

V12 metabolische Netzwerke

- Metabolisches Netzwerk: Gesamtheit aller metabolischen Pfade einer Zelle / eines Organismus
- Methoden der Systembiologie ermöglichen die integrierte, simultane Betrachtung von kompletten metabolischen Netzwerken.
- **wichtige Fragen:**
 - (1) wie soll man die Gesamtheit der metabolischen Flüsse im Netzwerk beschreiben?
 - (2) wie können mathematische Techniken die gezielte Manipulation von Mikroorganismen im Hinblick auf die Produktion bestimmter Substanzen unterstützen?

Ecocyc : Datenbank mit Reaktionen von *E. coli*

Datentyp	Anzahl
Gene	4499
Genprodukte, die in Mini-Review behandelt werden	3706
Genprodukte mit exp. validierten GO-Termen	2462
Enzyme	1485
Metabolische Reaktionen	1577
Substanzen	2363
Transporter	264
Transportreaktionen	348
Transportierte Substrate	254
Transkriptionsfaktoren	188
Regulatorische Interaktionen	5827
Transkriptionsinitiation	3207
Transkription – Elongation	20
Regulation der Translation	114
Enzym-Modulierung	2468
andere	18

Keseler et al. *Nucl. Acids Res.* (2013) 41: D605-D612

Beispiel: Stoffwechsel von *E. coli*

Table 1. Most Frequently Used Metabolites in *E. coli* Central Metabolism

Occurrence	Name of metabolite
205	H ₂ O
152	ATP
101	ADP
100	phosphate
89	pyrophosphate
66	NAD
60	NADH
54	CO ₂
53	H ⁺
49	AMP
48	NH ₃
48	NADP
45	NADPH
44	Coenzyme A
43	L-glutamate
41	pyruvate
29	acetyl-CoA
26	O ₂
24	2-oxoglutarate
23	S-adenosyl-L-methionine
18	S-adenosyl-homocysteine
16	L-aspartate
16	L-glutamine
15	H ₂ O ₂

Im Mittel enthält jede Reaktion
4 Substrate.

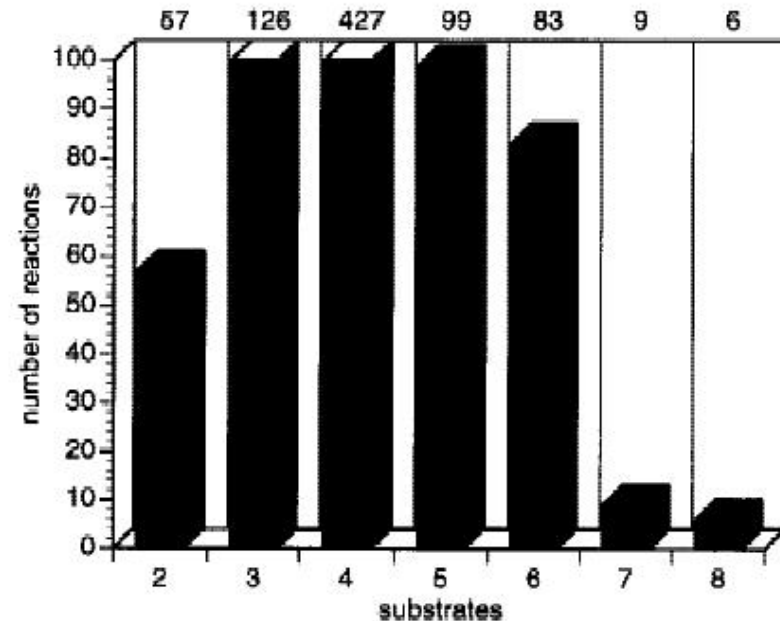


Figure 4 Diagram showing the number of reactions containing varying numbers of substrates (reactants plus products).

Ouzonis, Karp, Genome Research 10, 568 (2000)

Beispiel: Stoffwechsel von *E. coli*

Eine ältere Version von EcoCyc enthielt 131 Stoffwechsel-Pfade.

Die Länge der Pfade variiert von 1 bis 16. Der Mittelwert ist 5.4.

Von den 607 Enzymen sind 100 multifunktional. Purin-Nukleosid-Phosphorylase und Nukleosid-Diphosphatkinase katalysieren 7 bzw. 9 Reaktionen.

483 Reaktionen gehören zu einem Pfad, 99 Reaktionen gehören zu mehreren Pfaden.

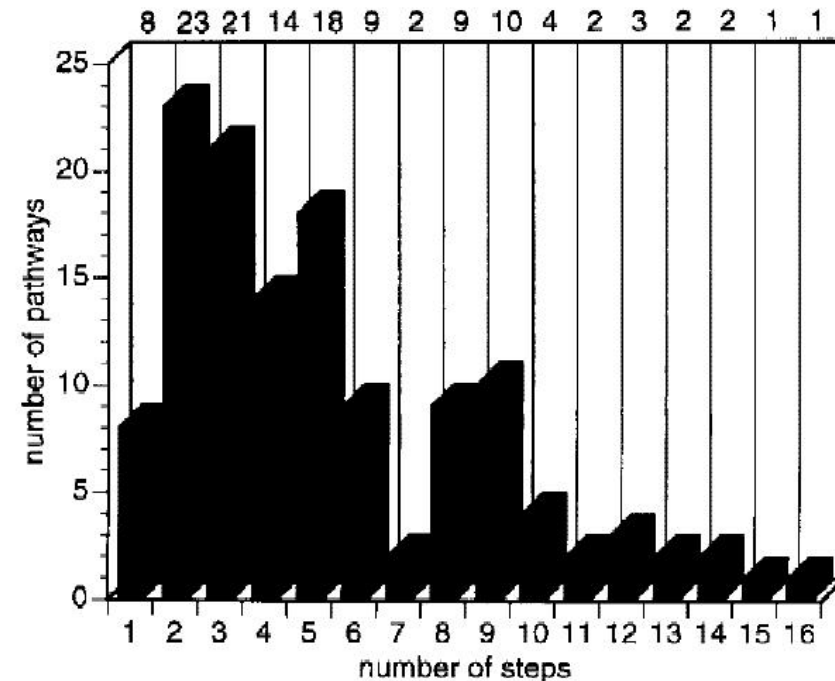


Figure 5 Length distribution of EcoCyc pathways; two pathways are not included because the number of steps is not known.

Ouzonis, Karp, Genome Research 10, 568 (2000)

Fazit

Stoffwechsel-Netzwerke von einfachen Organismen sind mittlerweile fast vollständig bekannt.

Ist die Beschreibung mit einzelnen Stoffwechsel-Wegen adäquat?

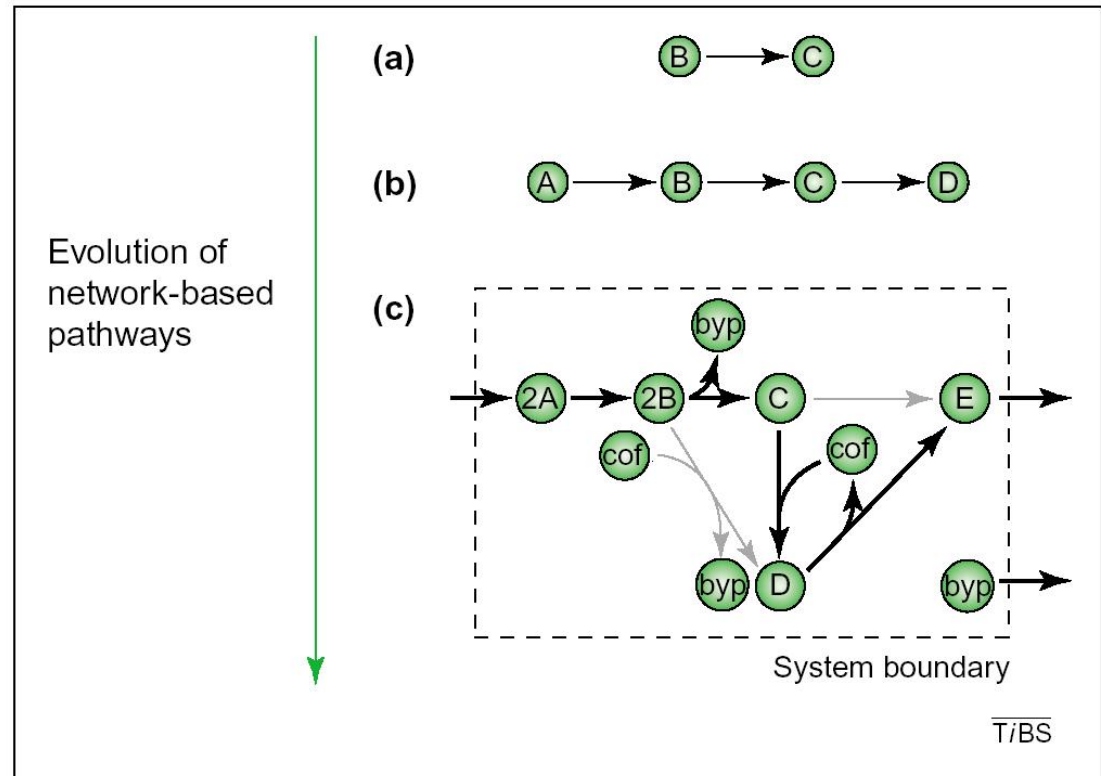
- Reaktionen, Enzyme und Substrate gehören oft zu mehreren Pfaden.
- Die Einteilung in einzelne Stoffwechsel-Pfade ist nicht immer eindeutig.

Metabolische Pfade in der post-genomischen Ära

(a) klassische Biochemie
bestimmt Stöchiometrien
einzelner **Reaktionen**

(b) Katalogisierung vieler
Reaktionen, Gruppierung nach
gemeinsamen Metaboliten
führt zu traditionellen **Pfaden** wie
Glykolyse, Pentose-Phosphat-
Pfad

(c) Durch komplette Information
können nun die kompletten
metabolischen Pfade zu einem
Netzwerk kombiniert werden.



Metabolische Pfade in der post-genomischen Ära

Traditionelle metabolische Pfade dienen als konzeptioneller Rahmen für Forschung und Lehre.

Man kann dadurch Metabolismen verschiedener Organismen vergleichen.

Jedoch sind sie nicht für quantitative, systemische Bewertungen biologischer Reaktionsnetzwerke geeignet, da sie nur Teile der Netzwerke darstellen.

Sie wurden oft in Zelltypen entdeckt, in denen sie wichtige metabolische Funktionen übernehmen (z.G. Glykolyse in Hefe).

Man kann diese Pfade jedoch nicht einfach auf andere Zelltypen mit anderen Enzym- und Metabolit-Konzentrationen übertragen.

Flux Balance Analyse

Jede chemische Reaktion erfüllt die **Erhaltung der Massen**.

Mit dieser grundlegenden Bedingung können metabolische Systeme untersucht werden.

Man muss lediglich die Stöchiometrie aller metabolischen Pfade und die metabolischen Anforderungen kennen. Für jeden Metabolit gilt:

$$v_i = \frac{dX_i}{dt} = V_{synthesized} - V_{degraded} - (V_{used} - V_{transported})$$

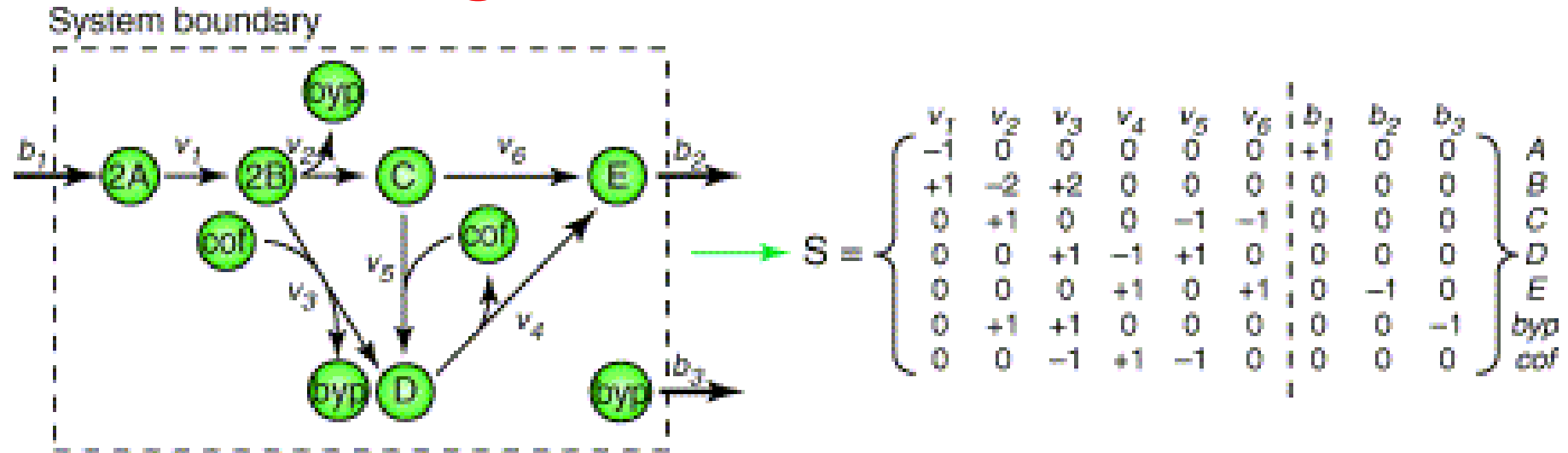
Im Gleichgewicht kann man die Massenerhaltung in einem metabolischen Netzwerk mathematisch durch eine Matrixgleichung darstellen:

$$S \cdot v = 0$$

Hierbei ist die Matrix S wiederum die $m \times n$ **stöchiometrische Matrix**,
 m = Anzahl der Metabolite, n = Anzahl der Reaktionen im Netzwerk.

Der Vektor v beinhaltet alle Flüsse des metabolischen Netzwerks,
nämlich die internen Flüsse, die Transportflüsse, und das Zellwachstum.

Beschreibung vernetzter metabolischer Pfade



(a) aus genomischen, biochemischen, physiologischen Daten wird ein Reaktionsnetzwerk aufgestellt. Es gibt **interne Flüsse** innerhalb der Systemgrenzen und **externe Flüsse** zum Austausch mit der Umgebung.

(b) Dieses Netzwerk wird durch eine $m \times n$ **stöchiometrische Matrix** dargestellt, in der m Metabolite durch n Reaktionen miteinander verbunden werden..

Lösungsraum der metabolischen Flüsse

Da die Zahl an Metaboliten gewöhnlich kleiner ist als die Zahl an Reaktionen ($m < n$) ist die Flussgleichung üblicherweise **unterbestimmt**.

Daher gibt es im Allgemeinen eine Vielzahl an erlaubten Flussverteilungen, die die Massenerhaltung erfüllen. Dieser Satz von Lösungen entspricht dem **Nullraum** der Matrix S.

Consider

$$\begin{pmatrix} 0 & 2 & 1 \\ 3 & -1 & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} x_1 \\ x_2 \\ x_3 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \end{pmatrix}$$

$$\begin{array}{lcl} \text{Corresponds to} & 2x_2 + x_3 & = 0 \\ & 3x_1 - x_2 + x_3 & = 0 \end{array} \Leftrightarrow \begin{array}{lcl} & 2x_2 & = -x_3 \\ & 2x_1 & = -x_3 \end{array}$$

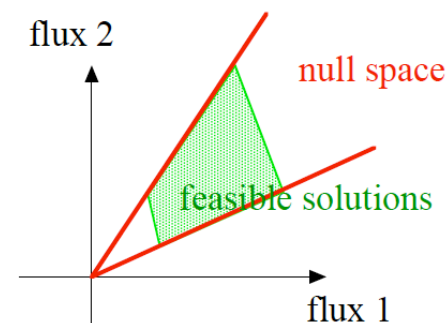
=> only one free parameter: x_3

$$\text{null space: } \vec{x} = \begin{pmatrix} -a \\ -a \\ 2a \end{pmatrix}$$

Add inequalities for external fluxes
(here, e.g.: $x_3 \geq 0$)

=> **feasible** solutions for $a \geq 0$

Generally: null space is a cone,
constraints select part of it



E.coli in silico

Das am besten charakterisierte zelluläre System ist *E. coli*.

Im Jahr 2000 konstruierten Edwards & Palsson eine *in silico* Darstellung des *E.coli*- Metabolismus.

Dies erforderte eine Menge Handarbeit um die notwendigen Informationen

- aus der biochemischen Literatur,
- aus Genomannotationen und
- aus metabolischen Datenbanken wie EcoCyc und KEGG zusammenzustellen.



Bernhard Palsson,
UC San Diego

Edwards & Palsson
PNAS 97, 5528 (2000)

Gene im *in silico* Modell für *E.coli*

Zoom Out

Table 1. The genes included in the *E. coli* metabolic genotype (21)

Central metabolism (EMP, PPP, TCA cycle, electron transport)	<i>aceA, aceB, aceE, aceF, ackA, ackA, acnB, acs, adhE, agp, appB, appC, atpA, atpB, atpC, atpD, atpE, atpF, atpG, atpH, atpI, cydA, cydB, cydC, cydD, cyoA, cyoB, cyoC, cyoD, dkt, eno, fba, fbp, fdhF, fdhG, fdhH, fdnI, fdoG, fdoH, fdoI, frdA, frdB, frdC, frdD, fumA, fumB, fumC, galM, gapA, gapC_1, gapC_2, glcB, glgA, glgC, glgP, glk, glpA, glpB, glpC, glpD, gltA, gnd, gpmA, gpmB, hyaA, hyaB, hyaC, hyaB, hycB, hycE, hycF, hycG, icdA, lctD, ldhA, lpdA, malP, mdh, ndh, nuoA, nuoB, nuoC, nuoE, nuoF, nuoG, nuoH, nuoI, nuoJ, nuoK, nuoL, nuoM, nuoN, pckA, pfkA, pfkB, pfkA, pfkB, pfkC, pfkD, pgk, pgk, pntA, pntB, pntC, pntD, pntE, pntF, pntG, pntH, pntI, pntJ, pntK, pntL, pntM, pntN, pntO, pntP, pntQ, pntR, pntS, pntT, pntU, pntV, pntW, pntX, pntY, pntZ, pntAA, pntAB, pntAC, pntAD, pntAE, pntAF, pntAG, pntAH, pntAI, pntAJ, pntAK, pntAL, pntAM, pntAN, pntAO, pntAP, pntAQ, pntAR, pntAS, pntAT, pntAU, pntAV, pntAW, pntAX, pntAY, pntAZ, pntBA, pntBB, pntBC, pntBD, pntBE, pntBF, pntBG, pntBH, pntBI, pntBJ, pntBK, pntBL, pntBM, pntBN, pntBO, pntBP, pntBQ, pntBR, pntBS, pntBT, pntBU, pntBV, pntBW, pntBX, pntBY, pntBZ, pntCA, pntCB, pntCC, pntCD, pntCE, pntCF, pntCG, pntCH, pntCI, pntCJ, pntCK, pntCL, pntCM, pntCN, pntCO, pntCP, pntCQ, pntCR, pntCS, pntCT, pntCU, pntCV, pntCW, pntCX, pntCY, pntCZ, pntDA, pntDB, pntDC, pntDD, pntDE, pntDF, pntDG, pntDH, pntDI, pntDJ, pntDK, pntDL, pntDM, pntDN, pntDO, pntDP, pntDQ, pntDR, pntDS, pntDT, pntDU, pntDV, pntDW, pntDX, pntDY, pntDZ, pntEA, pntEB, pntEC, pntED, pntEE, pntEF, pntEG, pntEH, pntEI, pntEJ, pntEK, pntEL, pntEM, pntEN, pntEO, pntEP, pntEQ, pntER, pntES, pntET, pntEU, pntEV, pntEW, pntEX, pntEY, pntEZ, pntFA, pntFB, pntFC, pntFD, pntFE, pntFF, pntFG, pntFH, pntFI, pntFJ, pntFK, pntFL, pntFM, pntFN, pntFO, pntFP, pntFQ, pntFR, pntFS, pntFT, pntFU, pntFV, pntFW, pntFX, pntFY, pntFZ, pntGA, pntGB, pntGC, pntGD, pntGE, pntGF, pntGG, pntGH, pntGI, pntGJ, pntGK, pntGL, pntGM, pntGN, pntGO, pntGP, pntGQ, pntGR, pntGS, pntGT, pntGU, pntGV, pntGW, pntGX, pntGY, pntGZ, pntHA, pntHB, pntHC, pntHD, pntHE, pntHF, pntHG, pntHH, pntHI, pntHJ, pntHK, pntHL, pntHM, pntHN, pntHO, pntHP, pntHQ, pntHR, pntHS, pntHT, pntHU, pntHV, pntHW, pntHX, pntHY, pntHZ, pntIA, pntIB, pntIC, pntID, pntIE, pntIF, pntIG, pntIH, pntII, pntIJ, pntIK, pntIL, pntIM, pntIN, pntIO, pntIP, pntIQ, pntIR, pntIS, pntIT, pntIU, pntIV, pntIW, pntIX, pntIY, pntIZ, pntJA, pntJB, pntJC, pntJD, pntJE, pntJF, pntJG, pntJH, pntJI, pntJJ, pntJK, pntJL, pntJM, pntJN, pntJO, pntJP, pntJQ, pntJR, pntJS, pntJT, pntJU, pntJV, pntJW, pntJX, pntJY, pntJZ, pntKA, pntKB, pntKC, pntKD, pntKE, pntKF, pntKG, pntKH, pntKI, pntKJ, pntKL, pntKM, pntKN, pntKO, pntKP, pntKQ, pntKR, pntKS, pntKT, pntKU, pntKV, pntKW, pntKX, pntKY, pntKZ, pntLA, pntLB, pntLC, pntLD, pntLE, pntLF, pntLG, pntLH, pntLI, pntLJ, pntLK, pntLL, pntLM, pntLN, pntLO, pntLP, pntLQ, pntLR, pntLS, pntLT, pntLU, pntLV, pntLW, pntLX, pntLY, pntLZ, pntMA, pntMB, pntMC, pntMD, pntME, pntMF, pntMG, pntMH, pntMI, pntMJ, pntMK, pntML, pntMN, pntMO, pntMP, pntMQ, pntMR, pntMS, pntMT, pntMU, pntMV, pntMW, pntMX, pntMY, pntMZ, pntNA, pntNB, pntNC, pntND, pntNE, pntNF, pntNG, pntNH, pntNI, pntNJ, pntNK, pntNL, pntNO, pntNP, pntNQ, pntNR, pntNS, pntNT, pntNU, pntNV, pntNW, pntNX, pntNY, pntNZ, pntOA, pntOB, pntOC, pntOD, pntOE, pntOF, pntOG, pntOH, pntOI, pntOJ, pntOK, pntOL, pntOM, pntON, pntOO, pntOP, pntOQ, pntOR, pntOS, pntOT, pntOU, pntOV, pntOW, pntOX, pntOY, pntOZ, pntPA, pntPB, pntPC, pntPD, pntPE, pntPF, pntPG, pntPH, pntPI, pntPJ, pntPK, pntPL, pntPM, pntPN, pntPO, pntPP, pntPQ, pntPR, pntPS, pntPT, pntPU, pntPV, pntPW, pntPX, pntPY, pntPZ, pntQA, pntQB, pntQC, pntQD, pntQE, pntQF, pntQG, pntQH, pntQI, pntQJ, pntQK, pntQL, pntQM, pntQN, pntQO, pntQP, pntQQ, pntQR, pntQS, pntQT, pntQU, pntQV, pntQW, pntQX, pntQY, pntQZ, pntRA, pntRB, pntRC, pntRD, pntRE, pntRF, pntRG, pntRH, pntRI, pntRJ, pntRK, pntRL, pntRM, pntRN, pntRO, pntRP, pntRQ, pntRR, pntRS, pntRT, pntRU, pntRV, pntRW, pntRX, pntRY, pntRZ, pntSA, pntSB, pntSC, pntSD, pntSE, pntSF, pntSG, pntSH, pntSI, pntSJ, pntSK, pntSL, pntSM, pntSN, pntSO, pntSP, pntSQ, pntSR, pntSS, pntST, pntSU, pntSV, pntSW, pntSX, pntSY, pntSZ, pntTA, pntTB, pntTC, pntTD, pntTE, pntTF, pntTG, pntTH, pntTI, pntTJ, pntTK, pntTL, pntTM, pntTN, pntTO, pntTP, pntTQ, pntTR, pntTS, pntTT, pntTU, pntTV, pntTW, pntTX, pntTY, pntTZ, pntUA, pntUB, pntUC, pntUD, pntUE, pntUF, pntUG, pntUH, pntUI, pntUJ, pntUK, pntUL, pntUM, pntUN, pntUO, pntUP, pntUQ, pntUR, pntUS, pntUT, pntUU, pntUV, pntUW, pntUX, pntUY, pntUZ, pntVA, pntVB, pntVC, pntVD, pntVE, pntVF, pntVG, pntVH, pntVI, pntVJ, pntVK, pntVL, pntVM, pntVN, pntVO, pntVP, pntVQ, pntVR, pntVS, pntVT, pntVU, pntVV, pntVW, pntVX, pntVY, pntVZ, pntWA, pntWB, pntWC, pntWD, pntWE, pntWF, pntWG, pntWH, pntWI, pntWJ, pntWK, pntWL, pntWM, pntWN, pntWO, pntWP, pntWQ, pntWR, pntWS, pntWT, pntWU, pntWV, pntWW, pntWX, pntWY, pntWZ, pntXA, pntXB, pntXC, pntXD, pntXE, pntXF, pntXG, pntXH, pntXI, pntXJ, pntXK, pntXL, pntXM, pntXN, pntXO, pntXP, pntXQ, pntXR, pntXS, pntXT, pntXU, pntXV, pntXW, pntXX, pntXY, pntXZ, pntYA, pntYB, pntYC, pntYD, pntYE, pntYF, pntYG, pntYH, pntYI, pntYJ, pntYK, pntYL, pntYM, pntYN, pntYO, pntYP, pntYQ, pntYR, pntYS, pntYT, pntYU, pntYV, pntYW, pntYX, pntYY, pntYZ, pntZA, pntZB, pntZC, pntZD, pntZE, pntZF, pntZG, pntZH, pntZI, pntZJ, pntZK, pntZL, pntZM, pntZN, pntZO, pntZP, pntZQ, pntZR, pntZS, pntZT, pntZU, pntZV, pntZW, pntZX, pntZY, pntZZ</i>
Alternative carbon source	<i>adhC, adhE, agaY, agaZ, aldA, aldB, aldH, araA, araB, araD, bglX, cpsG, deoB, fruK, fucA, fucD, fucK, fucO, galE, galK, galT, galU, gatD, gatY, glk, glpK, gntK, gntV, gpsA, lacZ, manA, melA, mtlD, nagA, nagB, nanA, pfkA, pgk, pgm, rbsK, rhaA, rhaB, rhaD, srlD, treC, xylA, xylB</i>
Amino acid metabolism	<i>adi, aldH, alr, ansA, ansB, argA, argB, argC, argD, argE, argF, argG, argH, argI, arcA, arcB, arcC, arcD, arcE, arcF, arcG, arcH, arcK, arcL, asd, asnA, asnB, aspA, aspC, avtA, cadA, carA, carB, cysC, cysD, cysE, cysH, cysI, cysJ, cysK, cysM, cysN, dadA, dadX, dapA, dapB, dapD, dapE, dapF, dcdA, gabD, gabT, gadA, gadB, gdhA, glk, glnA, gltB, gltD, gltA, goaG, hisA, hisB, hisC, hisD, hisE, hisF, hisG, hisH, hisI, ilvA, ilvB, ilvC, ilvD, ilvE, ilvG_1, ilvG_2, ilvH, ilvI, ilvM, ilvN, kbl, ldcC, leuA, leuB, leuC, leuD, lysA, lysC, metA, metB, metC, metE, metH, metK, metL, pheA, proA, proB, proC, prsA, putA, sdaA, sdaB, serA, serB, serC, speA, speB, speC, speD, speE, speF, tdcB, tdcH, thrA, thrB, thrC, tnaA, trpA, trpB, trpC, trpD, trpE, tyrA, tyrA, tyrB, yggG, yggH, aleB (42), dapC (43), pat (44), prr (44), sad (45), methylthioadenosine nucleosidase (46), 5-methylthioribose kinase (46), 5-methylthioribose-1-phosphate isomerase (46), adenosyl homocysteinase (47), L-cysteine desulfhydrase (44), glutaminase A (44), glutaminase B (44)</i>
Purine & pyrimidine metabolism	<i>add, adk, amn, apt, cdd, cmk, codA, dcd, deoA, deoD, dgt, dut, gmk, gpt, gsk, guaA, guaB, guaC, hpt, mutT, ndk, nrdA, nrdB, nrdD, nrdE, nrdF, purA, purB, purC, purD, purE, purF, purH, purK, purL, purM, purN, purT, pyrB, pyrC, pyrD, pyrE, pyrF, pyrG, pyrH, pyrI, tdk, thyA, trk, udk, udp, upp, ushA, xapA, yicP, CMP glycosylase (48)</i>
Vitamin & cofactor metabolism	<i>acpS, bioA, bioB, bioD, bioF, coaA, cyoE, cysG, entA, entB, entC, entD, entE, entF, epd, folA, folC, folD, folE, folK, folP, gcvH, gcvP, gcvT, gltX, glyA, gor, gshA, gshB, hemA, hemB, hemC, hemD, hemE, hemF, hemH, hemK, hemL, hemM, hemX, hemY, ilvC, lig, lpdA, menA, menB, menC, menD, menE, menF, menG, metF, mutT, nadA, nadB, nadC, nadE, ntpA, pabA, pabB, pabC, panB, panC, panD, pdxA, pdxB, pdxH, pdxI, pdxK, pncB, purU, ribA, ribB, ribD, ribE, ribH, serC, thiC, thiE, thiF, thiG, thiH, thrC, ubiA, ubiB, ubiC, ubiG, ubiH, ubiX, yaaC, ygiG, nadD (49), nadF (49), nadG (49), panE (50), pncA (49), pncC (49), thiB (51), thiD (51), thiK (51), thil (51), thim (51), thiv (51), ubiE (52), ubiF (52), arabinose-5-phosphate isomerase (22), phosphopentothionate-cysteine ligase (50), phosphopentothionate-cysteine decarboxylase (50), phospho-pentothionate adenylyltransferase (50), diphosphoCoA kinase (50), NMN glycohydrolase (49)</i>
Lipid metabolism	<i>accA, accB, accD, atoB, cdh, cdsA, clb, dgkA, fabD, fabH, fadB, gpsA, ispA, ispB, pgpB, pgsA, pxd, pssA, pspA (53)</i>
Cell wall metabolism	<i>ddlA, ddlB, galF, galU, glmS, glmU, htrB, kdsA, kdsB, kdtA, lpxA, lpxB, lpxC, lpxD, mraY, msbB, murA, murB, murC, murD, murE, murF, murG, murI, rfaC, rfaD, rfaE, rfaG, rfaI, rfaJ, rfaL, rfaM, rfaN, rfaO, rfaP, rfaQ, rfaR, rfaS, rfaT, rfaU, rfaV, rfaW, rfaX, rfaY, rfaZ, rfaAA, rfaAB, rfaAC, rfaAD, rfaAE, rfaAF, rfaAG, rfaAH, rfaAI, rfaAJ, rfaAK, rfaAL, rfaAM, rfaAN, rfaAO, rfaAP, rfaAQ, rfaAR, rfaAS, rfaAT, rfaAU, rfaAV, rfaAW, rfaAX, rfaAY, rfaAZ, rfaBA, rfaBB, rfaBC, rfaBD, rfaBE, rfaBF, rfaBG, rfaBH, rfaBI, rfaBJ, rfaBK, rfaBL, rfaBM, rfaBN, rfaBO, rfaBP, rfaBQ, rfaBR, rfaBS, rfaBT, rfaBU, rfaBV, rfaBW, rfaBX, rfaBY, rfaBZ, rfaCA, rfaCB, rfaCC, rfaCD, rfaCE, rfaCF, rfaCG, rfaCH, rfaCI, rfaCJ, rfaCK, rfaCL, rfaCM, rfaCN, rfaCO, rfaCP, rfaCQ, rfaCR, rfaCS, rfaCT, rfaCU, rfaCV, rfaCW, rfaCX, rfaCY, rfaCZ, rfaDA, rfaDB, rfaDC, rfaDD, rfaDE, rfaDF, rfaDG, rfaDH, rfaDI, rfaDJ, rfaDK, rfaDL, rfaDM, rfaDN, rfaDO, rfaDP, rfaDQ, rfaDR, rfaDS, rfaDT, rfaDU, rfaDV, rfaDW, rfaDX, rfaDY, rfaDZ, rfaEA, rfaEB, rfaEC, rfaED, rfaEE, rfaEF, rfaEG, rfaEH, rfaEI, rfaEJ, rfaEK, rfaEL, rfaEM, rfaEN, rfaEO, rfaEP, rfaEQ, rfaER, rfaES, rfaET, rfaEU, rfaEV, rfaEW, rfaEX, rfaEY, rfaEZ, rfaFA, rfaFB, rfaFC, rfaFD, rfaFE, rfaFF, rfaFG, rfaFH, rfaFI, rfaFJ, rfaFK, rfaFL, rfaFM, rfaFN, rfaFO, rfaFP, rfaFQ, rfaFR, rfaFS, rfaFT, rfaFU, rfaFV, rfaFW, rfaFX, rfaFY, rfaFZ, rfaGA, rfaGB, rfaGC, rfaGD, rfaGE, rfaGF, rfaGG, rfaGH, rfaGI, rfaGJ, rfaGK, rfaGL, rfaGM, rfaGN, rfaGO, rfaGP, rfaGQ, rfaGR, rfaGS, rfaGT, rfaGU, rfaGV, rfaGW, rfaGX, rfaGY, rfaGZ, rfaHA, rfaHB, rfaHC, rfaHD, rfaHE, rfaHF, rfaHG, rfaHH, rfaHI, rfaHJ, rfaHK, rfaHL, rfaHM, rfaHN, rfaHO, rfaHP, rfaHQ, rfaHR, rfaHS, rfaHT, rfaHU, rfaHV, rfaHW, rfaHX, rfaHY, rfaHZ, rfaIA, rfaIB, rfaIC, rfaID, rfaIE, rfaIF, rfaIG, rfaIH, rfaII, rfaIJ, rfaIK, rfaIL, rfaIM, rfaIN, rfaIO, rfaIP, rfaIQ, rfaIR, rfaIS, rfaIT, rfaIU, rfaIV, rfaIW, rfaIX, rfaIY, rfaIZ, rfaJA, rfaJB, rfaJC, rfaJD, rfaJE, rfaJF, rfaJG, rfaJH, rfaJI, rfaJJ, rfaJK, rfaJL, rfaJM, rfaJN, rfaJO, rfaJP, rfaJQ, rfaJR, rfaJS, rfaJT, rfaJU, rfaJV, rfaJW, rfaJX, rfaJY, rfaJZ, rfaKA, rfaKB, rfaKC, rfaKD, rfaKE, rfaKF, rfaKG, rfaKH, rfaKI, rfaKJ, rfaKL, rfaKM, rfaKN, rfaKO, rfaKP, rfaKQ, rfaKR, rfaKS, rfaKT, rfaKU, rfaKV, rfaKW, rfaKX, rfaKY, rfaKZ, rfaLA, rfaLB, rfaLC, rfaLD, rfaLE, rfaLF, rfaLG, rfaLH, rfaLI, rfaLJ, rfaLK, rfaLL, rfaLM, rfaLN, rfaLO, rfaLP, rfaLQ, rfaLR, rfaLS, rfaLT, rfaLU, rfaLV, rfaLW, rfaLX, rfaLY, rfaLZ, rfaMA, rfaMB, rfaMC, rfaMD, rfaME, rfaMF, rfaMG, rfaMH, rfaMI, rfaMJ, rfaMK, rfaML, rfaMN, rfaMO, rfaMP, rfaMQ, rfaMR, rfaMS, rfaMT, rfaMU, rfaMV, rfaMW, rfaMX, rfaMY, rfaMZ, rfaNA, rfaNB, rfaNC, rfaND, rfaNE, rfaNF, rfaNG, rfaNH, rfaNI, rfaNJ, rfaNK, rfaNL, rfaNO, rfaNP, rfaNQ, rfaNR, rfaNS, rfaNT, rfaNU, rfaNV, rfaNW, rfaNX, rfaNY, rfaNZ, rfaOA, rfaOB, rfaOC, rfaOD, rfaOE, rfaOF, rfaOG, rfaOH, rfaOI, rfaOJ, rfaOK, rfaOL, rfaOM, rfaON, rfaOO, rfaOP, rfaOQ, rfaOR, rfaOS, rfaOT, rfaOU, rfaOV, rfaOW, rfaOX, rfaOY, rfaOZ, rfaPA, rfaPB, rfaPC, rfaPD, rfaPE, rfaPF, rfaPG, rfaPH, rfaPI, rfaPJ, rfaPK, rfaPL, rfaPM, rfaPN, rfaPO, rfaPP, rfaPQ, rfaPR, rfaPS, rfaPT, rfaPU, rfaPV, rfaPW, rfaPX, rfaPY, rfaPZ, rfaQA, rfaQB, rfaQC, rfaQD, rfaQE, rfaQF, rfaQG, rfaQH, rfaQI, rfaQJ, rfaQK, rfaQL, rfaQM, rfaQN, rfaQO, rfaQP, rfaQQ, rfaQR, rfaQS, rfaQT, rfaQU, rfaQV, rfaQW, rfaQX, rfaQY, rfaQZ, rfaRA, rfaRB, rfaRC, rfaRD, rfaRE, rfaRF, rfaRG, rfaRH, rfaRI, rfaRJ, rfaRK, rfaRL, rfaRM, rfaRN, rfaRO, rfaRP, rfaRQ, rfaRR, rfaRS, rfaRT, rfaRU, rfaRV, rfaRW, rfaRX, rfaRY, rfaRZ, rfaSA, rfaSB, rfaSC, rfaSD, rfaSE, rfaSF, rfaSG, rfaSH, rfaSI, rfaSJ, rfaSK, rfaSL, rfaSM, rfaSN, rfaSO, rfaSP, rfaSQ, rfaSR, rfaSS, rfaST, rfaSU, rfaSV, rfaSW, rfaSX, rfaSY, rfaSZ, rfaTA, rfaTB, rfaTC, rfaTD, rfaTE, rfaTF, rfaTG, rfaTH, rfaTI, rfaTJ, rfaTK, rfaTL, rfaTM, rfaTN, rfaTO, rfaTP, rfaTQ, rfaTR, rfaTS, rfaTT, rfaTU, rfaTV, rfaTW, rfaTX, rfaTY, rfaTZ, rfaUA, rfaUB, rfaUC, rfaUD, rfaUE, rfaUF, rfaUG, rfaUH, rfaUI, rfaUJ, rfaUK, rfaUL, rfaUM, rfaUN, rfaUO, rfaUP, rfaUQ, rfaUR, rfaUS, rfaUT, rfaUU, rfaUV, rfaUW, rfaUX, rfaUY, rfaUZ, rfaVA, rfaVB, rfaVC, rfaVD, rfaVE, rfaVF, rfaVG, rfaVH, rfaVI, rfaVJ, rfaVK, rfaVL, rfaVM, rfaVN, rfaVO, rfaVP, rfaVQ, rfaVR, rfaVS, rfaVT, rfaVU, rfaVV, rfaVW, rfaVX, rfaVY, rfaVZ, rfaWA, rfaWB, rfaWC, rfaWD, rfaWE, rfaWF, rfaWG, rfaWH, rfaWI, rfaWJ, rfaWK, rfaWL, rfaWM, rfaWN, rfaWO, rfaWP, rfaWQ, rfaWR, rfaWS, rfaWT, rfaWU, rfaWV, rfaWW, rfaWX, rfaWY, rfaWZ, rfaXA, rfaXB, rfaXC, rfaXD, rfaXE, rfaXF, rfaXG, rfaXH, rfaXI, rfaXJ, rfaXK, rfaXL, rfaXM, rfaXN, rfaXO, rfaXP, rfaXQ, rfaXR, rfaXS, rfaXT, rfaXU, rfaXV, rfaXW, rfaXX, rfaXY, rfaXZ, rfaYA, rfaYB, rfaYC, rfaYD, rfaYE, rfaYF, rfaYG, rfaYH, rfaYI, rfaYJ, rfaYK, rfaYL, rfaYM, rfaYN, rfaYO, rfaYP, rfaYQ, rfaYR, rfaYS, rfaYT, rfaYU, rfaYV, rfaYW, rfaYX, rfaYY, rfaYZ, rfaZA, rfaZB, rfaZC, rfaZD, rfaZE, rfaZF, rfaZG, rfaZH, rfaZI, rfaZJ, rfaZK, rfaZL, rfaZM, rfaZN, rfaZO, rfaZP, rfaZQ, rfaZR, rfaZS, rfaZT, rfaZU, rfaZV, rfaZW, rfaZX, rfaZY, rfaZZ</i>
Transport processes	<i>araE, araF, araG, araH, argT, arcP, artI, artJ, artM, artP, artQ, brnQ, cadB, chaA, chaB, chaC, cmfA, cmfB, codB, crr, cycA, cysA, cysP, cysT, cysU, cysW, cysZ, dclA, dclB, dclC, dclD, dclE, dclF, dclG, dclH, dclI, dclJ, dclK, dclL, dclM, dclN, dclO, dclP, dclQ, dclR, dclS, dclT, dclU, dclV, dclW, dclX, dclY, dclZ, dclAA, dclAB, dclAC, dclAD, dclAE, dclAF, dclAG, dclAH, dclAI, dclAJ, dclAK, dclAL, dclAM, dclAN, dclAO, dclAP, dclAQ, dclAR, dclAS, dclAT, dclAU, dclAV, dclAW, dclAX, dclAY, dclAZ, dclBA, dclBB, dclBC, dclBD, dclBE, dclBF, dclBG, dclBH, dclBI, dclBJ, dclBK, dclBL, dclBM, dclBN, dclBO, dclBP, dclBQ, dclBR, dclBS, dclBT, dclBU, dclBV, dclBW, dclBX, dclBY, dclBZ, dclCA, dclCB, dclCC, dclCD, dclCE, dclCF, dclCG, dclCH, dclCI, dclCJ, dclCK, dclCL, dclCM, dclCN, dclCO, dclCP, dclCQ, dclCR, dclCS, dclCT, dclCU, dclCV, dclCW, dclCX, dclCY, dclCZ, dclDA, dclDB, dclDC, dclDD, dclDE, dclDF, dclDG, dclDH, dclDI, dclDJ, dclDK, dclDL, dclDM, dclDN, dclDO, dclDP, dclDQ, dclDR, dclDS, dclDT, dclDU, dclDV, dclDW, dclDX, dclDY, dclDZ, dclEA, dclEB, dclEC, dclED, dclEE, dclEF, dclEG, dclEH, dclEI, dclEJ, dclEK, dclEL, dclEM, dclEN, dclEO, dclEP, dclEQ, dclER, dclES, dclET, dclEU, dclEV, dclEW, dclEX, dclEY, dclEZ, dclFA, dclFB, dclFC, dclFD, dclFE, dclFF, dclFG, dclFH, dclFI, dclFJ, dclFK, dclFL, dclFM, dclFN, dclFO, dclFP, dclFQ, dclFR, dclFS, dclFT, dclFU, dclFV, dclFW, dclFX, dclFY, dclFZ, dclGA, dclGB, dclGC, dclGD, dclGE, dclGF, dclGG, dclGH, dclGI, dclGJ, dclGK, dclGL, dclGM, dclGN, dclGO, dclGP, dclGQ, dclGR, dclGS, dclGT, dclGU, dclGV, dclGW, dclGX, dclGY, dclGZ, dclHA, dclHB, dclHC, dclHD, dclHE, dclHF, dclHG, dclHH, dclHI, dclHJ, dclHK, dclHL, dclHM, dclHN, dclHO, dclHP, dclHQ, dclHR, dclHS, dclHT, dclHU, dclHV, dclHW, dclHX, dclHY, dclHZ, dclIA, dclIB, dclIC, dclID, dclIE, dclIF, dclIG, dclIH, dclII, dclIJ, dclIK, dclIL, dclIM, dclIN, dclIO, dclIP, dclIQ, dclIR, dclIS, dclIT, dclIU, dclIV, dclIW, dclIX, dclIY, dclIZ, dclJA, dclJB, dclJC, dclJD, dclJE, dclJF, dclJG, dclJH, dclJI, dclJJ, dclJK, dclJL, dclJM, dclJN, dclJO, dclJP, dclJQ, dclJR, dclJS, dclJT, dclJU, dclJV, dclJW, dclJX, dclJY, dclJZ, dclKA, dclKB, dclKC, dclKD, dclKE, dclKF, dclKG, dclKH, dclKI, dclKJ, dclKL, dclKM, dclKN, dclKO, dclKP, dclKQ, dclKR, dclKS, dclKT, dclKU, dclKV, dclKW, dclKX, dclKY, dclKZ, dclLA, dclLB, dclLC, dclLD, dclLE, dclLF, dclLG, dclLH, dclLI, dclLJ, dclLK, dclLL, dclLM, dclLN, dclLO, dclLP, dclLQ, dclLR, dclLS, dclLT, dclLU, dclLV, dclLW, dclLX, dclLY, dclLZ, dclMA, dclMB, dclMC, dclMD, dclME, dclMF, dclMG, dclMH, dclMI, dclMJ, dclMK, dclML, dclMN, dclMO, dclMP, dclMQ, dclMR, dclMS, dclMT, dclMU, dclMV, dclMW, dclMX, dclMY, dclMZ, dclNA, dclNB, dclNC, dclND, dclNE, dclNF, dclNG, dclNH, dclNI, dclNJ, dclNK, dclNL, dclNO, dclNP, dclNQ, dclNR, dclNS, dclNT, dclNU, dclNV, dclNW, dclNX, dclNY, dclNZ, dclOA, dclOB, dclOC, dclOD, dclOE, dclOF, dclOG, dclOH, dclOI, dclOJ, dclOK, dclOL, dclOM, dclON, dclOO, dclOP, dclOQ, dclOR, dclOS, dclOT, dclOU, dclOV, dclOW, dclOX, dclOY, dclOZ, dclPA, dclPB, dclPC, dclPD, dclPE, dclPF, dclPG, dclPH, dclPI, dclPJ, dclPK, dclPL, dclPM, dclPN, dclPO, dclPP, dclPQ, dclPR, dclPS, dclPT, dclPU, dclPV, dclPW, dclPX, dclPY, dclPZ, dclQA, dclQB, dclQC, dclQD, dclQE, dclQF, dclQG, dclQH, dclQI, dclQJ, dclQK, dclQL, dclQM, dclQN, dclQO, dclQP, dclQQ, dclQR, dclQS, dclQT, dclQU, dclQV, dclQW, dclQX, dclQY, dclQZ, dclRA, dclRB, dclRC, dclRD, dclRE, dclRF, dclRG, dclRH, dclRI, dclRJ, dclRK, dclRL, dclRM, dclRN, dclRO, dclRP, dclRQ, dclRR, dclRS, dclRT, dclRU, dclRV, dclRW, dclRX, dclRY, dclRZ, dclSA, dclSB, dclSC, dclSD, dclSE, dclSF, dclSG, dclSH, dclSI, dclSJ, dclSK, dclSL, dclSM, dclSN, dclSO, dclSP, dclSQ, dclSR, dclSS, dclST, dclSU, dclSV, dclSW, dclSX, dclSY, dclSZ, dclTA, dclTB, dclTC, dclTD, dclTE, dclTF, dclTG, dclTH, dclTI, dclTJ, dclTK, dclTL, dclTM, dclTN, dclTO, dclTP, dclTQ, dclTR, dclTS, dclTT, dclTU, dclTV, dclTW, dclTX, dclTY, dclTZ, dclUA, dclUB, dclUC, dclUD, dclUE, dclUF, dclUG, dclUH, dclUI, dclUJ, dclUK, dclUL, dclUM, dclUN, dclUO, dclUP, dclUQ, dclUR, dclUS, dclUT, dclUU, dclUV, dclUW, dclUX, dclUY, dclUZ, dclVA, dclVB, dclVC, dclVD, dclVE, dclVF, dclVG, dclVH, dclVI, dclVJ, dclVK, dclVL, dclVM, dclVN, dclVO, dclVP, dclVQ, dclVR, dclVS, dclVT, dclVU, dclVV, dclVW, dclVX, dclVY, dclVZ, dclWA, dclWB, dclWC, dclWD, dclWE, dclWF, dclWG, dclWH, dclWI, dclWJ, dclWK, dclWL, dclWM, dclWN, dclWO, dclWP, dclWQ, dclWR, dclWS, dclWT, dclWU, dclWV, dclWW, dclWX, dclWY, dclWZ, dclXA, dclXB, dclXC, dclXD, dclXE, dclXF, dclXG, dclXH, dclXI, dclXJ, dclXK, dclXL, dclXM, dclXN, dclXO, dclXP, dclXQ, dclXR, dclXS, dclXT, dclXU, dclXV, dclXW, dclXX, dclXY, dclXZ, dclYA, dclYB, dclYC, dclYD, dclYE, dclYF, dclYG, dclYH, dclYI, dclYJ, dclYK, dclYL, dclYM, dclYN, dclYO, dclYP, dclYQ, dclYR, dclYS, dclYT, dclYU, dclYV, dclYW, dclYX, dclYY, dclYZ, dclZA, dclZB, dclZC, dclZD, dclZE, dclZF, dclZG, dclZH, dclZI, dclZJ, dclZK, dclZL, dclZM, dclZN, dclZO, dclZP, dclZQ, dclZR, dclZS, dclZT, dclZU, dclZV, dclZW, dclZX, dclZY, dclZZ</i>

Edwards & Palsson

PNAS 97, 5528 (2000)

E.coli in silico

Begrenze $\alpha_i = 0$ für irreversible interne Flüsse,

$\alpha_i = -\infty$ für reversible interne Flüsse (aufgrund der biochemischen Literatur)

Transportflüsse für PO_4^{2-} , NH_3 , CO_2 , SO_4^{2-} , K^+ , Na^+ blieben unbeschränkt.

Für die anderen Metabolite wurden Obergrenzen verwendet $0 < v_i < v_i^{\max}$
außer für die Metabolite, die das metabolische Netzwerk verlassen könne
(d.h. Acetat, Äthanol, Laktat, Succinat, Format, Pyruvat etc.)

Aus dem Satz der möglichen Flussverteilungen wird mit **linearer Programmierung** eine bestimmte Lösung bestimmt, die eine bestimmte metabolische Zielfunktion Z maximiert (bzw. $-Z$ minimiert).

$$Z = \sum c_i \cdot v_i = \langle \mathbf{c} \cdot \mathbf{v} \rangle$$

Als Zielfunktion Z wird hier die Summe aller Einzelflüsse definiert, was der Bildung maximaler Biomasse entspricht.

Edwards & Palsson, PNAS 97, 5528 (2000)

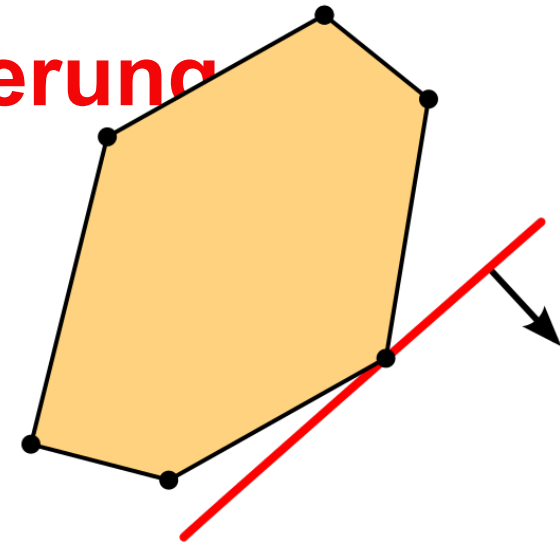
Lineare Programmierung

Lineare Programmierung ist eine Technik um optimale Werte für eine lineare objektive Funktion zu finden, wobei lineare Bedingungen für die Gleichheit und Ungleichheit für einzelne Variablen gelten.

Der Lösungsraum dieser Bedingungen ist ein konvexes Polytop. Jede Bedingung definiert eine begrenzende Fläche.

Die objektive Funktion ist eine lineare Funktion, die auf diesem Polyeder definiert ist.

Ein Algorithmus für lineare Programmierung findet einen Punkt in diesem Polyeder, wo diese Funktion den kleinsten (oder größten) Wert annimmt.



Dargestellt ist ein einfaches lineares Programm mit 2 Variablen (x und y) und 6 Ungleichungen.

Der Lösungsraum ist gelb gefärbt und bildet ein 2-dimensionales Polygon.

Die rote Linie repräsentiert die lineare Kostenfunktion.

Der Pfeil zeigt in die Richtung, in die wir optimieren.

www.wikipedia.org

Lineare Programmierung

Lineare Programme können in folgender kanonischer Form ausgedrückt werden:

$$\begin{array}{ll}\text{maximize} & \mathbf{c}^T \mathbf{x} \\ \text{subject to} & \mathbf{A} \mathbf{x} \leq \mathbf{b} \\ \text{and} & \mathbf{x} \geq \mathbf{0}\end{array}$$

Dabei ist $\mathbf{x}$ der zu bestimmende Vektor der Variablen, $\mathbf{c}$ und $\mathbf{b}$ sind Vektoren aus (bekannten) Koeffizienten, $\mathbf{A}$ ist eine (bekannte) Matrix mit Koeffizienten, und $(.)^T$ ist die transponierte Matrix.

$\mathbf{c}^T \mathbf{x}$ ist die zu optimierende objektive Funktion.

$$\mathbf{c}^T = (c_1, c_2, \dots, c_k); \mathbf{x} = \begin{pmatrix} x_1 \\ x_2 \\ \vdots \end{pmatrix}; \mathbf{c}^T \mathbf{x} = c_1 x_1 + c_2 x_2 + \dots + c_k x_k$$

Die Ungleichungen $\mathbf{A} \mathbf{x} \leq \mathbf{b}$ and $\mathbf{x} \geq \mathbf{0}$ sind die Bedingungen, die den Lösungsraum definieren.

Wenn alle unbekannten Variablen ganzzahlige Werte annehmen müssen, nennt man das Problem ein **integer lineares Programmierungs** (ILP) problem.

www.wikipedia.org

E.coli in silico

Um die Korrektheit dieses Vorgehens zu testen, wurden Änderungen des metabolischen Netzwerkes simuliert, die sich durch hypothetische Gendeletionen ergeben.

Dafür wird einfach der Fluss durch die entsprechende enzymatische Reaktion auf 0 gesetzt.

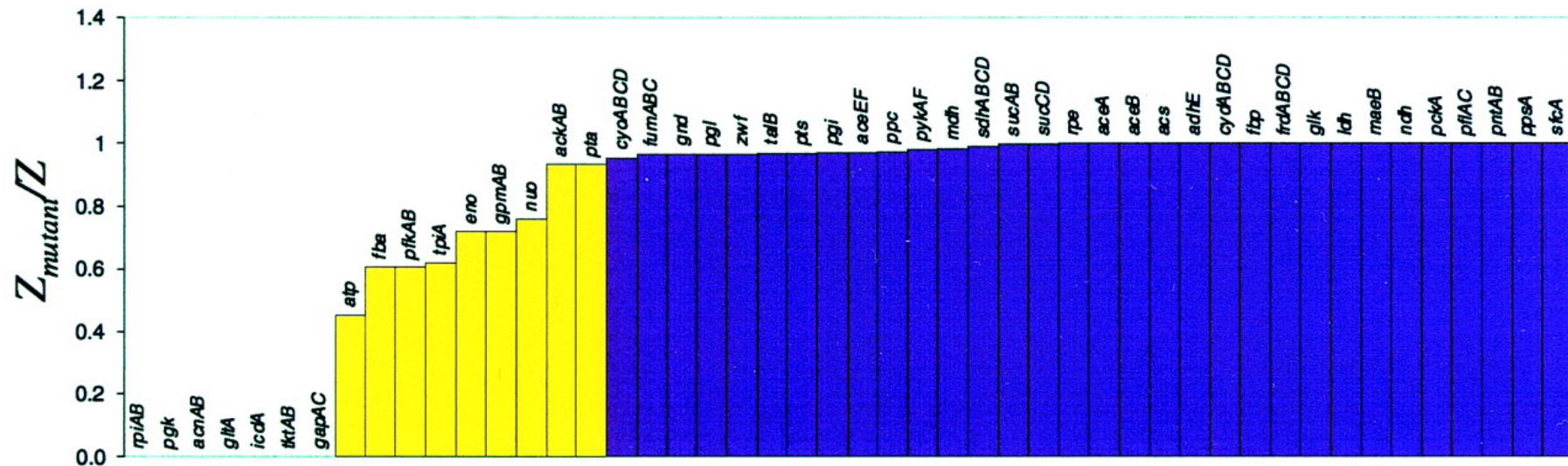
Dann wird der optimale Wert der Mutante (Z_{mutant}) mit dem des Wild-types verglichen (Z)

$$\frac{Z_{\text{mutant}}}{Z}$$

Edwards & Palsson

PNAS 97, 5528 (2000)

Gendeletionen im zentralen *E. coli* MG1655 Metabolismus



Maximale Flüsse für virtuelles Wachstum auf Glucose für alle möglichen Deletionen einzelner Gene in Pfaden des zentralen Metabolismus (Glykolyse, Pentose Phosphat Pfad (PPP), Zitratzyklus, Atmung).

Gelbe Balken: Gendeletionen, die die maximale Biomasse (Fluss) auf weniger von 95% des Wert für den *in silico* Wildtyp drücken.

Edwards & Palsson PNAS 97, 5528 (2000)

Interpretation der Ergebnisse

Die essentiellen Gene gehörten zur 3-Kohlenstoff-Stufe der Glykolyse, 3 Reaktionen des Zitratzyklus und mehrere Mitglieder des PPP.

Alle anderen Gene des zentralen Metabolismus konnten entfernt werden ohne nennenswerten Effekt auf das *in silico*-Wachstum von *E.coli*.

Edwards & Palsson PNAS 97, 5528 (2000)

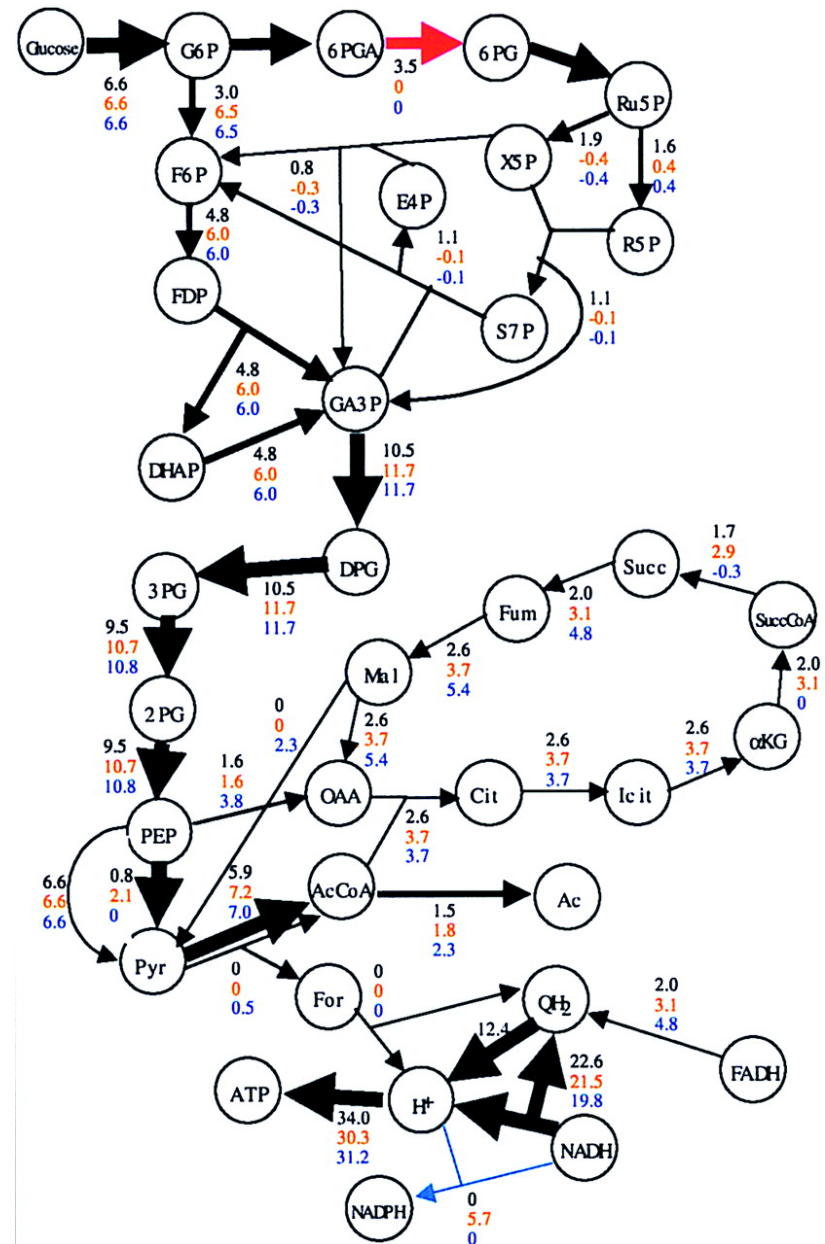
Umlenken der metabolischen Flüsse

(Schwarz) Flussverteilung für Wildtyp.

(Rot) *zwf*- Mutante. Die Biomasse-Erzeugung ist 99% des Wildtyps.

(Blau) *zwf*- *pnt*- Doppelmutante.
Biomasse-Erzeugung ist 92% des Wildtyps.

E.coli in silico umgeht die Deletion einer kritischen Reaktion (roter Pfeil) durch Erhöhung des Flusses durch die alternative $G6P \rightarrow P6P$ Reaktion.



Edwards & Palsson PNAS 97, 5528 (2000)

E.coli in silico

+ und – bedeuten Wachstum bzw.

Nichtwachstum.

± heisst, dass Suppressormutanten beobachtet wurden, die diesem Mutantenstamm Wachstum erlaubten.

glc: Glucose, gl: Glycerol,

succ: Succinat, ac: Acetat.

In 68 von 79 Fällen stimmte die Vorhersage mit dem Experiment überein.

Roten und gelbe Kreise kennzeichnen die vorhergesagten Mutationen, die Wachstum eliminieren bzw. reduzieren.

Edwards & Palsson

PNAS 97, 5528 (2000)

Table 2. Comparison of the predicted mutant growth characteristics from the gene deletion study to published experimental results with single mutants

Gene	glc	gl	succ	ac
aceA	+/+		+/+	-/-
aceB				-/-
aceEF*	-/+			
ackA				+/+
acn	-/-			-/-
acs				+/+
cyd	+/+			
cyo	+/+			
eno [†]	-/+	-/+	-/-	-/-
fbai	-/+			
fbp	+/+	-/-	-/-	-/-
frd	+/+		+/+	+/+
gap	-/-	-/-	-/-	-/-
glk	+/+			
gltA	-/-			-/-
gnd	+/+			
idh	-/-			-/-
mdh ^{††}	+/+	+/+	+/+	
ndh	+/+	+/+		
nuo	+/+	+/+		
pfk [†]	-/+			
pgi [‡]	+/+	+/-	+/-	
pgk	-/-	-/-	-/-	-/-
pgl	+/+			
pntAB	+/+	+/+	+/+	
ppc [§]	±/+	-/+	+/+	
pta				+/+
pts	+/+			
pyk	+/+			
rpi	-/-	-/-	-/-	-/-
sdhABCD	+/+		-/-	-/-
sucAB	+/+		-/+	-/+
tktAB	-/-			
tpi ^{**}	-/+	-/-	-/-	-/-
unc	+/+		±/+	-/-
zwf	+/+	+/+	+/+	

EcoCyc FBA Modell

FBA Modell für die EcoCyc-Daten kann mit der Software MetaFlux berechnet werden.

Es gibt eine SBML-Datei davon <http://biocyc.org/download.shtml>.

Das EcoCyc FBA Modell enthält 1888 Reaktionen.

58 Metabolite produziere Biomass.

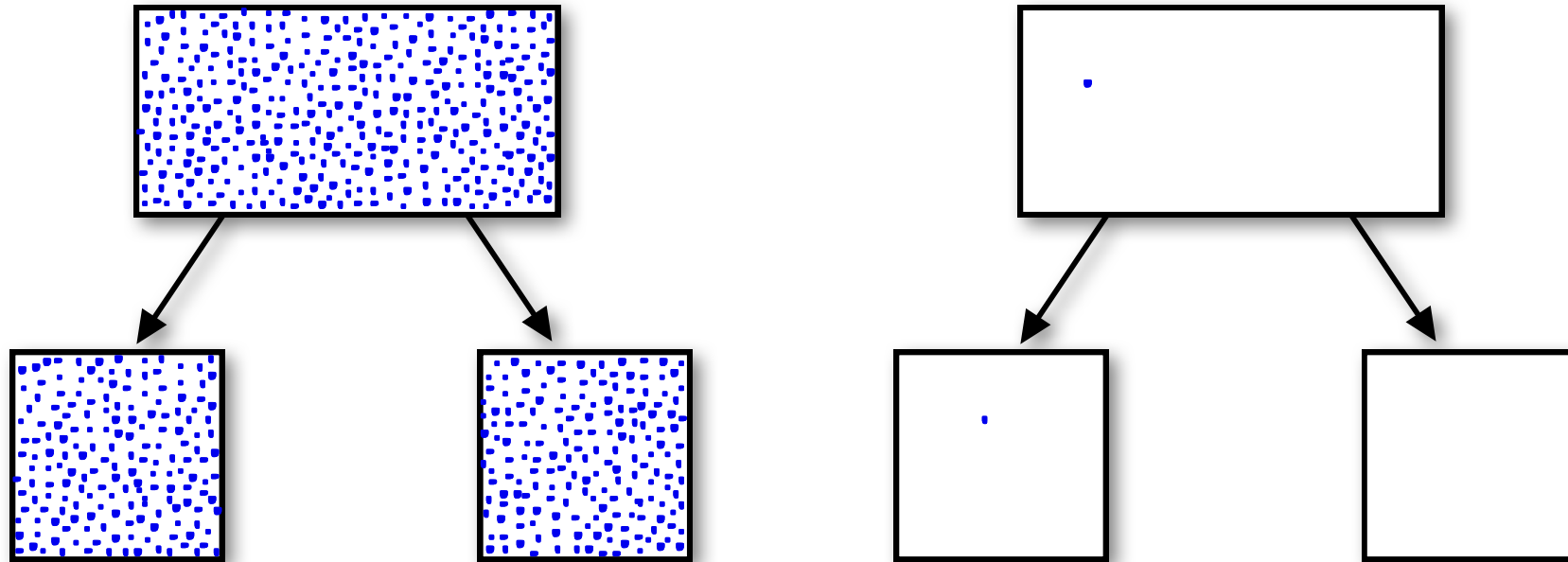
Auf einem minimalen Medium (Glukose, Ammoniak) haben 370 Reaktionen einen Fluss ungleich 0.

Für 383 Wachstumsbedingungen gibt das Modell in 72.6% der Fälle eine korrekte Vorhersage von Wachstum/Nicht-Wachstum.

Für 4207 Deletionen einzelner Gene gibt das Modell in 91.2% der Fälle eine korrekte Vorhersage von Wachstum/Nicht-Wachstum.

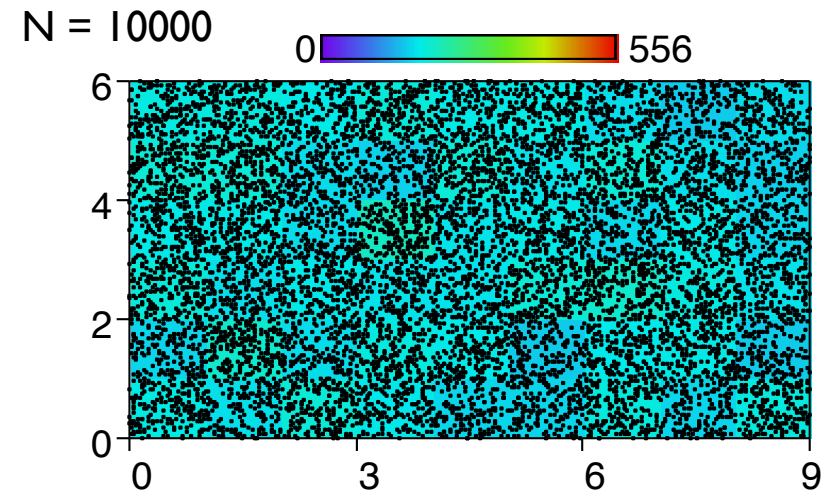
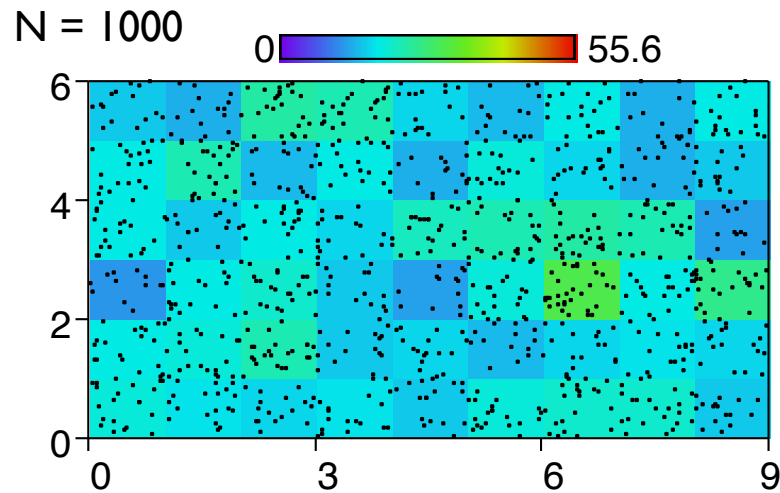
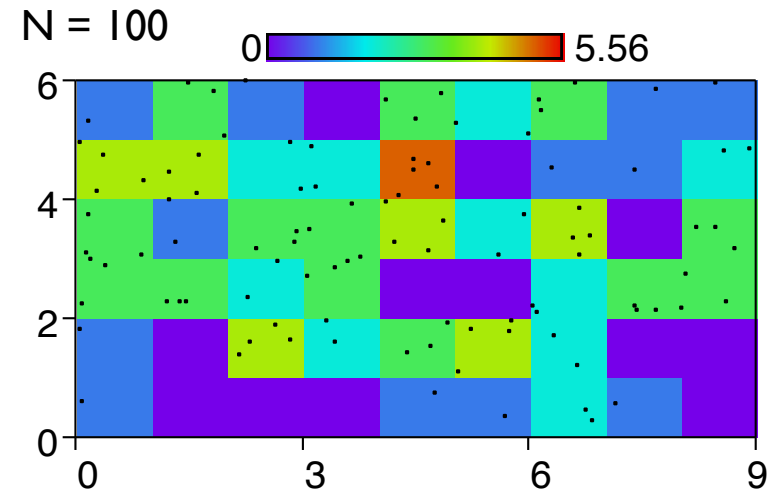
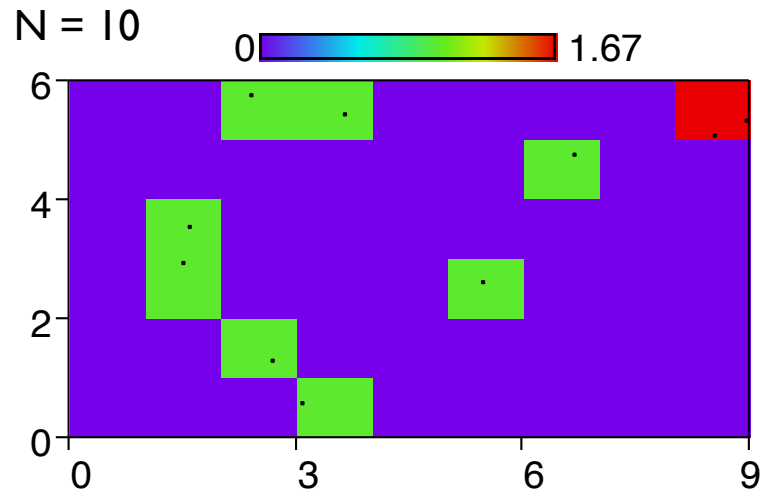
Latendresse M, Krummenacker M, Trupp M, Karp PD
Bioinformatics 2012;28:388-396

Stochastische Effekte & Diffusion



$$\text{Dichte} = \frac{\text{ununterscheidbare Teilchen}}{\text{Volumen}}$$

Dichtefluktuationen



Poisson-Verteilung

Betrachte Kontinuum w mit im Mittel λ Ereignissen pro Einheitsintervall Δw

Annahmen:

- i) Seltenheit: $\ll 1$ Ereignisse in $[w, w+\Delta w]$, höchstens ein Ereignis
- ii) Proportionalität: $\langle N \rangle = \lambda \Delta w$
- iii) Geschichtslosigkeit (Markov-Prozess)

Wahrscheinlichkeit, dass k Ereignisse
pro Einheitszeitintervall auftreten:

$$p_k = \frac{\lambda^k}{k!} e^{-\lambda}$$

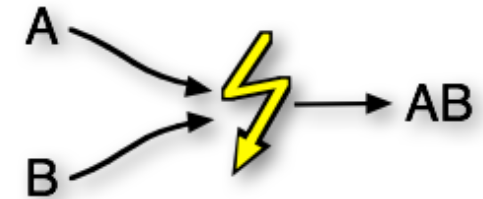
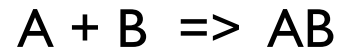
Mittelwert: $\langle k \rangle = \sum k p_k = \lambda$ Varianz: $\sigma^2 = \sum p_k (k - \langle k \rangle)^2 = \lambda$

Relative Streuung (Fehler): $\frac{\Delta k}{k} = \frac{\sigma}{\langle k \rangle} = \frac{1}{\sqrt{\lambda}}$

Mittlere Teilchenzahl	100	1000	1 Mol
relative Unsicherheit	10%	3%	1e-12

Reaktionen im Teilchenbild

Assoziation:



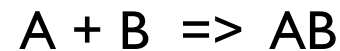
Kontinuierliche Ratengleichung: $\frac{d[AB]}{dt} = k[A][B]$

Anzahl neuer AB in V während Δt :

$$\begin{aligned}\Delta N_{AB} &= \frac{d[AB]}{dt} V \Delta t \\ &= k_{AB} \frac{N_A}{V} \frac{N_B}{V} V \Delta t \\ &= \frac{k_{AB} \Delta t}{V} N_A N_B \\ &= P_{AB} N_A N_B\end{aligned}$$

Reaktionsrate $k_{AB} \Rightarrow$ Reaktionswahrscheinlichkeit P_{AB}

Direkte Implementierung



```
Continuous_AB.py

# continuous association of A and B

# parameter
tEnd = 5.0
dt = 0.01
volume = 100.0

# rate and probability
kAB = 1.0
prob = kAB * dt / volume

# initial conditions: particle numbers
A = 1000
B = 1000
AB = 0

# convert to densities
A = A/volume
B = B/volume
AB = AB/volume

# main loop
t = 0.0
print t, "\t", A, "\t", B, "\t", AB

while(t<tEnd):
    dAB = dt * kAB * A * B

    AB += dAB
    A -= dAB
    B -= dAB

    # increment time and output
    t += dt
    print t, "\t", A, "\t", B, "\t", AB
```

```
Stochastic_AB.py

# Stochastic association of A + B => AB

import random

# parameter
tEnd = 5.0
dt = 0.01
volume = 100.0

# rate and probability
kAB = 1.0
prob = kAB * dt / volume

# initial conditions
A = 1000
B = 1000
AB = 0

# main loop
t = 0.0
print t, "\t", A/volume, "\t", B/volume, "\t", AB/volume

while(t<tEnd):
    dAB = 0
    # check for every pair A, B
    for ia in xrange(A):
        for ib in xrange(B):
            r = random.random()
            if (r < prob):
                dAB+=1

    AB += dAB
    A -= dAB
    B -= dAB

    # increment time and output
    t += dt
    print t, "\t", A/volume, "\t", B/volume, "\t", AB/volume
```

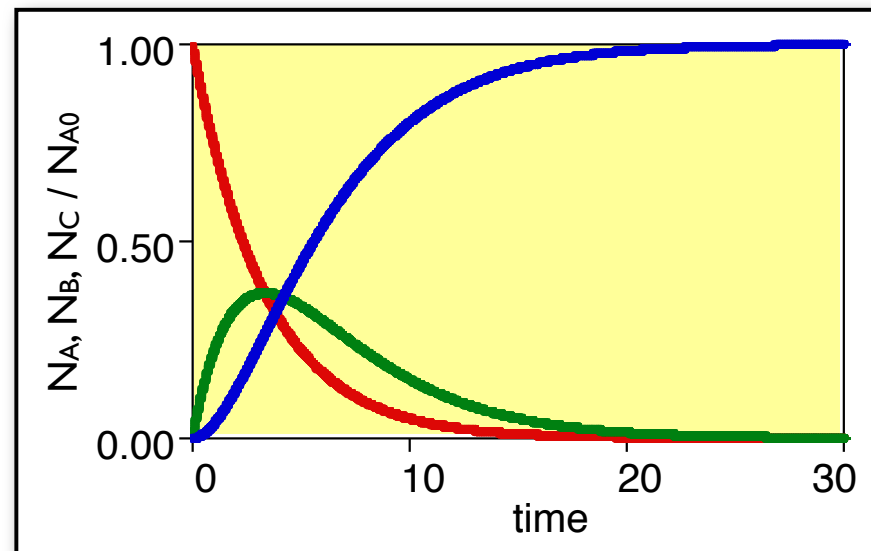
Achtung: didaktische Implementierungen!

Beispiel: Reaktions-Kette



Raten: $\frac{dA}{dt} = -k_1 A$ $\frac{dB}{dt} = k_1 A - k_2 B$ $\frac{dC}{dt} = k_2 B$

Zeitentwicklung aus den kontinuierlichen Raten:



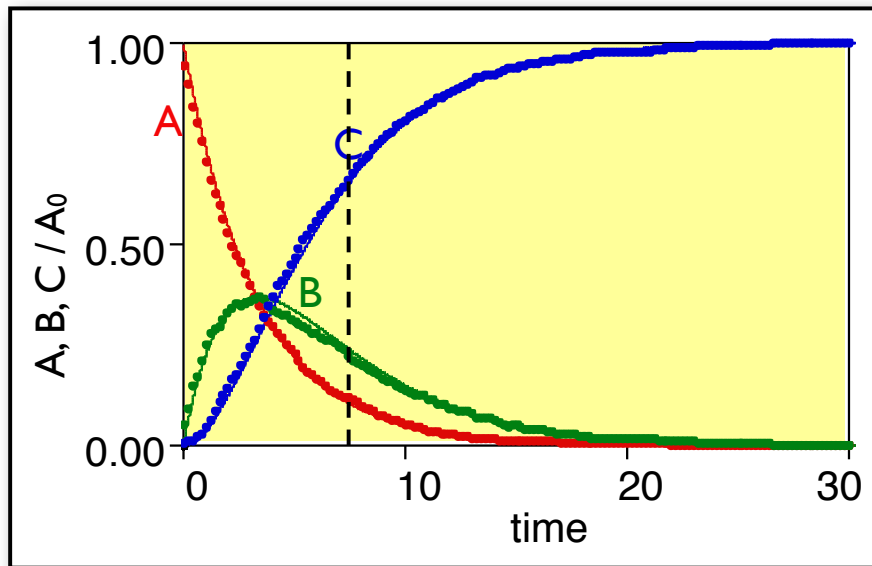
$$k_1 = k_2 = 0.3$$

Stochastische Simulation

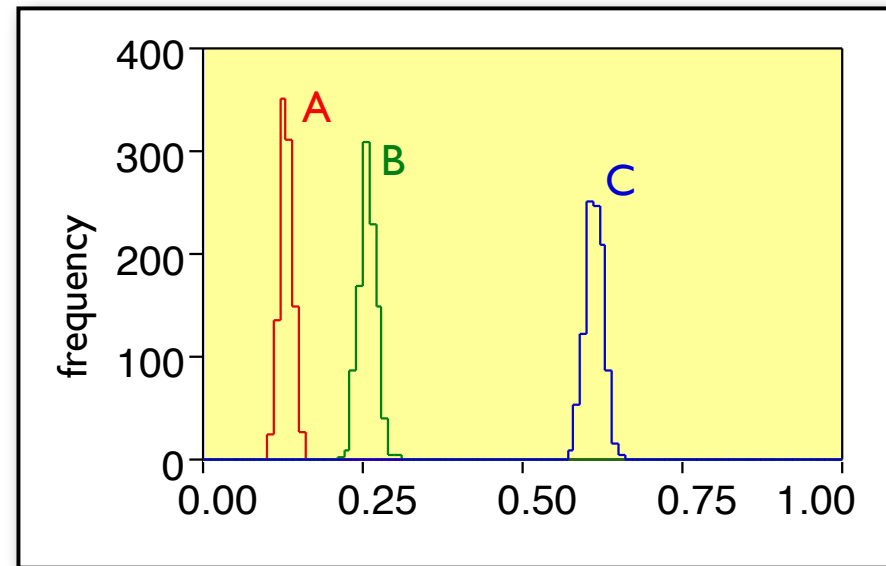
$A \Rightarrow B \Rightarrow C$

$A_0 = 1000$ Teilchen bei $t = 0$

$t = 7$



$k_1 = k_2 = 0.3$

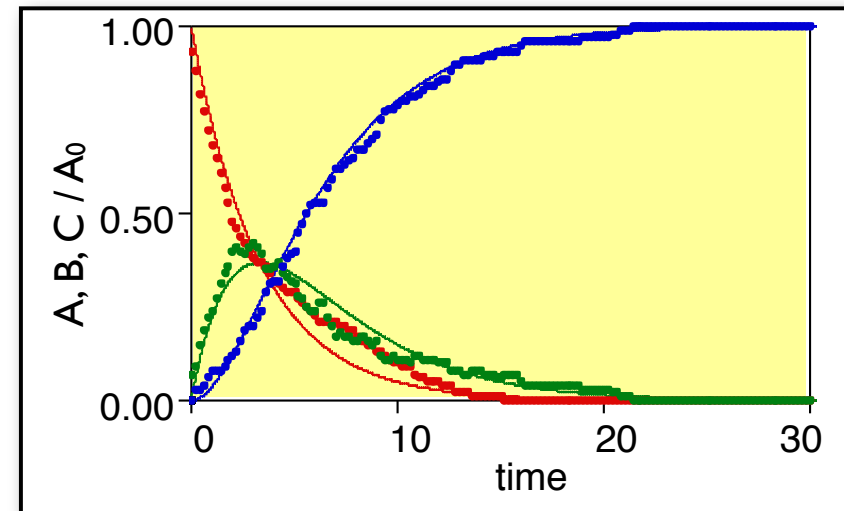
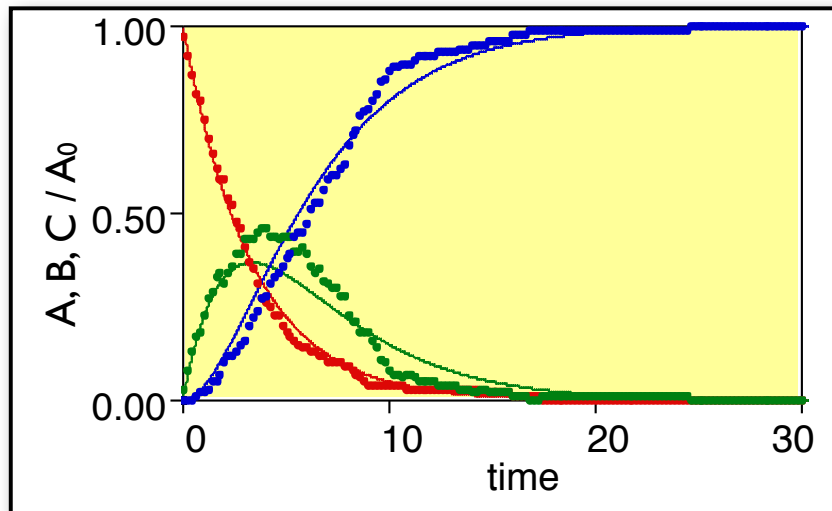
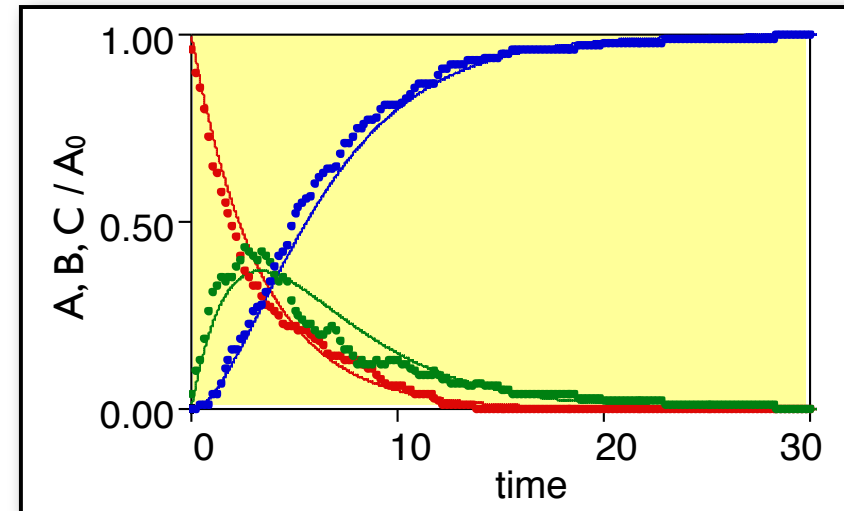
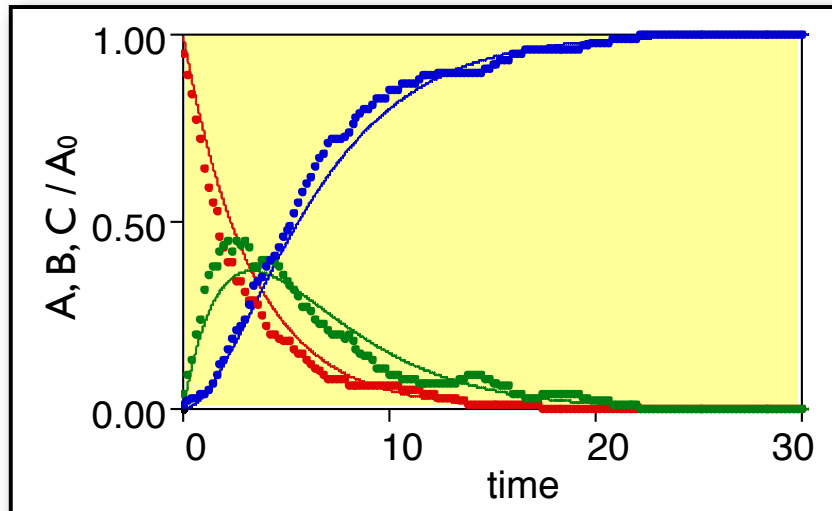


Werte bei $t = 7$ (1000 Läufe)

$\Rightarrow$ Fluktuationen

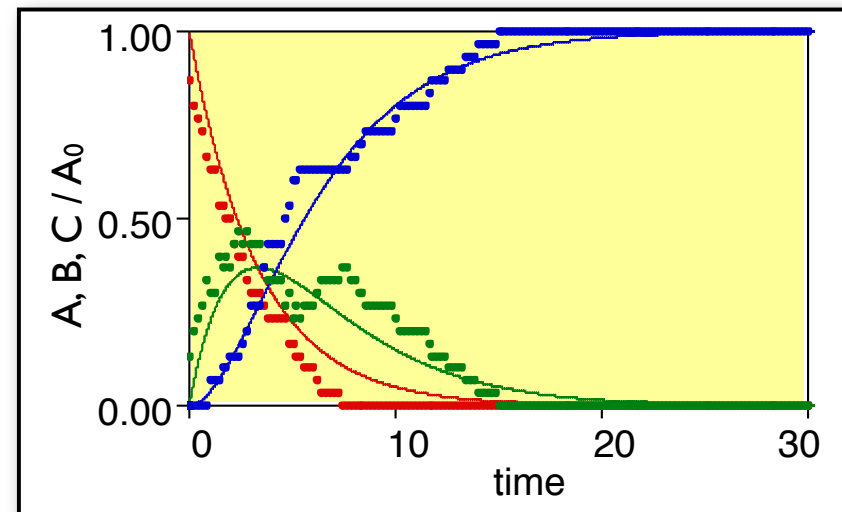
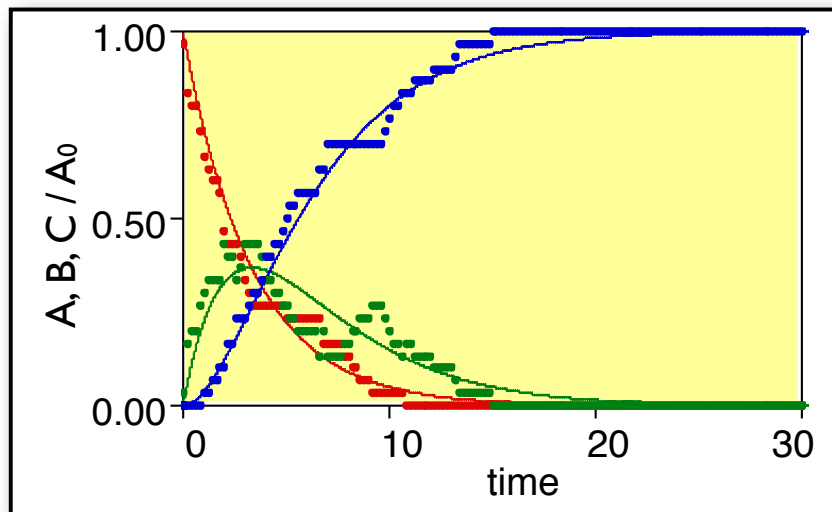
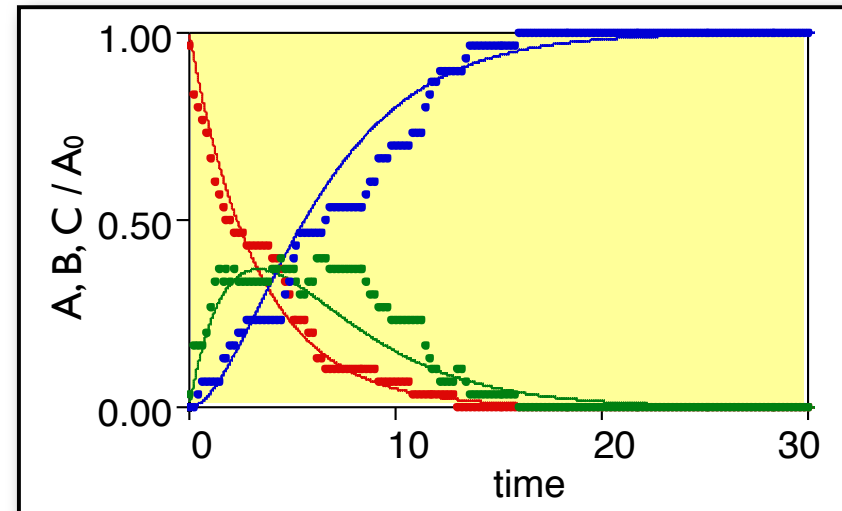
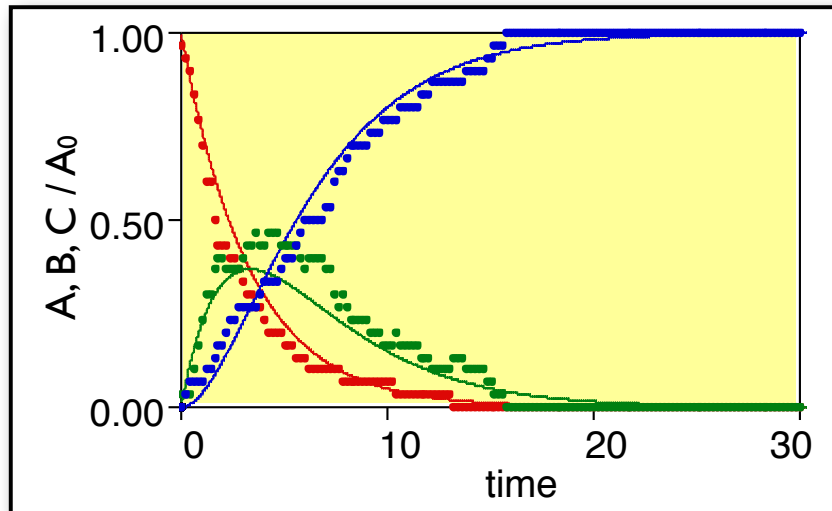
Weniger Teilchen => Mehr Rauschen

$$A_0 = 100$$



Noch weniger Teilchen

$$A_0 = 30$$



Varianz vs. Teilchenanzahl

Poisson:

relative Abweichung $\propto 1/\sqrt{N}$

1000 Simulationsläufe,
Werte sichern bei $t = 7$.

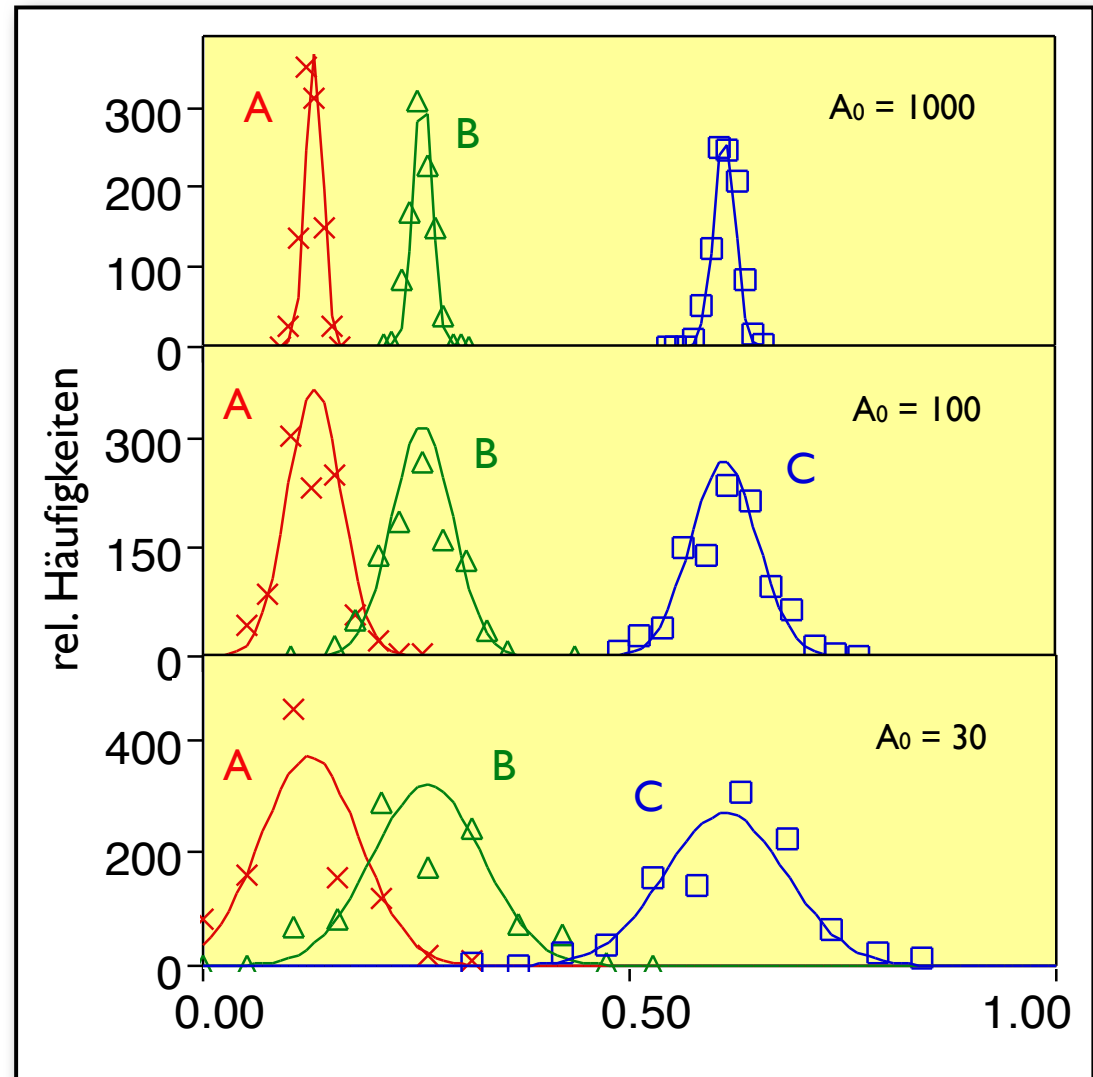
Fit der Verteilung mit Gaussvert.
(Normalverteilung)

$$g(x) = \exp \left[-\frac{(x - \langle x \rangle)^2}{w/\sqrt{A_0}} \right]$$

$$\langle A \rangle = 0.13, \quad w_A = 0.45$$

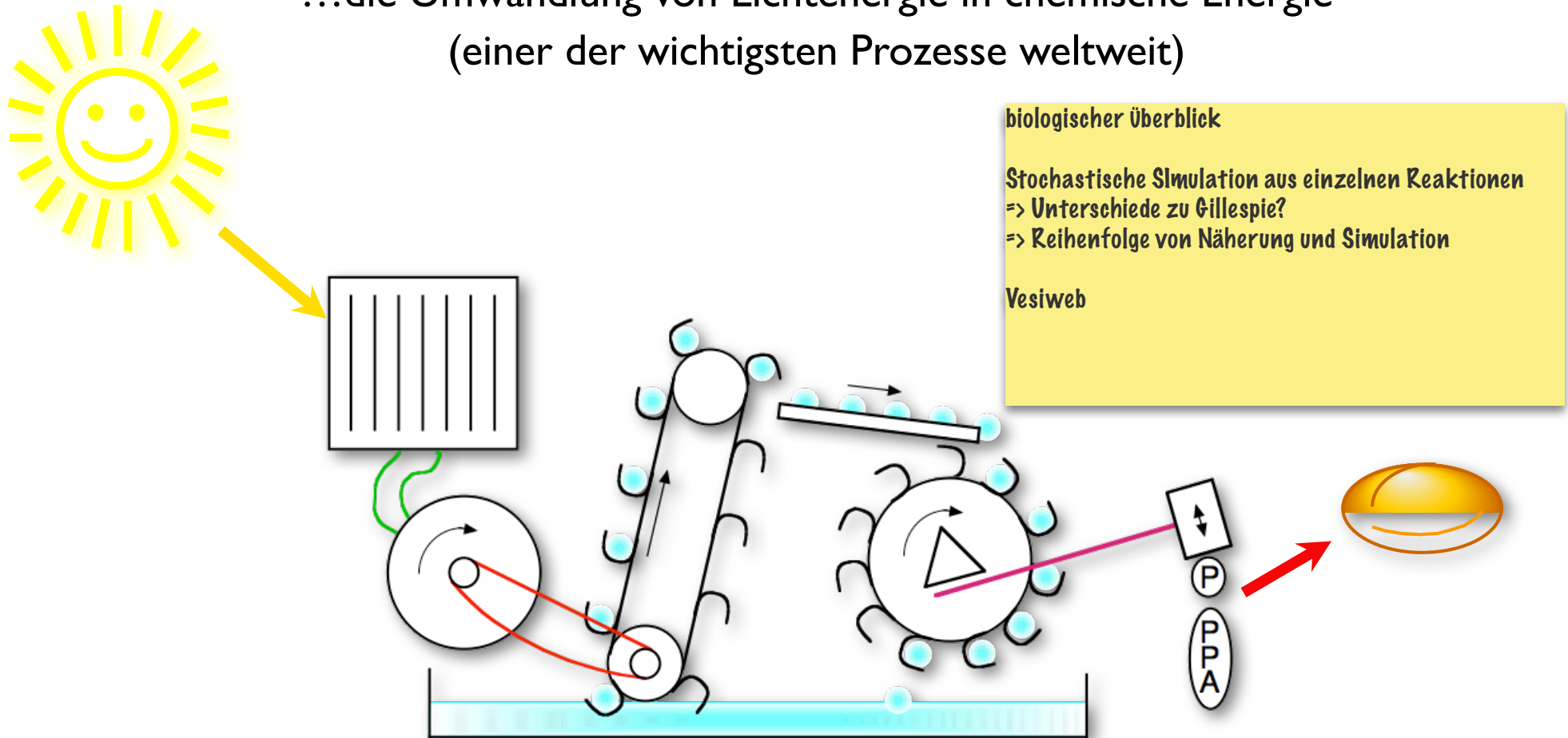
$$\langle B \rangle = 0.26, \quad w_B = 0.55$$

$$\langle C \rangle = 0.61, \quad w_C = 0.45$$

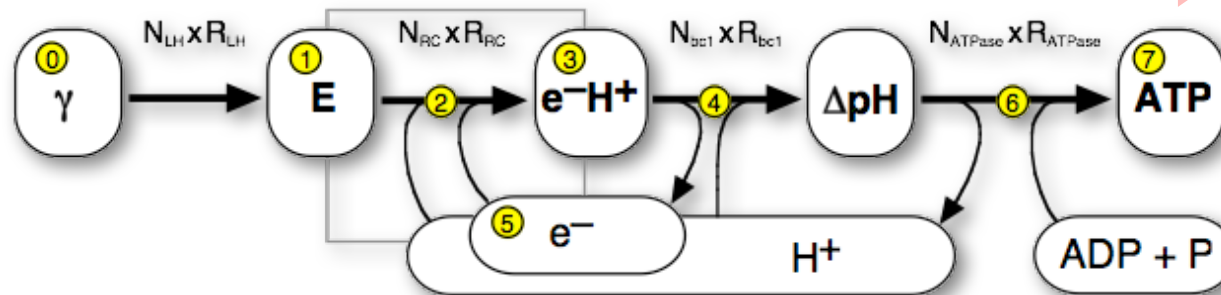
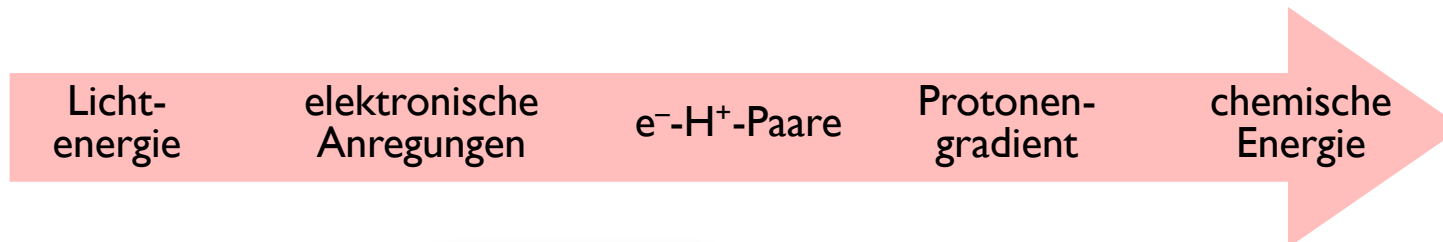
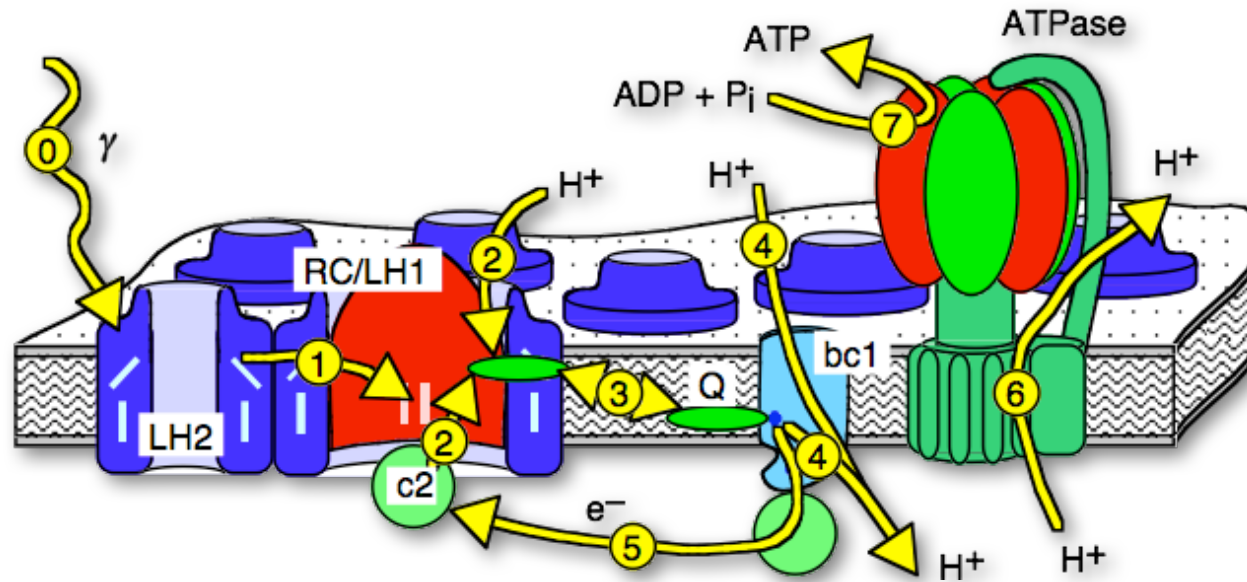


Photosynthese ist...

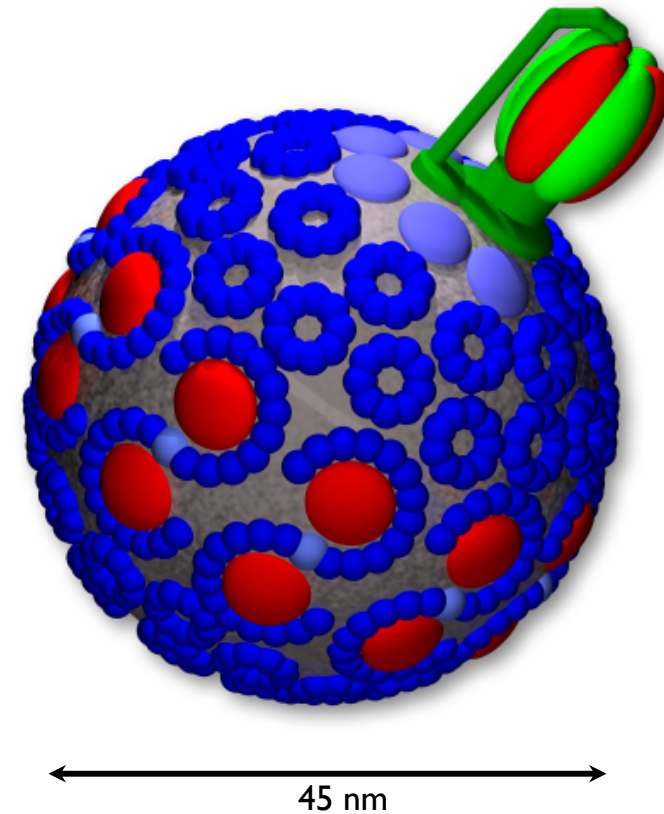
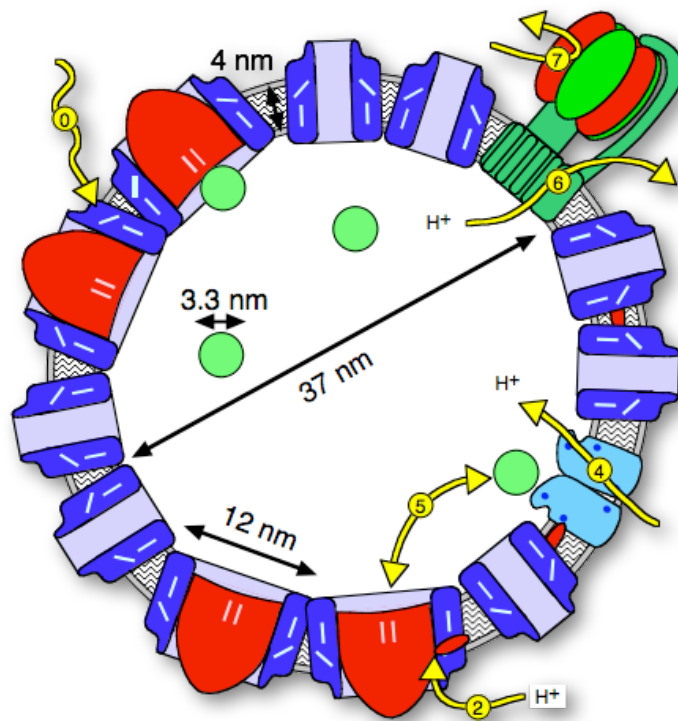
...die Umwandlung von Lichtenergie in chemische Energie
(einer der wichtigsten Prozesse weltweit)



Photosynthese in *Rb. sphaeroides*



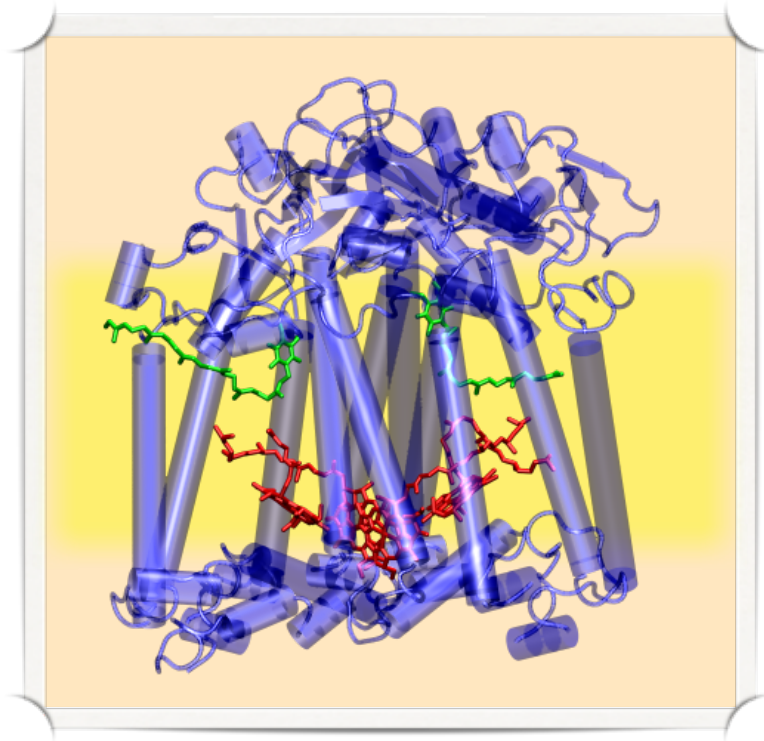
Chromatophoren-Vesikel



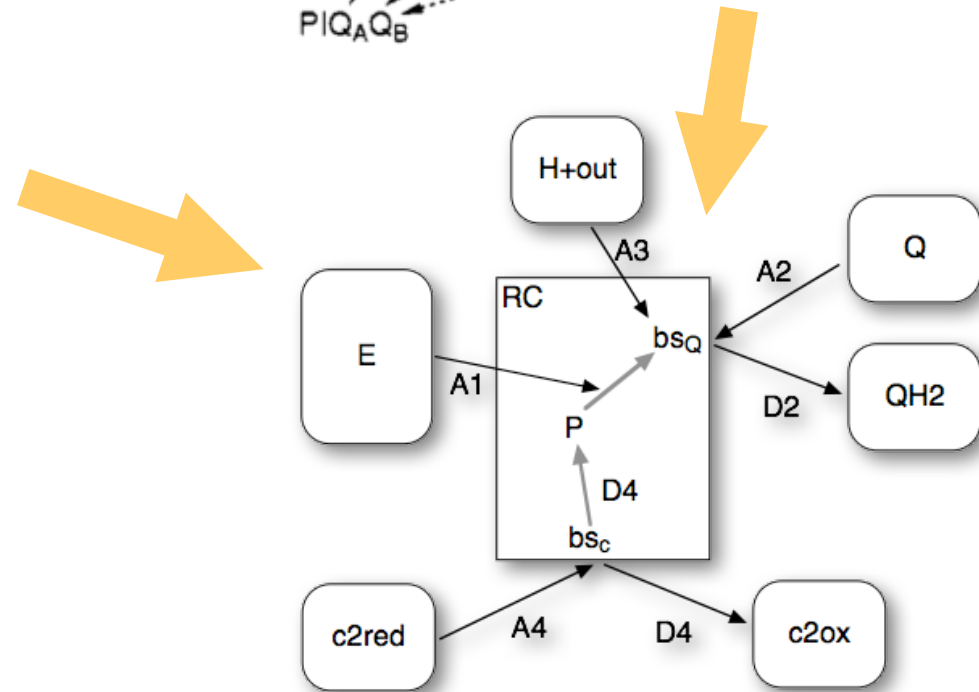
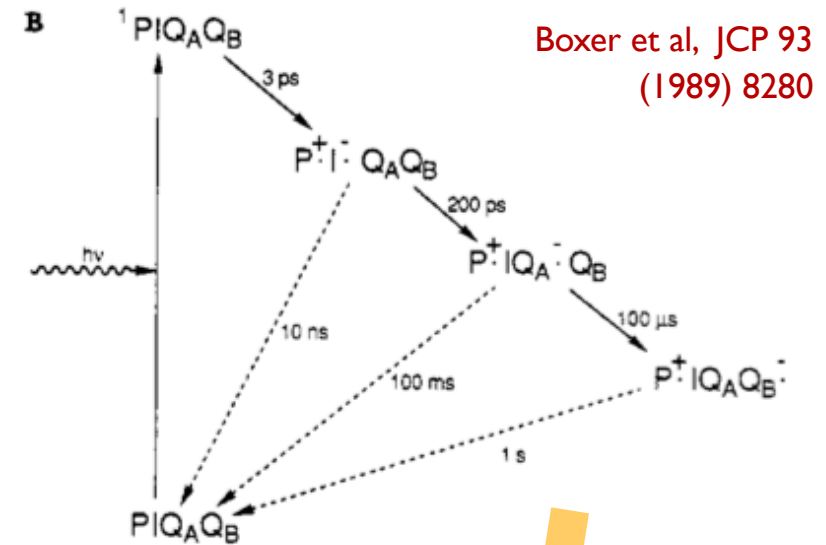
- => einfach: 4 Proteine + 2 Transporter + H⁺; Kristallstrukturen u. Reaktionen
- => klein: <30 Proteine + LHCs; alle Prozesse im Vesikel
- => abgeschlossen: definierte Randbedingungen für die Simulation
- => praktisch: Anregung mit Licht, spektroskopische Messungen

Modellierung der Proteine

RC: Photon => Ladungstrennung



1AIJ.pdb



Stochastische Reaktionen

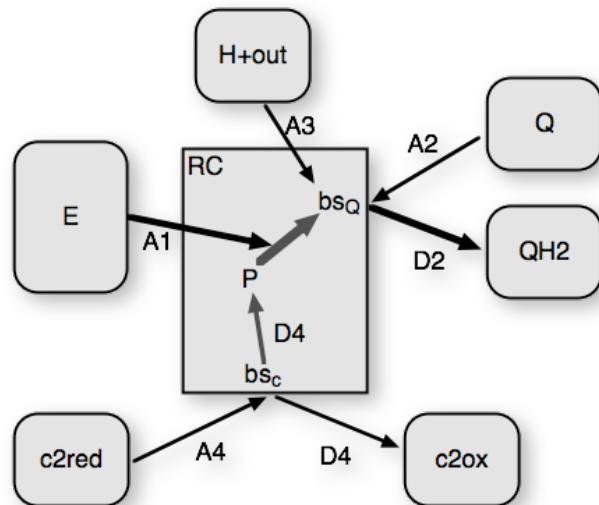
Wenn BS frei ist => Assoziation möglich: $BS + X \Rightarrow BS:X$

1) sind alle Bedingungen erfüllt?

2) chemische Reaktionskinetik:

Reaktionsrate:
$$\frac{d[BS:X]}{dt} = k_{on} [BS] [X]$$

Bindungs-W.keit pro BS:
$$P_{on} = k_{on} [X] \Delta t$$



for each timestep Δt :
for each reaction:
conditions fulfilled?
determine probability:
perform reaction

Geyer, Lauck, Helms, J Biotech 129 (2007) 212

Bsp: Elektronentransfer im RC

```
// R1: transfers an electron to the Quinone
//      using the energy from an exciton{      if
(bs_Q && (e_P == 1) && (e_Q == 0) &&
      ((He_Q == 0) || (He_Q == 1))) {
if (LHPoolp->take_out(LH_kon)) {
e_P = 0;          e_Q = 1;
writeInternals(); }
}}
```

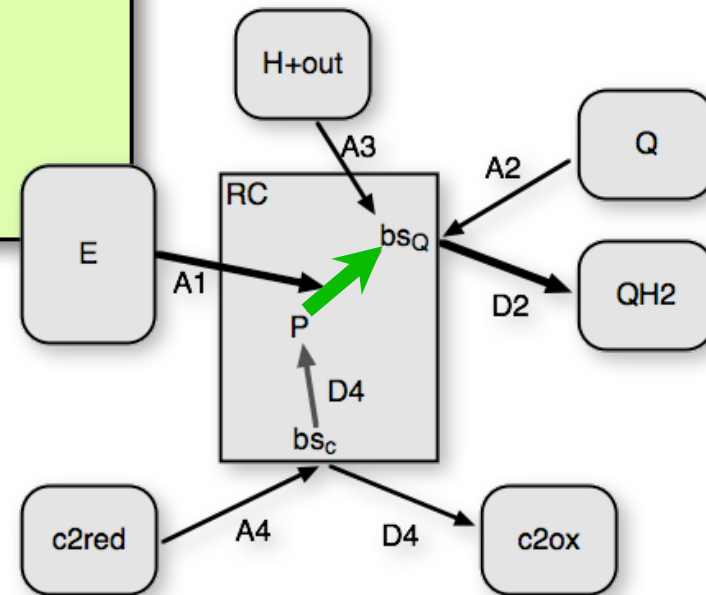
Bedingungen?

Wahrscheinlichkeit?

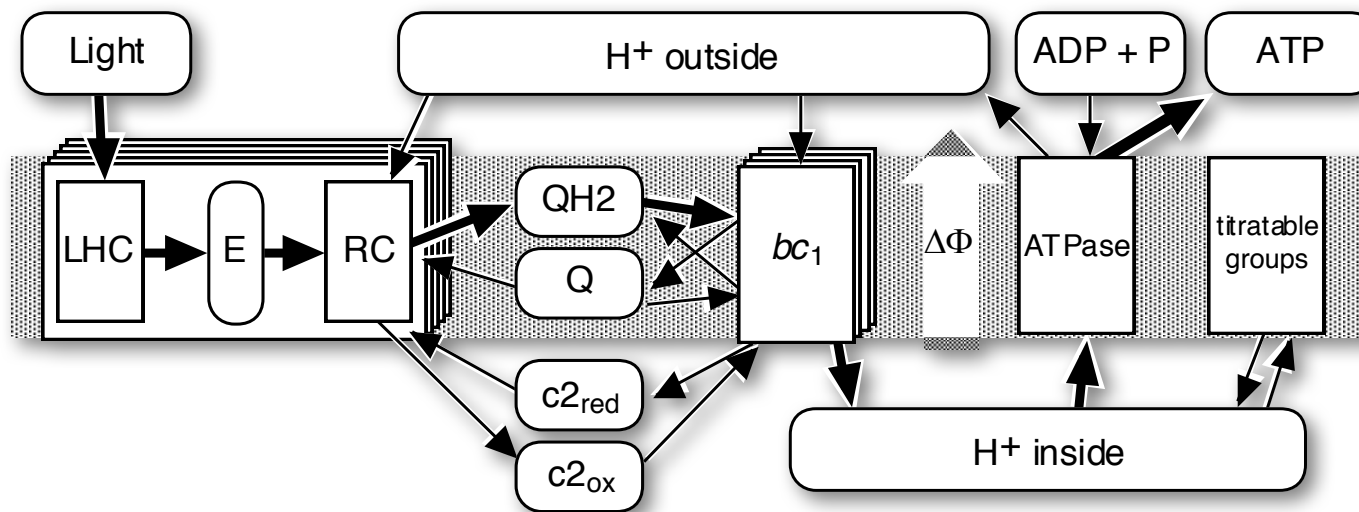
Reaktion!

Protein = {BS; Reaktionen(Zustand)}

Geyer, Lauck, Helms, J Biotech 129 (2007) 212



"Pools-and-Proteins"-Modell



40 aktive Proteine

- unabhängig voneinander
- stochastische Reaktionen mit je 1 Molekül
- Anzahl wie auf dem Vesikel

19 passive Pools

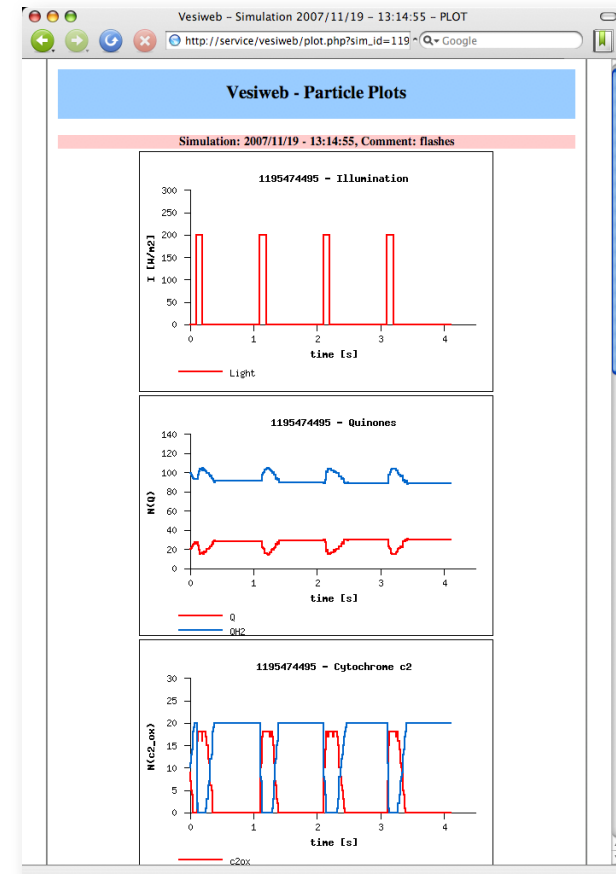
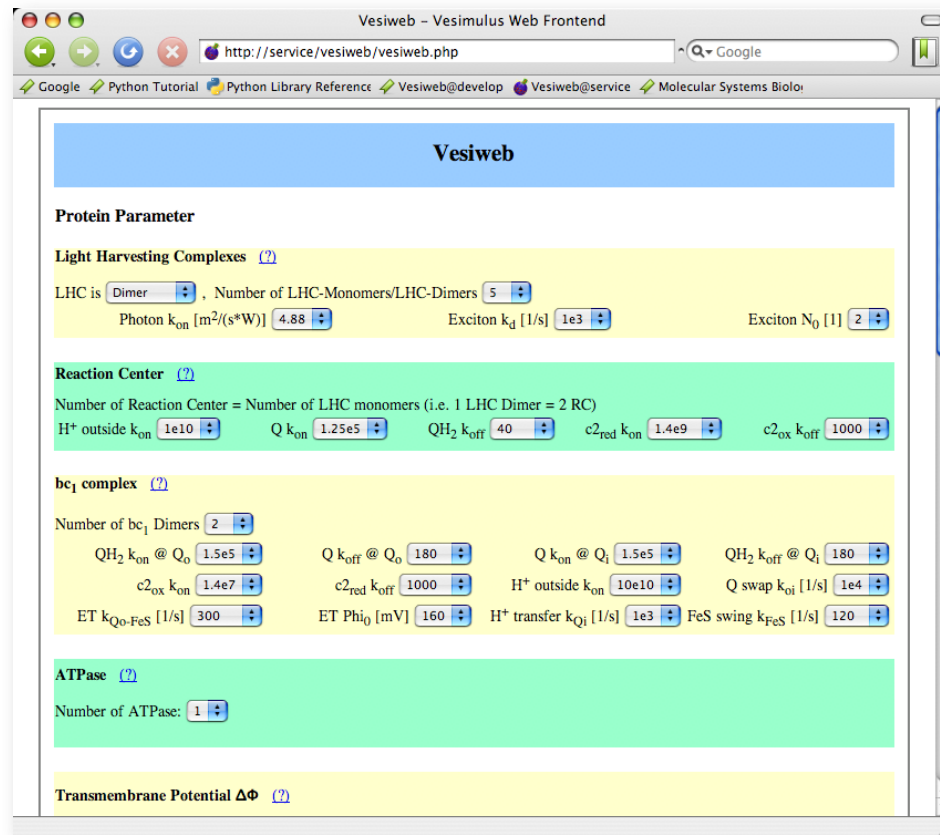
- ein Pool pro Metabolit
- hier: Diffusion ist schnell

Verbindungen definieren das biologische System
=> Pfade als "emergent behavior"

Geyer, Lauck, Helms, J Biotech 129 (2007) 212

Web Interface

Simulationen über Konfigurationsdatei oder
web-interface @ service.bioinformatik.uni-saarland.de/vesiweb

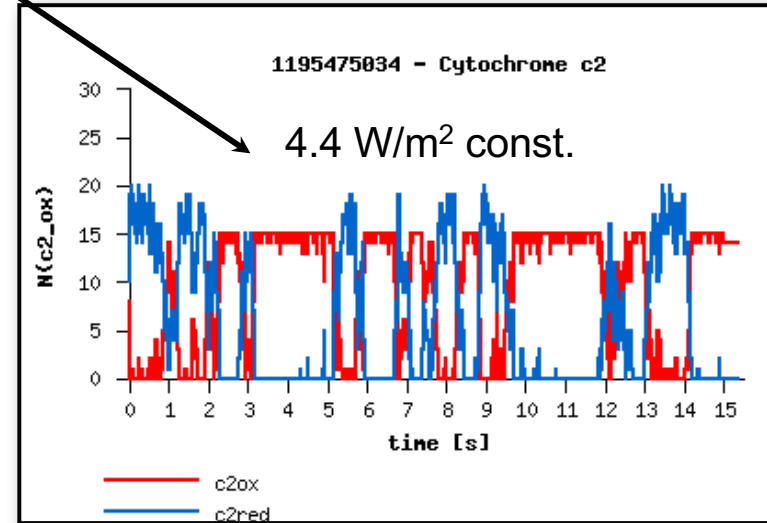
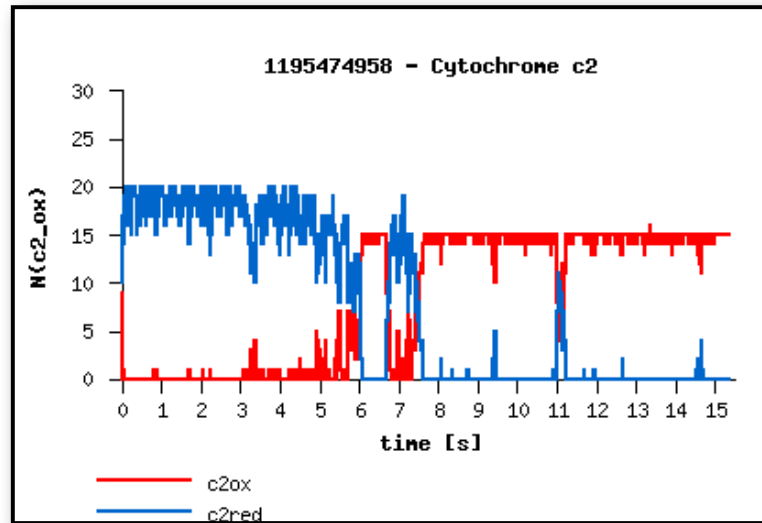
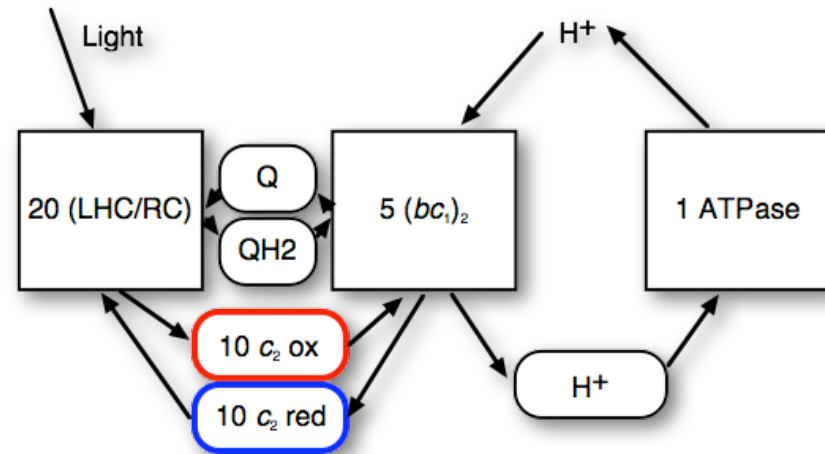
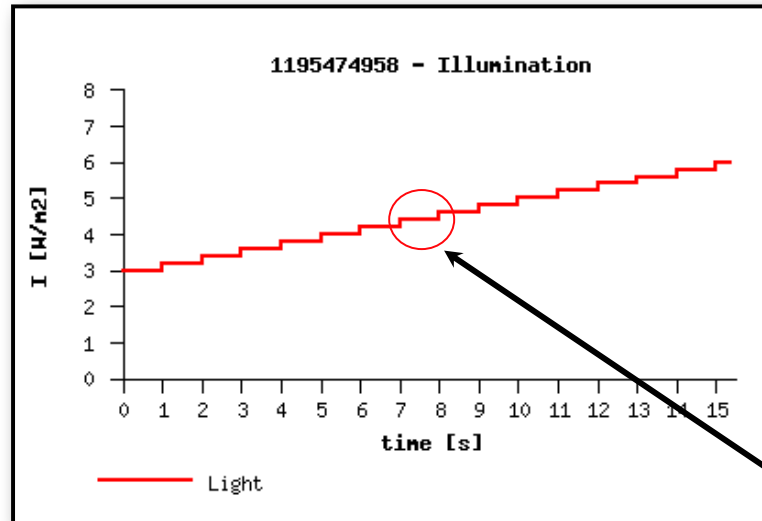


- Verstehen der Prozesse
- Modell-Verifikation + Parametrisierung gegen Experimente

[Florian Lauck. T.G., 2006]

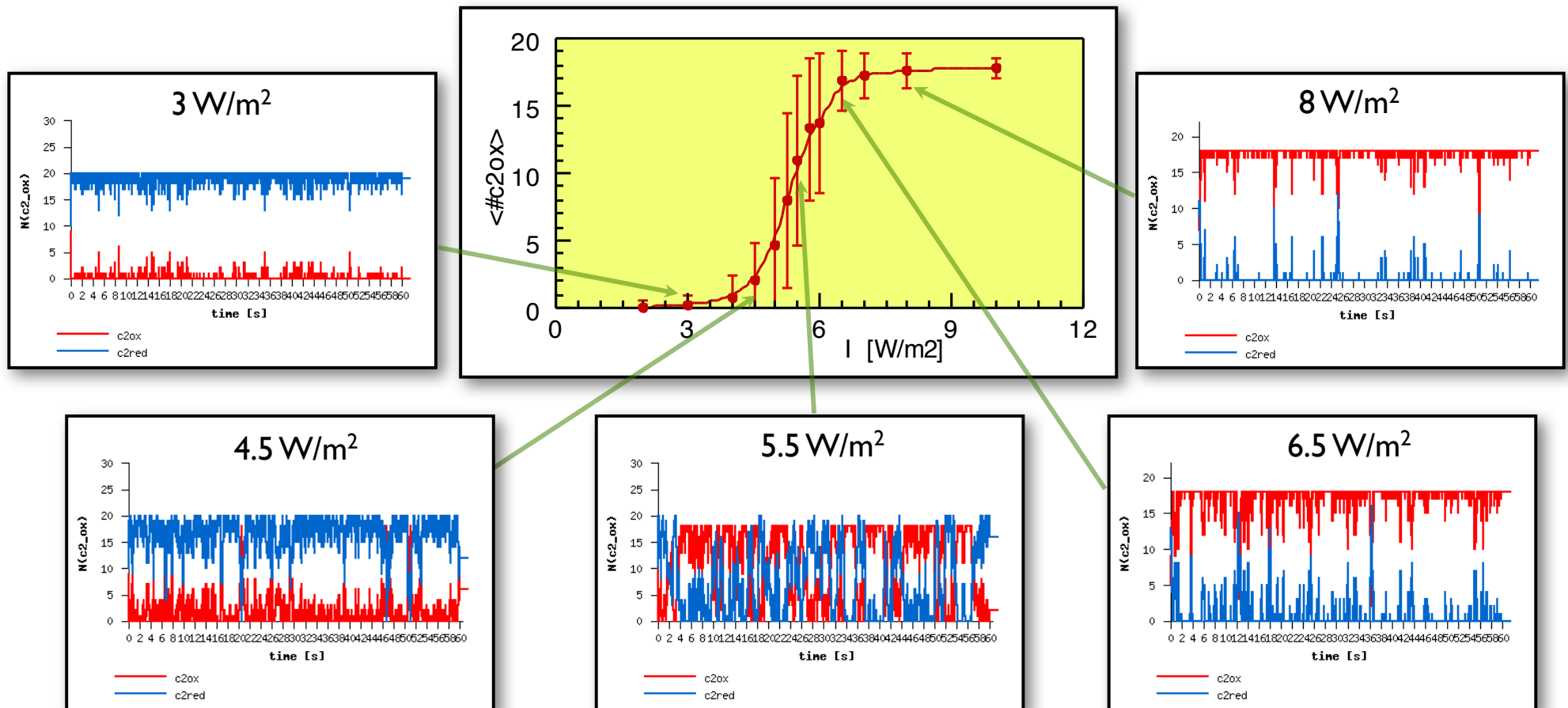
Stochastische Effekte

Oxidationszustand des Cytochrom c-Pools bei kontinuierlicher Beleuchtung



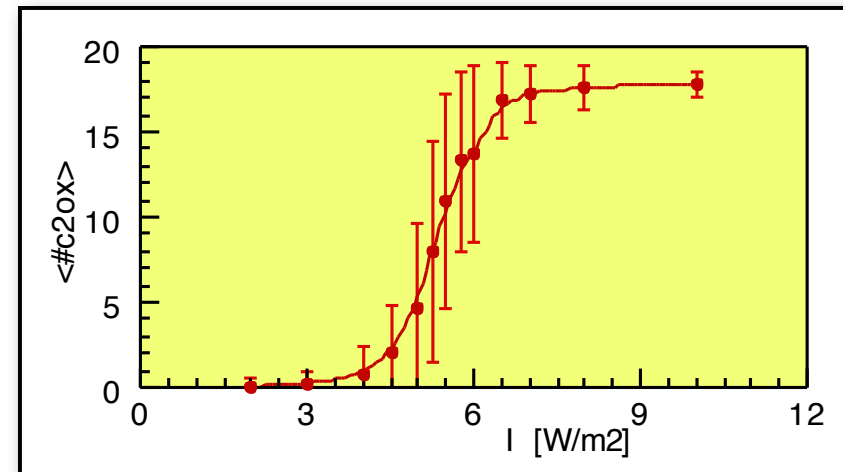
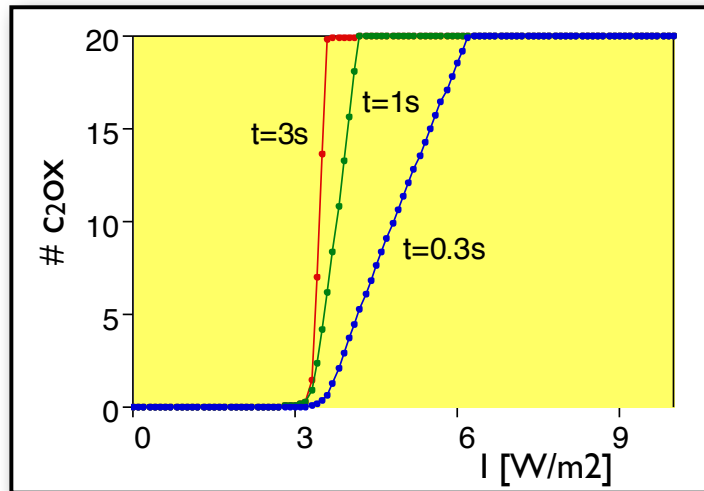
Steady State $\Leftrightarrow$ Fluktuationen

60 Sek. bei konstanter Beleuchtung mit 10 RC/LHC-Dimeren und 4 bcI-Dimeren
 $\Rightarrow$ Oxidationszustand des Cytochrom c-Pools



$\Rightarrow$ weicher Übergang mit starken Fluktuationen

Deterministisch vs. Stochastisch



Gleichungen mitteln, dann simulieren $\Leftrightarrow$

Mehrfach simulieren,
dann Ergebnisse mitteln

scharfer Übergang

$\Leftrightarrow$

weicher Übergang auch
für lange Zeiten

nur numerische Unsicherheiten

$\Leftrightarrow$

Fluktuationen $\approx$ Signal

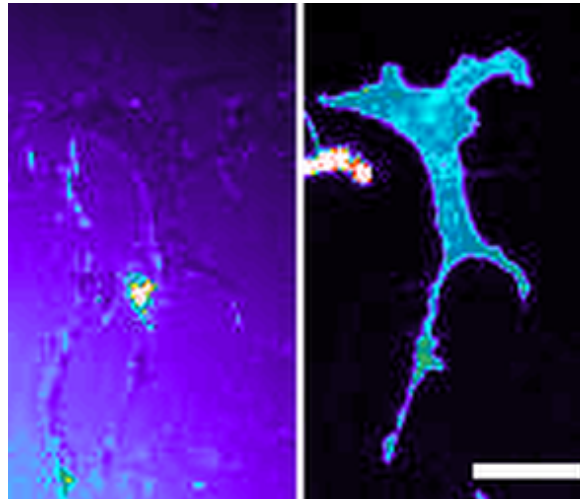
Reproduzierbare Werte

$\Leftrightarrow$

nur Mittelwert reproduzierbar

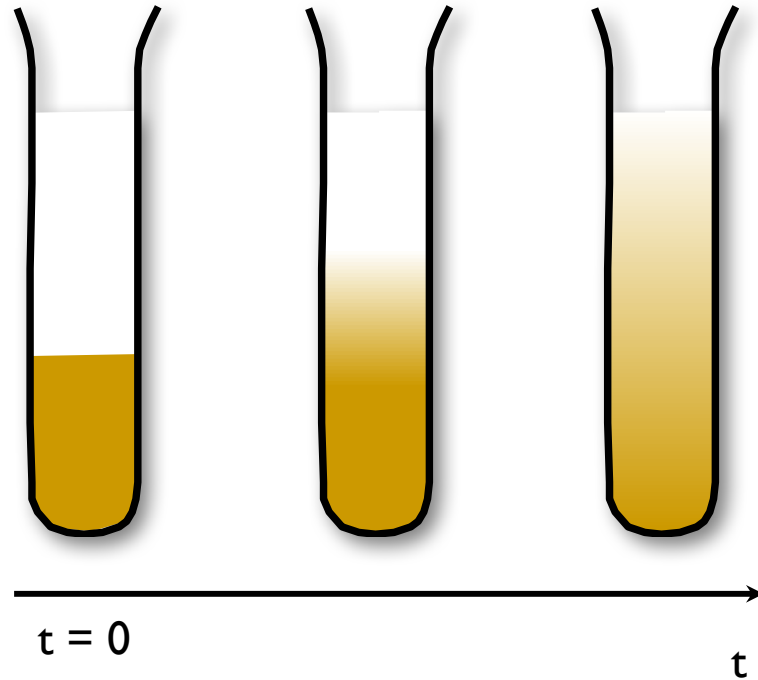
Prozesse in einer Zelle

Schneider und Haugh "Quantitative elucidation of a distinct spatial gradient-sensing mechanism in fibroblasts", *JCB* **171** (2005) 883



PI 3-kinase signaling in response to a transient PDGF gradient. The video depicts the experiment presented in Fig. 5 A of the paper, with TIRF time courses of the extracellular OG 514-dextran gradient (left) and intracellular CFP-AktPH translocation response (right). A CFP-AktPH-transfected fibroblast was stimulated with a moving PDGF gradient for 21 min, after which a uniform bolus of 10 nM PDGF and subsequently wortmannin were added (additions indicated by the flashing screen). The video plays at 7.5 frames/s (150x speed up). Bar, 30 μ m.

Diffusion



Diffusion

=> verschmiert Unterschiede

Entwicklung der ortsabh. Dichte

<=> Diffusionsgleichung

$$\rho(\vec{r}, t) = \frac{\Delta N(\vec{r}, t)}{\Delta V}$$

+ ortsabhängige Quellen und Senken

Kontinuitätsgleichung

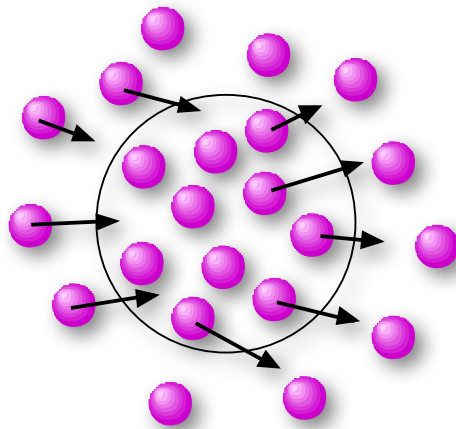
Zwei Beiträge zur Diffusionsgleichung:

I) Kontinuitätsgleichung: wo bleibt das Material?

$$\frac{\partial \rho(\vec{r}, t)}{\partial t} = -\nabla \vec{j}(\vec{r}, t) = -\text{div } \vec{j}(\vec{r}, t)$$

Änderung der
Dichte ρ bei (r, t)

Divergenz des
Stromes = Quellen und
Senken für Teilchen

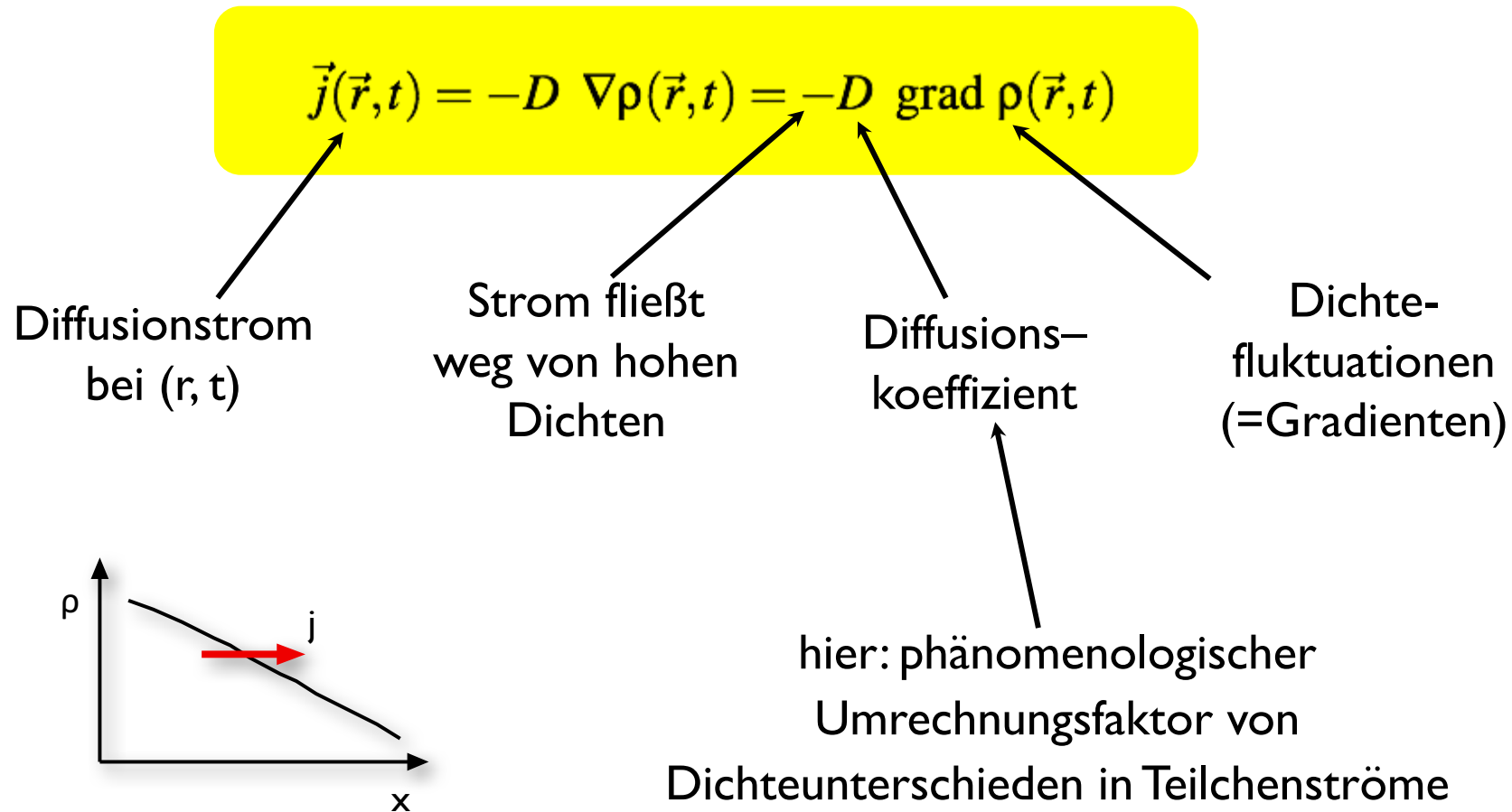


partielle Ableitung:
=> betrachte nur Änderungen von ρ in der Zeit an einem
festgehaltenen Ort r (nicht: Ortsverschiebungen $r = r(t)$)

$$\Delta N = N_{\text{in}} - N_{\text{out}} = 3 - 5 = -2$$

Diffusionsstrom

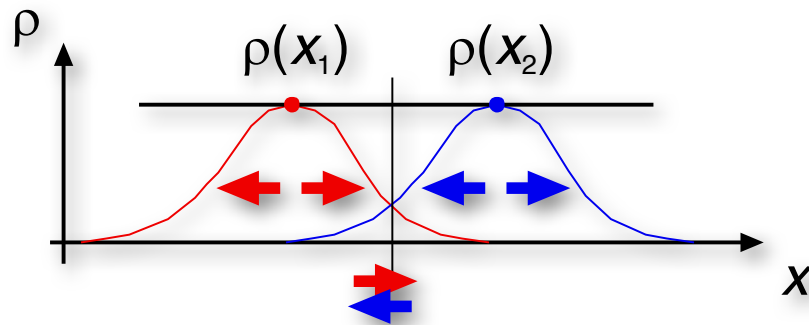
2) Diffusionsstrom durch Dichteunterschiede (Gradienten) – Fick'sches Gesetz:



Diffusion mikroskopisch

Ohne externe Kräfte

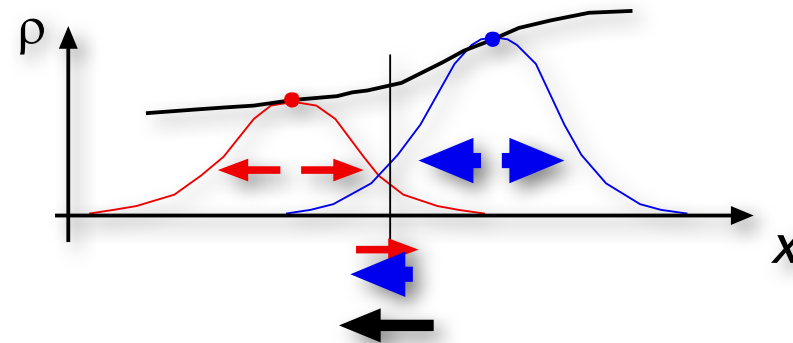
=> Teilchen bewegen sich in alle Richtungen gleich wahrscheinlich
(Gauss'sche Wahrscheinlichkeit)



$$\rho(x_1) = \rho(x_2) \Rightarrow j_{\text{diff}} = 0$$

$$j_{\text{diff}} \propto -\frac{\rho(x_2) - \rho(x_1)}{x_2 - x_1} \Rightarrow \frac{d\rho}{dx}$$

Gleiche Dichten an x_1 und x_2 :
=> gleiche Anzahl Teilchen springt
von $x_1 \Rightarrow x_2$ wie von $x_2 \Rightarrow x_1$



$$\rho(x_1) < \rho(x_2) \Rightarrow j_{\text{diff}} < 0$$

Unterschiedliche Dichten:
=> mehr Teilchen springen
von $x_2 \Rightarrow x_1$ als von $x_1 \Rightarrow x_2$

Diffusionsgleichung: partielle DGL

Diffusionsstrom

$$\vec{j}(\vec{r}, t) = -D \nabla \rho(\vec{r}, t) = -D \text{ grad } \rho(\vec{r}, t)$$

in Kontinuitätsgleichung einsetzen

$$\frac{\partial \rho(\vec{r}, t)}{\partial t} = -\nabla \cdot \vec{j}(\vec{r}, t) = -\text{div } \vec{j}(\vec{r}, t)$$

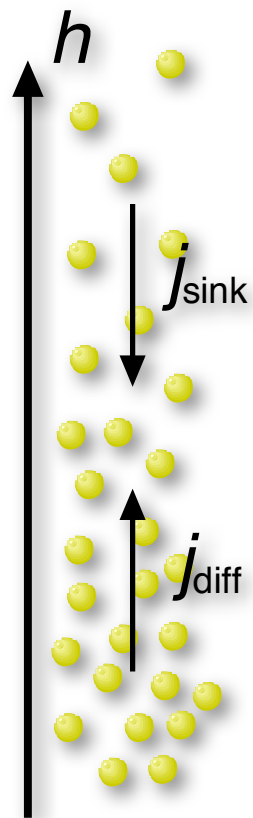
=> Diffusionsgleichung:

$$\frac{\partial \rho(\vec{r}, t)}{\partial t} = -\nabla \cdot (-D \nabla \rho(\vec{r}, t)) \stackrel{D(\vec{r}, t) = \text{const}}{=} D \Delta \rho(\vec{r}, t)$$

=> Vollständige Beschreibung der zeitabhängigen Dichteverteilung
(ohne externe Kräfte)

Zur Boltzmann-Verteilung

Diffusion unter dem Einfluß einer externen Kraft (z.B. Schwerkraft)
=> stationäre Lösung der Diffusionsgleichung



zwei Beiträge

Gravitation
=> Moleküle sinken

$$j_{\text{sink}}(h) = v \rho(h) = -\frac{mg}{\gamma} \rho(h)$$

Dichteunterschied
=> Diffusionsstrom

$$j_{\text{diff}}(h) = -D \frac{d\rho(h)}{dh}$$

stationärer Zustand: $j_{\text{sink}}(h) + j_{\text{diff}}(h) = 0$

$$\text{Mit } D = \frac{k_B T}{\gamma} \Rightarrow \frac{d\rho(h)}{dh} = -\frac{mg}{k_B T} \rho(h)$$

$$\rho(h) = \rho_0 \exp \left[-\frac{mgh}{k_B T} \right]$$

stationärer Zustand ist unabhängig
von D (aber: Relaxationszeit)

Integration

Bisher: (System von) ODEs

$$\frac{d}{dt}X_i = f_i(X_1, X_2, \dots)$$

- Zeitentwicklung abhängig von den **lokalen** Werten der Systemparameter
- alle Ableitungen nach der Zeit

Jetzt: Diffusionsgl. mit konstantem D:

$$\frac{\partial \rho(\vec{r}, t)}{\partial t} = D \Delta \rho(\vec{r}, t)$$

- Zeitentwicklung bestimmt durch **globale** Werte (Verteilungen) der Variablen (gesamte Dichte $\rho(r)$ nötig für Gradient)
- Ableitungen nach **Zeit und Ort**

FTCS–Integrator

Diffusionsgleichung mit konstantem D in 1D:

$$\frac{\partial \rho(\vec{x}, t)}{\partial t} = D \frac{\partial^2 \rho(\vec{x}, t)}{\partial x^2}$$

Direkte Implementierung auf einem Gitter $\{\rho(x_i)\}$ mit Abstand Δx :

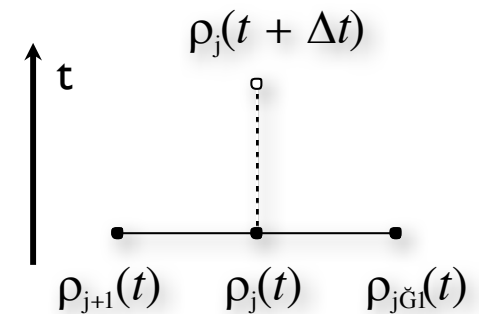
$$\frac{\rho_j(t + \Delta t) - \rho_j(t)}{\Delta t} = D \frac{\rho_{j+1}(t) - 2\rho_j(t) + \rho_{j-1}(t)}{\Delta x^2}$$

Forward in **T**ime

Centered in **S**pace

Propagationsschritt:

$$\rho_j(t + \Delta t) = \rho_j(t) + \Delta t D \frac{\rho_{j+1}(t) - 2\rho_j(t) + \rho_{j-1}(t)}{\Delta x^2}$$



Stabil für:

$$\Delta t \leq \frac{\Delta x^2}{2D}$$

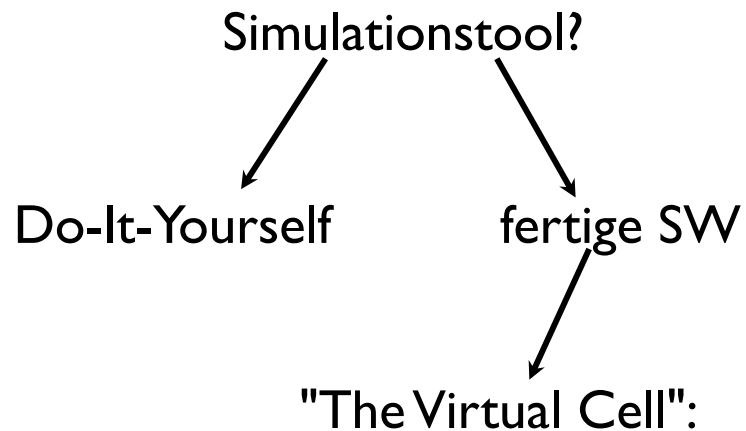
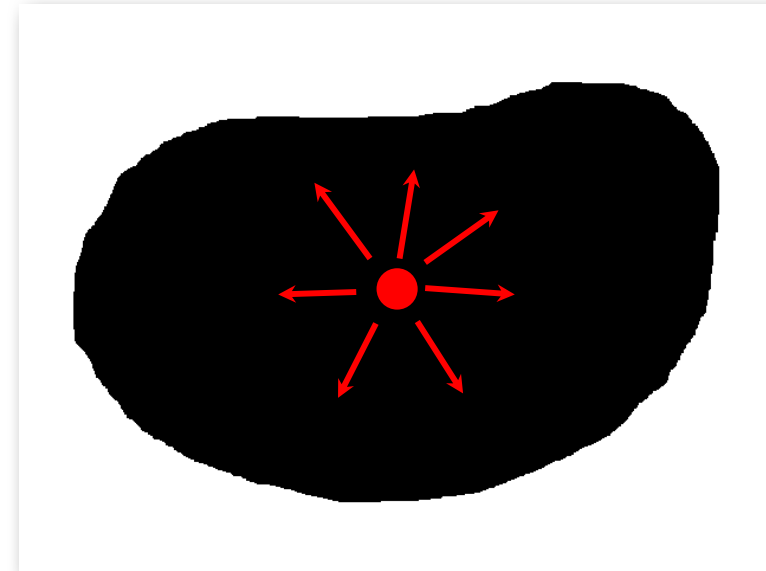
($\Delta t < \text{Diffusionszeit über Abstand } \Delta x$)

Beispiel: Diffusion

Moleküle werden bei x_s produziert und in der ganzen Zelle abgebaut

Diffusion in beliebiger Geometrie:

=> Einfluß der Wände?



- Reaktions-Diffusions-Systeme
- kontinuierliche und stochastische Integration
- frei definierbare Geometrien (Fotos)
- lokales Java-Frontend + Cluster @ NRCAM

Running the Virtual Cell and User Information

http://www.nrcam.uchc.edu/login/login.html

Google Python Tutorial Python Library Reference Vesiweb@develop Vesiweb@service Molecular Systems Biolo QTYouTube

National Resource for Cell Analysis and Modeling

Terms of Use
Contact

Home About NRCAM **VCell Software** Technology How to Model Published Models News CCAM

VCell Login

Run the Virtual Cell.

[Virtual Cell User Documentation](#)

User Guide, Quick Start and Tutorials

[Release Notes](#)

Current information on Release and Beta versions.

[Technical Requirements](#)

Hardware and software system specific requirements.

Run the Virtual Cell

Release and Beta Versions

The Virtual Cell requires Java. [Get it Now](#)

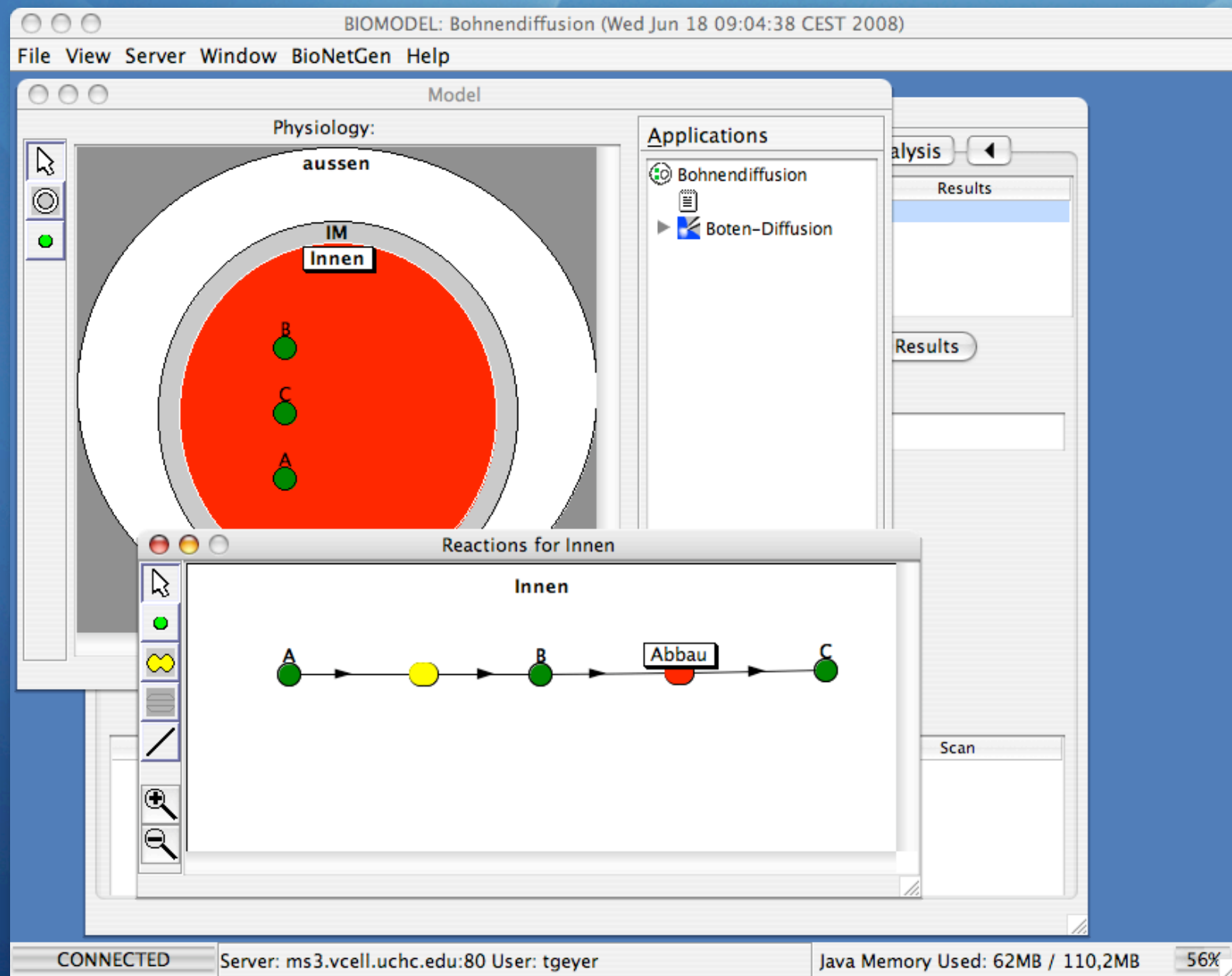
Run VCell 4.4

(Please Note: New Users will need to register when they first run the Virtual Cell Software.)

New Features in 4.4

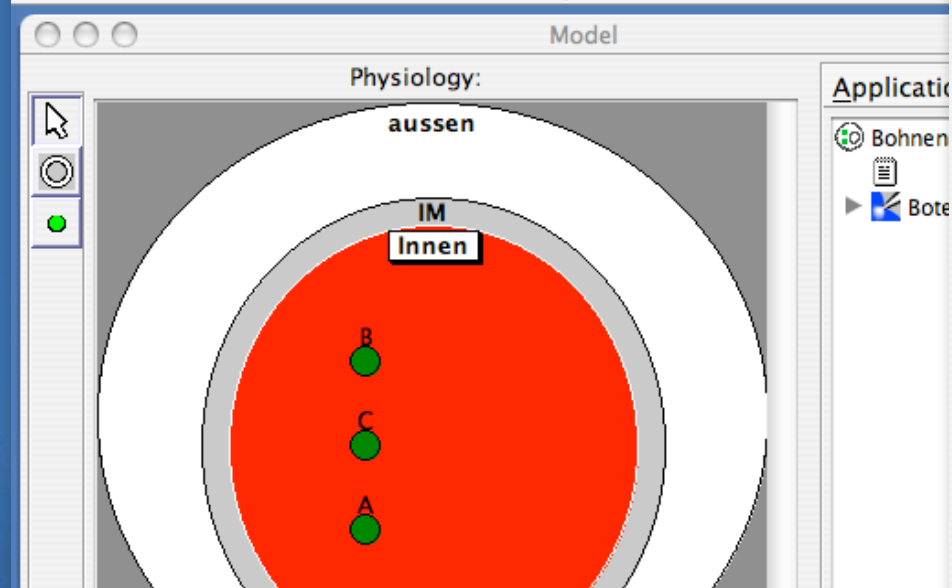
- [nonspatial stochastic modeling](#)
- field data (using images data as input to simulations)
- annotations (MIRIAM compliant)
- better SBML support

download and run a Java frontend



BIOMODEL: Bohnendiffusion (Wed Jun 18 09)

File View Server Window BioNetGen Help



Reaction Kinetics Editor

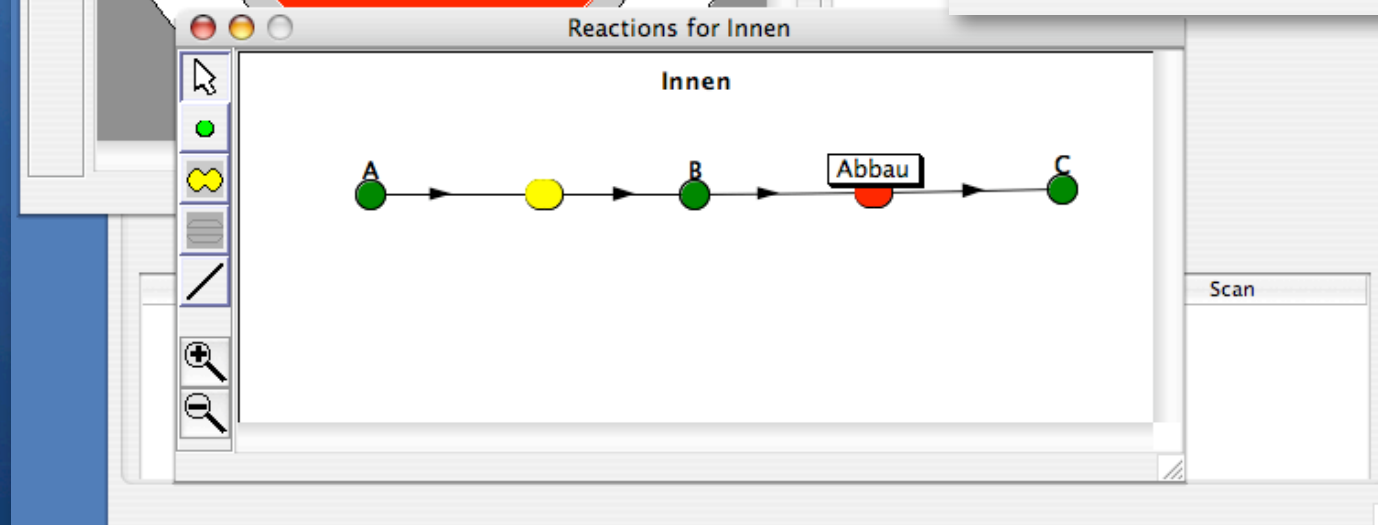
Stoichiometry

$$B_Innen \xrightleftharpoons[Kr]{Kf} C_Innen$$

Name: Abbau Rename

Kinetic type: Mass Action [$\mu\text{M/s}$] Convert to [molecules/s]

Description	Name	Expression	Unit
reaction rate	J	$(Kf \cdot B_Innen - Kr \cdot C_Innen)$	$\mu\text{M.s}^{-1}$
forward rate constant	Kf	0.1	s^{-1}
reverse rate constant	Kr	0.0	s^{-1}



CONNECTED

Server: ms3.vcell.uchc.edu:80 User: tgeyer

Java Memory Used: 62MB / 110,2MB

56%

BIOMODEL: Bohnendiffusion (Wed Jun 18 09:04:38 CEST 2008)

File View Server Window BioNetGen Help

APPLICATION: Boten-Diffusion

Reaction Mapping Electrical Mapping View Math **Simulation** Analysis

Name	Last saved	Running status	Results
Lauf1	Wed Jun 18 09:04:38 CES...	36%	yes

New Edit Copy Delete Run Stop Results

SIMULATION SUMMARY:

Comments:

Spatial: [yes](#)

Time:	start	end	timestep	output
	0.0	250.0	0.1	keep every 10

Sensitivity: [no analysis](#)

Solver: [Finite Volume, Regular Grid](#)

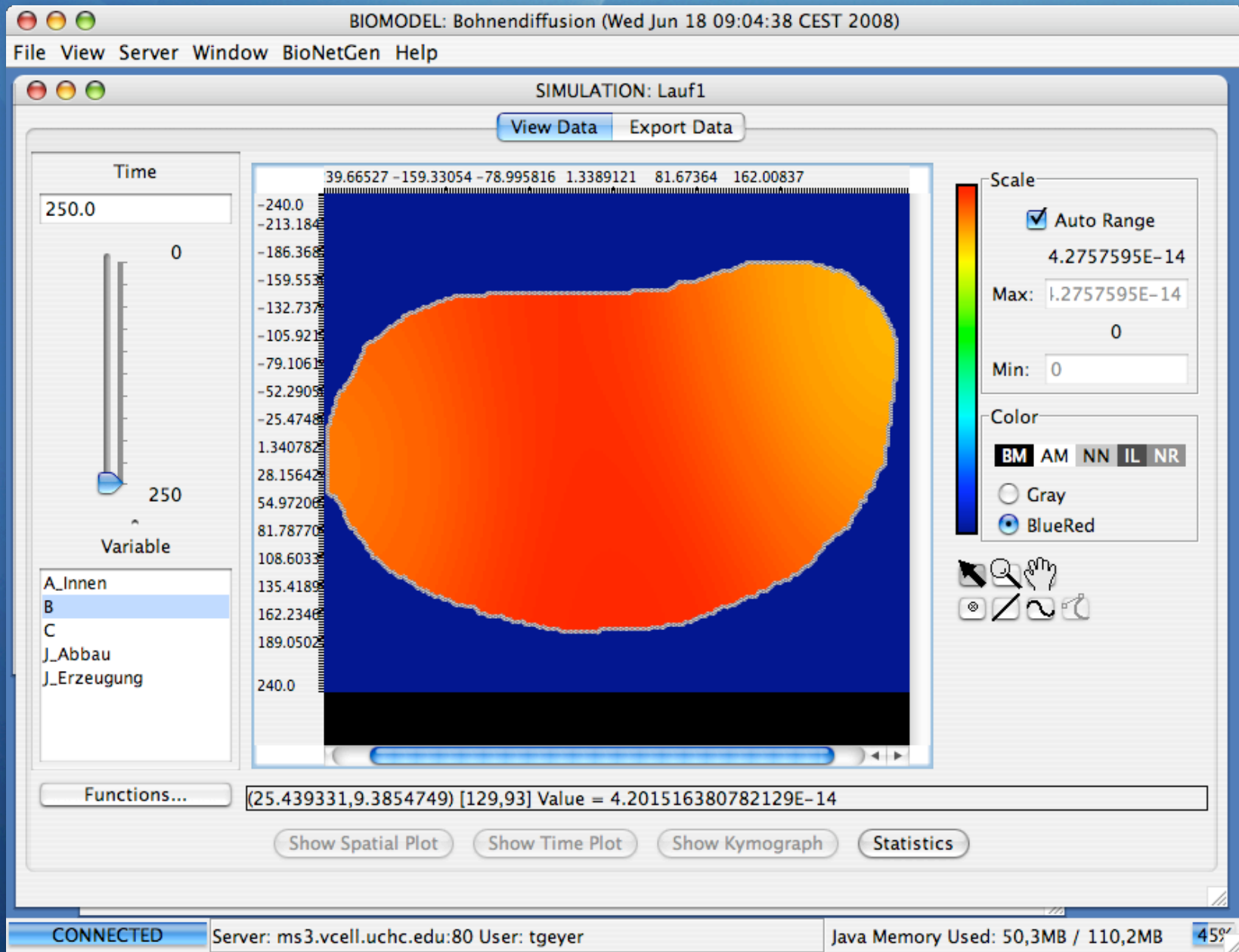
Geometry size: [\(640.0,480.0\) microns](#)

Mesh: [240 x 180 = 43200 elements](#)

Parameters with values changed from defaults:

Parameter Name	Default Value	Change Value	Scan

CONNECTED Server: ms3.vcell.uchc.edu:80 User: tgeyer Java Memory Used: 51MB / 109,6MB 46%



Klausur-relevanter Vorlesungsstoff

Vorlesung	Folien
1	14-23, 27, 35
2	3-44
3	3-22, 25, 34-46
4	17
5	1-33, 37-38, 40
6	1-35, 39
7	5-6, 8-11, 15-22
8	9-14, 17-39
9	7, 16-21, 30-34
10	1, 4, 5, 7-9, 12-25
11	3-8, 16-18, 31-33, 38
12	24-25, 42, 44-51