

Моделирование метаболических путей

Стехиометрические модели

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

Построение метаболической модели:

реконструкция метаболических путей:

построение общей схемы метаболических путей

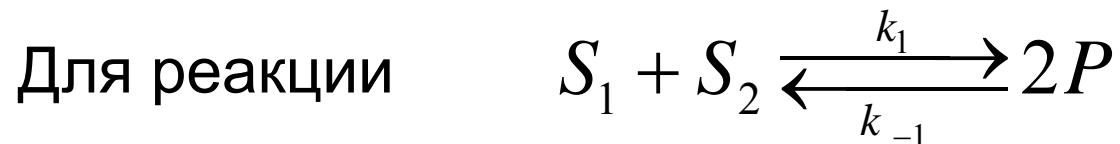
математическое описание:

вывод уравнений скорости и построение системы уравнений в соответствии с метаболической картой

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)



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

v - общая скорость реакции

v_+ - скорость прямой реакции

v_- - скорость обратной реакции

В общем виде:

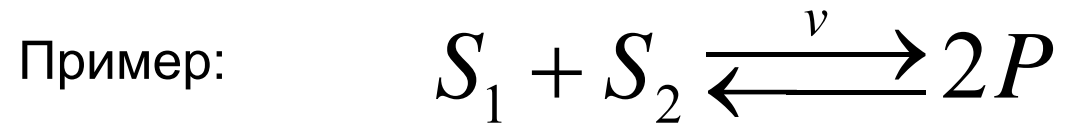
$$v = v_+ - v_- = k_+ \prod_i S_i^{m_i} - k_- \prod_j P_j^{m_j}$$

m_i и m_j соответствуют 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.



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.

Стехиометрическая матрица

Стехиометрические коэффициенты n_{ij} , соответствующие метаболиту S_i и реакции v_j могут быть объединены в стехиометрическую матрицу:

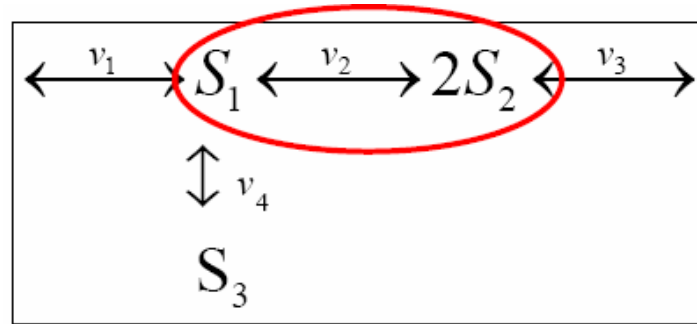
$$N = \begin{pmatrix} & v_1 & v_2 & \dots & v_r \\ S_1 & n_{11} & n_{12} & \dots & n_{1r} \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ S_m & n_{m1} & n_{m2} & \dots & n_{mr} \end{pmatrix}$$

$$\mathbf{N} = \{n_{ij}\}, \\ i = 1, \dots, m ; j = 1, \dots, r$$

каждый столбец соответствует реакции (r реакций)
каждая строка соответствует метаболиту (m метаболитов)

Стехиометрическая матрица

для реакции v_2 :



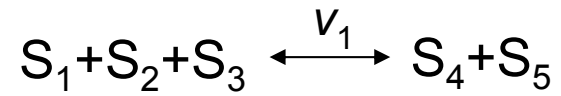
$$N = \begin{pmatrix} v_1 & v_2 & v_3 & v_4 \\ 1 & -1 & 0 & -1 \\ 0 & 2 & -1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix} \begin{matrix} S_1 \\ S_2 \\ S_3 \end{matrix}$$

Строка 1: 1 молекула S_1 расходуется (-1)
Строка 2: 2 молекулы S_2 образуются (2)
Строка 3: S_3 в этой реакции не участвует (0)

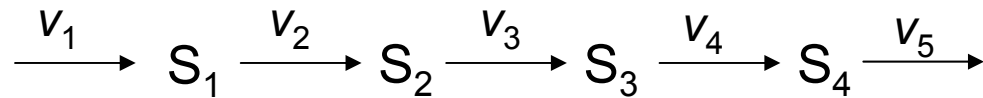
Реакции метаболической сети могут быть обратимы.

Чтобы определить знак коэффициентов, направление стрелок искусственно выбирается как положительное «слева направо» и «сверху вниз».

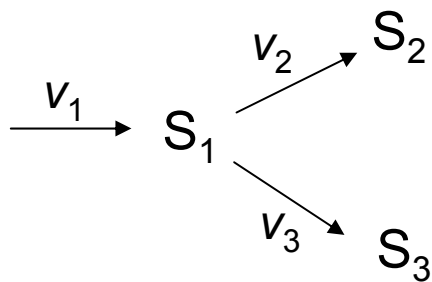
Примеры



$$N = \begin{pmatrix} -1 \\ -1 \\ -1 \\ 1 \\ 1 \end{pmatrix}$$

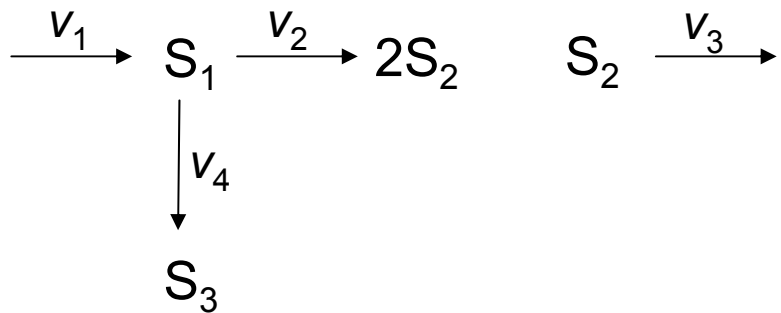


$$N = \begin{pmatrix} 1 & -1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & -1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & -1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & -1 \end{pmatrix}$$

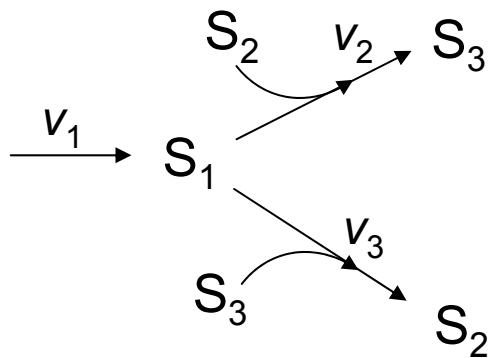


$$N = \begin{pmatrix} 1 & -1 & -1 \\ 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}$$

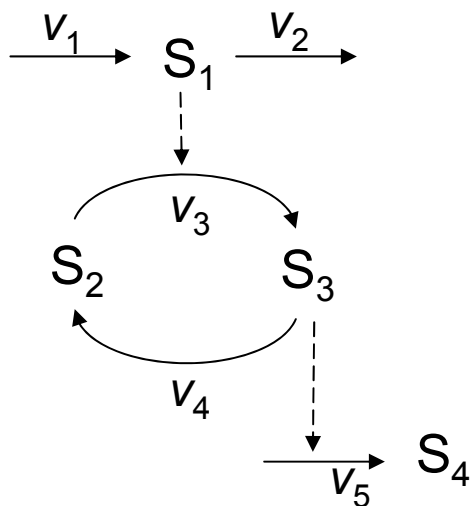
Примеры



$$N = \begin{pmatrix} 1 & -1 & 0 & -1 \\ 0 & 2 & -1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}$$

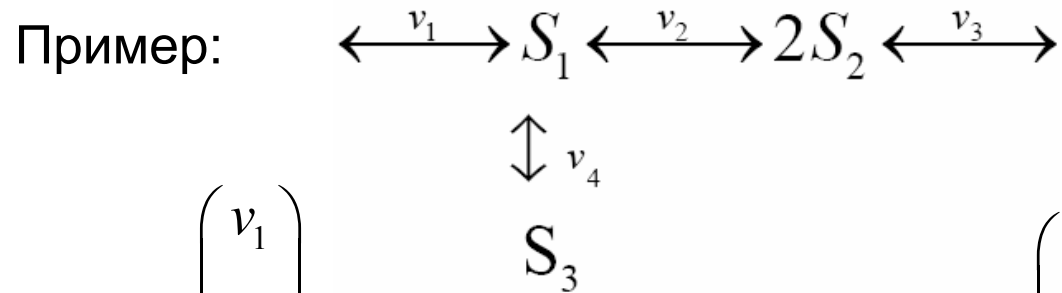


$$N = \begin{pmatrix} 1 & -1 & -1 \\ 0 & -1 & 1 \\ 0 & 1 & -1 \end{pmatrix}$$



$$N = \begin{pmatrix} 1 & -1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & -1 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & -1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}$$

Построение уравнений баланса



$$S = \begin{pmatrix} S_1 \\ S_2 \\ S_3 \end{pmatrix}$$

$$v = \begin{pmatrix} v_1 \\ v_2 \\ v_3 \\ v_4 \end{pmatrix}$$

$$N = \begin{pmatrix} 1 & -1 & 0 & -1 \\ 0 & 2 & -1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}$$

вектор
метаболитов

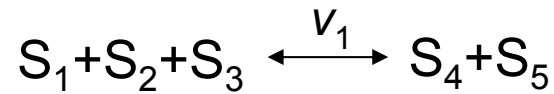
вектор
скоростей

стехиометрическая
матрица

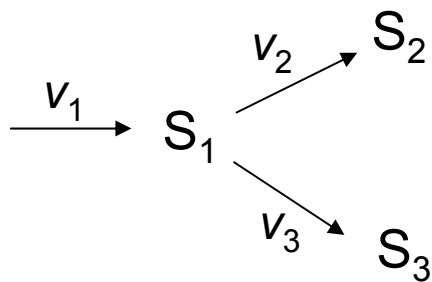
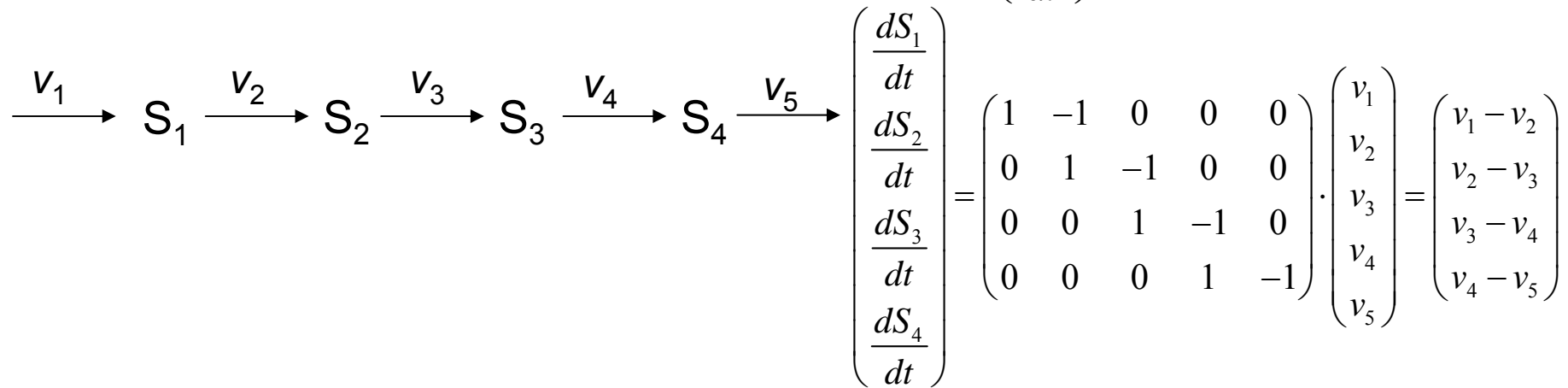
$$\begin{pmatrix} \frac{dS_1}{dt} \\ \frac{dS_2}{dt} \\ \frac{dS_3}{dt} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1 & -1 & 0 & -1 \\ 0 & 2 & -1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} v_1 \\ v_2 \\ v_3 \\ v_4 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1 \cdot v_1 - 1 \cdot v_2 + 0 \cdot v_3 - 1 \cdot v_4 \\ 0 \cdot v_1 + 2 \cdot v_2 - 1 \cdot v_3 + 0 \cdot v_4 \\ 0 \cdot v_1 + 0 \cdot v_2 + 0 \cdot v_3 + 1 \cdot v_4 \end{pmatrix}$$

уравнения баланса

Примеры

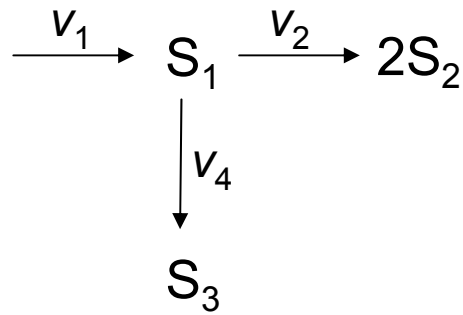


$$\begin{pmatrix} \frac{dS_1}{dt} \\ \frac{dS_2}{dt} \\ \frac{dS_3}{dt} \\ \frac{dS_4}{dt} \\ \frac{dS_5}{dt} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} -1 \\ -1 \\ -1 \\ 1 \\ 1 \end{pmatrix} \cdot (v_1) = \begin{pmatrix} -v_1 \\ -v_1 \\ -v_1 \\ v_1 \\ v_1 \end{pmatrix}$$

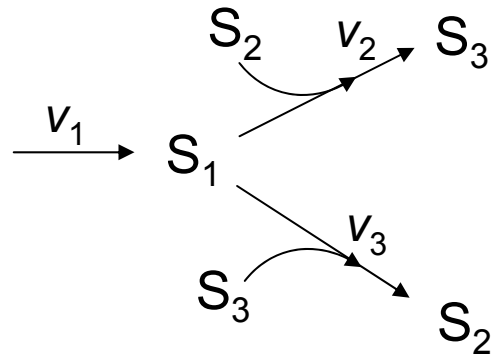


$$\begin{pmatrix} \frac{dS_1}{dt} \\ \frac{dS_2}{dt} \\ \frac{dS_3}{dt} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1 & -1 & -1 \\ 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} v_1 \\ v_2 \\ v_3 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} v_1 - v_2 - v_3 \\ v_2 \\ v_3 \end{pmatrix}$$

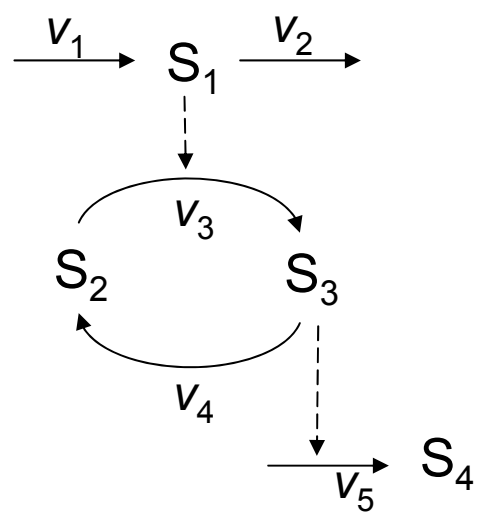
Примеры



$$\begin{pmatrix} \frac{dS_1}{dt} \\ \frac{dS_2}{dt} \\ \frac{dS_3}{dt} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1 & -1 & 0 & -1 \\ 0 & 2 & -1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} v_1 \\ v_2 \\ v_3 \\ v_4 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} v_1 - v_2 - v_4 \\ 2v_2 - v_3 \\ v_4 \end{pmatrix}$$



$$\begin{pmatrix} \frac{dS_1}{dt} \\ \frac{dS_2}{dt} \\ \frac{dS_3}{dt} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1 & -1 & -1 \\ 0 & -1 & 1 \\ 0 & 1 & -1 \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} v_1 \\ v_2 \\ v_3 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} v_1 - v_2 - v_3 \\ -v_2 + v_3 \\ v_2 - v_3 \end{pmatrix}$$



$$\begin{pmatrix} \frac{dS_1}{dt} \\ \frac{dS_2}{dt} \\ \frac{dS_3}{dt} \\ \frac{dS_4}{dt} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1 & -1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & -1 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & -1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} v_1 \\ v_2 \\ v_3 \\ v_4 \\ v_5 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} v_1 - v_2 \\ -v_3 + v_4 \\ v_3 - v_4 \\ v_5 \end{pmatrix}$$

Уравнение баланса для метаболита

Строго, с учетом роста (и следовательно изменения объема) уравнение для i -го метаболита в общем виде записываются как

$$\frac{dS_i}{dt} = \sum_j n_{ij} v_j - \mu S_i$$

Без учета фактора разведения

$$\frac{dS_i}{dt} = \sum_j n_{ij} v_j$$

S_i – концентрация i -го метаболита

v_j – скорость образования (или потребления) метаболита

n_{ij} – стехиометрический коэффициент i -го метаболита в j -й реакции

μS_i – фактор разведения

Построение стехиометрической модели (модели стационарных состояний) (потокосые модели)

- построение схемы
метаболического
пути



$$S = (S_1, S_2, \dots, S_n)^T \quad \text{вектор концентраций метаболитов}$$
$$v = (v_1, v_2, \dots, v_n)^T \quad \text{вектор скоростей реакций}$$
$$N \quad \text{стехиометрическая матрица}$$

- вывод уравнений баланса
для каждого метаболита и
объединение в систему
дифференциальных
уравнений



$$\frac{dS}{dt} = Nv$$

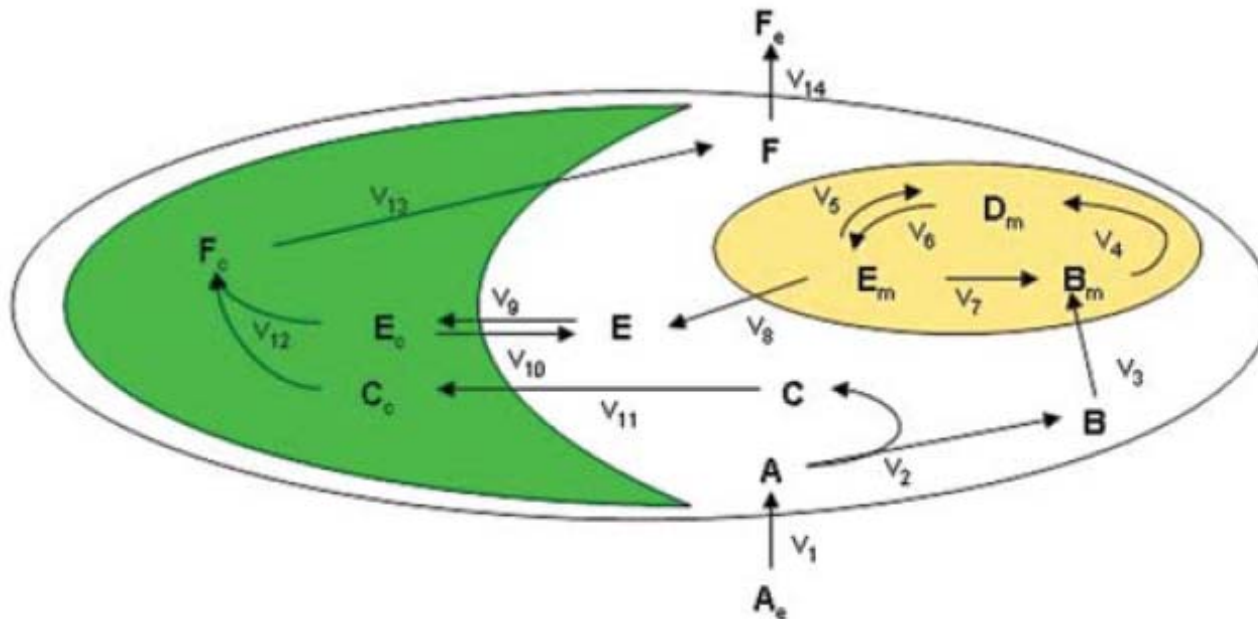
- рассмотрение
стационарных состояний,
получение системы
алгебраических уравнений



$$\frac{dS}{dt} = 0 \quad \rightarrow \quad Nv = 0$$

- верификация по
экспериментальным данным

Гипотетическая схема метаболических потоков



Метаболиты

Процессы

внешние:

A_e, F_e

транспорт через внешнюю мембрану:

v_1, v_{14}

транспорт через внутренние мембраны:

v_3, v_8 – через мембрану митохондрии

$v_9, v_{10}, v_{11}, v_{13}$ – через мембрану хлоропласта

внутренние:

A, B, C, E, F, – в цитоплазме

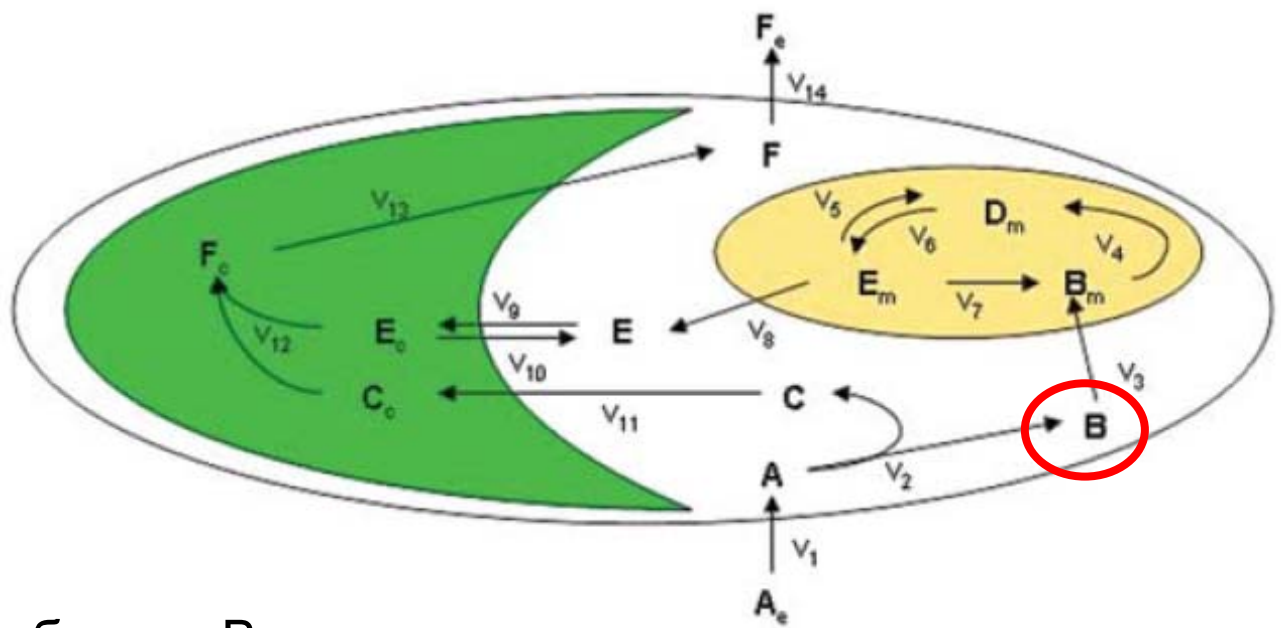
B_m, D_m, E_m – в митохондрии

C_c, E_c, F_c – в хлоропласте

реакции превращения субстрата в продукт

$v_4, v_5, v_6, v_7, v_{12}$

Гипотетическая схема метаболических потоков



для метаболита В:

$$\frac{dX_B}{dt} = v_2 - v_3$$

(Общая скорость образования метаболита В) =
 = (скорость образования В) – (скорость потребления В)

Метаболический поток – нормированная скорость реакции.

Размерность потока – моль/ед.биомассы/время.

Модель гипотетической схемы процессов имеет вид:

$$\begin{array}{l}
 \frac{dX_A}{dt} = v_1 - v_2 \\
 \frac{dX_B}{dt} = v_2 - v_3 \\
 \frac{dX_{B_m}}{dt} = v_3 - v_4 + v_7 \\
 \frac{dX_C}{dt} = v_2 - v_{10} \\
 \frac{dX_{C_e}}{dt} = v_{11} - v_{12} \\
 \vdots \\
 \frac{dX_F}{dt} = v_{13} - v_{14} \\
 \frac{dX_{F_e}}{dt} = v_{12} - v_{13}
 \end{array}
 \xrightarrow{\text{In matrix form}}
 \begin{array}{l}
 \left[\begin{array}{c}
 \frac{dX_A}{dt} \\
 \frac{dX_B}{dt} \\
 \frac{dX_{B_m}}{dt} \\
 \frac{dX_C}{dt} \\
 \frac{dX_{C_e}}{dt} \\
 \vdots \\
 \frac{dX_F}{dt} \\
 \frac{dX_{F_e}}{dt}
 \end{array} \right]_{m \times 1}
 =
 \begin{array}{c}
 \left[\begin{array}{cccccccccccccccc}
 1 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\
 0 & 1 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\
 0 & 0 & 1 & -1 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\
 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\
 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & -1 & 0 & 0 & 0 \\
 \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\
 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & -1 & 0 \\
 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & -1 & 0 & 0
 \end{array} \right]_{m \times r}
 \cdot
 \begin{array}{c}
 \left[\begin{array}{c}
 v_1 \\
 v_2 \\
 v_3 \\
 v_4 \\
 v_5 \\
 \vdots \\
 v_{13} \\
 v_{14}
 \end{array} \right]_{r \times 1}
 \end{array}
 \end{array}
 \end{array}$$

$$\frac{dX}{dt} = Nv$$

$$Nv = 0$$

Размерность N в общем виде можно записать $m \times r$,
 m – это число метаболитов, участвующих в реакциях, r – число реакций.

Соотношение числа метаболитов m и числа потоков r

В условиях стационарного состояния: $Nv = 0$

m – количество уравнений

r – количество переменных

Возможны три варианта:

1. $m = r$ полностью определенная система. Решение единственно.

2. $m < r$ недоопределенная система.

Означает, что недостаточно уравнений баланса для определения всех потоков. Система уравнений может иметь бесконечное число решений.

(Наиболее часто встречаемый случай)

Используется **метод линейного программирования**.

3. $m > r$ переопределенная система.

В случае, когда доступно множество экспериментальных измерений.

Решается методом псевдо-инверсий Мура-Пенроуза (Moore–Penrose)

Постановка задачи линейного программирования для метаболической сети

(Метод анализа стационарных потоков, **Flux Balance Analysis, FBA**)

I. Определить пространство решений:

- Уравнения баланса массы для всех метаболитов.

$$Nv = 0$$

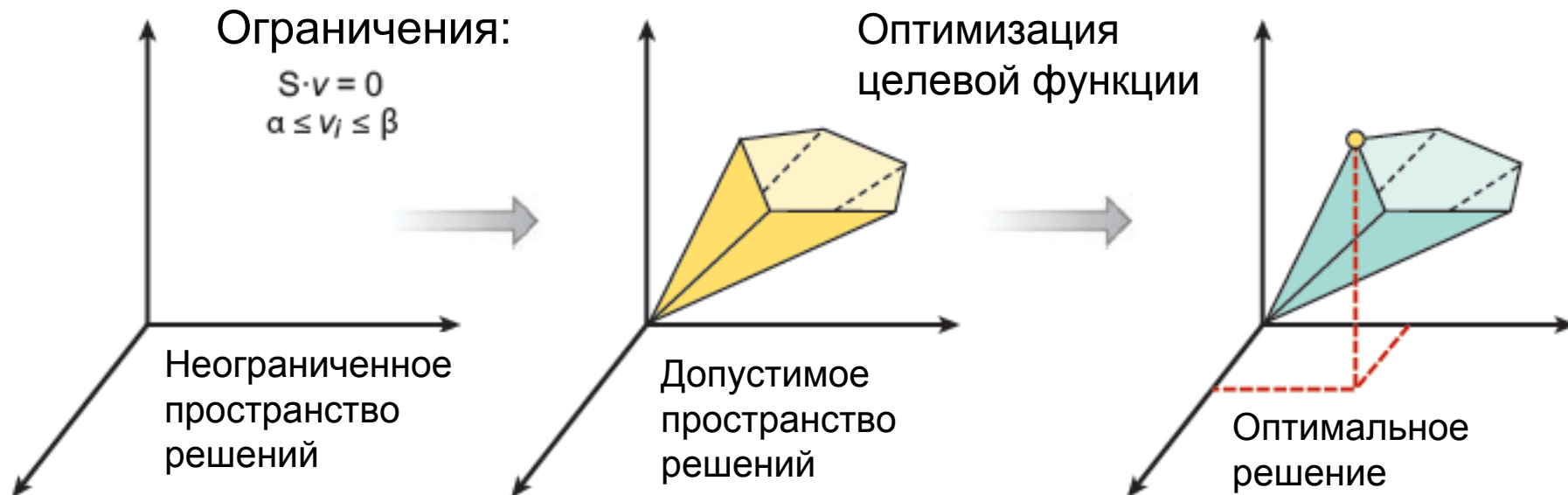
- Ограничения на потоки - максимальные и минимальные значения потоков (если известно).

$$\alpha_i \leq v_i \leq \beta_i$$

II. Определить целевую функцию.

$$z = \sum_j c_{ij} v_j$$

Поиск оптимального решения



Задача линейного программирования

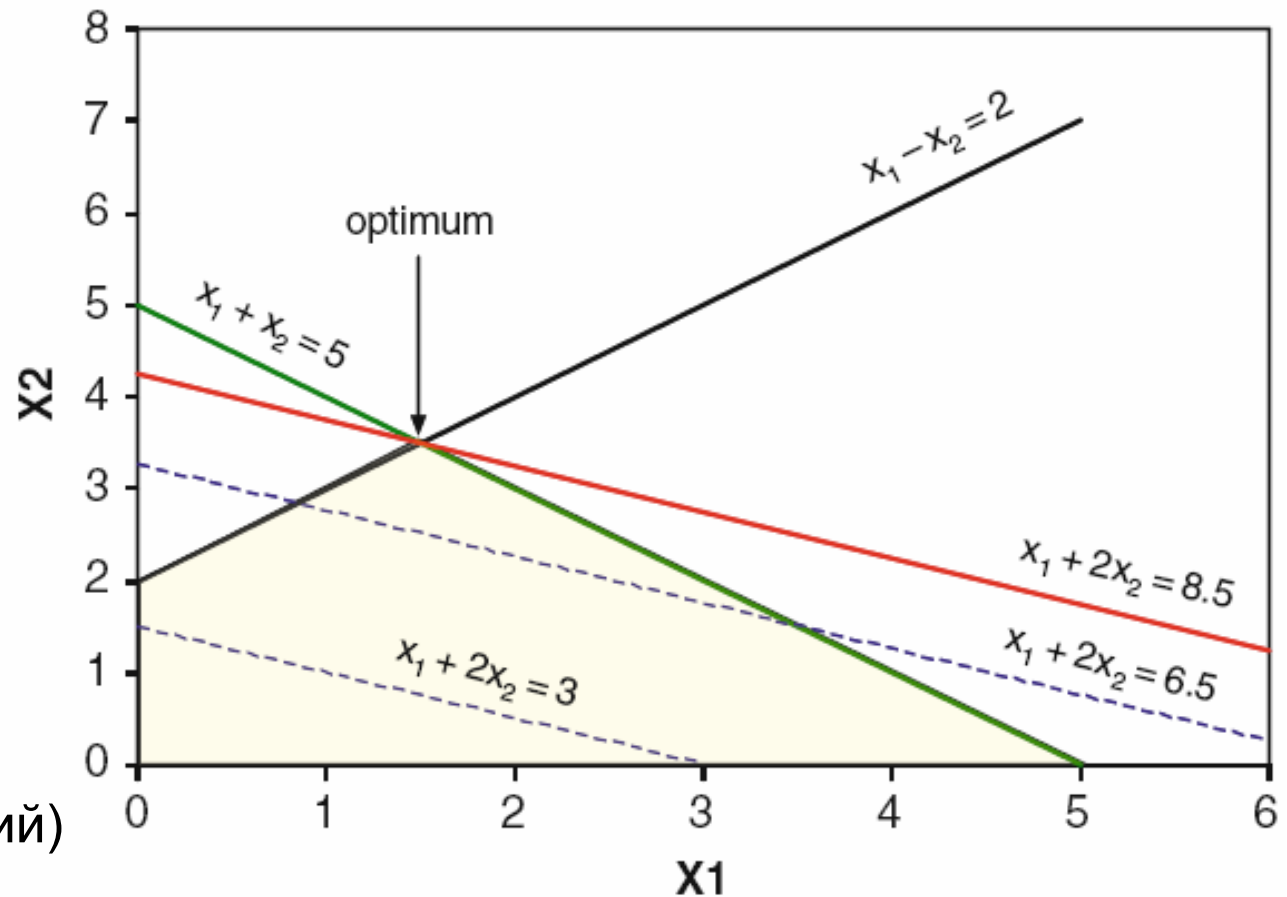
Пример:

максимизировать $x_1 + 2x_2$ ← Целевая функция

при условии:

$$\begin{aligned}x_1 - x_2 - 2 &\leq 0 \\x_1 + x_2 - 5 &\leq 0 \\x_1 &\geq 0, x_2 &\geq 0\end{aligned}$$

Ограничения
(пространство решений)



Выбор целевой функции

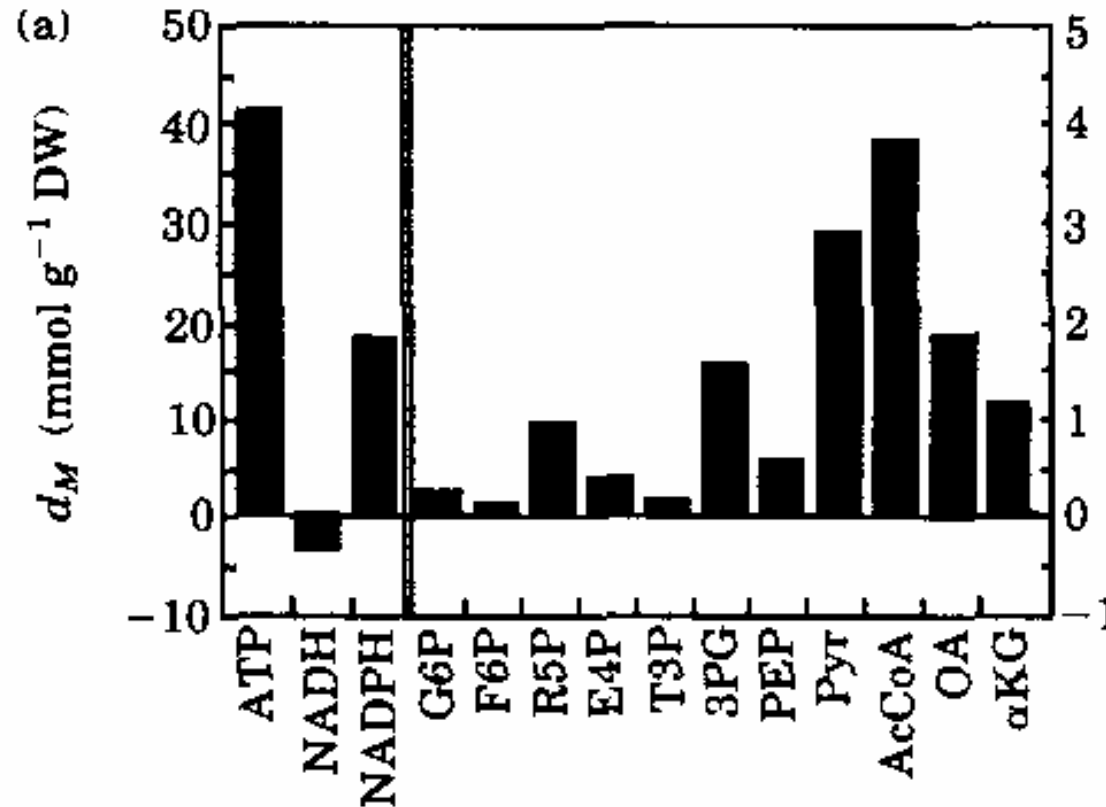
Целевая функция определяется:

1. биологическими потребностями клетки,
2. биотехнологической задачей.

Примеры целевой функции:

- 1. Максимизировать биомассу.**
2. Минимизировать поток питательных веществ из среды.
3. Максимизировать продукцию определенного метаболита.
4. Максимизировать продукцию АТФ.

Расчет биомассы



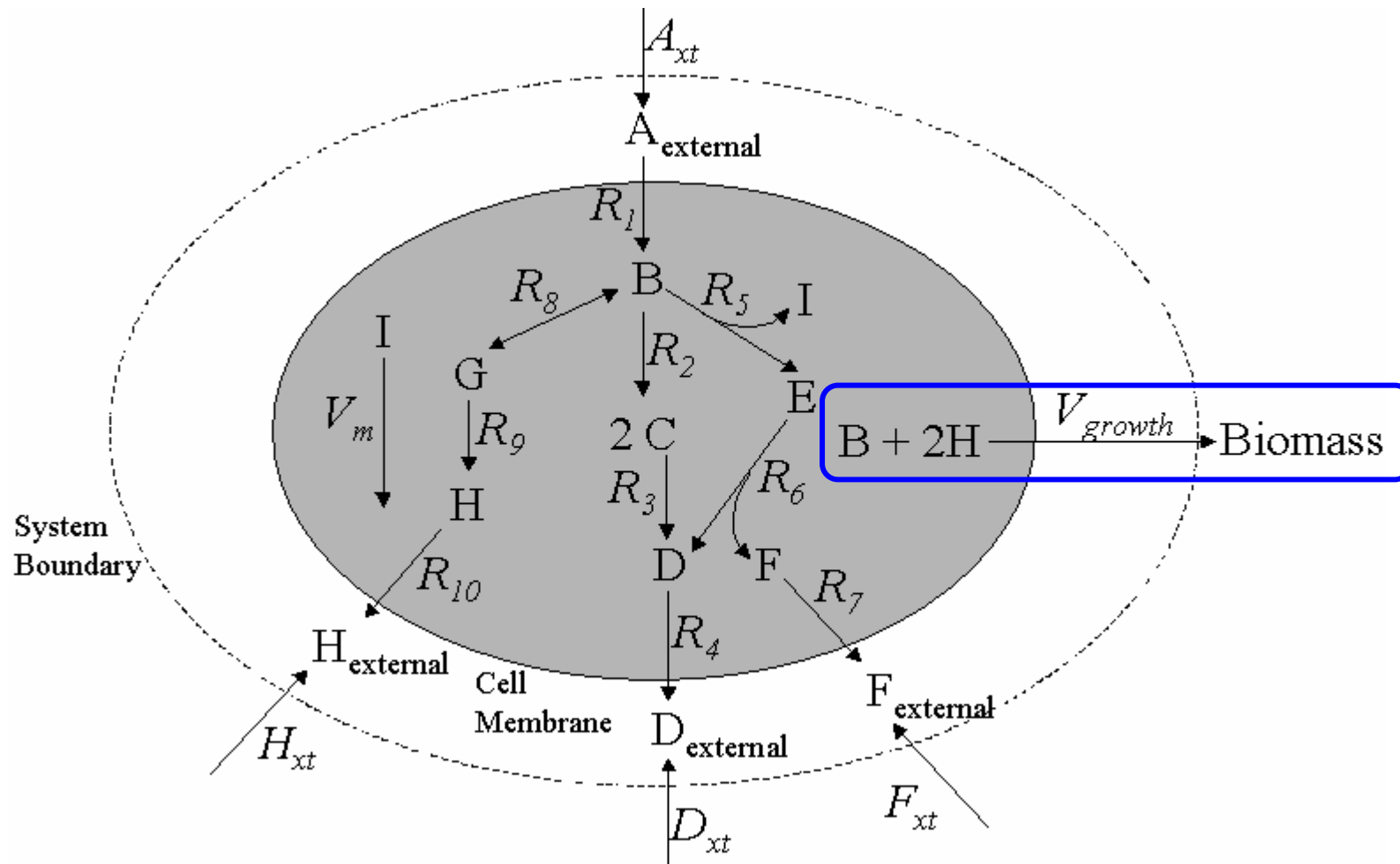
Metabolic requirements for the production of 1 g of *E. coli* cells, from Ingraham *et al.* (1983).

Расчет биомассы:

a_1 белок + a_2 углеводы + a_3 липиды + a_4 ДНК + a_5 РНК + b АТФ \rightarrow
 \rightarrow c биомассы + b АДФ + продукты

Анализ стационарных потоков

http://www.nature.com/nbt/web_extras/supp_info/nbt0201_125/info_frame.html



1. Выписываем все метаболиты и объединяем их в схему

Анализ стационарных потоков

http://www.nature.com/nbt/web_extras/supp_info/nbt0201_125/info_frame.html

| Gene | Enzyme | Flux |
|--------------------|---------------------|-----------------|
| Gene ₁ | A Transporter | R ₁ |
| Gene ₂ | Enzyme ₂ | R ₂ |
| Gene ₃ | Enzyme ₃ | R ₃ |
| Gene ₄ | D Transporter | R ₄ |
| Gene ₅ | Enzyme ₅ | R ₅ |
| Gene ₆ | Enzyme ₆ | R ₆ |
| Gene ₇ | F Transporter | R ₇ |
| Gene ₈ | Enzyme ₈ | R ₈ |
| Gene ₉ | Enzyme ₉ | R ₉ |
| Gene ₁₀ | H Transporter | R ₁₀ |
| - | A Exchange | A _{xt} |
| - | D Exchange | D _{xt} |
| - | F Exchange | F _{xt} |
| - | H Exchange | H _{xt} |

2. Выписываем все метаболические потоки

Анализ стационарных потоков

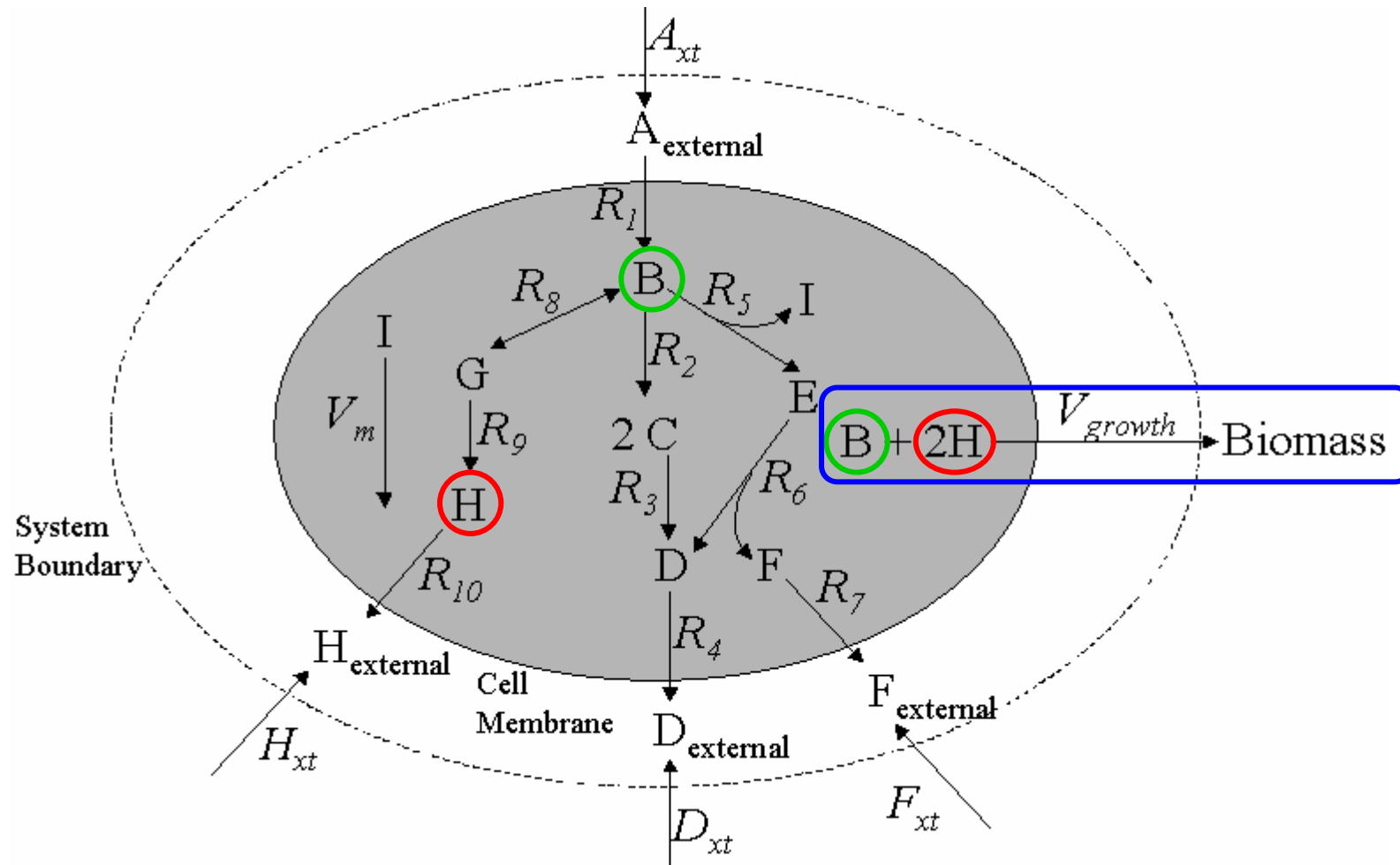
http://www.nature.com/nbt/web_extras/supp_info/nbt0201_125/info_frame.html

$$\begin{array}{c}
 \begin{array}{cccccccccccc|cc|cccc}
 & R_1 & R_2 & R_3 & R_4 & R_5 & R_6 & R_7 & R_8 & R_9 & R_{10} & V_m & V_{growth} & A_{xt} & D_{xt} & F_{xt} & H_{xt} \\
 \hline
 \text{A} & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\
 \text{B} & 1 & -1 & 0 & 0 & -1 & 0 & 0 & -1 & 0 & 0 & 0 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 \\
 \text{C} & 0 & 2 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\
 \text{D} & 0 & 0 & 1 & -1 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\
 \text{E} & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\
 \text{F} & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\
 \text{G} & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\
 \text{H} & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & -1 & 0 & -2 & 0 & 0 & 0 & 0 \\
 \text{I} & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\
 \hline
 A_{external} & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 \\
 D_{external} & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 \\
 F_{external} & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 \\
 H_{external} & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1
 \end{array}
 & = &
 \begin{array}{c}
 R_1 \\
 R_2 \\
 R_3 \\
 R_4 \\
 R_5 \\
 R_6 \\
 R_7 \\
 R_8 \\
 R_9 \\
 R_{10} \\
 V_m \\
 V_{growth} \\
 A_{xt} \\
 D_{xt} \\
 F_{xt} \\
 H_{xt}
 \end{array}
 & = &
 \begin{array}{c}
 0 \\
 0 \\
 0 \\
 0 \\
 0 \\
 0 \\
 0 \\
 0 \\
 0 \\
 0 \\
 0 \\
 0 \\
 0 \\
 0 \\
 0 \\
 0 \\
 0
 \end{array}
 \end{array}$$

3. Записываем стехиометрическую матрицу и уравнения баланса в матричном виде

Анализ стационарных потоков

http://www.nature.com/nbt/web_extras/supp_info/nbt0201_125/info_frame.html



Как записать поток на биомассу (V_{growth})?

Анализ стационарных потоков

http://www.nature.com/nbt/web_extras/supp_info/nbt0201_125/info_frame.html

| | R_1 | R_2 | R_3 | R_4 | R_5 | R_6 | R_7 | R_8 | R_9 | R_{10} | V_m | V_{growth} | A_{xt} | D_{xt} | F_{xt} | H_{xt} |
|----------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|----------|-------|--------------|----------|----------|----------|----------|
| A | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| B | 1 | -1 | 0 | 0 | -1 | 0 | 0 | -1 | 0 | 0 | 0 | -1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| C | 0 | 2 | -1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| D | 0 | 0 | 1 | -1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| E | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | -1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| F | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | -1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| G | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | -1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| H | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | -1 | 0 | -2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| I | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | -1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| $A_{external}$ | -1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| $D_{external}$ | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| $F_{external}$ | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| $H_{external}$ | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |

$$\begin{bmatrix} R_1 \\ R_2 \\ R_3 \\ R_4 \\ R_5 \\ R_6 \\ R_7 \\ R_8 \\ R_9 \\ R_{10} \\ V_m \\ V_{growth} \\ A_{xt} \\ D_{xt} \\ F_{xt} \\ H_{xt} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix}$$

На формирование биомассы, V_{growth} ,
идет одна молекула **B** и две молекулы **H**

Анализ стационарных потоков

http://www.nature.com/nbt/web_extras/supp_info/nbt0201_125/info_frame.html

уравнения баланса

ограничения на потоки

целевая функция

$$\text{B: } R_1 - R_2 - R_5 - R_8 - V_{growth} = 0$$

$$\text{C: } 2R_2 - R_3 = 0$$

$$\text{D: } R_3 + R_6 - R_4 = 0$$

$$\text{E: } R_5 - R_6 = 0$$

$$\text{F: } R_6 - R_7 = 0$$

$$\text{G: } R_8 - R_9 = 0$$

$$\text{H: } R_9 - R_{10} - 2V_{growth} = 0$$

$$\text{I: } R_5 - V_m = 0$$

$$\text{A}_{external}: A_{xt} - R_1 = 0$$

$$\text{D}_{external}: D_{xt} + R_4 = 0$$

$$\text{F}_{external}: F_{xt} + R_7 = 0$$

$$\text{H}_{external}: H_{xt} + R_{10} = 0$$

$$0 \leq R_1 \leq \infty$$

$$0 \leq R_2 \leq \infty$$

$$0 \leq R_3 \leq \infty$$

$$0 \leq R_4 \leq \infty$$

$$0 \leq R_5 \leq \infty$$

$$0 \leq R_6 \leq \infty$$

$$0 \leq R_7 \leq \infty$$

$$-\infty \leq R_8 \leq \infty$$

$$0 \leq R_9 \leq \infty$$

$$0 \leq R_{10} \leq \infty$$

$$K_1 \leq V_m \leq K_1$$

$$0 \leq V_{growth} \leq \infty$$

$$Y_2 \leq A_{up} \leq Y_2$$

$$-\infty \leq D_{up} \leq 0$$

$$-\infty \leq F_{up} \leq 0$$

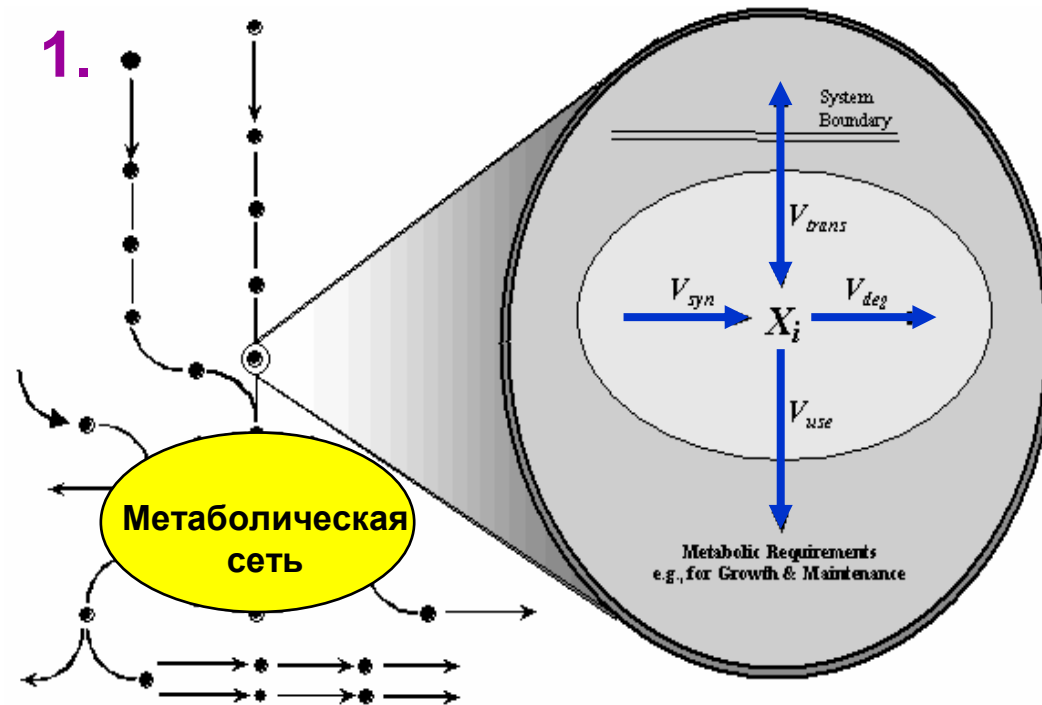
$$-\infty \leq H_{up} \leq 0$$

$$Z = V_{growth} \rightarrow \max$$

4. Ставим задачу линейного программирования

Основные положения FBA

Biotechnol. Prog., 1999, 15, 288-295



2. ОДУ

$$\frac{dX}{dt} = N \cdot v, \quad v = f(X, \dots)$$

X – вектор концентрации метаболитов

v – вектор скоростей реакций

N – стехиометрическая матрица

3. рассматривается стационарное состояние: $N \cdot v = 0$

4. ставится задача линейного программирования:

целевая функция: максимум биомассы
(максимум скорости роста):

$$Z = V_{growth} \rightarrow \max$$

ограничения – нижние и верхние границы для всех потоков: $v_{lb} < v < v_{ub}$

Анализ метаболических потоков



Экспериментальные методы модификации штамма

- нокаутирование генов
- мутация генов с частичным изменением каталитических и регуляторных свойств
- амплификация генов
- вставка генов из других (микро)организмов

Применение анализа метаболических путей

Метаболизм *E.coli*

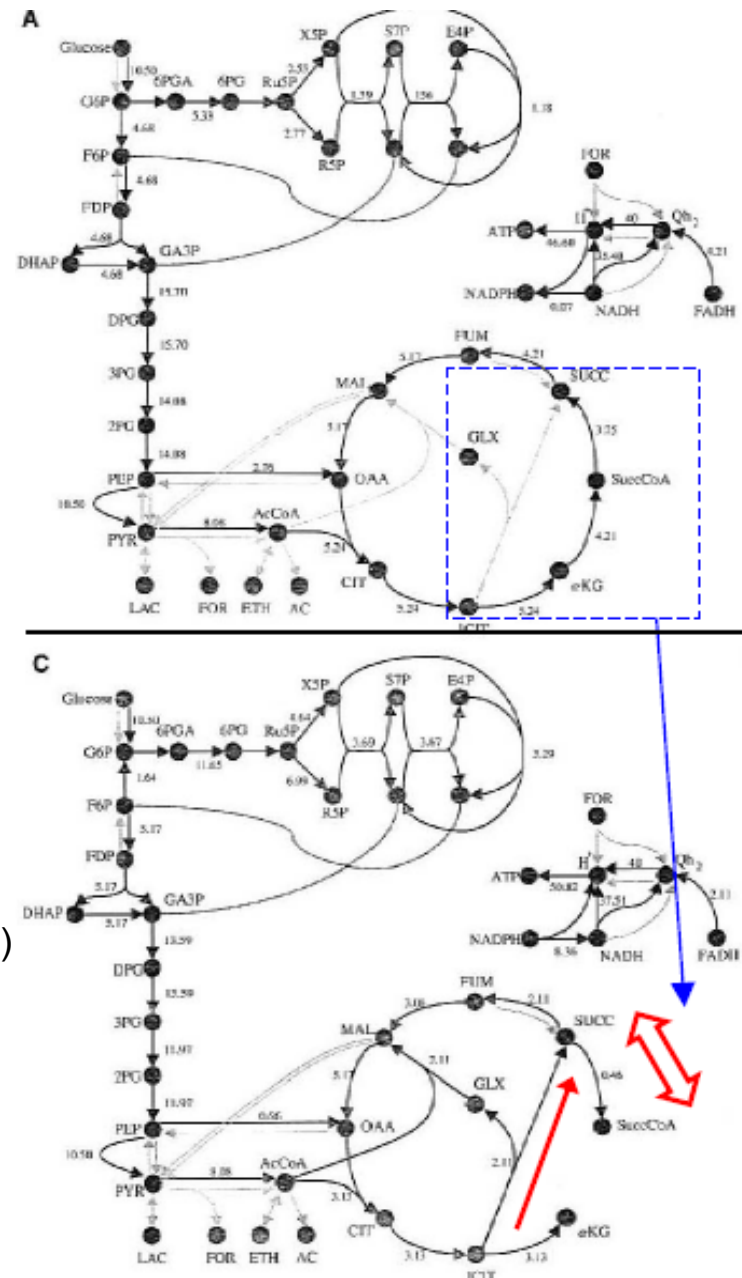
Распределение метаболических потоков для полного набора генов.

Целевая функция – максимум биомассы при росте на глюкозе.

Способность *E.coli* адаптироваться к утрате функциональности гена может быть проанализирована путем удаления гена из основного набора

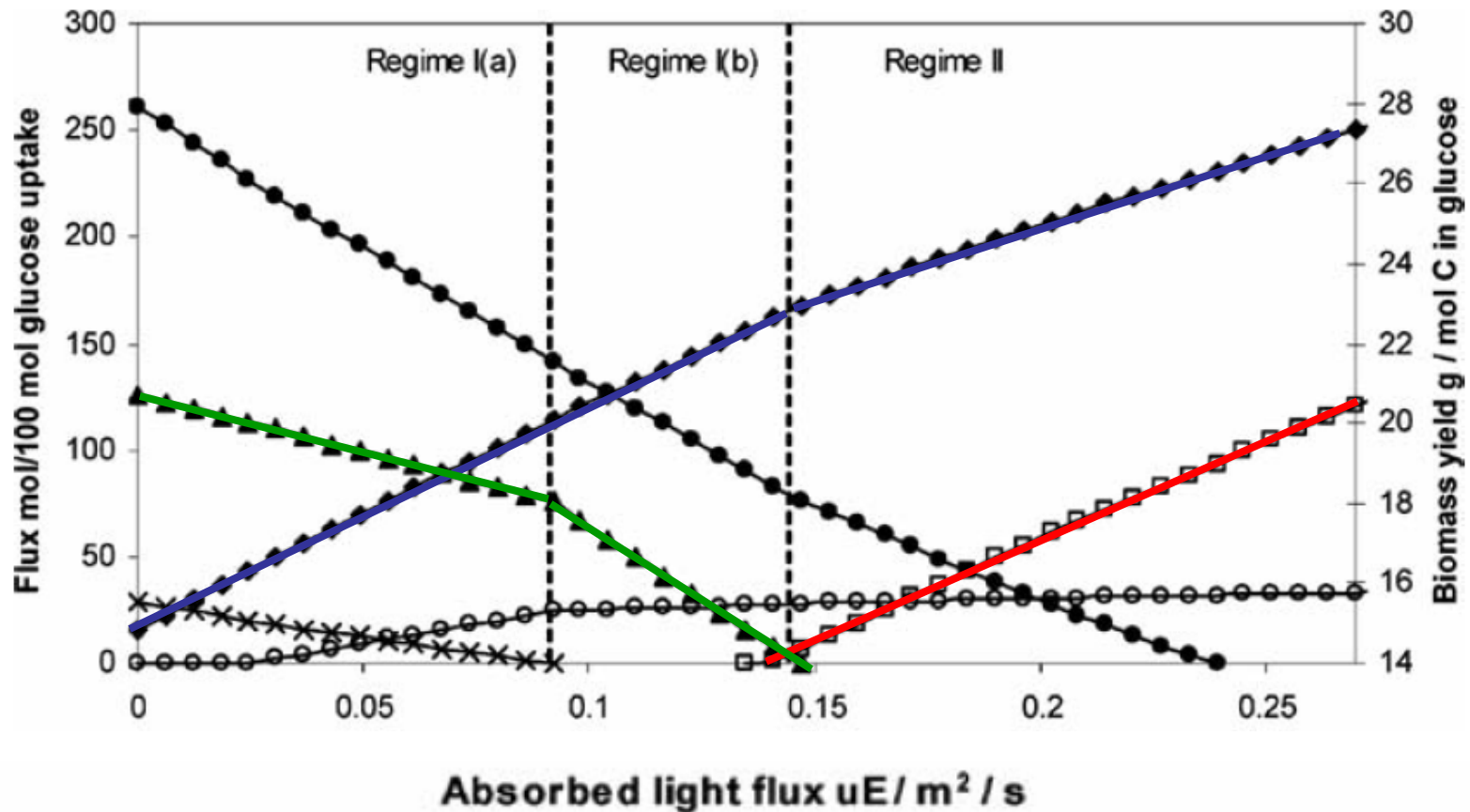
Распределение метаболических потоков, когда «выключен» ген *sucA*.
(ген *sucA* кодирует необходимый компонент реакции в ЦТК)

Поток перенаправляется через глиоксилатный шунт.
Реакция Succ—SucCoA обращается.



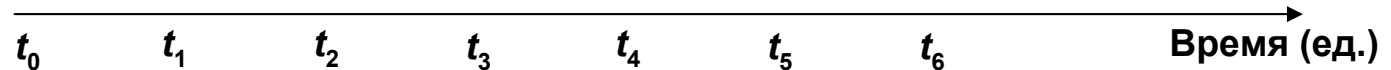
Применение анализа метаболических путей

Метаболизм синезеленых водорослей



Введение «динамики» в стационарную модель

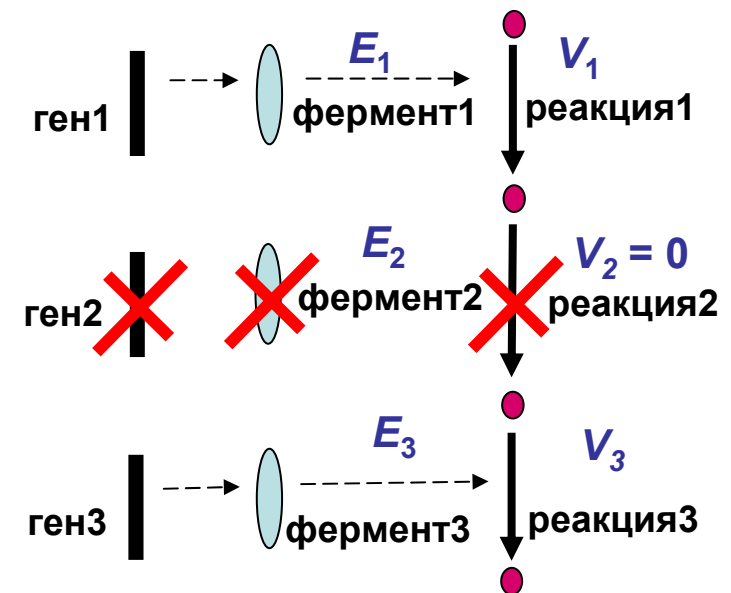
1. Временной отрезок разбивается на интервалы.



2. На выбранном временном интервале $t_1 \leq t \leq t_2$ определяется наличие или отсутствие фермента для каждой реакции.

Если фермент E_i «не присутствует», тогда соответствующий метаболический поток равен нулю: $V_i = 0$, при $t_1 \leq t \leq t_2$.

Если фермент E_i «присутствует» на выбранном интервале времени, тогда он рассчитывается как результат оптимизации.



Разные интервалы времени характеризуются разной активностью генов

Экспериментальные данные

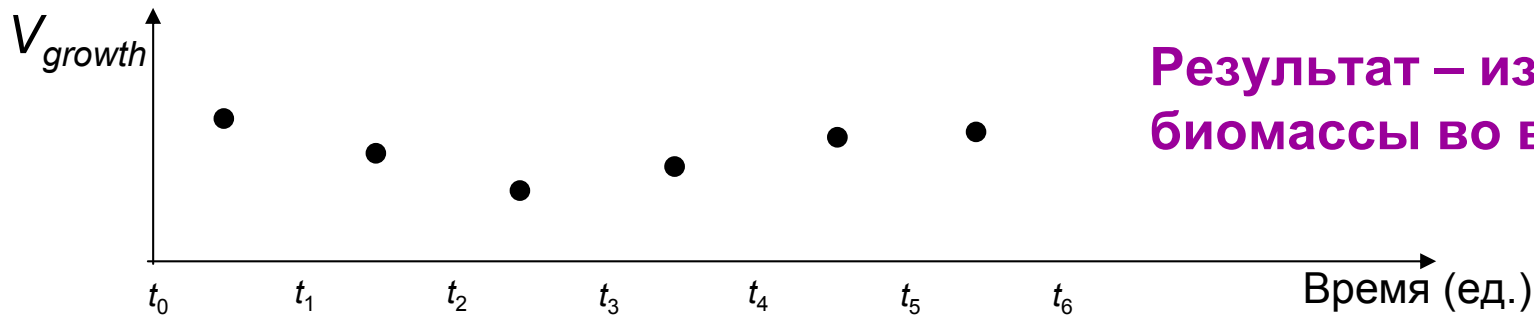
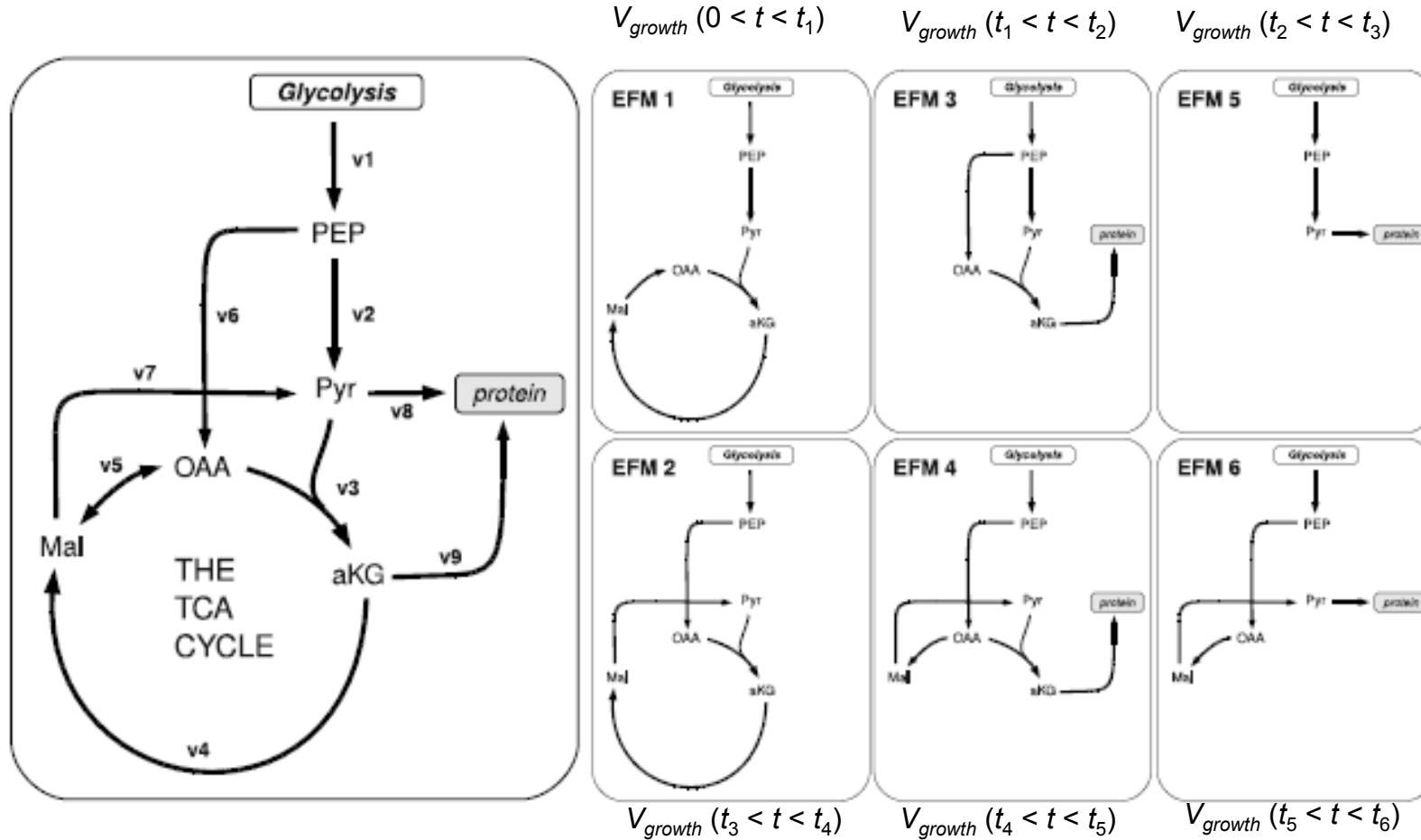
| Gene | Time | | |
|-------------|------|------|------|
| | 0:00 | 8:00 | 8:27 |
| <i>aceA</i> | 0 | 1 | 1 |
| <i>aceB</i> | 0 | 1 | 1 |
| <i>acs</i> | 0 | 1 | 1 |
| <i>adhE</i> | 1 | 1 | 0 |
| <i>crr</i> | 1 | 1 | 0 |
| <i>ppsA</i> | 0 | 0 | 1 |
| <i>ptsG</i> | 1 | 1 | 0 |
| <i>ptsH</i> | 1 | 1 | 0 |
| <i>ptsI</i> | 1 | 1 | 0 |
| <i>pykF</i> | 1 | 1 | 0 |

В соответствии с активностью гена на выбранном временном интервале определяется наличие или отсутствие фермента для каждой реакции

Темно-серый, активность = 1

Светло-серый, активность = 0

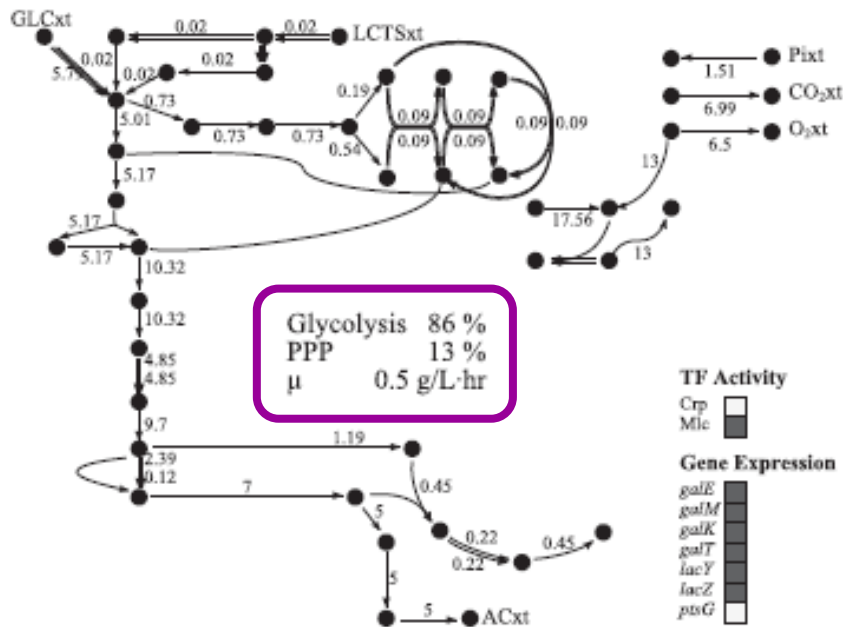
“выключение” генов → “выключение” реакций → разное распределение потоков



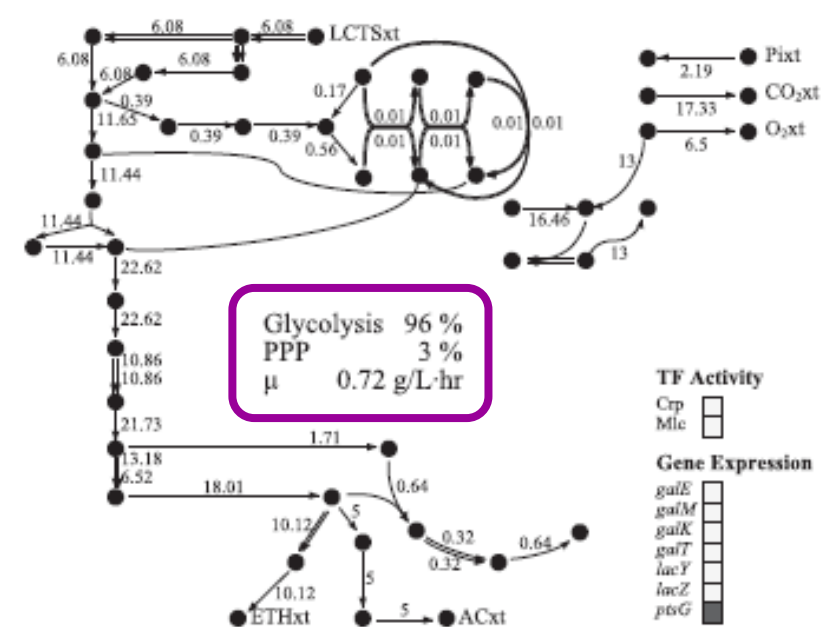
Результат – изменение биомассы во времени

Распределения метаболических потоков в процессе диауксического роста

A Time=1hr



B Time=5hr



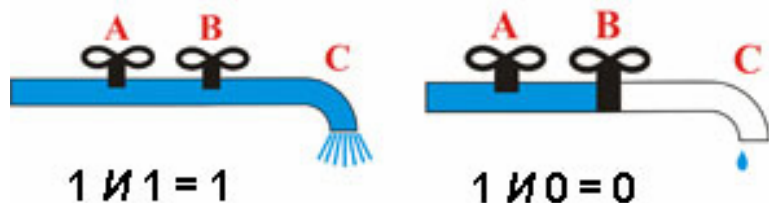
Учет регуляции на уровне транскрипции в стехиометрических моделях

Математический аппарат:

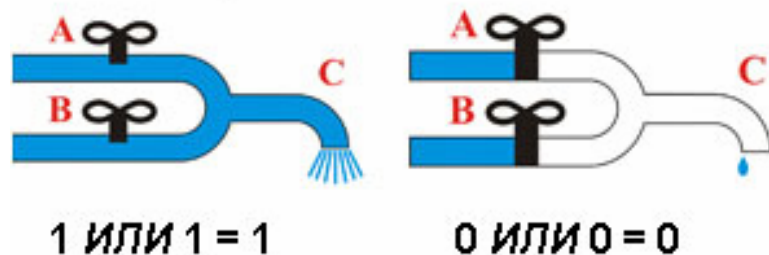
линейное программирование + булева алгебра

Булева алгебра

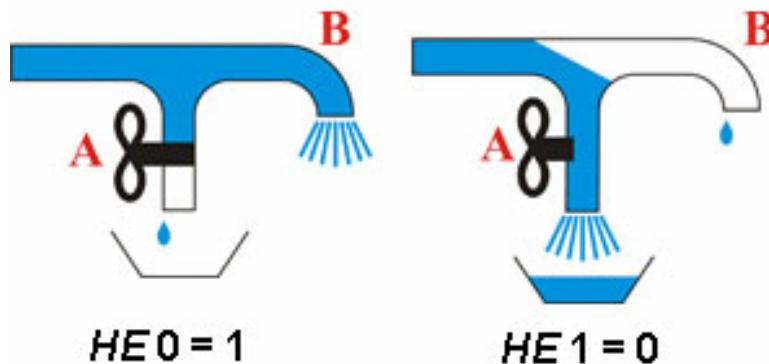
а) $C = A \text{ И } B$



б) $C = A \text{ ИЛИ } B$



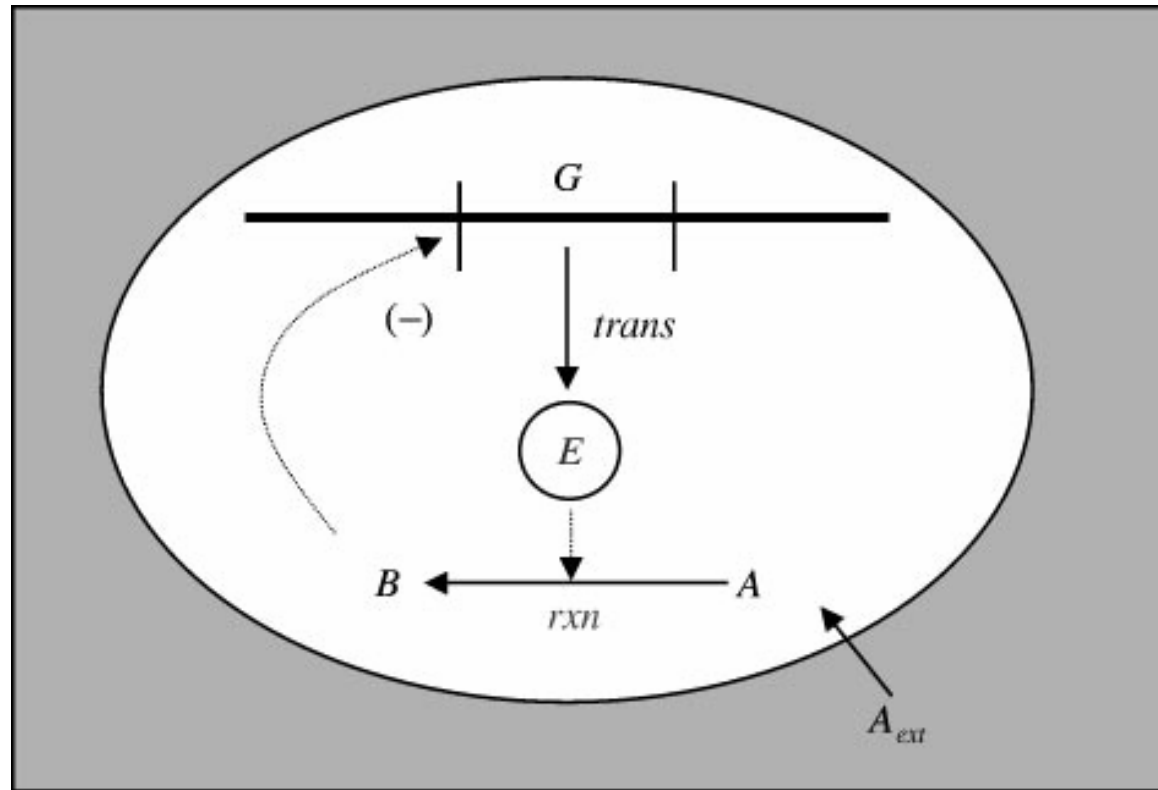
в) $B = \text{НЕ } A$



Рассматриваются величины, принимающие только два значения - 0 или 1.

Значение **булевой** величины можно представлять как ложность или истинность какого-либо утверждения (0 - ложь, 1 - истина).

Регуляторная единица

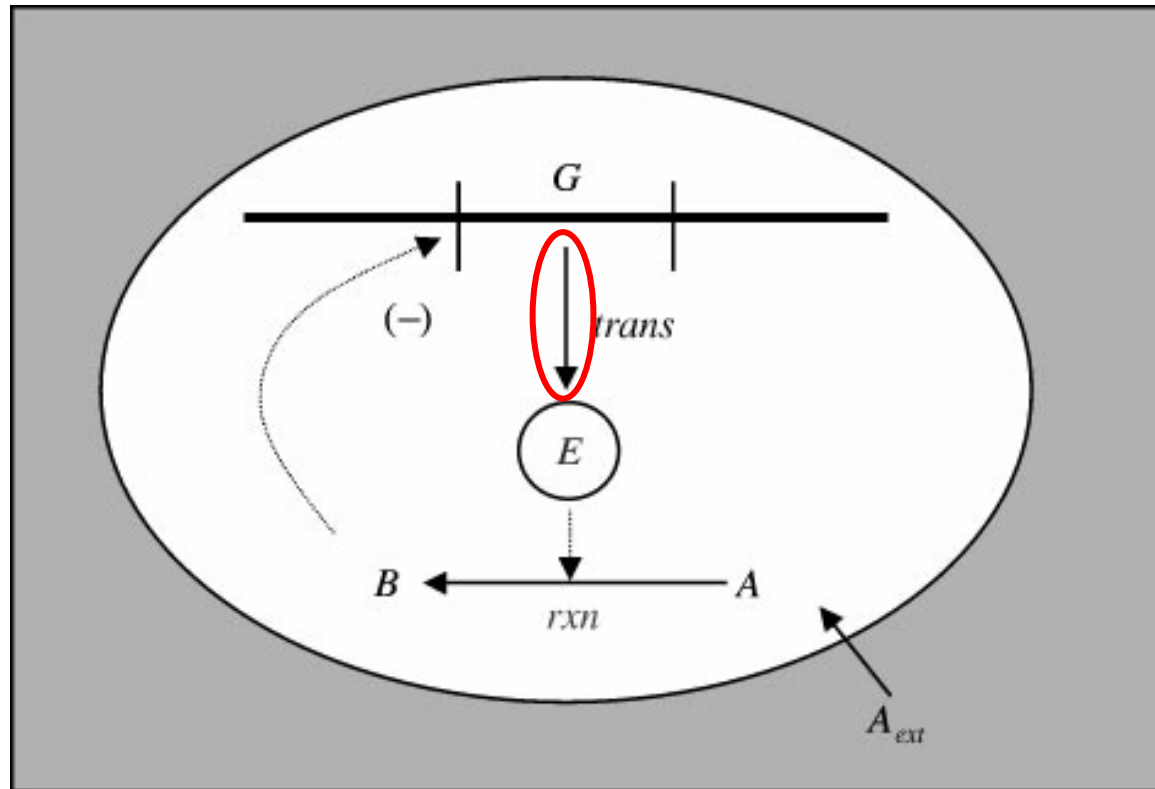


Транскрипция гена G ($trans$) приводит к синтезу фермента E .

Фермент E катализирует реакцию rxn в которой субстрат A превращается в продукт B .

Продукт B затем репрессирует транскрипцию гена G , что ведет к подавлению синтеза E .

Регуляторная единица

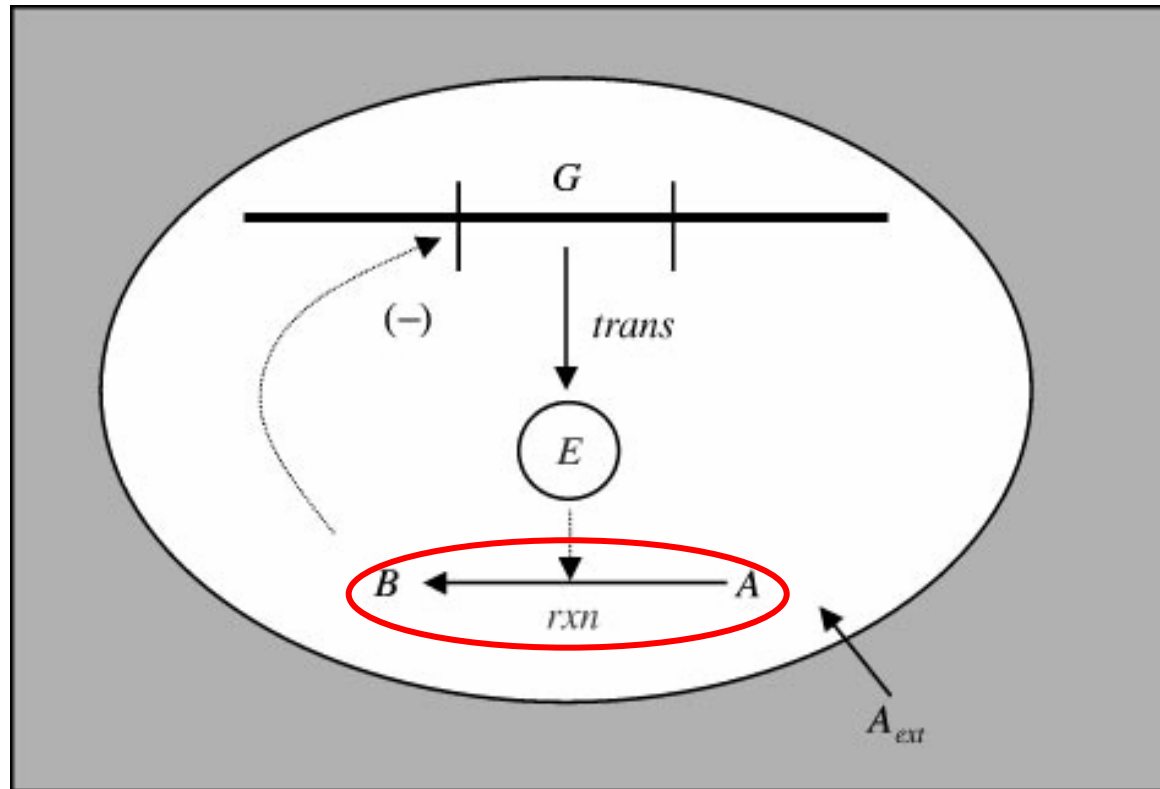


Событие *trans* (транскрипция) будет иметь место:

1. если ген G присутствует в геноме,
2. продукт B еще не поработан.

Соответствующее логическое уравнение: ***trans* = IF (G) AND NOT (B)**

Регуляторная единица



Реакция rxn будет протекать, если одновременно присутствуют субстрат A и фермент E .

Соответствующее логическое уравнение:

$$rxn = IF (A) AND (E)$$

Регуляторно-метаболическая сеть *E. coli*.

