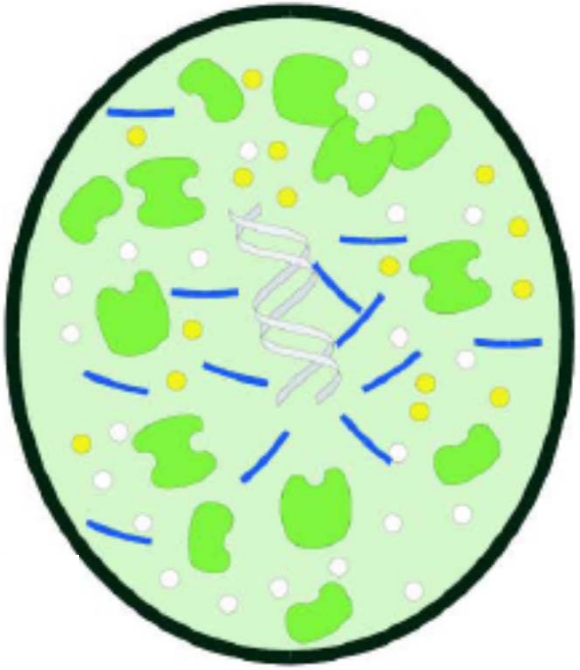
Уровни исследования метаболических реакций

In vitro



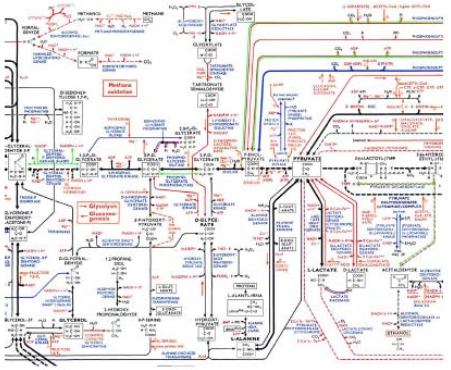
свойства отдельных метаболитов и их динамика

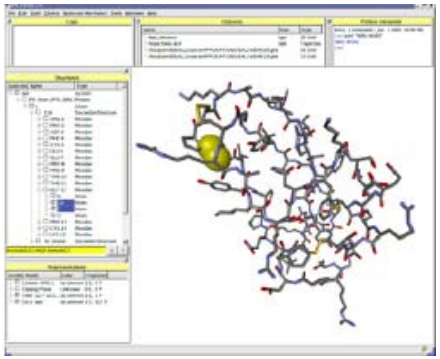
In vivo



описание характеристик метаболизма клетки в целом

In silico

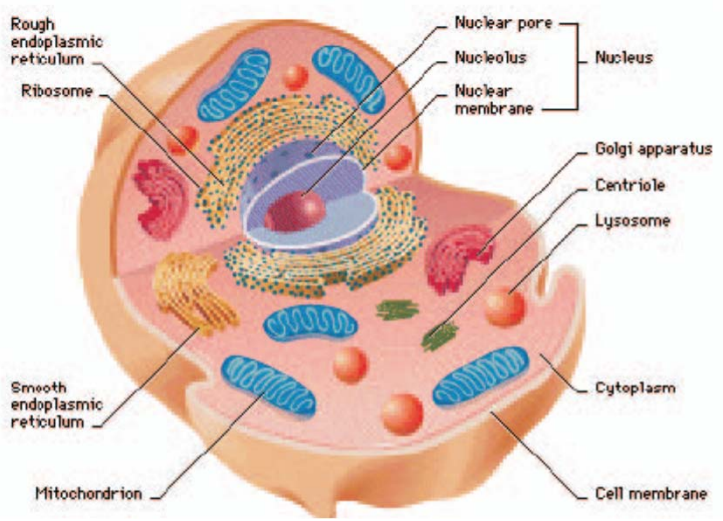




построение «электронной клетки»

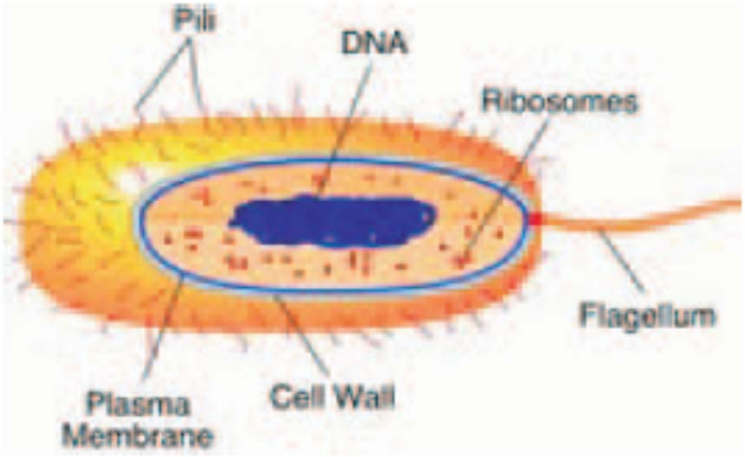
Разные уровни сложности организации клеток

Клетка эукариот



Клеточные процессы локализованы в разных компартментах

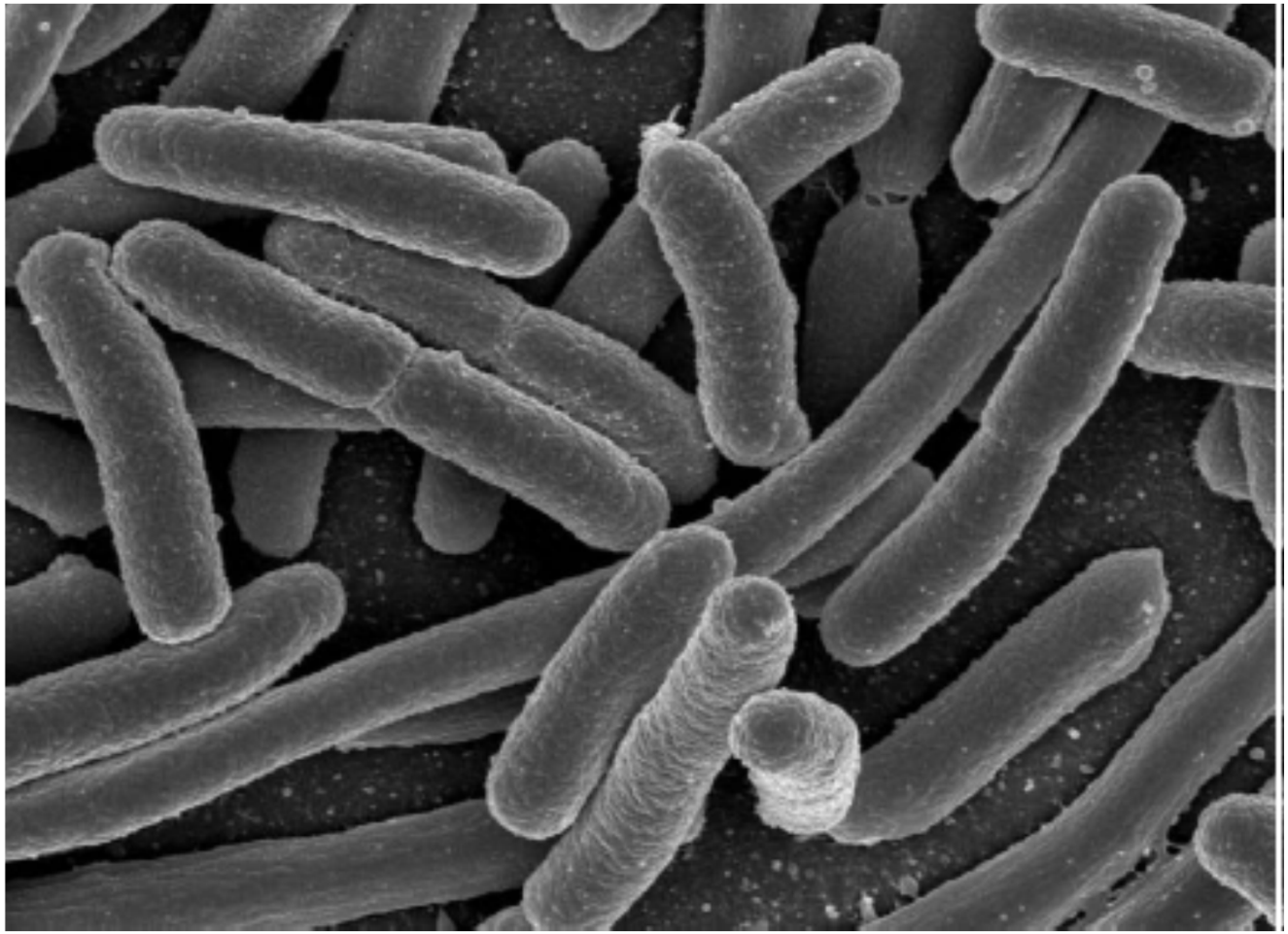
Клетка прокариот



Все процессы протекают в одном компартменте

Первые модели – модели клеток прокариот

Escherichia coli



http://www3.niaid.nih.gov/NR/rdonlyres/49477C30-0513-47BE-88FC-17974CB1F952/0/e_coli.jpg)

Escherichia coli – удобный объект для моделирования клеточного метаболизма

Метаболические пути *Escherichia coli*

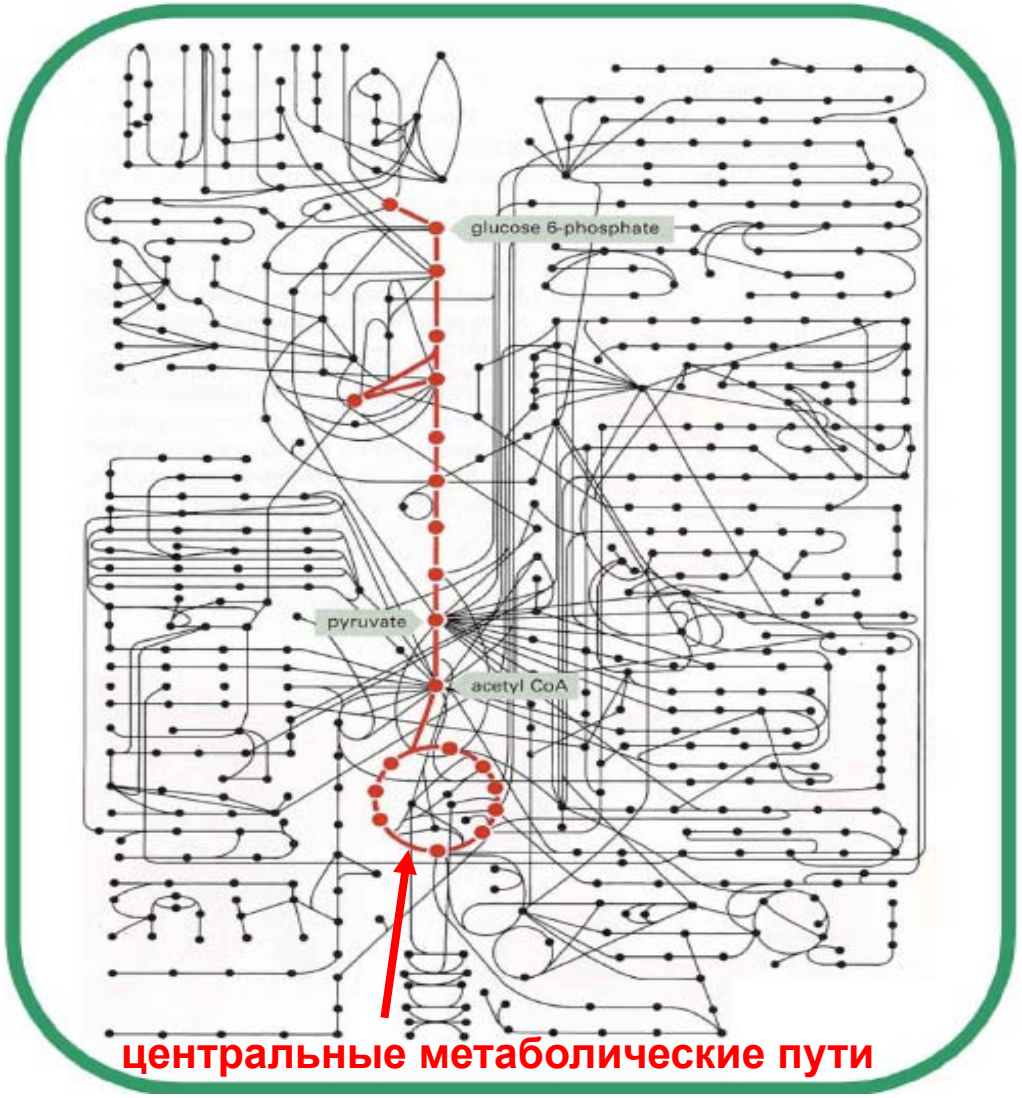


Figure from Ermir Qeli
Information Visualization Techniques for Metabolic Engineering
Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades Doktor der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat)

720 метаболических процессов
436 метаболитов
540 ферментов

Описание метаболизма включает:

•мембранные транспортные процессы

•центральные катаболические пути

•биосинтетические пути (продукция всех компонент биомассы)

•использование различных источников углерода

Представление метаболических путей

Центральные метаболические пути

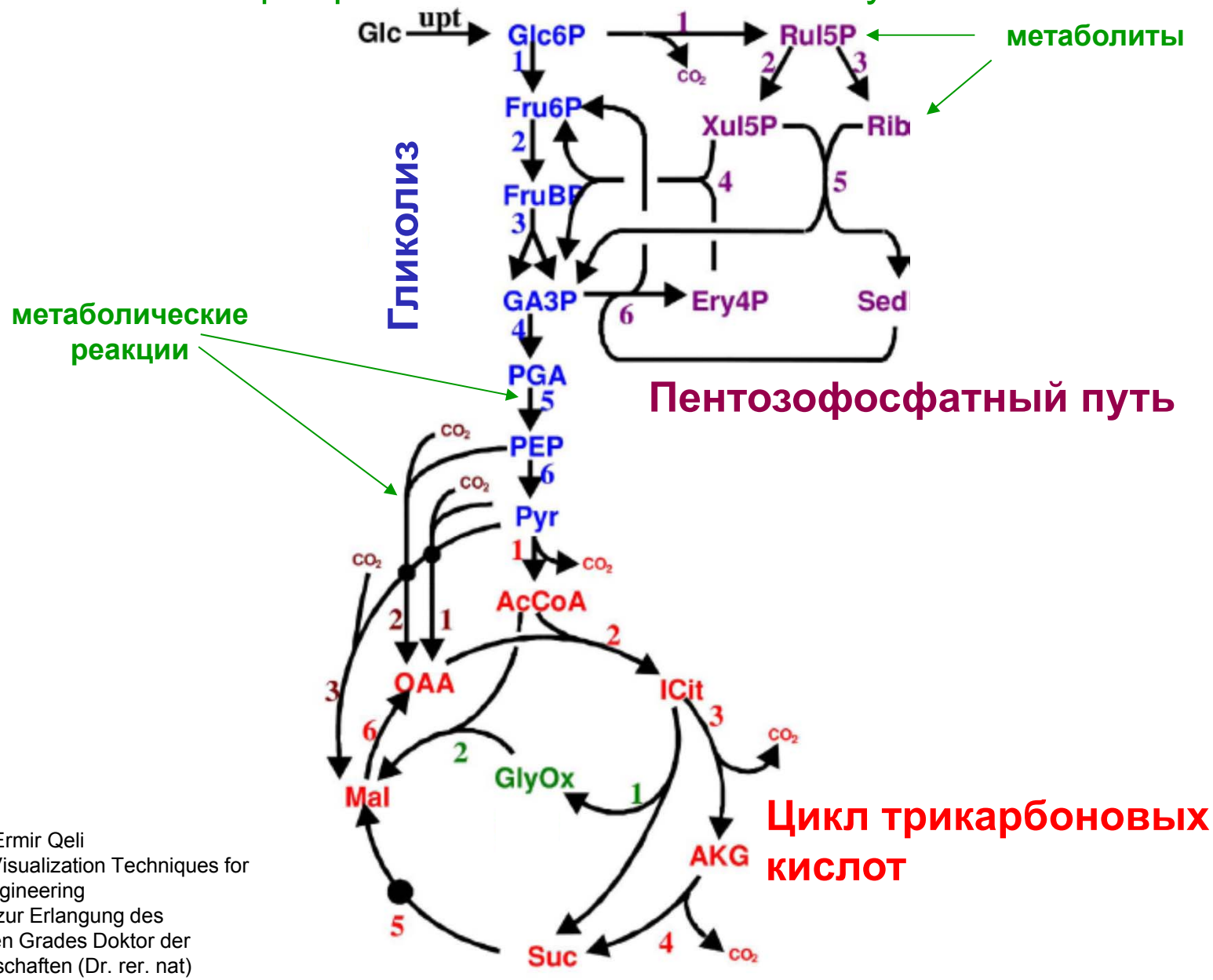


Figure from Ermir Qeli
Information Visualization Techniques for Metabolic Engineering
Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades Doktor der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat)

Цели и задачи метаболического моделирования

Научные задачи:

•исследование механизмов клеточной регуляции в сложных биохимических системах

•объяснение экспериментально установленных фактов и предсказание новых ещё не выявленных внутриклеточных явлений

•систематизация накопленных экспериментальных данных

Биоинженерные задачи:

•оптимизация получения необходимых веществ из бактериальных клеток и других организмов

•разработка новых штаммов с наперед заданными свойствами

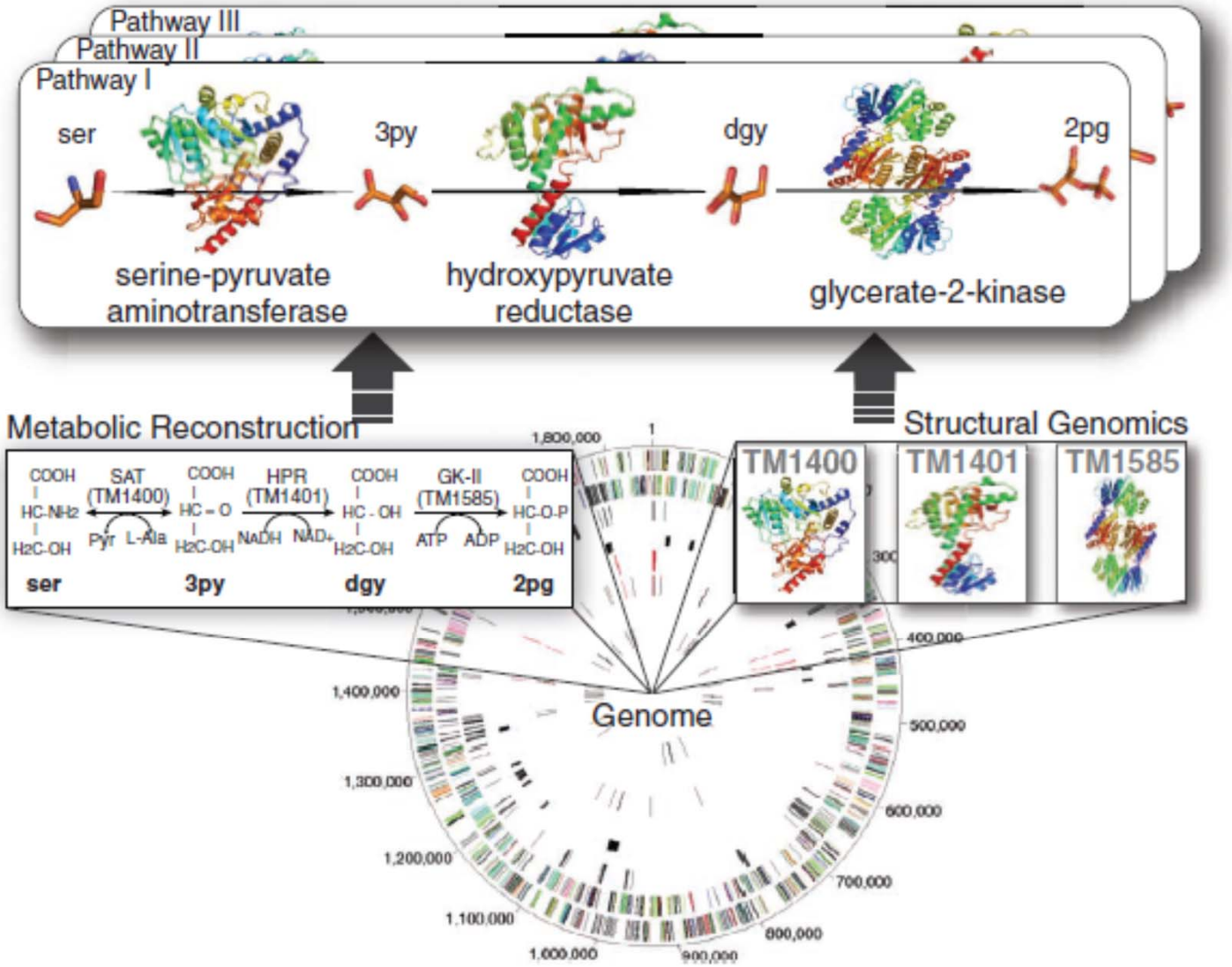
•разработка новых лекарств

Построение метаболической модели:

реконструкция метаболических путей:
построение общей схемы метаболических путей

математическое описание:
вывод уравнений скорости и построение системы уравнений в соответствии с метаболической картой

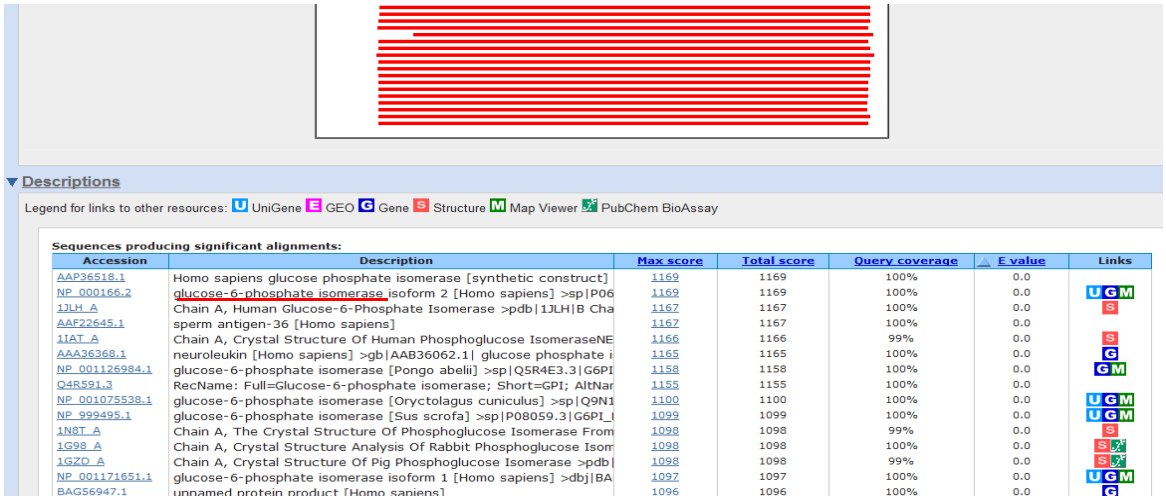
Реконструкция метаболических путей



Science **325**, 1544 (2009);

Пример аминокислотной последовательности

MAALTRDPQFQKLQQWYREHRSELNLRRLFDANKDRFNHFSLTLNTNHGHILVDYSKNLVTEDVMRMLVDLAKSRGVEAA
RERMFNGEKINYTEGRAVLHVALRNRSNTPILVDGKDVMPEVNKVLDKMKSFCQRVRSGDWKGYTGKTITDVINIGIGGSD
LGPLMVTEALKPYSSGGPRVWYVSNIDGTHIAKTLAQLNPESSLFIIASKTFTTQETITNAETAKEWFLQAAKDPSAVA
KHFVALSTNTTKVKEFGIDPQNMFEFWDWVGGRYSLWSAIGLSIALHVGFDNFEQLLSGAHWMDQHFRTTPLEKNAPVLL
ALLGIWYINCFGCETHAMLPYDQYLHRFAAYFQQGDMESNGKYITKSGTRVDHQTGPIVWGEPGTNGQHAFYQLIHQGT
KMIPCDFLIPVQTQHPIRKGLHHKILLANFLAQTEALMRGKSTEEARKELQAAGKSPEDLERLLPHKVFEGNRPTNSIVFT
KLTPFMLGALVAMYEHKIFVQGIIWDINSFDQWGVELGKQLAKKIEPELDGSAQVTSHDASTNGLINFIKQQREARVQ



BLAST База данных по сравнению последовательностей

фермент, соответствующий выбранной последовательности

glucose-6-phosphate isomerase

реакция, катализируемая ферментом

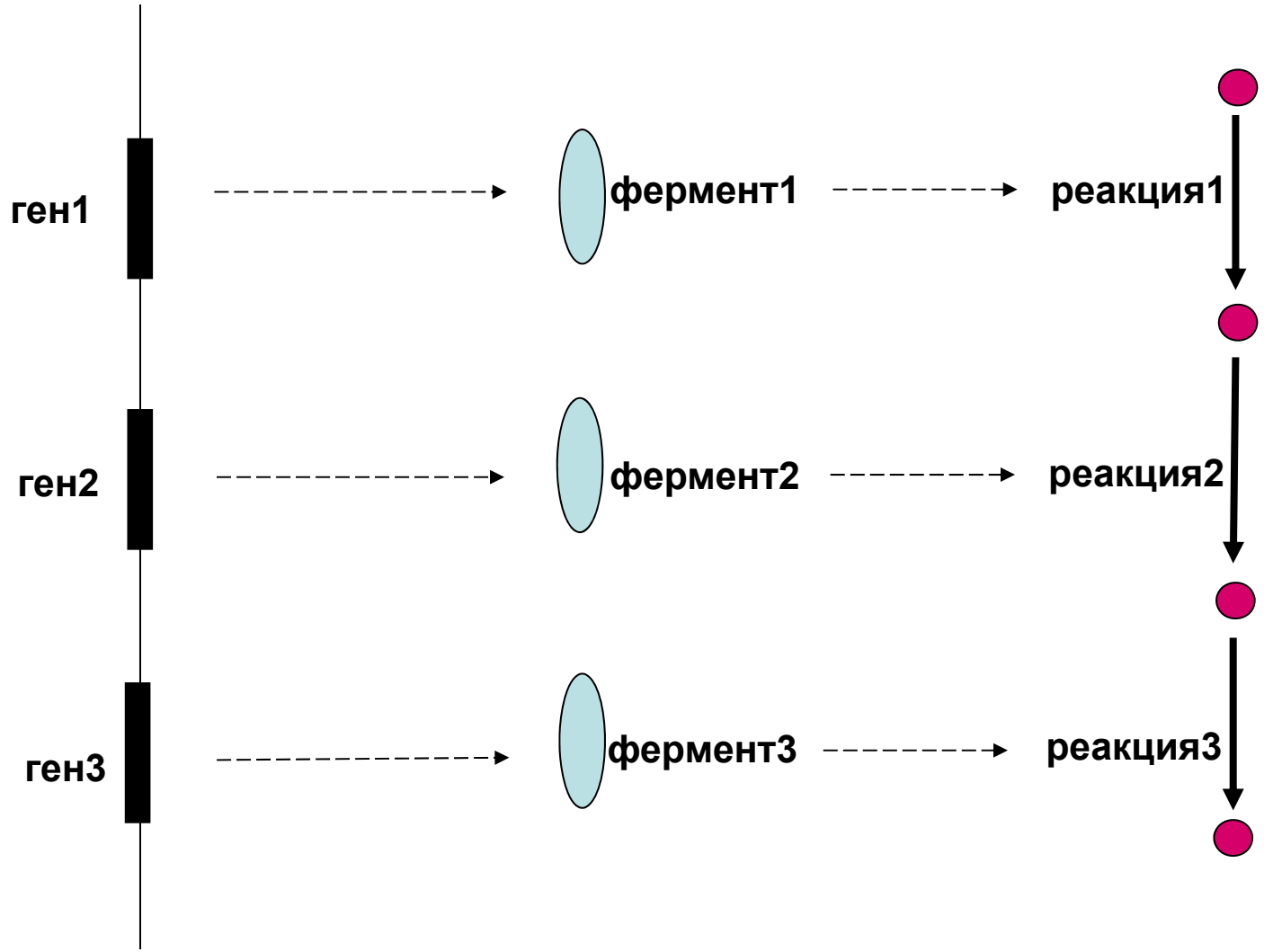
G6P → F6P

→ определение всех реакций метаболического пути

Геном
(совокупность генов)

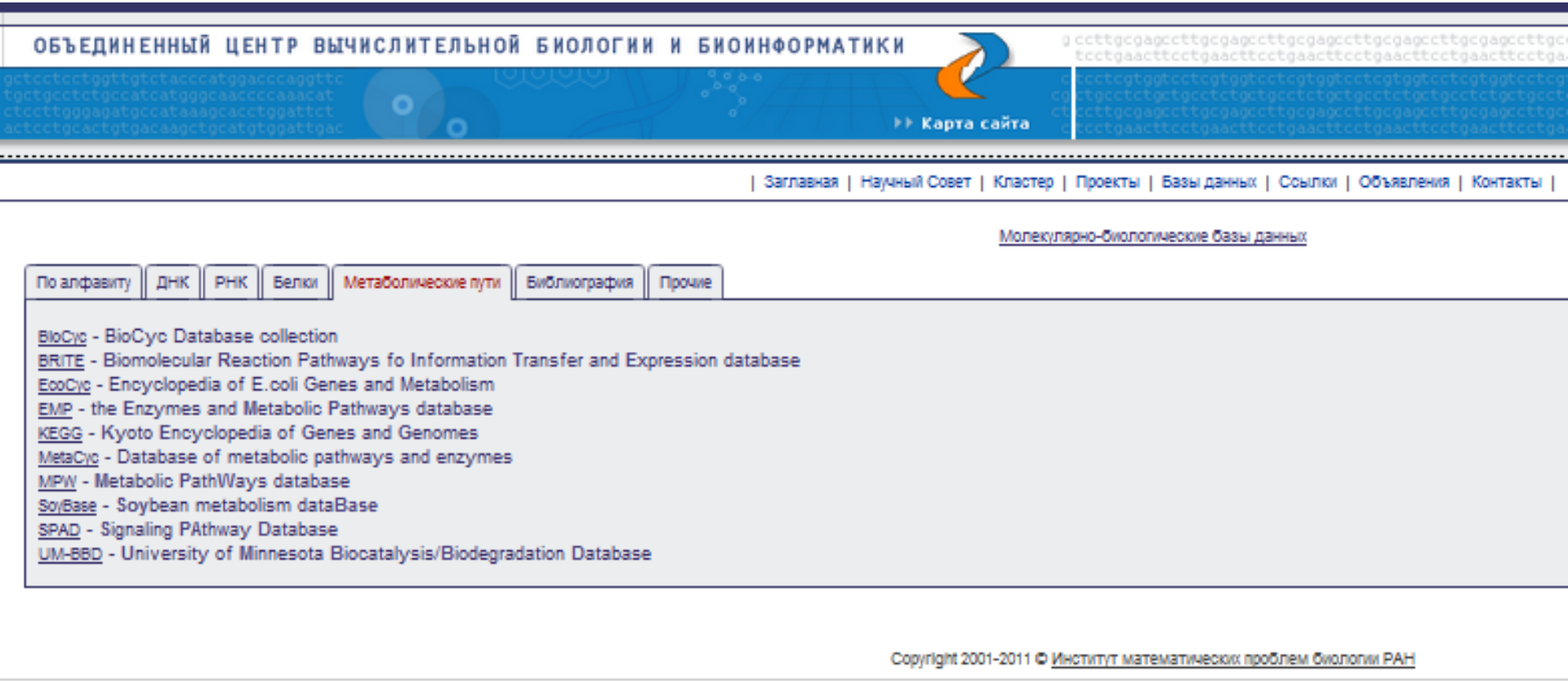
Протеом
(совокупность белков)

Метаболом
(совокупность метаболических реакций)



Молекулярно-биологические базы данных

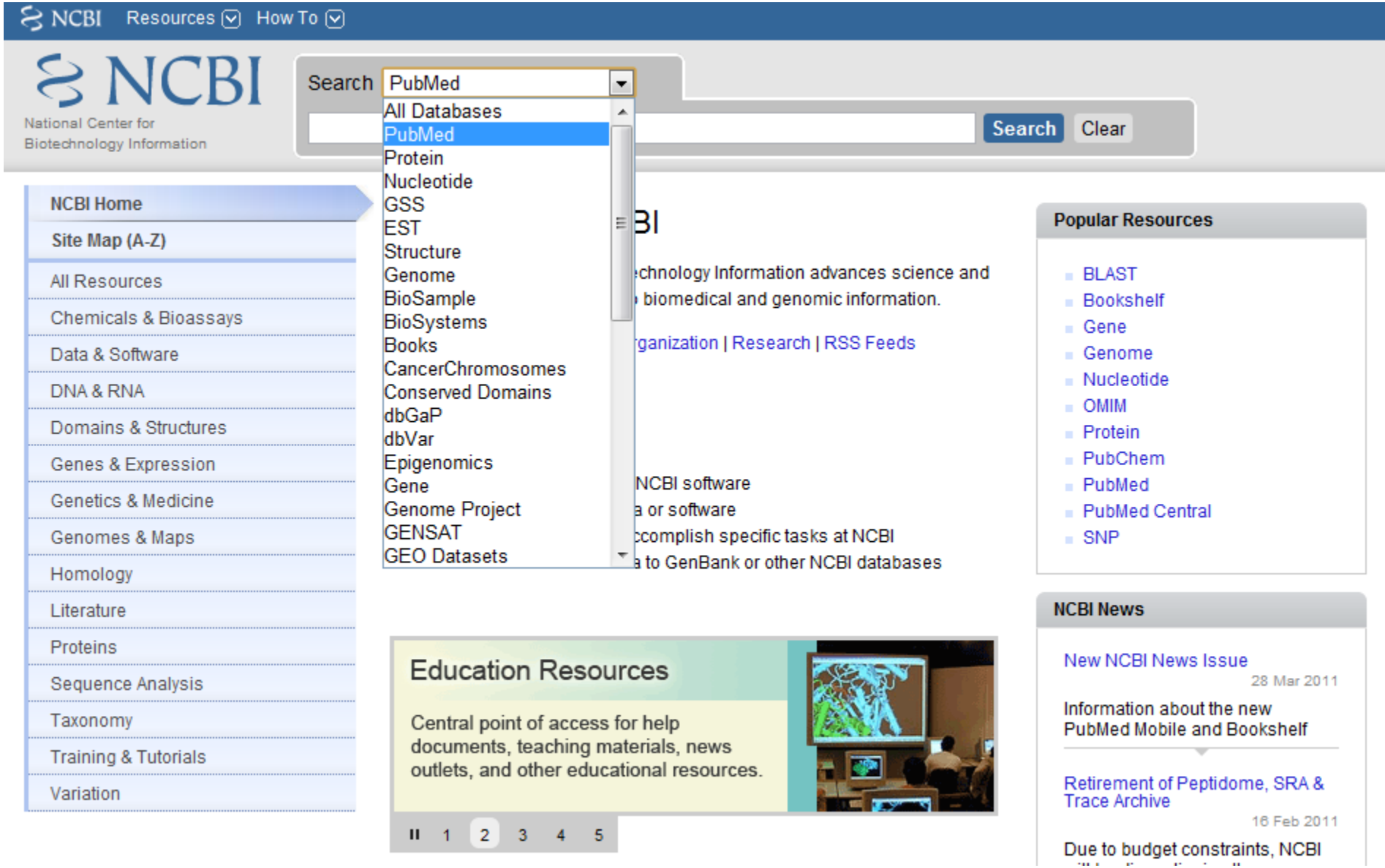
русскоязычный ресурс



NCBI Центр биотехнологической информации

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/

англоязычный ресурс



KEGG База данных по метаболическим путям

KEGG PATHWAY Database

Wiring diagrams of molecular interactions, reactions, and relations

KEGG2 PATHWAY BRITE MODULE DISEASE DRUG GENES GENOME LIGAND DBGET

Select prefix: map | Organism

Enter keywords: | Go | Help

Pathway Maps

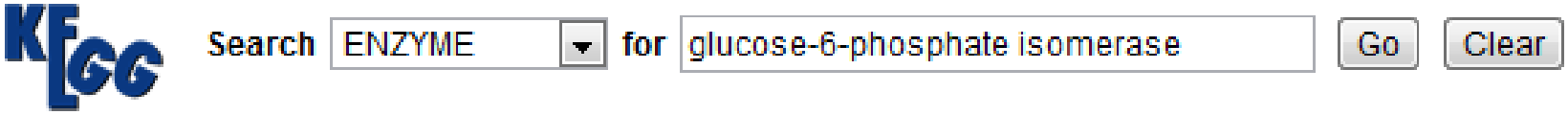
KEGG PATHWAY is a collection of manually drawn pathway maps (see new maps, change history, and last updates) representing our knowledge on the molecular interaction and reaction networks for:

0. Global Map
1. Metabolism
Carbohydrate Energy Lipid Nucleotide Amino acid Other amino acid Glycan
Cofactor/vitamin Terpenoid/PK Other secondary metabolite Xenobiotics Overview
2. Genetic Information Processing
3. Environmental Information Processing
4. Cellular Processes
5. Organismal Systems
6. Human Diseases

and also on the structure relationships (KEGG drug structure maps) in:

7. Drug Development

KEGG База данных по метаболическим путям



Database: ENZYME - Search term: glucose-6-phosphate isomerase (Total 1 hit)

5.3.1.9

glucose-6-phosphate isomerase; phosphohexose isomerase; phosphohexomutase; oxoisomerase; hexosephosphate isomerase; phosphosaccharomutase; phosphoglucoisomerase; phosphohexoisomerase; phosphoglucose isomerase; glucose phosphate isomerase; hexose pho • • •

DBGET integrated database retrieval system

KEGG База данных по метаболическим путям

KEGG

ENZYME: 5.3.1.9

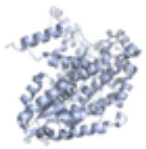
Help

Entry	EC 5.3.1.9 Enzyme
Name	glucose-6-phosphate isomerase; phosphohexose isomerase; phosphohexomutase; oxoisomerase; hexosephosphate isomerase; phosphosaccharomutase; phosphoglucoisomerase; phosphohexoisomerase; phosphoglucose isomerase; glucose phosphate isomerase; hexose phosphate isomerase; D-glucose-6-phosphate ketol-isomerase
Class	Isomerases; Intramolecular oxidoreductases; Interconverting aldoses and ketoses, and related compounds BRITE hierarchy
Sysname	D-glucose-6-phosphate aldose-ketose-isomerase
Reaction(IUBMB)	D-glucose 6-phosphate = D-fructose 6-phosphate [RN:R00771]
Reaction(KEGG)	R00771 > R02740 R03321; (other) R02739 Show all
Substrate	D-glucose 6-phosphate [CPD:C00092]
Product	D-fructose 6-phosphate [CPD:C00085]
Comment	Also catalyses the anomerization of D-glucose 6-phosphate.
Pathway	ec00010 Glycolysis / Gluconeogenesis ec00030 Pentose phosphate pathway ec00500 Starch and sucrose metabolism ec00520 Amino sugar and nucleotide sugar metabolism ec01100 Metabolic pathways ec01110 Biosynthesis of secondary metabolites ec01120 Microbial metabolism in diverse environments
Orthology	K01810 glucose-6-phosphate isomerase K06859 glucose-6-phosphate isomerase, archaeal K13810 transaldolase / glucose-6-phosphate isomerase
Genes	HSA: 2821(GPI) PTR: 455941(GPI) PON: 100174006(GPI) MCC: 717980

All links

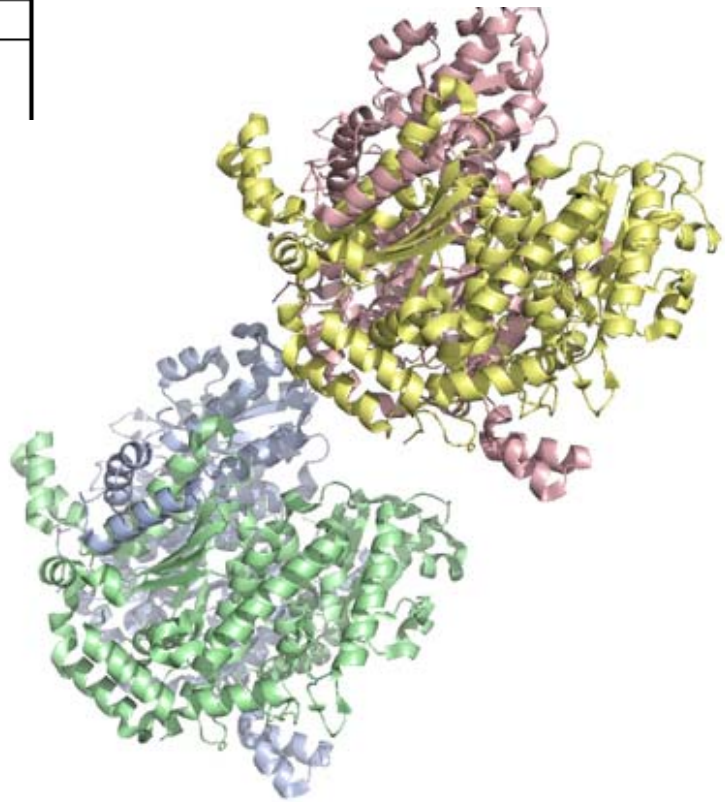
- Ontology (5)
  - KEGG BRITE (5)
- Pathway (8421)
  - KEGG PATHWAY (5587)
  - KEGG MODULE (2834)
- Disease (1)
  - OMIM (1)
- Chemical substance (5)
  - KEGG COMPOUND (5)
- Chemical reaction (14)
  - KEGG ENZYME (1)
  - KEGG REACTION (5)
  - KEGG RPAIR (4)
  - KEGG RCLASS (4)
- Genome (3)
  - KEGG GENOME (3)
- Gene (2209)
  - KEGG ORTHOLOGY (3)
  - KEGG GENES (1494)
  - KEGG DGENES (27)
  - KEGG EGENES (450)
  - KEGG MGENES (235)
- Protein sequence (6112)
  - UniProt (3930)
  - PRF (180)
  - RefSeq(pep) (1868)
  - PDBSTR (126)
  - PMD (8)
- DNA sequence (4921)
  - RefSeq(nuc) (1843)
  - GenBank (1541)
  - EMBL (1537)
- 3D Structure (64)
  - PDB (64)
- Protein domain (11)
  - InterPro (7)
  - Pfam (3)
  - PROSITE(DOC) (1)
- Literature (5)
  - PubMed (5)
- Enzyme (4)
  - BRENDA (1)
  - EXPASY-ENZYME (1)
  - EXPLORENZ (1)
  - IUBMB (1)
- All databases (21775)

KEGG База данных по метаболическим путям

	HPRD: 01394 Ensembl: ENSG00000105220 UniProt: P06744 B4DG39
Structure	PDB: 1IAT 1JIQ 1JLH 1IRI 1NUH Thumbnails  Jmol
Position	19q13.1
AA seq	558 aa AA seq DB search MAALTRDPQFQKLQQWYREHRSELNLRRLFDANKDRFNHFSLTLNTNHGHILVDYSKNLV

KEGG Homo sapiens (human) : 2821 5 PDB structures

PDB:1IAT	PDB:1JIQ	PDB:1JLH	PDB:1IRI	PDB:1NUH
1.62 Å	1.90 Å	2.10 Å	2.40 Å	2.51 Å
SO4 BME			E4P	SO4 PA5
Jmol	Jmol	Jmol	Jmol	Jmol



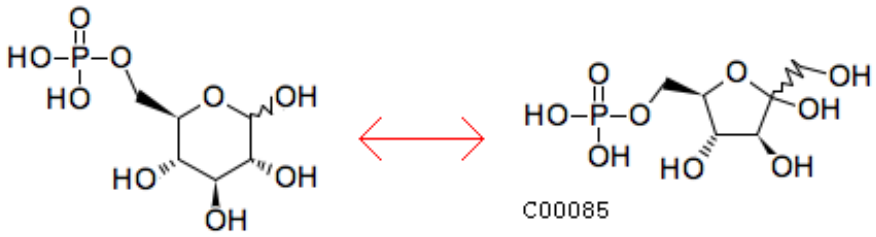
Определили структуру белка

KEGG База данных по метаболическим путям

KEGG

REACTION: R00771

Help

Entry	R00771 Reaction
Name	D-glucose-6-phosphate aldose-ketose-isomerase
Definition	D-Glucose 6-phosphate <=> D-Fructose 6-phosphate
Equation	C00092 <=> C00085
	 C00092 C00085
RPair	RP01093 C00085_C00092 main
Enzyme	5.3.1.9

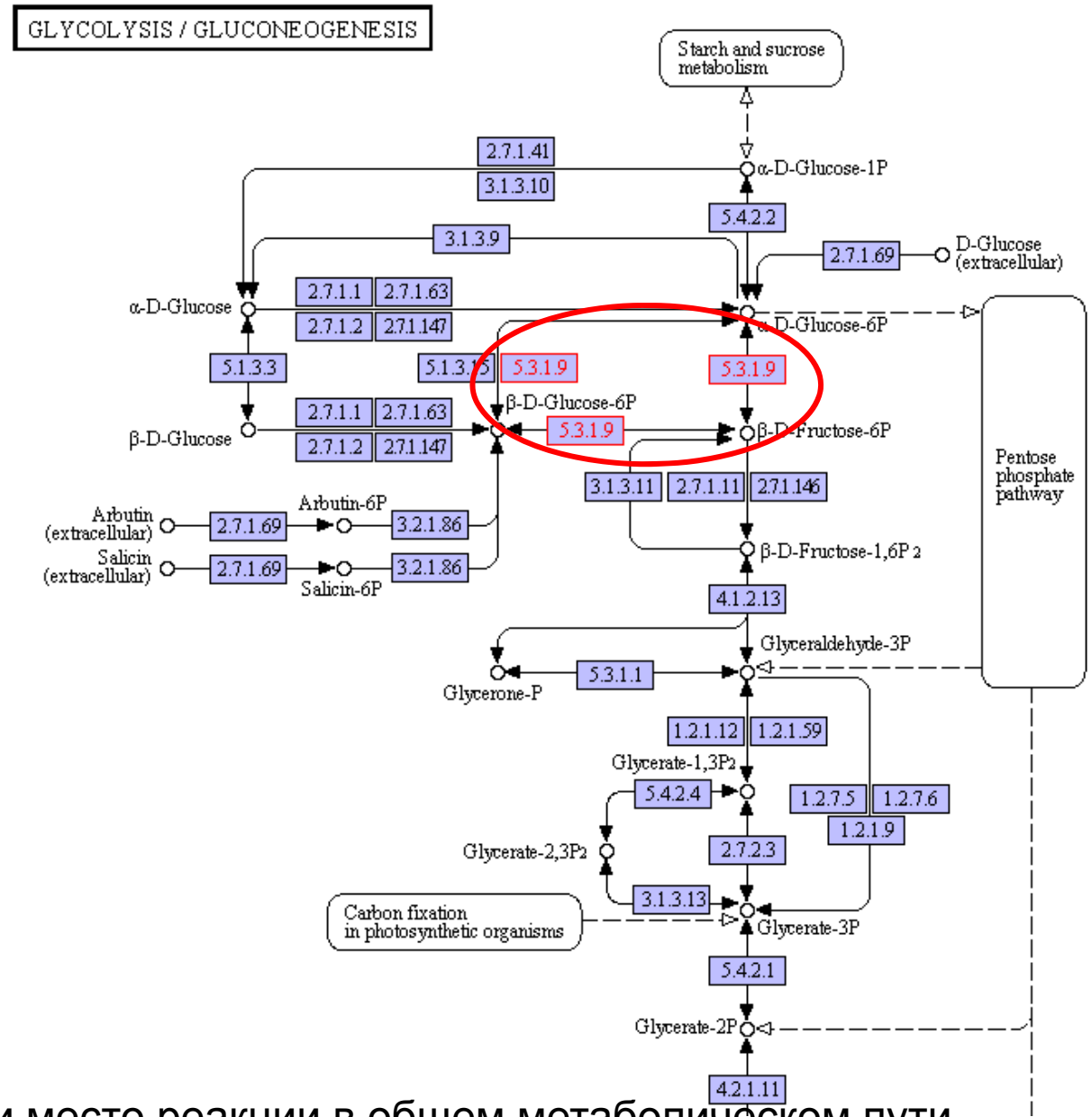
All links

Ontology (2)
KEGG BRITE (2)
Chemical substance (2)
KEGG COMPOUND (2)
Chemical reaction (3)
KEGG ENZYME (1)
KEGG RPAIR (1)
KEGG RCLASS (1)
All databases (7)

DBGET integrated database retrieval system

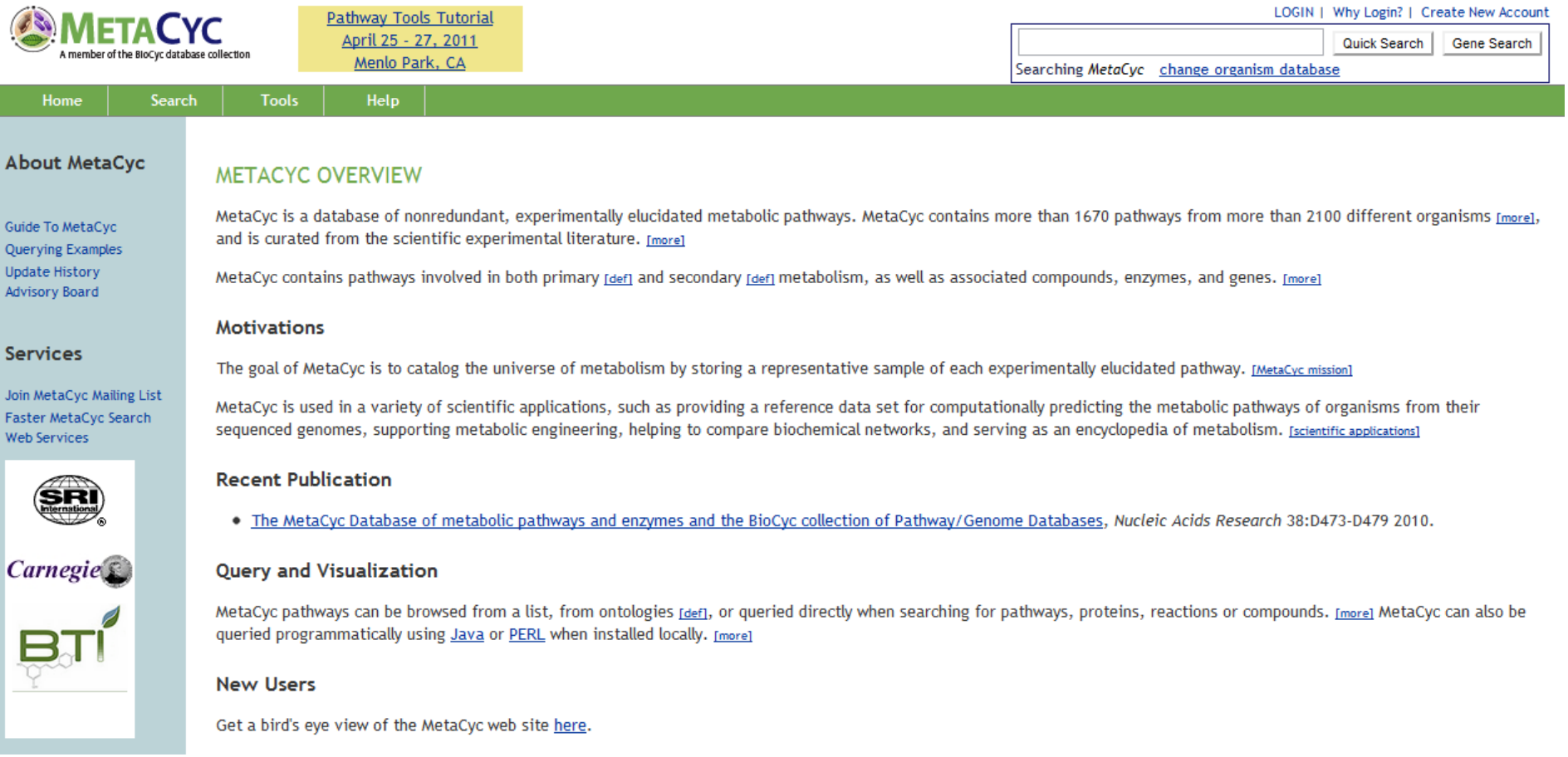
Определили метаболическую реакцию

KEGG База данных по метаболическим путям



Определили место реакции в общем метаболическом пути

MetaCyc База данных по метаболическим путям



MetaCyc База данных по метаболическим путям

Search Results for **glucose-6-phosphate isomerase**
using database *MetaCyc* what is this?

Alternative searches:
- Full text search for **glucose-6-phosphate isomerase** on all pages in this database using Google

Proteins (12) | Gene Ontology Terms (1) | Reactions (1)

Proteins Gene/Gene Product pages contain: chromosomal location of gene; depiction of its operon; link to genome browser; detailed summaries and citations; subunit structure (for protein complexes); cofactors, activators, and inhibitors (for enzymes), depiction of regulon (for transcriptional regulators), protein features.

- **glucose 6-phosphate isomerase** - *Mycoplasma pneumoniae*
- **glucose-6-phosphate isomerase** - *Bifidobacterium bifidum*
- **glucose-6-phosphate isomerase** - *Lactobacillus fermentum*
- **glucose-6-phosphate isomerase** - *Lactococcus lactis*
- **glucose-6-phosphate isomerase** - *Pisum sativum* (polypeptide)
- **glucose-6-phosphate isomerase** - *Pisum sativum* (protein complex)
- **glucose-6-phosphate isomerase** - *Saccharomyces cerevisiae*
- **glucose-6-phosphate isomerase** - *Spinacia oleracea*
- **glucose-6-phosphate isomerase** - *Thermotoga maritima*
- glucosamine-6-phosphate deaminase *(2-amino-2-deoxy-D-**glucose-6-phosphate** ketol **isomerase** (deaminating))* - *Escherichia coli*
- phosphoglucose isomerase *(**glucose-6-phosphate isomerase**)* - *Escherichia coli*
- phosphoglucose isomerase *(**glucose-6-phosphate isomerase**)* - *Pyrococcus furiosus*

Gene Ontology Terms GO term pages contain: Parent and child terms, and lists of matching gene products. Note that only those terms that have one or more associated genes in the selected organism (or that have children with one or more associated genes) are listed.

Molecular Function

- Class: GO:0004347 - glucose-6-phosphate isomerase activity

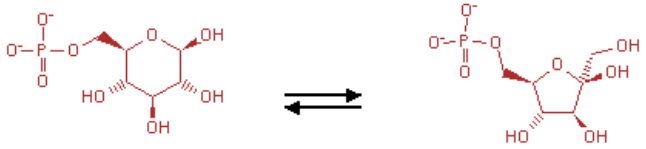
Reactions Reaction pages contain: reaction equation with chemical structures, links to all enzymes that catalyze the reaction, and all pathways in which the reaction participates.

- B-D-glucose-6-phosphate = D-fructose-6-phosphate *(**glucose-6-phosphate isomerase**)*

Определили реакцию

MetaCyc База данных по метаболическим путям

In Pathway: sorbitol biosynthesis I , starch biosynthesis , sucrose degradation IV , sucrose degradation III , heterolactic fermentation , gluconeogenesis I , formaldehyde oxidation I , glycolysis V (Pyrococcus) , glycolysis III , glycolysis I , GDP-mannose biosynthesis , Bifidobacterium shunt , homolactic fermentation , mannitol cycle , gluconeogenesis II (*Methanobacterium thermoautotrophicum*)



β-D-glucose-6-phosphate

D-fructose-6-phosphate

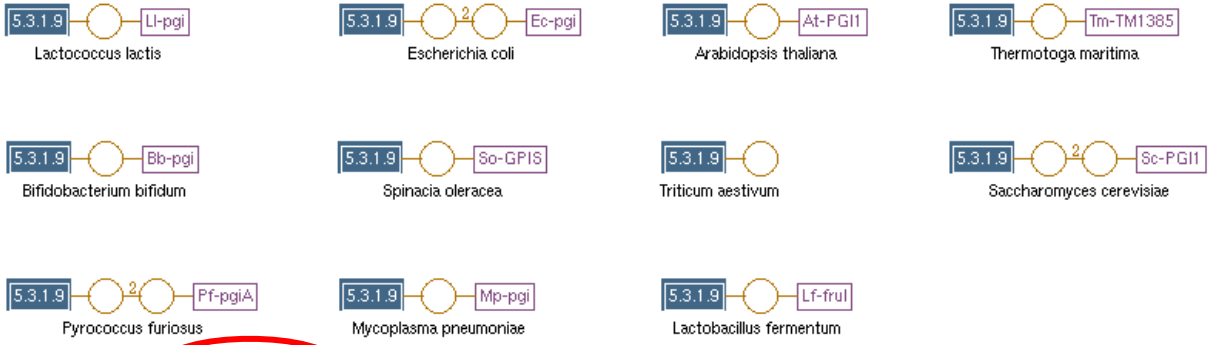
The reaction direction shown, that is, A + B <==> C + D versus C + D <==> A + B, is in accordance with the Enzyme Commission system.

Enzyme Commission Primary Name for this Reaction: glucose-6-phosphate isomerase

Enzyme Commission Synonyms for this Reaction: phosphohexose isomerase, phosphohexomutase, oxoisomerase, hexosephosphate isomerase, phosphosaccharomutase, phosphoglucoisomerase, phosphohexoisomerase, phosphoglucose isomerase, glucose phosphate isomerase, hexose phosphate isomerase, D-glucose-6-phosphate ketol-isomerase

$\Delta G^{0'}$ (kcal/mol): 0.4 KCAL/MOLE [Stryer88]

Gene-Reaction Schematic:



Unification Links: BRENDA:5.3.1.9 , ENZYME:5.3.1.9 , ExplorEnz:5.3.1.9 , KEGG:R00771

Relationship Links: UniProt:RELATED-TO:O25781 , UniProt:RELATED-TO:O61113 , UniProt:RELATED-TO:O82058 , UniProt:RELATED-TO:O82059 , UniProt:RELATED-TO:O83488 , UniProt:RELATED-TO:O84382 , UniProt:RELATED-TO:P06744 , UniProt:RELATED-TO:P06745 , UniProt:RELATED-TO:P08059 , UniProt:RELATED-TO:P0A6T1 , UniProt:RELATED-TO:P12341 , UniProt:RELATED-TO:P12709 , UniProt:RELATED-TO:P13375 , UniProt:RELATED-TO:P13376 , UniProt:RELATED-TO:P13377 , UniProt:RELATED-TO:P18240 , UniProt:RELATED-TO:P28718 , UniProt:RELATED-TO:P29333 , UniProt:RELATED-TO:P34796 , UniProt:RELATED-TO:P34797 , UniProt:RELATED-TO:P42862 , UniProt:RELATED-TO:P42863 , UniProt:RELATED-TO:P49105 , UniProt:RELATED-TO:P50309 , UniProt:RELATED-TO:P52983 , UniProt:RELATED-TO:P54240 , UniProt:RELATED-TO:P54242 , UniProt:RELATED-TO:P78033 , UniProt:RELATED-TO:P78917 , UniProt:RELATED-TO:P81181 , UniProt:RELATED-TO:Q7LZP0 , UniProt:RELATED-TO:Q9JSS6 , UniProt:RELATED-TO:Q9JTW1 , UniProt:RELATED-TO:Q9PMD4 , UniProt:RELATED-TO:Q9RMC1 , UniProt:RELATED-TO:Q9SB57 , UniProt:RELATED-TO:Q9X670 , UniProt:RELATED-TO:Q59000 , UniProt:RELATED-TO:Q59088

BRENDA База данных по белкам

http://www.brenda-enzymes.info/index.php4

PDB База данных по структуре белков

http://www.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?job=summary&pdbId=1iat

RCSB PDB PROTEIN DATA BANK

A MEMBER OF THE PDB

An Information Portal to Biological Macromolecular Structures

As of **Tuesday Mar 29, 2011 at 5 PM PDT** there are **72104** Structures | **PDB Statistics**

Contact Us | **Print**

PDB ID or Text | PDB ID lookup or Text search of the complete structure file | Search | Advanced Search

MyPDB Hide
- Login to your Account
- Register a New Account

Home Hide
- News & Publications
- Usage/Reference Policies
- Deposition Policies
- Website FAQ
- Deposition FAQ
- Contact Us
- About Us
- Careers
- External Links
- Sitemap
- New Website Features

Deposition Hide
- All Deposit Services
- Electron Microscopy
- X-ray | NMR
- Validation Server
- BioSync Beamline
- Related Tools

Search Hide
- Advanced Search
- Latest Release
- New Structure Papers
- Sequence Search
- Chemical Components
- Unreleased Entries
- Browse Database
- Histograms

Explorer:

Last Structure: 1IAT

Summary | Sequence | Annotations | Seq. Similarity | 3D Similarity | Literature | Biol. & Chem. | Methods | Geometry | Links

CRYSTAL STRUCTURE OF HUMAN PHOSPHOGLUCOSE ISOMERASE/NEUROLEUKIN/AUTOCRINE MOTILITY FACTOR/MATURATION FACTOR

1IAT

Display Files | Download Files | Share this Page

DOI:10.2210/pdb1iat/pdb

Primary Citation

The crystal structure of human phosphoglucose isomerase at 1.6 A resolution: implications for catalytic mechanism, cytokine activity and haemolytic anaemia.

Read, J., Pearce, J., Li, X., Muirhead, H., Chirgwin, J., Davies, C.

Journal: (2001) J.Mol.Biol. **309:** 447-463

PubMed: 11371164
DOI: 10.1006/jmbi.2001.4680
Search Related Articles in PubMed

PubMed Abstract:

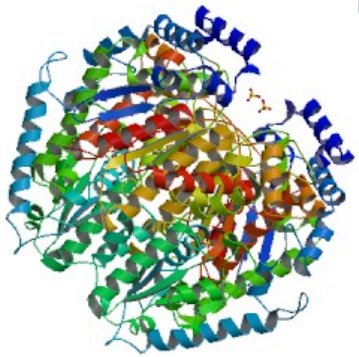
Phosphoglucose isomerase (PGI) is a multifunctional protein, which, inside the cell, functions as a housekeeping enzyme of glycolysis and gluconeogenesis and, outside the cell, exerts wholly unrelated cytokine properties. We have determined the structure of human PGI to a resolution...
[Read More & Search PubMed Abstracts]

Molecular Description Hide

Classification: Isomerase
Structure Weight: 63369.64

Molecule: PHOSPHOGLUCOSE ISOMERASE
Polymer: 1 **Type:** polypeptide(L) **Length:** 557
Chains: A

Biological Assembly

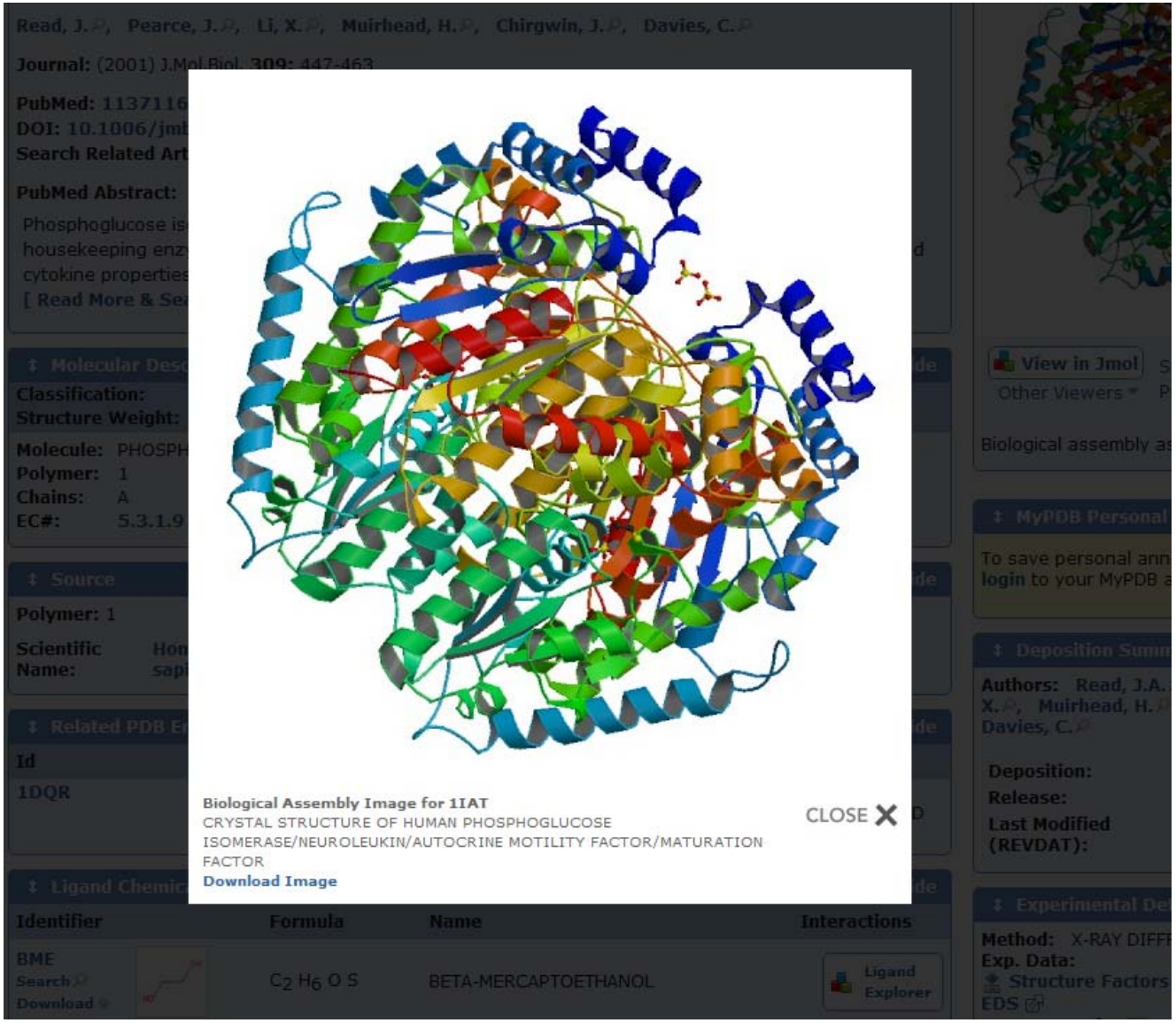


More Images...

View in Jmol | SimpleViewer | Other Viewers | Protein Workshop

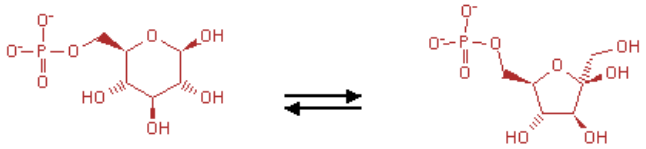
Biological assembly assigned by authors

PDB База данных по структуре белков



MetaCyc База данных по метаболическим путям

In Pathway: sorbitol biosynthesis I , starch biosynthesis , sucrose degradation IV , sucrose degradation III , heterolactic fermentation , gluconeogenesis I , formaldehyde oxidation I , glycolysis V (Pyrococcus) , glycolysis III , glycolysis I , GDP-mannose biosynthesis , Bifidobacterium shunt , homolactic fermentation , mannitol cycle , gluconeogenesis II (*Methanobacterium thermoautotrophicum*)



β-D-glucose-6-phosphate

D-fructose-6-phosphate

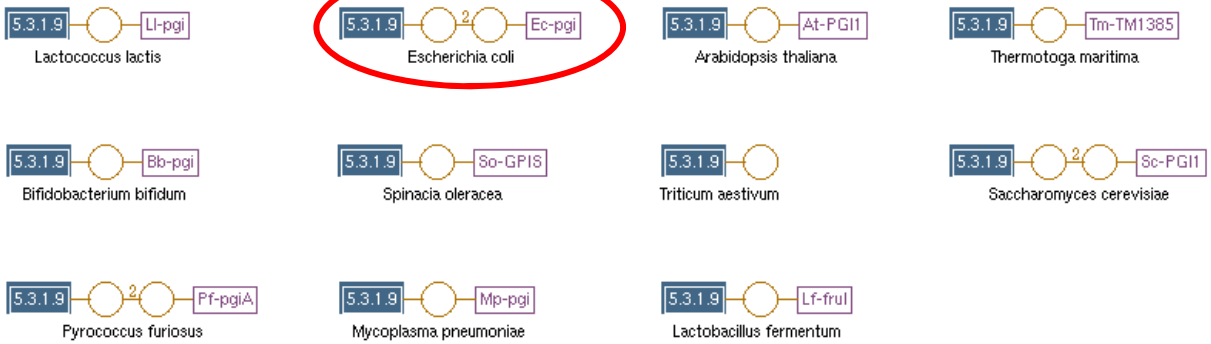
The reaction direction shown, that is, A + B <==> C + D versus C + D <==> A + B, is in accordance with the Enzyme Commission system.

Enzyme Commission Primary Name for this Reaction: glucose-6-phosphate isomerase

Enzyme Commission Synonyms for this Reaction: phosphohexose isomerase, phosphohexomutase, oxoisomerase, hexosephosphate isomerase, phosphosaccharomutase, phosphoglucoisomerase, phosphohexoisomerase, phosphoglucose isomerase, glucose phosphate isomerase, hexose phosphate isomerase, D-glucose-6-phosphate ketol-isomerase

$\Delta G^{0'}$ (kcal/mol): 0.4 KCAL/MOLE [Stryer88]

Gene-Reaction Schematic:



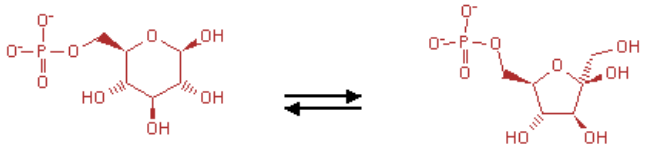
Unification Links: BRENDA:5.3.1.9 , ENZYME:5.3.1.9 , ExplorEnz:5.3.1.9 , KEGG:R00771

Relationship Links: UniProt:RELATED-TO:O25781 , UniProt:RELATED-TO:O61113 , UniProt:RELATED-TO:O82058 , UniProt:RELATED-TO:O82059 , UniProt:RELATED-TO:O83488 , UniProt:RELATED-TO:O84382 , UniProt:RELATED-TO:P06744 , UniProt:RELATED-TO:P06745 , UniProt:RELATED-TO:P08059 , UniProt:RELATED-TO:P0A6T1 , UniProt:RELATED-TO:P12341 , UniProt:RELATED-TO:P12709 , UniProt:RELATED-TO:P13375 , UniProt:RELATED-TO:P13376 , UniProt:RELATED-TO:P13377 , UniProt:RELATED-TO:P18240 , UniProt:RELATED-TO:P28718 , UniProt:RELATED-TO:P29333 , UniProt:RELATED-TO:P34796 , UniProt:RELATED-TO:P34797 , UniProt:RELATED-TO:P42862 , UniProt:RELATED-TO:P42863 , UniProt:RELATED-TO:P49105 , UniProt:RELATED-TO:P50309 , UniProt:RELATED-TO:P52983 , UniProt:RELATED-TO:P54240 , UniProt:RELATED-TO:P54242 , UniProt:RELATED-TO:P78033 , UniProt:RELATED-TO:P78917 , UniProt:RELATED-TO:P81181 , UniProt:RELATED-TO:Q7LZP0 , UniProt:RELATED-TO:Q9JSS6 , UniProt:RELATED-TO:Q9JTW1 , UniProt:RELATED-TO:Q9PMD4 , UniProt:RELATED-TO:Q9RMC1 , UniProt:RELATED-TO:Q9SB57 , UniProt:RELATED-TO:Q9X670 , UniProt:RELATED-TO:Q59000 , UniProt:RELATED-TO:Q59088

Выбрали интересующий организм

MetaCyc База данных по метаболическим путям

In Pathway: sorbitol biosynthesis I , starch biosynthesis , sucrose degradation IV , sucrose degradation III , heterolactic fermentation , gluconeogenesis I , formaldehyde oxidation I , glycolysis V (Pyrococcus) , glycolysis III , glycolysis I , GDP-mannose biosynthesis , Bifidobacterium shunt , homolactic fermentation , mannitol cycle , gluconeogenesis II (*Methanobacterium thermoautotrophicum*)



β-D-glucose-6-phosphate D-fructose-6-phosphate

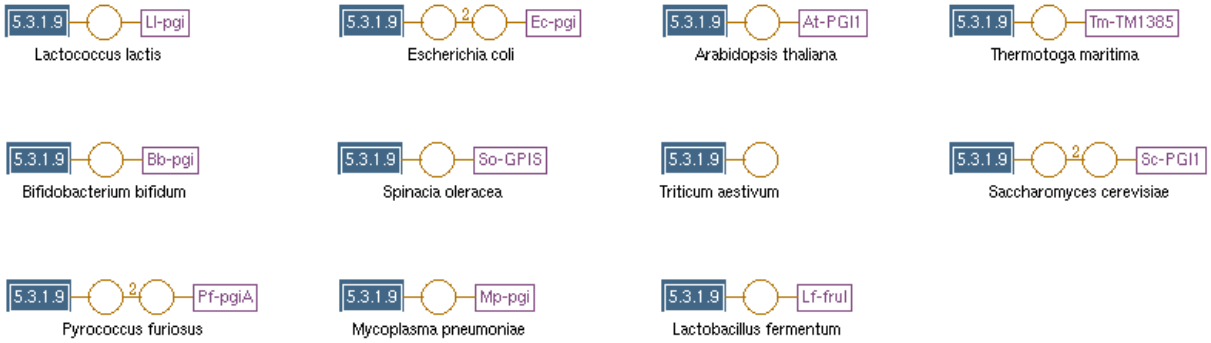
The reaction direction shown, that is, A + B <==> C + D versus C + D <==> A + B, is in accordance with the Enzyme Commission system.

Enzyme Commission Primary Name for this Reaction: glucose-6-phosphate isomerase

Enzyme Commission Synonyms for this Reaction: phosphohexose isomerase, phosphohexomutase, oxoisomerase, hexosephosphate isomerase, phosphosaccharomutase, phosphoglucoisomerase, phosphohexoisomerase, phosphoglucose isomerase, glucose phosphate isomerase, hexose phosphate isomerase, D-glucose-6-phosphate ketol-isomerase

$\Delta G^{0'}$ (kcal/mol): 0.4 KCAL/MOLE [Stryer88]

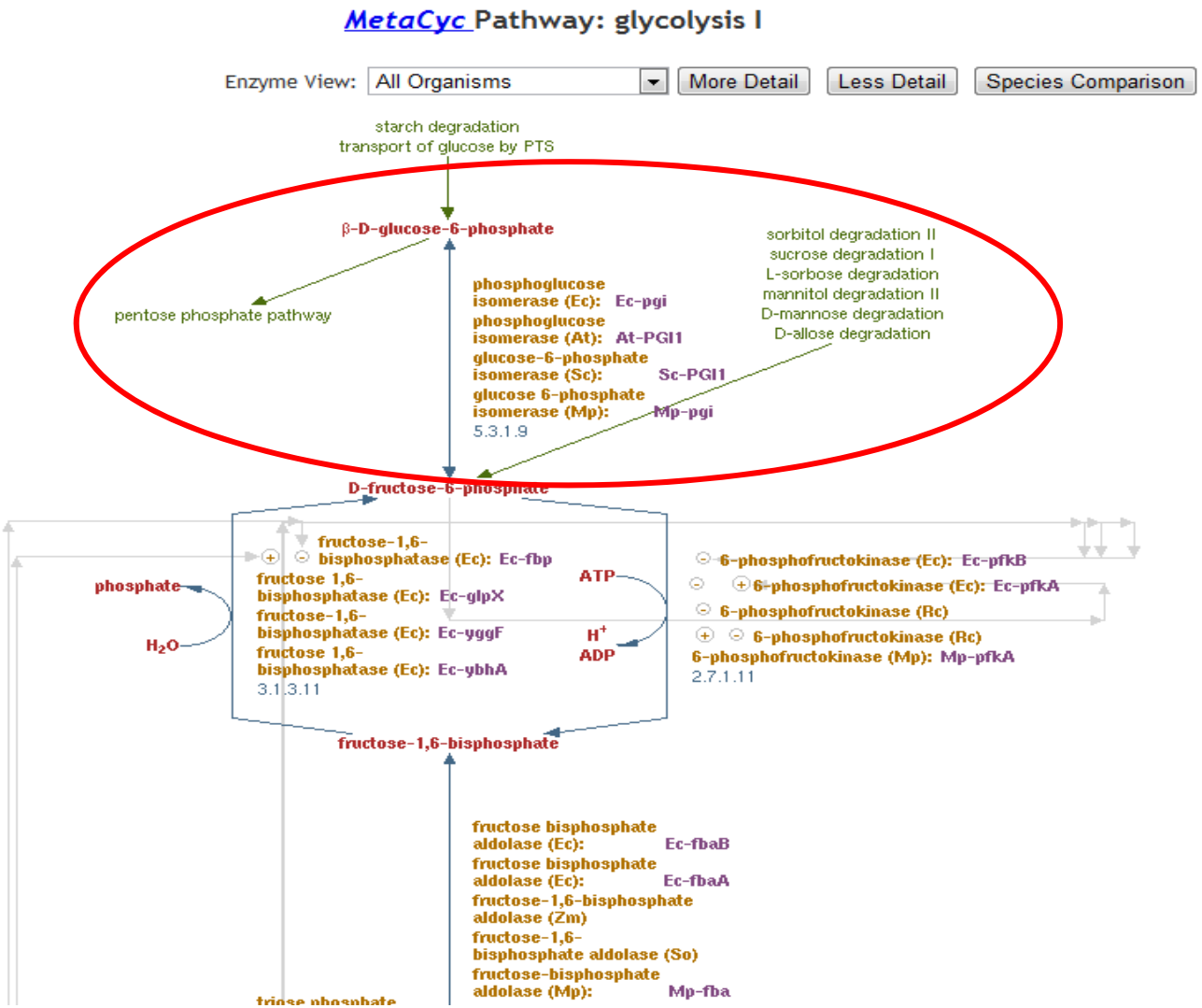
Gene-Reaction Schematic:



Unification Links: BRENDA:5.3.1.9 , ENZYME:5.3.1.9 , ExplorEnz:5.3.1.9 , KEGG:R00771

Relationship Links: UniProt:RELATED-TO:O25781 , UniProt:RELATED-TO:O61113 , UniProt:RELATED-TO:O82058 , UniProt:RELATED-TO:O82059 , UniProt:RELATED-TO:O83488 , UniProt:RELATED-TO:O84382 , UniProt:RELATED-TO:P06744 , UniProt:RELATED-TO:P06745 , UniProt:RELATED-TO:P08059 , UniProt:RELATED-TO:P0A6T1 , UniProt:RELATED-TO:P12341 , UniProt:RELATED-TO:P12709 , UniProt:RELATED-TO:P13375 , UniProt:RELATED-TO:P13376 , UniProt:RELATED-TO:P13377 , UniProt:RELATED-TO:P18240 , UniProt:RELATED-TO:P28718 , UniProt:RELATED-TO:P29333 , UniProt:RELATED-TO:P34796 , UniProt:RELATED-TO:P34797 , UniProt:RELATED-TO:P42862 , UniProt:RELATED-TO:P42863 , UniProt:RELATED-TO:P49105 , UniProt:RELATED-TO:P50309 , UniProt:RELATED-TO:P52983 , UniProt:RELATED-TO:P54240 , UniProt:RELATED-TO:P54242 , UniProt:RELATED-TO:P78033 , UniProt:RELATED-TO:P78917 , UniProt:RELATED-TO:P81181 , UniProt:RELATED-TO:Q7LZP0 , UniProt:RELATED-TO:Q9JSS6 , UniProt:RELATED-TO:Q9JTW1 , UniProt:RELATED-TO:Q9PMD4 , UniProt:RELATED-TO:Q9RMC1 , UniProt:RELATED-TO:Q9SB57 , UniProt:RELATED-TO:Q9X670 , UniProt:RELATED-TO:Q59000 , UniProt:RELATED-TO:Q59088

MetaCyc База данных по метаболическим путям



Определили место реакции в метаболическом пути

Построение метаболической модели

"The simplest living cell is so complex that supercomputer models may never simulate its behavior perfectly.
But even imperfect models could shake the foundations of biology."

W.Wayt Gibbs. Scientific American, 2001

«Простейшая клетка настолько сложна, что даже моделирование на суперкомпьютерах никогда не воспроизведет ее поведение в совершенстве.
Но даже несовершенные модели могут потрясти основы биологии.»

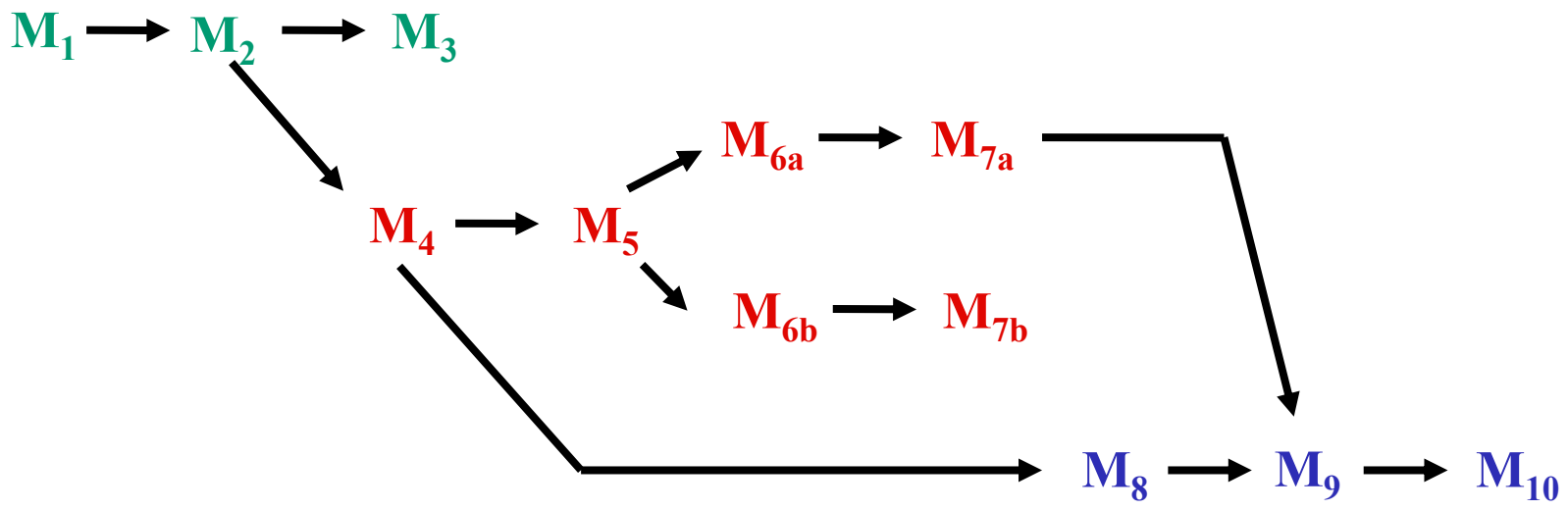
Теоретические подходы и концепции метаболического моделирования

Классический системный подход

1. выделить элементарные единицы системы
2. охарактеризовать все значимые взаимодействия между единицами
3. организовать единицы как иерархию взаимодействующих модулей
4. описать состояние каждой единицы и каждого взаимодействия количественно

Как строятся метаболические модели

1. Метаболическая реакция добавляется, убирается или заменяется на другую.
2. Механизм реакции усложняется, упрощается, заменяется другим.
3. Неизвестные кинетические параметры оцениваются с помощью фитирования.



Типы метаболических моделей

кинетические модели – системы ОДУ

- (~10-50 уравнений, ~100-500 параметров)
- переменная модели - метаболит
- описание отдельных метаболических путей
- решение модели – динамическое поведение метаболитов во времени

стехиометрические (потоковые) модели – системы линейных алгебраических уравнений

- (~100-1000 уравнений)
- переменная модели – метаболический поток
- описание метаболизма целой клетки
- решение модели – стационарное распределение метаболических потоков

Представление скорости реакции

В соответствии с законом действующих масс

(скорость реакции пропорциональна вероятности столкновения реагентов, а вероятность в свою очередь пропорциональна концентрации реагентов с учетом молекулярности реакции)

Для реакции $S_1 + S_2 \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} 2P$

$$v = k_1 S_1 S_2 - k_{-1} P^2 = v_+ - v_-$$

v - общая скорость реакции

v_+ - скорость прямой реакции

v_- - скорость обратной реакции

В общем виде:

$$v = v_+ - v_- = k_+ \prod_i S_i^{m_i} - k_i \prod_j P_j^{m_j}$$

m_i и m_j соответсвуют молекулярности S_i и P_j

Скорость реакции может быть выражена как через **концентрации** реагирующих веществ, так и в виде баланса **скоростей** прямых и обратных реакций.

Стехиометрические коэффициенты

Стехиометрические коэффициенты обозначают пропорции субстратов и продуктов, участвующих в реакции.

Пример: $S_1 + S_2 \overset{v}{\rightleftarrows} 2P$

Стехиометрические коэффициенты для S_1 S_2 и P: -1, -1 и 2.

Набор стехиометрических коэффициентов не единственен:

если считать, что для получения одного моля используется по половине моля каждого субстрата S_1 и S_2, можно записать: -1/2, -1/2 и 1;

или если изменить направление реакции, тогда можно записать: 1,1 и -2.

ОДУ для одной и нескольких реакций

для реакции $S_1 + S_2 \overset{v}{\rightleftarrows} 2P$ $\quad v = v_+ - v_-$

имеем ОДУ:

$$\frac{dS_1}{dt} = \frac{dS_2}{dt} = -v$$

$$\frac{dP}{dt} = 2v$$

убыль субстрата S_1 со скоростью v сопровождается убылью субстрата S_2 с той же скоростью и удвоенной скоростью увеличения концентрации продукта P

Для метаболической сети, состоящей из *m* метаболитов и *r* реакций, динамика системы описывается системой *m* уравнений.

Уравнения наз. уравнениями баланса, поскольку рассматривается баланс между синтезом и распадом метаболита:

$$\frac{dS_i}{dt} = \sum_{j=1}^{r} n_{ij} v_j$$

$$i = 1,\ldots,m$$

n_{ij} – стехиометрические коэффициенты метаболита *i* в реакции *j*

Данные для верификации метаболической модели

1. Многие (но не все) внутриклеточные концентрации метаболитов могут быть измерены.
2. В стационарном состоянии большинство метаболических потоков может быть определено с помощью изотопа ^{13}C.
3. Активности ферментов могут быть определены из клеточных экстрактов.
4. Кинетические константы большинства ферментов собраны в базы данных.

Количественные знания ограничены

1. Существует большая разница между дискретными данными, получаемыми в экспериментах и непрерывными физиологическими процессами.
2. Принципиальное ограничение доступной информации.
3. Данные о некоторых важных клеточных процессах отсутствуют.
4. Данные собираются для разных штаммов разных организмов в разных экспериментальных условиях.

Кинетические модели

- построение схемы метаболического пути

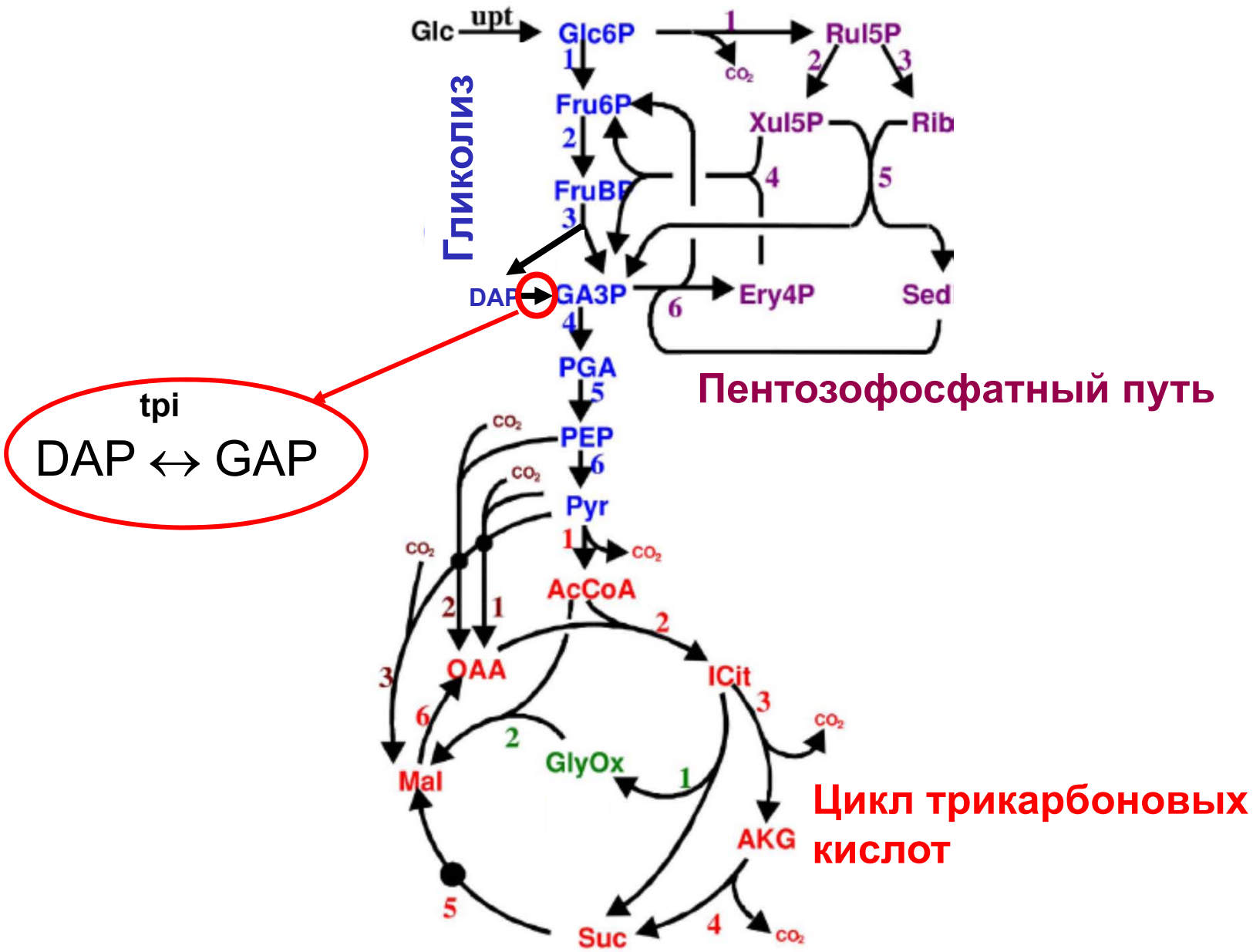
- вывод уравнения скорости для каждой реакции

- объединение в систему дифференциальных уравнений

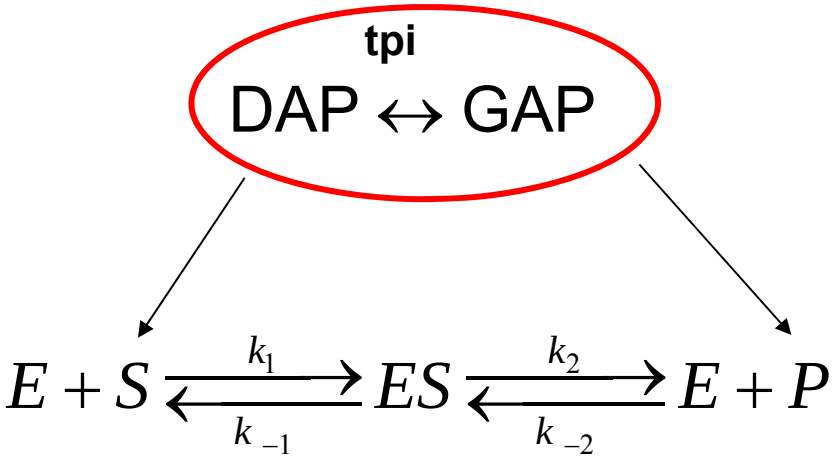
-подбор параметров

-верификация модели по экспериментальным данным

Центральные метаболические пути

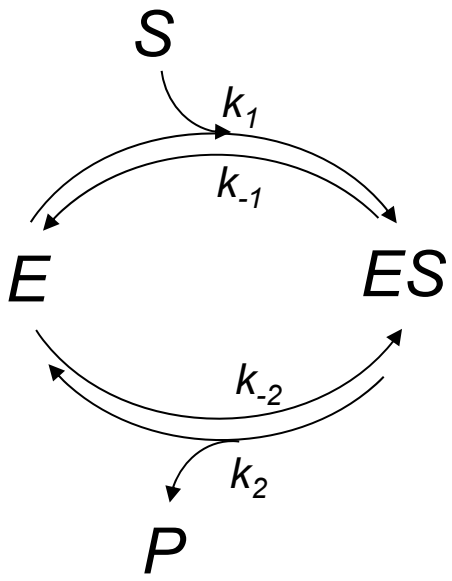


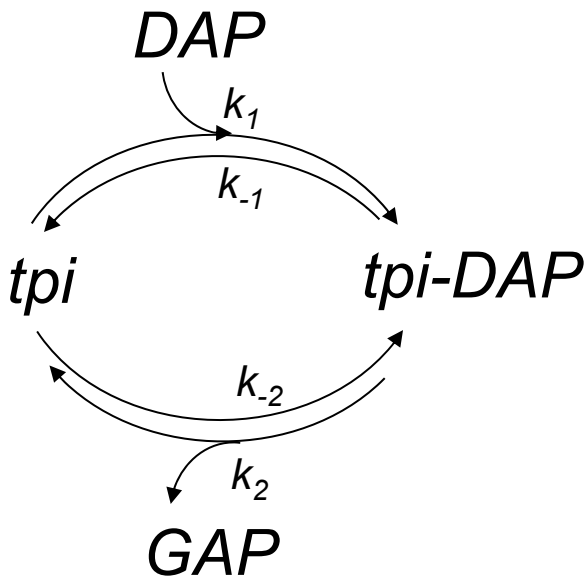
Вывод уравнения скорости



Кинетическая схема взаимодействия субстрата и продукта с ферментом

Каталитический цикл фермента





Вывод уравнения скорости
Метод квази-стационарных концентраций

Кинетическая схема взаимодействия субстрата и продукта с ферментом:

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} ES \underset{k_{-2}}{\overset{k_2}{\rightleftarrows}} E + P$$

Соответствующая система дифференциальных уравнений:

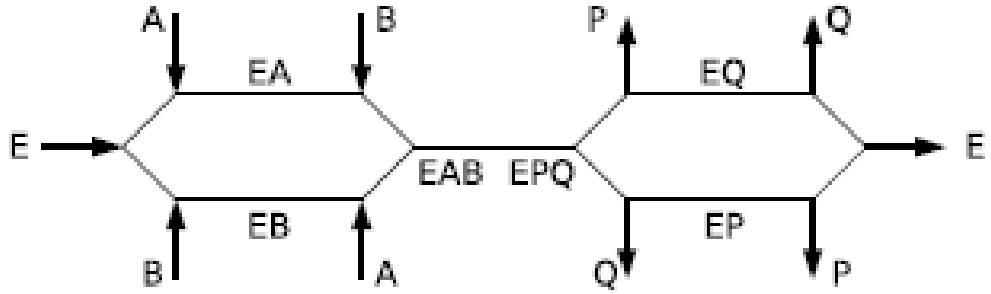
$$\left.\begin{aligned} \frac{dS}{dt} &= -k_1 \cdot S \cdot E + k_{-1} \cdot ES \\ \frac{dP}{dt} &= k_2 \cdot ES - k_{-2} \cdot E \cdot P \end{aligned}\right\}$$ медленные переменные

$$\left.\begin{aligned} \frac{dE}{dt} &= -k_1 \cdot S \cdot E + k_{-1} \cdot ES + k_2 \cdot ES - k_{-2} \cdot E \cdot P \\ \frac{dES}{dt} &= k_1 \cdot S \cdot E - k_{-1} \cdot ES - k_2 \cdot ES + k_{-2} \cdot E \cdot P \end{aligned}\right\}$$ быстрые переменные

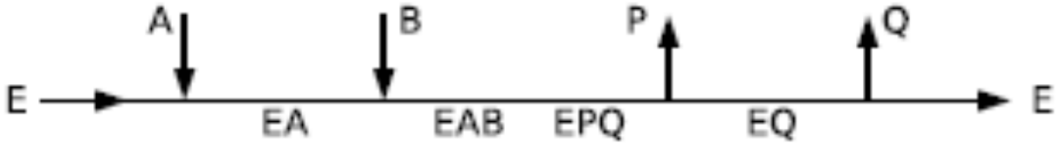
Уравнение скорости:

$$\frac{dP}{dt} = -\frac{dS}{dt} = V = E_0 \frac{k_2 \frac{S}{K_m^S} - k_{-2} \frac{P}{K_m^P}}{1 + \frac{S}{K_m^S} + \frac{P}{K_m^P}}$$

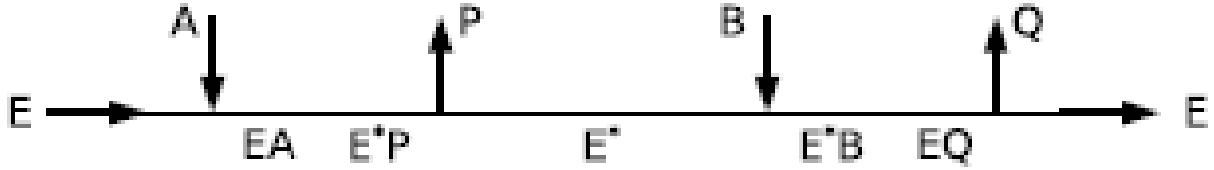
Классификация реакций (Cleland 1963)



Random Bi Bi Mechanism



Sequential Bi Bi Mechanism

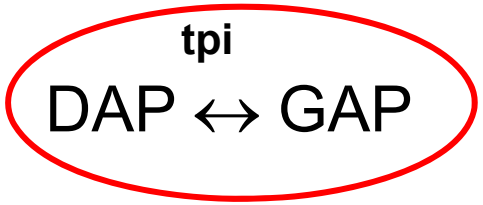


Ping-Pong Mechanism

Как выводится уравнение скорости в случае более, чем одного субстрата и продукта?

Определение констант скорости

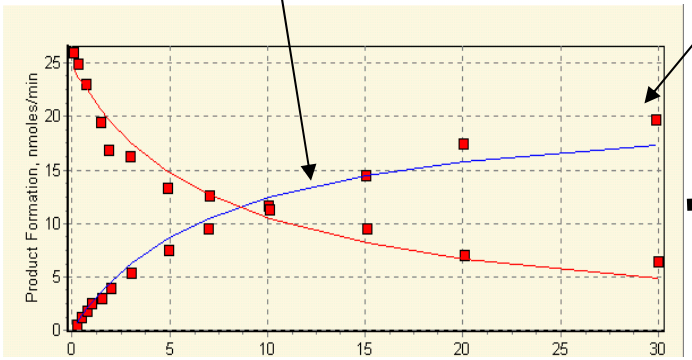
для триозофосфат изомеразы (tpi)



$$V = E_0 \frac{k_2 \frac{C_{DAP}}{K_m^{DAP}} - k_{-2} \frac{C_{GAP}}{K_m^{GAP}}}{1 + \frac{C_{DAP}}{K_m^{DAP}} + \frac{C_{GAP}}{K_m^{GAP}}}$$

фитирование методом наименьших квадратов

экспериментальные точки



$K_m^{DAP} = 2.3$ mM

$K_m^{GAP} = 1.5$ mM

$k_2 = 45000$ 1/min,

$k_{-2} = 520000$ 1/min

константы Михаэлиса для субстрата и продукта

каталитические константы для прямой и обратной реакций (число оборотов фермента)

базы данных

MetaCyc База данных по метаболическим путям

Enzymatic reaction of: phosphoglucose isomerase

Synonyms: glucose-6-phosphate isomerase, D-glucose-6-phosphate-ketol-isomerase

ß-D-glucose-6-phosphate <=> D-fructose-6-phosphate

The reaction direction shown, that is, A + B <==> C + D versus C + D <==> A + B, is in accordance with the direction of enzyme catalysis.

This reaction is reversible. [Ishii07]

In Pathways: gluconeogenesis I , glycolysis I , GDP-mannose biosynthesis

Summary:
The equilibrium constant for the reaction is 0.30 [Ishii07].

Citations: [Klungsoyr64]

Inhibitors (Competitive): phosphoenolpyruvate [Ogawa07]

Inhibitors (Unknown Mechanism): 6-phospho-D-gluconate [Schreyer80]

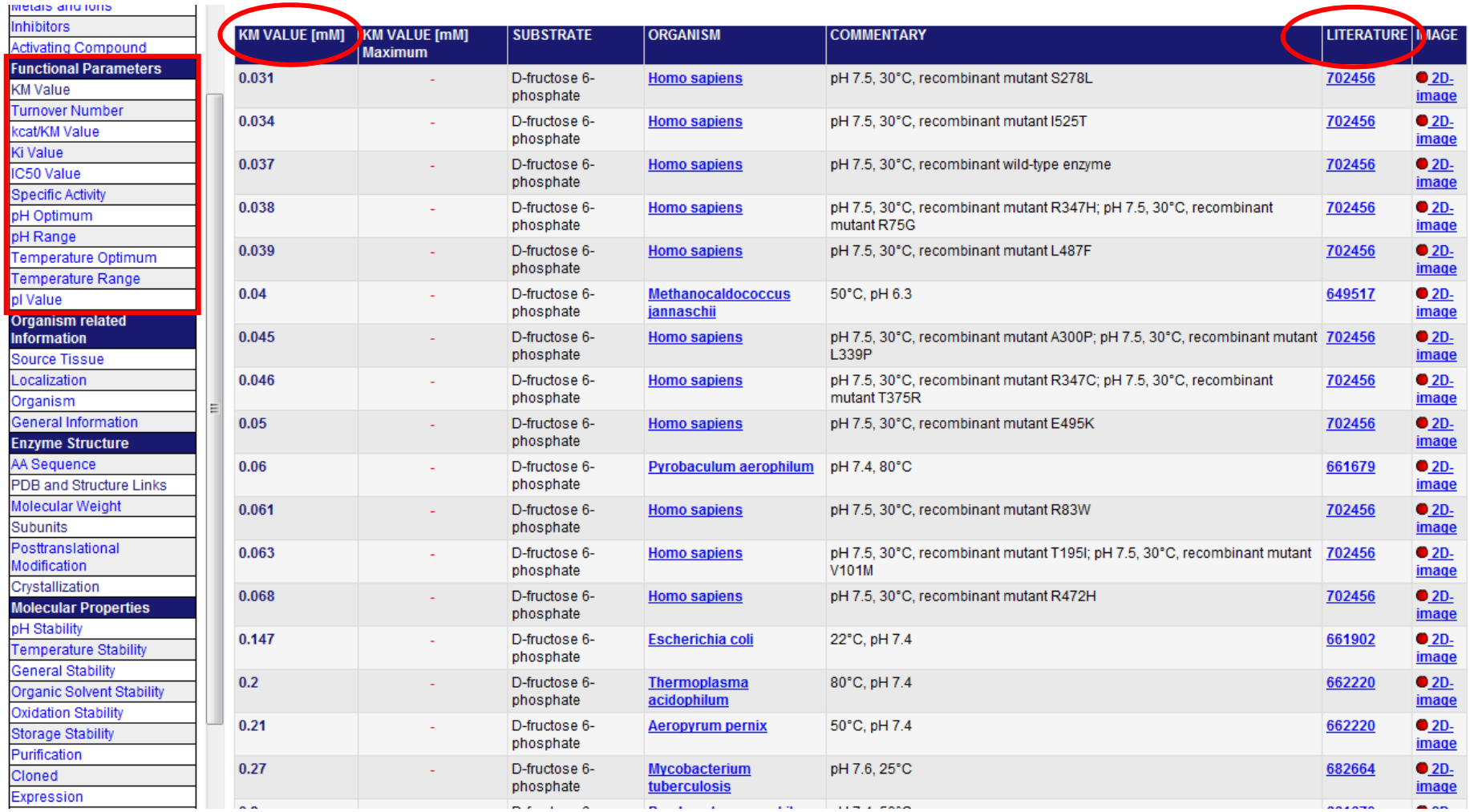
K_M for D-fructose-6-phosphate: 78 µM [Ogawa07]

K_M for ß-D-glucose-6-phosphate: 1018 µM [Ogawa07]

$pH_{(opt)}$: 8 [Schreyer80]

Определили кинетические константы для уравнения скорости для *E.coli*

BRENDA База данных по белкам



- Metals and Ions
- Inhibitors
- Activating Compound
- **Functional Parameters**
- KM Value
- Turnover Number
- kcat/KM Value
- Ki Value
- IC50 Value
- Specific Activity
- pH Optimum
- pH Range
- Temperature Optimum
- Temperature Range
- pI Value
- **Organism related Information**
- Source Tissue
- Localization
- Organism
- General Information
- **Enzyme Structure**
- AA Sequence
- PDB and Structure Links
- Molecular Weight
- Subunits
- Posttranslational Modification
- Crystallization
- **Molecular Properties**
- pH Stability
- Temperature Stability
- General Stability
- Organic Solvent Stability
- Oxidation Stability
- Storage Stability
- Purification
- Cloned
- Expression

KM VALUE [mM]	KM VALUE [mM] Maximum	SUBSTRATE	ORGANISM	COMMENTARY	LITERATURE	IMAGE
0.031	-	D-fructose 6-phosphate	Homo sapiens	pH 7.5, 30°C, recombinant mutant S278L	702456	2D-image
0.034	-	D-fructose 6-phosphate	Homo sapiens	pH 7.5, 30°C, recombinant mutant I525T	702456	2D-image
0.037	-	D-fructose 6-phosphate	Homo sapiens	pH 7.5, 30°C, recombinant wild-type enzyme	702456	2D-image
0.038	-	D-fructose 6-phosphate	Homo sapiens	pH 7.5, 30°C, recombinant mutant R347H; pH 7.5, 30°C, recombinant mutant R75G	702456	2D-image
0.039	-	D-fructose 6-phosphate	Homo sapiens	pH 7.5, 30°C, recombinant mutant L487F	702456	2D-image
0.04	-	D-fructose 6-phosphate	Methanocaldococcus jannaschii	50°C, pH 6.3	649517	2D-image
0.045	-	D-fructose 6-phosphate	Homo sapiens	pH 7.5, 30°C, recombinant mutant A300P; pH 7.5, 30°C, recombinant mutant L339P	702456	2D-image
0.046	-	D-fructose 6-phosphate	Homo sapiens	pH 7.5, 30°C, recombinant mutant R347C; pH 7.5, 30°C, recombinant mutant T375R	702456	2D-image
0.05	-	D-fructose 6-phosphate	Homo sapiens	pH 7.5, 30°C, recombinant mutant E495K	702456	2D-image
0.06	-	D-fructose 6-phosphate	Pyrobaculum aerophilum	pH 7.4, 80°C	661679	2D-image
0.061	-	D-fructose 6-phosphate	Homo sapiens	pH 7.5, 30°C, recombinant mutant R83W	702456	2D-image
0.063	-	D-fructose 6-phosphate	Homo sapiens	pH 7.5, 30°C, recombinant mutant T195I; pH 7.5, 30°C, recombinant mutant V101M	702456	2D-image
0.068	-	D-fructose 6-phosphate	Homo sapiens	pH 7.5, 30°C, recombinant mutant R472H	702456	2D-image
0.147	-	D-fructose 6-phosphate	Escherichia coli	22°C, pH 7.4	661902	2D-image
0.2	-	D-fructose 6-phosphate	Thermoplasma acidophilum	80°C, pH 7.4	662220	2D-image
0.21	-	D-fructose 6-phosphate	Aeropyrum pernix	50°C, pH 7.4	662220	2D-image
0.27	-	D-fructose 6-phosphate	Mycobacterium tuberculosis	pH 7.6, 25°C	682664	2D-image

кинетические константы для уравнения скорости

База данных по публикациям в биологии и медицине

Effects of inherited mutations on catalytic activity and structural stability of human glucose-6-phosphate isomerase expressed in Escherichia coli

Lin, H.; Kao, Y.; Chen, S.; Meng, M.; *Biochim. Biophys. Acta* 1794, 315-323 (2009)

Data extracted from this reference:

Cloned(Commentary)

Commentary	Organism
expression of wild-type and mutant enzymes in Escherichia coli strain DF2145	Homo sapiens

Engineering

Amino acid exchange	Commentary	Organism
A300P	the mutation may affect the folding efficiency of the enzyme protein, the mutant shows reduced expression level and barely detectable activity	Homo sapiens
E495K	the mutation may affect the folding efficiency of the enzyme protein, the mutant shows reduced expression level and barely detectable activity; the mutation weakens network bonding of the enzyme	Homo sapiens
H389R	the mutation at or near the active site highly affects the catalytic efficiency of the enzyme, the mutant shows barely detectable activity	Homo sapiens
I525T	the mutation decreases the enzyme tolerance to heat or SDS by mechanisms of decreasing packing efficiency; the mutation destabilizes the ternary structure of the enzyme	Homo sapiens

NCBI Resources How To My NCBI Sign In

PubMed.gov
U.S. National Library of Medicine
National Institutes of Health

Search: PubMed Limits Advanced search Help

Search Clear

Display Settings: Abstract Send to:

ELSEVIER FULL-TEXT ARTICLE

Biochim Biophys Acta. 2009 Feb;1794(2):315-23. Epub 2008 Nov 21.

Effects of inherited mutations on catalytic activity and structural stability of human glucose-6-phosphate isomerase expressed in Escherichia coli.

Lin HY, Kao YH, Chen ST, Meng M.

Graduate Institute of Biotechnology, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan 40227, Republic of China.

Abstract

Glucose-6-phosphate isomerase (GPI), a homodimeric enzyme, catalyzes the interconversion between glucose-6-phosphate and fructose-6-phosphate. In mammals, it can also act as an autocrine motility factor, neuroleukin, and maturation factor. Deficiency of the enzymatic activity in red blood cells causes nonspherocytic hemolytic anemia in human. To gain a more complete understanding of the molecular basis for the hemolytic anemia due to the GPI-deficiency, the wild-type enzyme and sixteen genetic variants were expressed in Escherichia coli and functionally characterized. Conclusions are as follows: (1) mutations usually have negative influences on catalytic parameters, particularly k(cat), as well as structure stability; (2) mutations at or close to the active site, including R273H, H389R, and S278L, cause great damage to the catalytic function, yet

Related citations

Erythrocyte pyruvate kinase- and glucose phosphate isomerase de [Biophys Chem. 1997]

Expression and enzymatic characterization of human glucose pho [Blood Cells Mol Dis. 1998]

Molecular basis of neurological dysfunction coupled with haemolytic ana [Hum Genet. 1998]

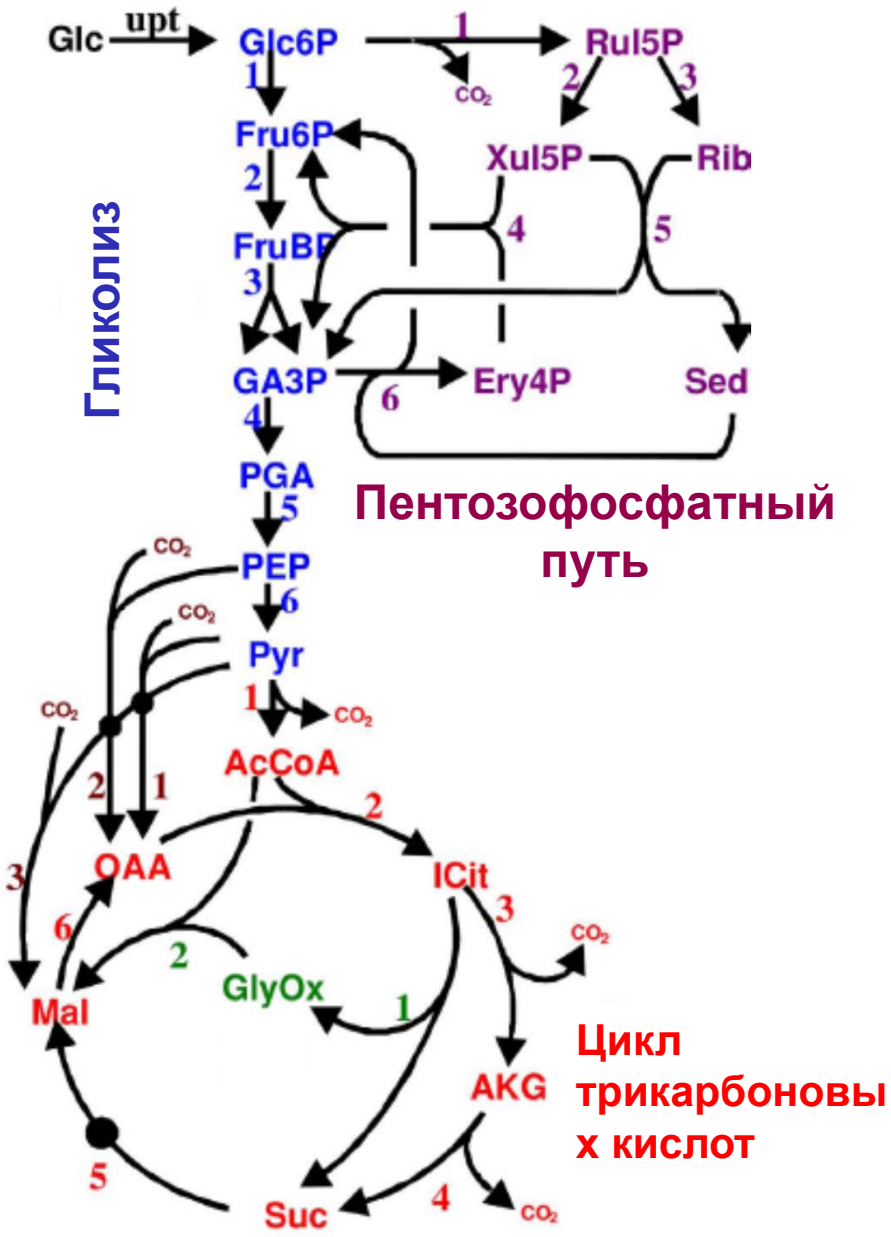
Review Glucose-6-phosphate isomerase d [Baillieres Best Pract Res Clin Haematol. 20...]

Review Red cell glycolytic enzyme disorders Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets. 200...]

ссылки на сходные публикации

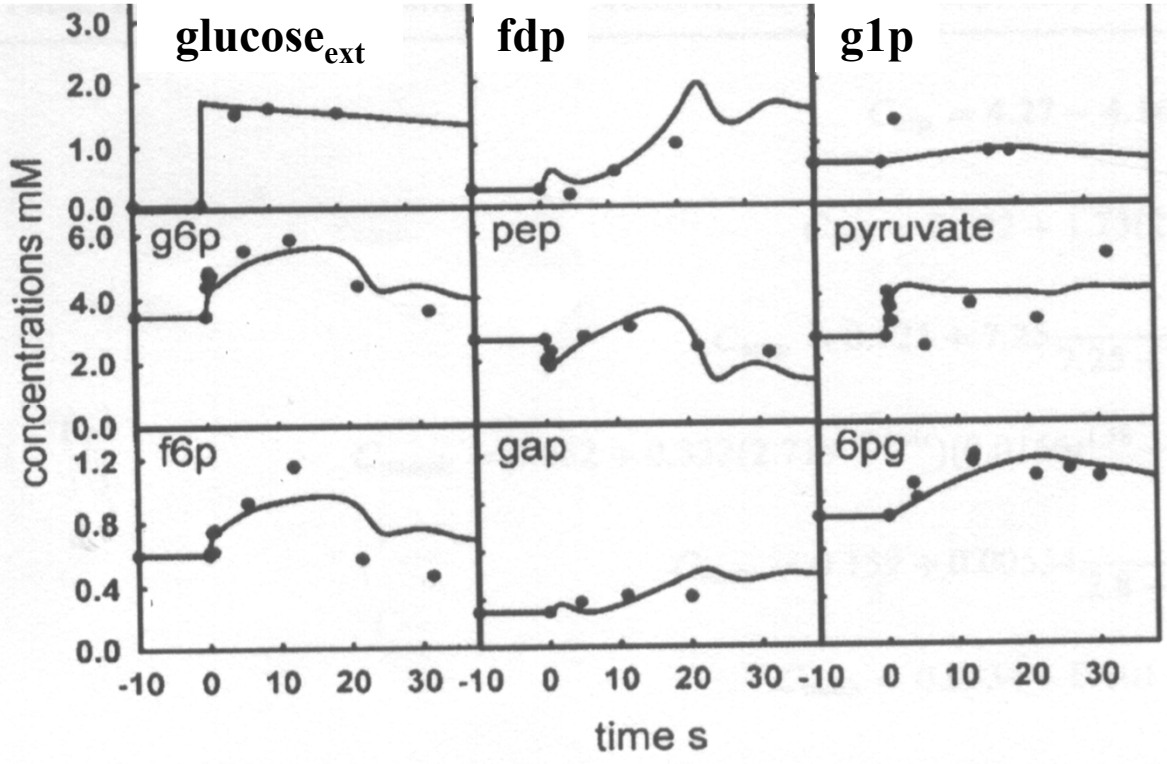
Модель центрального метаболизма *E.coli*

Manfred Rizzi et al,
Institute of Biochemical Engineering,
University of Stuttgart, Germany



1. Вывели уравнения скорости для каждого фермента.
2. Объединили в систему уравнений для всего пути.
3. Оценили параметры модели (константы скоростей)
4. Верифицировали по экспериментальным данным

Результаты моделирования



Manfred Rizzi et al,
Institute of Biochemical Engineering,
University of Stuttgart, Germany

Кинетика метаболитов.

Точки – экспериментальные данные

Линии – результаты численного счета

•Описана экспериментально наблюдаемая динамика (в том числе и колебательный процесс).

•Показано, что поглощение глюкозы в основном контролируется двумя системами: транспортной (PTS) и ее ингибиторами.