

Seminar „Wie Zellen denken“ :

Heute:

Optimale Enzymaktivitäten und metabolische Kontrolltheorie

Jannis Uhlendorf, Tim Landgraf, WS05/06

Index

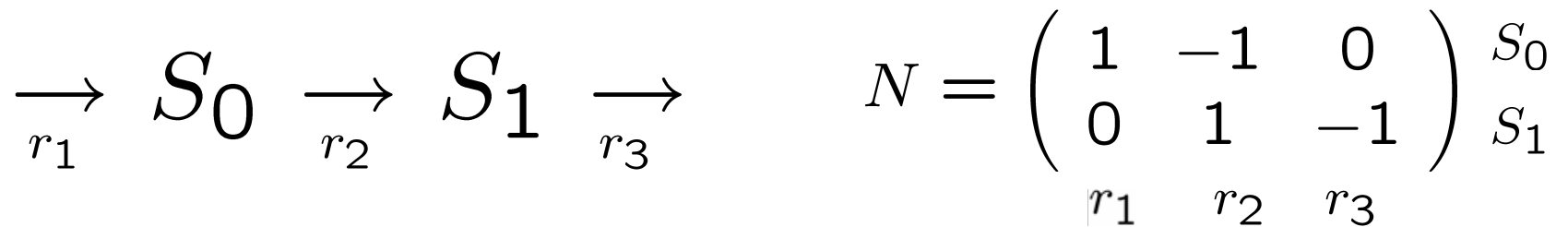
1. Crash-Kurs : Metabolische Kontrolltheorie
2. Motivation Optimalität
3. Optimale Enzymkonzentrationen
 - lineares Reaktionssystem
 - verzweigtes Reaktionssystem
 - allgemeiner Fall
4. Ergebnisse / Diskussion

MCA – metabolic control analysis

- Motivation :
 - Geg. : metabolisches Modell-System im steady state
 - Frage : Wie verhält sich das System bei Störungen von
 - Metabolitkonzentrationen
 - Enzymkonzentrationen
 - Reaktionsgeschwindigkeiten
 - (vergleichbare) Systemeigenschaften

MCA - Basics

Die Stöchiometrische Matrix



Zusammenfassung der stöchiometrischen Koeffizienten in einer Matrix

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

Wobei V = Vektor der Reaktionsgeschwindigkeiten

MCA - Basics

Die Substratkonzentrationen und Reaktionsgeschwindigkeiten sind von den Parametern abhängig

Im steady state gilt:

$$S = S(p)$$

$$V = V(S(p), p) = J(p)$$

→ Im Steady State wird kein Metabolit angehäuft oder abgebaut

$$\frac{dS}{dt} = 0 \quad \text{oder} \quad NV = NV(S(p), p) = 0$$

MCA - Flüsse

- Flüsse = Reaktionsgeschwindigkeiten im stationären Zustand

$$\boxed{J(p) = V(S(p), p)} \rightarrow \begin{pmatrix} J_1 \\ J_2 \\ J_3 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} v_1 \\ v_2 \\ v_3 \end{pmatrix}$$

→ Grundlage von $NV=0$

MCA – Sensitivitäten

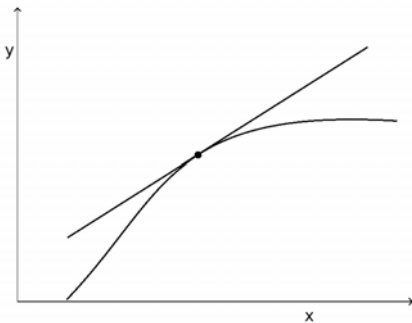
Allgemein: $y(x)$ hängt von Größe x ab

→ Einfluss einer Änderung Δx auf y lässt sich ausdrücken durch:

ohne Normierung

$$C_x^y = \left(\frac{\Delta y}{\Delta x} \right)_{\Delta x \rightarrow 0}$$

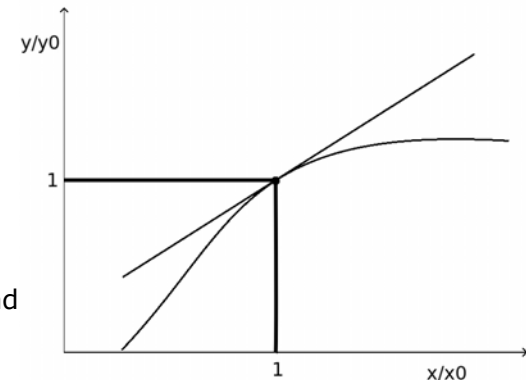
$$C_x^y = \frac{\partial y}{\partial x}$$



mit Normierung

$$C_x^y = \left(\frac{x \Delta y}{y \Delta x} \right)_{\Delta x \rightarrow 0}$$

$$C_x^y = \frac{x \partial y}{y \partial x}$$



Optimale Enzymaktivitäten und
metabolische Kontrolltheorie

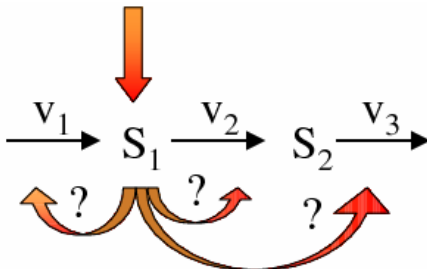
Lokale Koeffizienten: Elastizitäten

- Elastizitäten beschreiben die direkte Auswirkung (keine Betrachtung des steady states) einer Parameter-/Substratkonzentrationsänderung auf die einzelnen Reaktionen

ε -Elastizitäten

$$\varepsilon_i^k = \frac{S_i}{v_k} \frac{\partial v_k}{\partial S_i}$$

Sensitivität einer Reaktionsrate auf Änderung einer Substratkonzentration



π -Elastizitäten

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

Sensitivität einer Reaktionsrate auf Parameteränderung

Globale Koeffizienten: Kontrollkoeffizienten

- Einfluss einer Reaktionsratenänderung auf das gesamte System
- Betrachtung des steady state

$$S = S(p)$$

$$J = V(S(p), p)$$

Eine Änderung einer Reaktionsrate $v_k \rightarrow v_k + \Delta v_k$ Führt zu einem neuen steady state in Nähe des alten:

$$J \rightarrow J + \Delta J \quad \text{und} \quad S \rightarrow S + \Delta S$$

Quantifizierung durch Kontrollkoeffizienten

Globale Koeffizienten: Responsekoeffizienten

Abhängigkeit der Flüsse bzw. Substratkonzentrationen von Parametern im steady state

Flussresponsekoeffizienten

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

→ Antwort eines Flusses auf eine Parameteränderung im steady state

Substratresponsekoeffizienten

$$R_{p_m}^{S_i} = \frac{\partial S_i}{\partial p_m} \qquad R_{p_m}^{S_i} = \frac{p_m}{S_i} \frac{\partial S_i}{\partial p_m}$$

→ Antwort einer Substratkonzentration auf eine Parameteränderung im steady state

Globale Koeffizienten: Kontrollkoeffizienten

Flußkontrollkoeffizienten

$$C_{v_k}^{J_j} = \frac{\partial J_j}{\partial p_k} \left(\frac{\partial v_k}{\partial p_k} \right)^{-1}$$

nicht normiert

$$C_{v_k}^{J_j} = \frac{v_k}{J_j} \frac{\partial J_j}{\partial p_k} \left(\frac{\partial v_k}{\partial p_k} \right)^{-1}$$

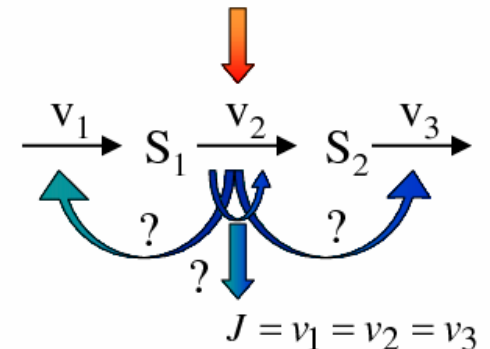
normiert

Kontrolle einer Reaktion v_k auf den Fluß J_j

Positiver Wert → Positive Kontrolle

Negativer Wert → Negative Kontrolle

Jeder Parameter p_k beeinflusst nur Reaktion v_k



Globale Koeffizienten: Kontrollkoeffizienten

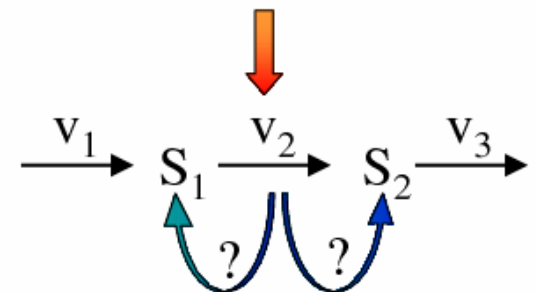
Konzentrationskontrollkoeffizienten

$$C_{v_k}^{S_i} = \frac{\partial S_i}{\partial p_k} \left(\frac{\partial v_k}{\partial p_k} \right)^{-1} \quad C_{v_k}^{S_i} = \frac{v_k}{S_i} \frac{\partial S_i}{\partial p_k} \left(\frac{\partial v_k}{\partial p_k} \right)^{-1}$$

nicht normiert

normiert

Kontrolle einer Reaktion v_k auf ein Substrat S_i



MCA - Matrixschreibweise

Flusskontrollkoeffizienten als Matrix:

$$C^J = \begin{pmatrix} C_{v_1}^{J_1} & C_{v_2}^{J_1} & \dots & C_{v_r}^{J_1} \\ C_{v_1}^{J_2} & C_{v_2}^{J_2} & \dots & C_{v_r}^{J_2} \\ \vdots & & & \vdots \\ C_{v_1}^{J_r} & C_{v_2}^{J_r} & \dots & C_{v_r}^{J_r} \end{pmatrix}$$

$$\begin{aligned} C^S &= \{C_{v_k}^{S_i}\} & C^J &= \{C_{v_k}^{J_j}\} \\ R^J &= \{R_{p_m}^{J_j}\} & \pi &= \{\pi_{p_m}^{v_k}\} \\ R^S &= \{R_{p_m}^{S_i}\} & \varepsilon &= \{\varepsilon_{S_i}^{v_k}\} \end{aligned}$$

Berechnung der Kontrollkoeffizienten

Responsekoeffizienten

$$R^{S_{non}} = \frac{\partial S}{\partial p} = - \left(N \frac{\partial V}{\partial S} \right)^{-1} N \frac{\partial V}{\partial p} \quad R^{J_{non}} = \frac{\partial J}{\partial p} = \left[I - \frac{\partial V}{\partial S} \left(N \frac{\partial V}{\partial S} \right)^{-1} N \right] \frac{\partial V}{\partial p}$$

Kontrollkoeffizienten

$$C^{S_{non}} = \frac{\partial S}{\partial p} \left(\frac{\partial V}{\partial p} \right)^{-1} = - \left(N \frac{\partial V}{\partial S} \right)^{-1} N$$

$$C^{J_{non}} = \frac{\partial J}{\partial p} \left(\frac{\partial V}{\partial p} \right)^{-1} = \left[I - \frac{\partial V}{\partial S} \left(N \frac{\partial V}{\partial S} \right)^{-1} N \right] = I + \frac{\partial V}{\partial S} C^{S_{non}}$$

Normierung

→ Um Unabhängig von physikalischen Größen zu sein wird normiert

$$C_x^y = \frac{x \partial y}{y \partial x}$$

Normierungsfaktor

Diagonalmatrix der Flüsse

In Matrixform: $C^S = (dgS)^{-1} \cdot C^{Snon} \cdot dgJ$

$$\begin{pmatrix} J_1 & 0 & \dots & 0 \\ 0 & J_2 & & \vdots \\ \vdots & & \ddots & \\ 0 & \dots & & J_r \end{pmatrix}$$

Summationstheoreme

Die normierten Flusskontrollkoeffizienten eines Flusses summieren sich zu 1

$$\sum_{k=1}^r C_{v_k}^{J_j} = 1 \quad \text{oder} \quad C^J \cdot \mathbf{1} = 1$$

Spaltenvektor mit Einsen

Interpretation: Die Enzyme (Reaktionen) teilen sich die Kontrolle über einen Fluss

Die normierten Konzentrationskontrollkoeffizienten eines Substrates ergeben in der Summe 0

$$\sum_{k=1}^r C_{v_k}^{S_i} = 0 \quad \text{oder} \quad C^S \cdot \mathbf{1} = 0$$

Einige Reaktionen üben eine negative, andere eine positive Kontrolle aus.

Konnektivitätstheoreme

Flusskontrollkoeffizienten und Elastizitäten

$$\sum_{k=1}^r C_{v_k}^{J_j} \varepsilon_{S_i}^{v_k} = 0 \quad \text{oder} \quad C^{J_{non}} \cdot \varepsilon^{non} = 0$$

Konzentrationskontrollkoeffizienten und Elastizitäten

$$\sum_{k=1}^r C_{v_k}^{S_i} \varepsilon_{S_i}^{v_k} = -\delta_{ij} \quad \text{wobei} \quad \delta = \begin{cases} 0 & i \neq j \\ 1 & \text{sonst} \end{cases}$$

$$\text{oder} \quad C^{S_{non}} \cdot \varepsilon^{non} = -I$$

Das Optimalitätsprinzip

- Annahme :
 - Zellen sind *optimal* unter Normalbedingungen eingestellt
 - Zellen reagieren *optimal* auf Störungen
- optimal ?

maximieren	minimieren
ATP-Gewinn	Anzahl von Reaktionsschritten
Fluss	Fluss
Effizienz	Enzymkonzentration

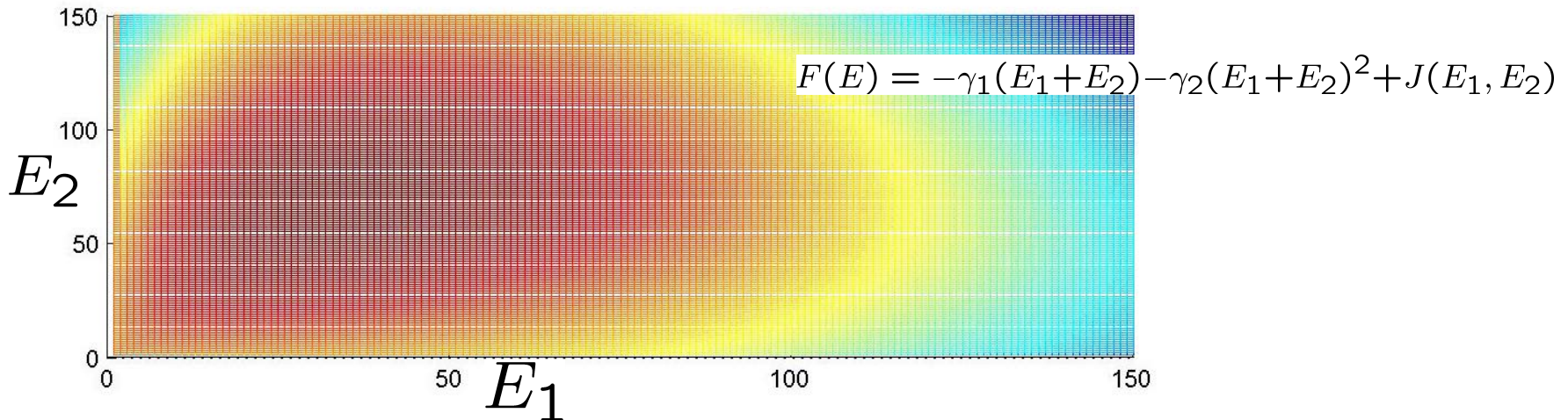
Das Optimalitätsprinzip

- Allgemein: Maximierung einer Fitnessfunktion

$$F(x, y) = U(x, y) + V(x, y)$$

Kosten

Nutzen



Optimale Enzymaktivitäten und
metabolische Kontrolltheorie

Optimale Enzymkonzentrationen

Klipp, Heinrich:

Competition for enzymes in metabolic pathways :
Implications for optimal distributions of enzyme
concentrations and for the distributions of flux
control

(Biosystems, 1999)

Optimale Enzymkonzentrationen

Def. :

Zustand des metab. System =
optimal \Leftrightarrow

totale **Enzymkonzentration**
minimal UND **Fluss*** **gleichbleibend**

Erwartung :

spezielle Verteilung der
Flusskontrollkoeffizienten, bzw.
spezielle **Zusammenhänge** jener mit
den Enzymkonzentrationen

Optimale Enzymkonzentrationen

1. lineare Reaktionskette
2. verzweigter Reaktionsweg
3. allgemeiner Fall

Optimale Enzymkonz. – lineare Reaktionskette

geg. :



Ann. :

$$V_i = E_i f_i(S_1, \dots, S_n)$$

im steady state :

$$V_i = J$$

Ziel :

Finde E_{opt}^{tot} unter der Bedingung : $J_{E=E_{opt}} = J^0$

Lagrange Multiplikatoren

- Finden der Extrema von Gleichungen mit *Nebenbedingungen*
- Bsp. :
Milchmädchen-Problem
- allg. Form :
finde Extremum von $f(A)$
Nebenbedingung : $g(A)=c$
 \Leftrightarrow
finde Extremum von $f(A) - \lambda(g(A)-c)$

Optimale Enzymkonz. – lineare Reaktionskette

$$\frac{\partial}{\partial E_i} \sum_{j=1}^r E_j + \lambda [J(E_1, \dots, E_r) - J_0] = 0$$

E_{tot} Fluss Referenz-Fluss



$$1 + \lambda \frac{\partial J}{\partial E_i} = 0 \Leftrightarrow \frac{\partial J}{\partial E_i} = \frac{-1}{\lambda}$$

Optimale Enzymkonz. – lineare Reaktionskette

$$\frac{\partial J}{\partial E_i} = \frac{-1}{\lambda} \quad \Leftrightarrow \quad \boxed{\frac{e_i}{J} \left(\frac{\partial J}{\partial E_i} \right)_{E_j=e_j}} = -\frac{e_i}{J} \frac{1}{\lambda}$$

flux control coefficient

Anwendung des Summationstheorems:

$$\lambda = \frac{-e_{tot}}{J} \quad \text{Einsetzen o.r. :} \quad (C_i)_{E_j=e_j} = \frac{e_i}{e_{tot}}$$

Optimale Enzymkonz. – lineare Reaktionskette

Schlussfolgerung :

Verteilung der
Flusskontrollkoeffizienten **gleich** der
der Enzyme

Aber : wie sehen optimalen Enzym-
konzentrationen aus?

Dazu :

Anwendung *spezieller* Kinetik

Optimale Enzymkonz. – lineare Reaktionskette

$$V_i = E_i (S_{i-1} k_i - S_i k_{-i})$$

Massenwirkungs-Kinetik
 $S_0 = P_1 = \text{const}$
 $S_{n+1} = P_2 = \text{const}$

$$J = \frac{P_1 \prod_{i=1}^n q_i - P_2}{\sum_{j=1}^n \frac{1}{E_j k_{-j}} \prod_{m=j+1}^n q_m}$$

steady state Fluss mit :

$$q_i = \frac{k_i}{k_{-i}}$$

Optimale Enzymkonz. – lineare Reaktionskette

einsetzen in : $\frac{\partial J}{\partial E_i} = \frac{-1}{\lambda}$ ergibt : $e_i = \frac{J^0}{N} \sqrt{Y_i} \sum_{l=1}^n \sqrt{Y_l}$

mit : $Y_l = \frac{1}{k_{-j}} \prod_{m=j+1}^n q_m$

um J^0 zu erhalten:

Referenz-System mit $E_i = E_{\text{tot}} / n$

$$N = P_1 \prod_{i=1}^n q_i - P_2$$

$$e_i = \frac{E_{\text{tot}} \sqrt{Y_i} \sum_{j=1}^n \sqrt{Y_j}}{n \sum_{l=1}^n Y_l}$$

Optimale Enzymkonz. – lineare Reaktionskette

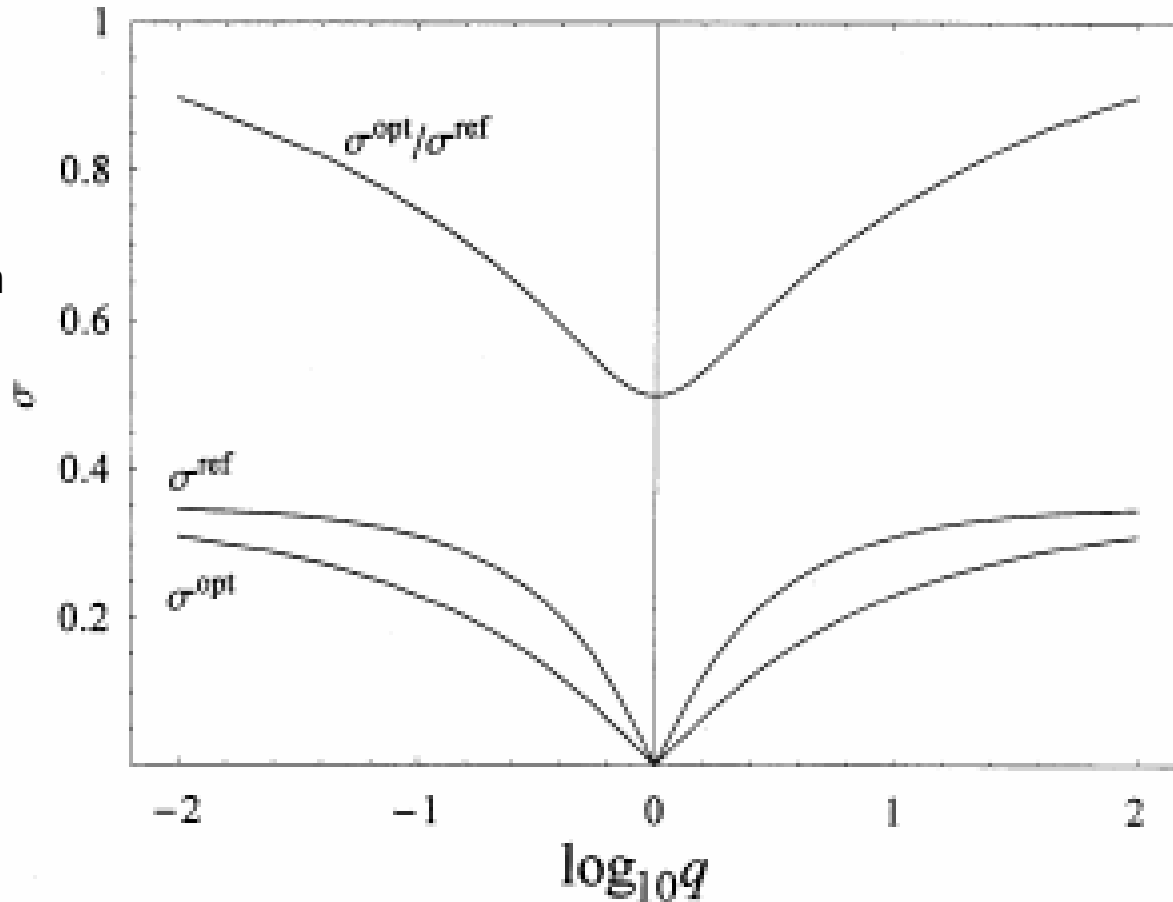
impliziert: $e_{tot} \leq E_{tot}$

einfügen in: $(C_i)_{E_j=E_j} = \frac{e_i}{e_{tot}}$

$$C_i = \frac{\sqrt{Y_i}}{\sum_{j=1}^n \sqrt{Y_j}} \quad C_i = \frac{Y_i}{\sum_{j=1}^n Y_j}$$

Optimale Enzymkonz. – lineare Reaktionskette

SDs of flux control in an unbranched chain of 5 enzymes with $q_i = q = k/k_-$



Optimale Enzymkonz. – lineare Reaktionskette

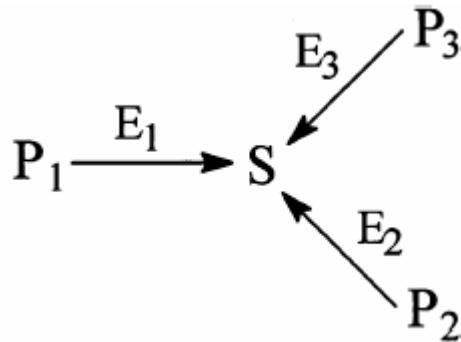
$$\sigma^{opt} \leq \sigma^{ref} \quad c_i = \frac{e_i}{e_{tot}}$$

- Reaktionen üben **gleichmäßiger** (*gleichberechtigter, gleichgewichtiger*) Kontrolle auf den Fluss aus
- Enzymkonzentrationen **differenzierter**
- Wahl des **Referenzstate** wichtig
- im linearen Fall, Enzymverteilung gleich Verteilung der FlussKK

Optimale Enzymkonzentrationen

1. lineare Reaktionskette
2. verzweigter Reaktionsweg
3. allgemeiner Fall

Optimale Enzymkonz. : Verzweigung



$$\frac{dS}{dt} = V_1 + V_2 + V_3$$

Ann. :

$$V_i = E_i(P_i k_i - S k_{-i})$$

Dann :

$$S = \frac{E_1 P_1 k_1 + E_2 P_2 k_2 + E_3 P_3 k_3}{E_1 k_{-1} + E_2 k_{-2} + E_3 k_{-3}} \quad (\text{steady state})$$

Optimale Enzymkonz. : Verzweigung

Fluss hat explizite Form :

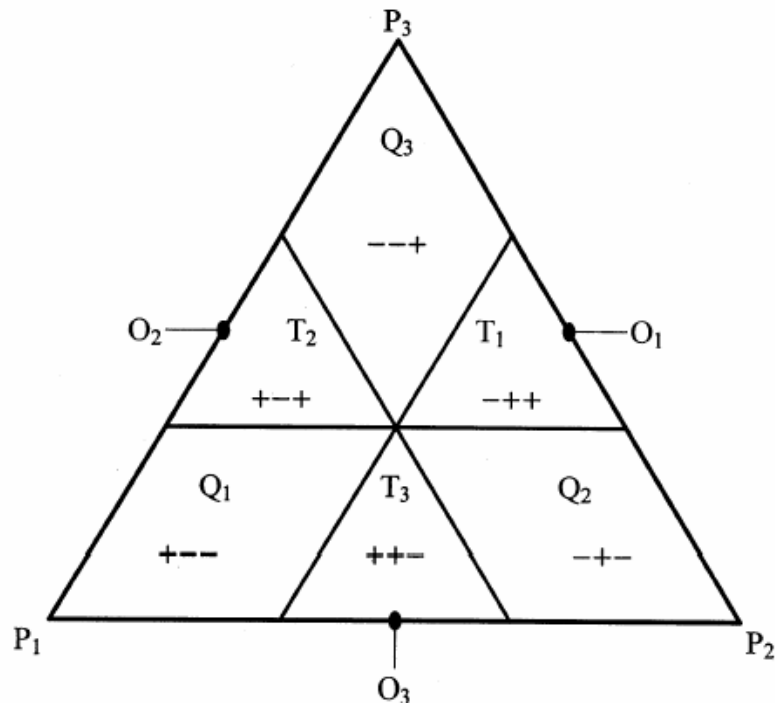
$$J_i = \frac{E_i [P_i k_i (E_j k_{-j} + E_m k_{-m}) - k_{-i} (E_j P_j k_j + E_m P_m k_m)]}{E_1 k_{-1} + E_2 k_{-2} + E_3 k_{-3}}$$

Referenzstate : $E_i = E_{\text{tot}}/3$

Oben einsetzen :

$$J_i = \frac{E_{\text{tot}} k}{9} (3P_i - P)$$

Optimale Enzymkonz. : Verzweigung



$$J_i = \frac{E_{\text{tot}} k}{9} (3P_i - P)$$

P-Simplex :

$$P = P_1 + P_2 + P_3$$

Vorzeichen der korresp. Flüsse

Optimale Enzymkonz. : Verzweigung

$$V_i = E_i(P_i k_i - S k_i) \quad \Leftrightarrow \quad E_i = \frac{V_i}{P_i k_i - S k_i}$$

Ziel : $\min(E_{\text{tot}}) = e_{\text{tot}}$ finden !

$$\frac{dE_{\text{tot}}}{dS} = \frac{d(E_1 + E_2 + E_3)}{dS} = \sum_{i=1}^3 \frac{J_i k_{-1}}{(P_i k_i - S k_{-i})^2} = 0$$

$d^2E_{\text{tot}}/dS^2 > 0 \rightarrow$ Minimum

Optimale Enzymkonz. : Verzweigung

optimale Konzentration von S=s berechnen
und hier einsetzen :

$$E_i = \frac{V_i}{P_i k_i - S k_i}$$

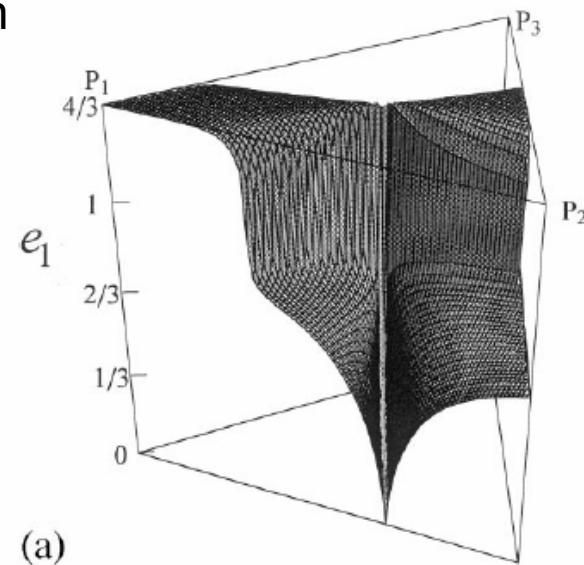
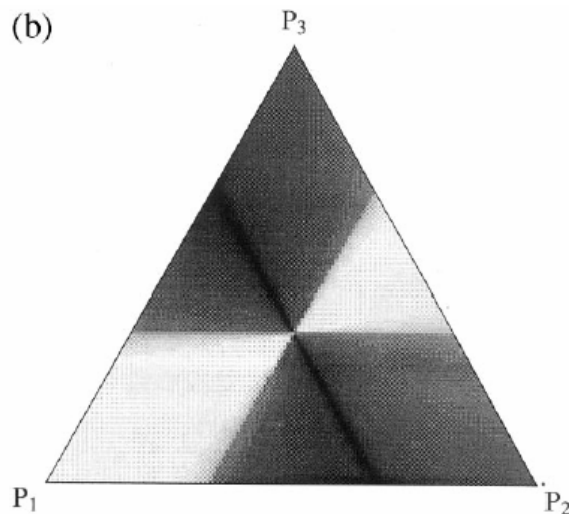


Fig. 3. Optimal concentration e_1 . (a) The optimal concentration of enzyme E_1 is depicted in the P-simplex representation for $k_i = k_{-i} = k$. (b) Corresponding density plot. Each point in these plots represents the solution of the minimization problem for for the corresponding set of reference steady-state fluxes. Similar representations for E_2 and E_3 can be obtained by a cyclic interchange of the indices.

Optimale Enzymkonz. : Verzweigung

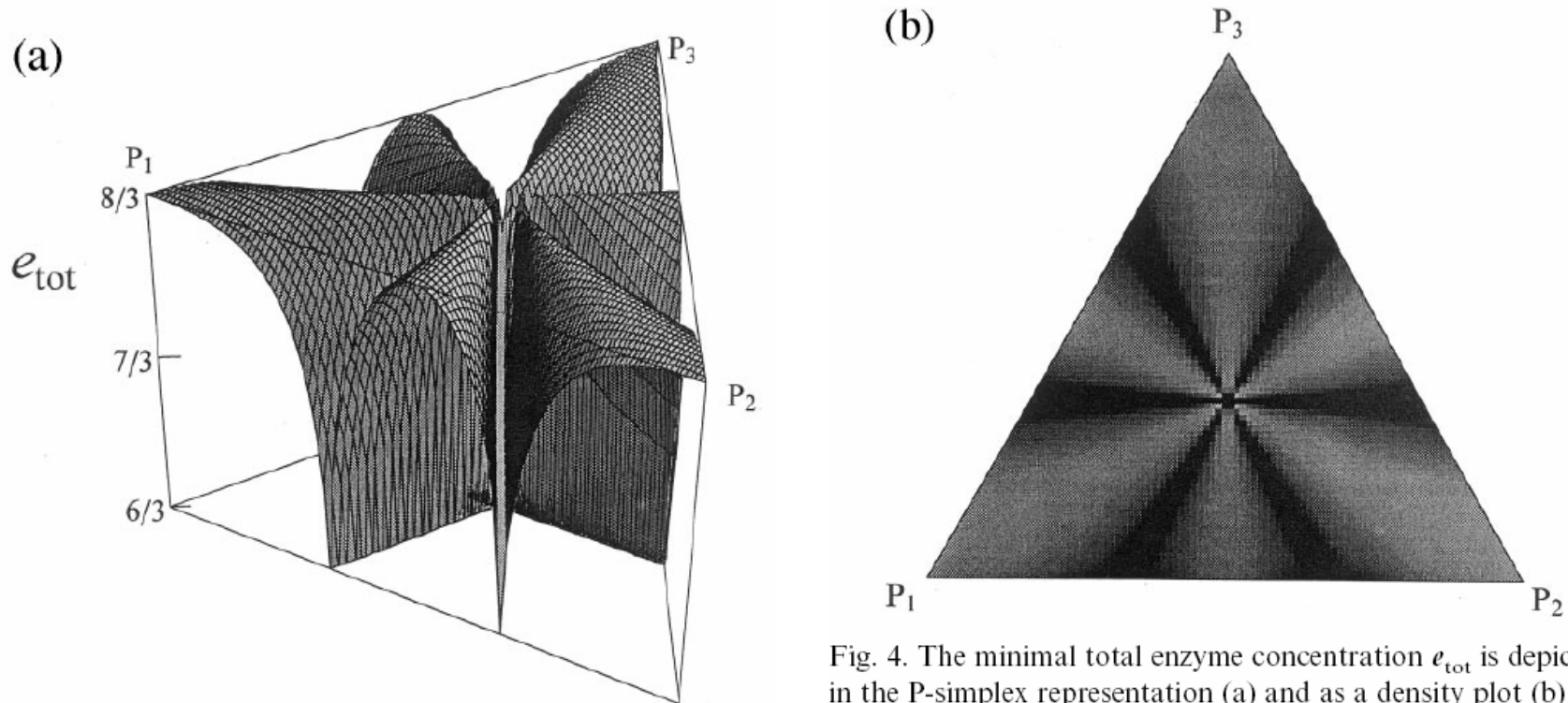
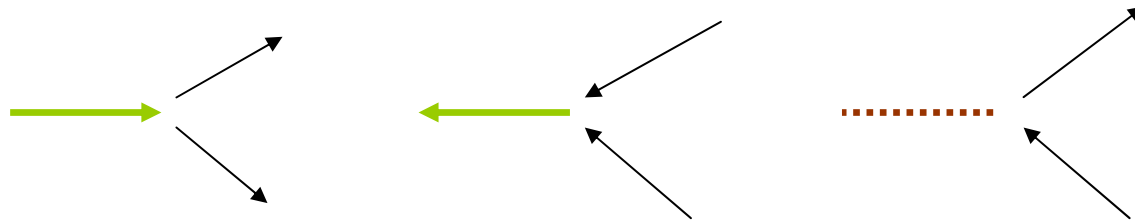


Fig. 4. The minimal total enzyme concentration e_{tot} is depicted in the P-simplex representation (a) and as a density plot (b) for $k_i = k_{-i} = k$. Each point in these plots represents the solution of the minimization problem for the corresponding set of reference steady-state fluxes.

Optimale Enzymkonz. : Verzweigung

- remarks :
 - $e_{\text{tot}} \leq E_{\text{tot}}$
 - aber nicht immer $e_i \leq E_i$
(hängt von P_i ab)
 - auch im allgemeinen Fall $k_i \neq k_{-i}$
 - individ. Enzymkonz. hoch/niedrig bei speziellen Konfigurationen :



Optimale Enzymkonz. : Verzweigung

Flusskontroll-Matrix ohne Herleitung :

$$C = I_3 - \frac{1}{E_1k_{-1} + E_2k_{-2} + E_3k_{-3}} \begin{pmatrix} E_1k_{-1} & \frac{J_2}{J_1}E_1k_{-1} & \frac{J_3}{J_1}E_1k_{-1} \\ \frac{J_1}{J_2}E_2k_{-2} & E_2k_{-2} & \frac{J_3}{J_2}E_2k_{-2} \\ \frac{J_1}{J_3}E_3k_{-3} & \frac{J_2}{J_3}E_3k_{-3} & E_3k_{-3} \end{pmatrix}$$

Standardabweichungen ohne Herleitung :

$$\frac{\sigma^{\text{opt}}}{\sigma^{\text{ref}}} = \frac{(k_{-1} + k_{-2} + k_{-3})}{(e_1k_{-1} + e_2k_{-2} + e_3k_{-3})} \sqrt{\frac{\left(\frac{e_1k_{-1}}{J_1}\right)^2 + \left(\frac{e_2k_{-2}}{J_2}\right)^2 + \left(\frac{e_3k_{-3}}{J_3}\right)^2}{\left(\frac{k_{-1}}{J_1}\right)^2 + \left(\frac{k_{-2}}{J_2}\right)^2 + \left(\frac{k_{-3}}{J_3}\right)^2}}$$

„easy to see“
(für $k_i = k_{-i}$) :

$$\frac{\sigma^{\text{opt}}}{\sigma^{\text{ref}}} = \frac{\sqrt{3}}{2} < 1$$

Optimale Enzymkonz. : Verzweigung

- auch im „branched pathway“ – Fall :
 - Reduktion der SDs der FKK
 - opt. Enzymkonz. < Referenzzustand

Jetzt : kurz durchatmen / aufwachen :

Der allgemeine Fall

Optimale Enzymkonzentrationen

1. lineare Reaktionskette
2. verzweigter Reaktionsweg
3. allgemeiner Fall

Optimierung – Allgemeiner Fall

- Metabolisches Netz

- r Reaktionen

- n Metabolite

- keine Restriktionen auf Netzwerkstruktur

Ziel: Minimierung der totalen Enzymkonzentration unter Aufrechterhaltung der Flüsse

- Reaktionen sind fest: $V_i = V_i^{(0)}$

- Systeme unterscheiden sich nur in der Enzymkonzentration

Optimierung – Allgemeiner Fall

Annahme: Reaktionsrate V_i ist linear von der Enzymkonzentration abhängig

$$V_i = E_i f_i(S_1, \dots, S_n) \quad \Rightarrow \quad E_i = E_i(S_1, \dots, S_n) = \frac{V_i^{(0)}}{f_i}$$

← Funktion

Minimierung von $E_{tot} = \sum_{i=1}^r E_i$ also: $\frac{\partial E_{tot}}{\partial S_j} = \frac{\partial \sum_{i=1}^r E_i}{\partial S_j} = 0$

$$\sum_{i=1}^r \frac{e_i}{V_i^{(0)}} \frac{\partial V_i}{\partial S_j} = 0 \quad \text{oder als Matrix:} \quad \left(\frac{\partial V}{\partial S} \right)^T (dgJ)^{-1} e = 0$$
$$\Rightarrow \epsilon^T e = 0$$

Optimierung – Allgemeiner Fall

Im optimierten Zustand besteht ein Zusammenhang zwischen Flusskontrollkoeffizienten und Enzymkonzentration

$$C^{JT} e = e \rightarrow \text{Summiert über alle Flüsse}$$

Konnektivitätstheorem: $C^J \cdot \varepsilon = 0 \rightarrow \text{Summiert über alle Reaktionen}$

Ergebnisse

Minimierung der totalen Enzymkonzentration

Auswirkungen auf Enzymkonzentrationen

- Differenzierung der individuellen Enzymkonzentrationen
- Enzyme mit hoher Flusskontrolle werden bei Optimierung meist höher exprimiert als im Referenzzustand*

Auswirkungen auf Flusskontrollkoeffizienten

- Resultieren aus Änderungen der Enzymkonzentrationen
- Wenn Enzymkonz. sinkt wird meist auch die Kontrolle geringer
- Minimierung führt zu gleichmäßigerer Verteilung der Flusskontrollkoeffizienten*

Allgemeine Folgerungen

- Im optimalen Zustand :
 - Zusammenhang zwischen Flusskontrollkoeffizienten und Enzymkonzentrationen
(Vektor der optimalen Enzymkonz. ist Eigenvektor zur Flusskontrollmatrix^T)
 - Zusammenhang zwischen Elastizitäten und Enzymkonzentrationen

$$C^{JT} e = e \quad \varepsilon^T e = 0$$

Quellen

- Kipp, Heinrich. 1999 Competition for enzymes in metabolic pathways: Implications for optimal distributions of enzyme concentrations and for the distribution of flux control
- Liebermeister, Klipp, Schuster, Heinrich. 2003 A theory of optimal differential gene expression
- Klipp, Herwig, Kowald, Wierling, Lehrach. Systems Biology in Practice. Concepts, Implementation and Application
- Heinrich, Schuster. The Regulation Of Cellular Systems
- Liebermeister. Analysis of optimal differential gene expression
- <http://www.slimy.com/~steuard/tutorials/Lagrange.html>
- Edda Klipp Vorlesung: Mathematische Modellierung von Stoffwechselprozessen und Genexpression