

Beispielaufgaben Flux Balance Analysis

Frage 1

Eine Systembiologin möchte die Ausbreitung einer ansteckenden Krankheit modellieren, um die Anzahl von Individuen in einer Population abzuschätzen, die i) mit der Krankheit infiziert sind (I), ii) empfänglich für eine Infektion sind (S) und iii) resistent gegen die Krankheit sind, nachdem sie von ihr genesen sind (R). Sie hat ein Modell aufgestellt, angemessene Werte für die Parameter angenommen und den Verlauf der Größen I , S und R über die Zeit grafisch dargestellt (siehe Bild).

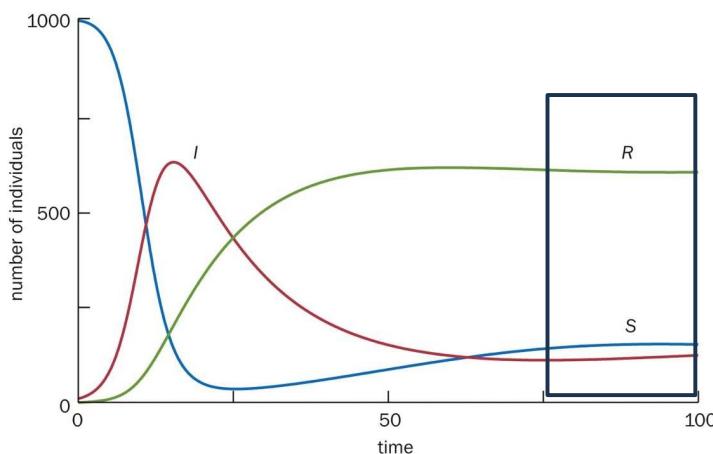


Figure 2.13a A First Course in Systems Biology 2e (© Garland Science 2018)

a) Handelt es sich bei dem aufgestellten Modell um ein statisches oder ein dynamisches Modell? Begründen Sie Ihre Antwort.

Es handelt sich bei diesem Modell um ein dynamisches Modell. Der Hauptgrund dafür ist, dass es Veränderungen über die Zeit darstellt. In statischen Modellen bleiben die Variablen im Wesentlichen unverändert oder werden nur in isolierten Momentaufnahmen. Im Gegensatz dazu nehmen dynamische Modelle zeitliche Änderungen und Wechselwirkungen zwischen verschiedenen Variablen (in diesem Fall die Anzahl der infizierten, anfälligen und resistenten Individuen) in Betracht.

Im Wesentlichen korrekt: States sind nicht über die Zeit konstant.

b) Für welchen Zeitraum eignet sich die Annahme eines steady states? Markieren Sie diesen in der Zeichnung.

Ein steady state oder Gleichgewichtszustand ist erreicht, wenn die Zustandsgrößen eines Systems (hier die Gruppen S, I und R) ihre Werte nicht mehr ändern und konstant bleiben.

Korrekt (hier: eine Annahme wie in der Frage formuliert).

c) Was ist der Vorteil einer steady-state-Annahme für die Modellierung eines Systems?

Vereinfachung der Analyse: Ein System im Gleichgewicht ist einfacher zu analysieren, da die Zustandsvariablen konstant sind. Das bedeutet, wir müssen uns nicht mit der Zeitabhängigkeit auseinandersetzen, was die mathematische Behandlung und Interpretation erleichtert.

Vergleichbarkeit: Steady-State-Annahmen erlauben es, verschiedene Szenarien oder Systeme unter Vers. 20.02.2023

gleichen Bedingungen zu vergleichen. Das macht es einfacher, die Auswirkungen verschiedener Parameter oder Strategien zu beurteilen.

Der erste Punkt ist korrekt (nicht notwendigerweise steady state Annahme fuer das gesamte System, siehe Michaelis-Menten, wo die Annahme zur Reduktion der dynamischen Variablen fuehrt).
Vergleichbarkeit ist kein Vorteil.

d) Werden sich für die Variablen I, S und R, unabhängig von den Annahmewerten für die Modellparameter, immer die im Diagramm oben gezeigten *steady state*-Werte einstellen? Begründen Sie Ihre Antwort.

Die Parameterwerte in einem epidemiologischen Modell repräsentieren in der Regel raten wie die Infektionsrate, die Genesungsrate und die Sterberate. Diese Raten können von Situation zu Situation stark variieren. Wenn sich die Parameter ändern, kann sich das Verhalten des Modells drastisch ändern.

Zum Beispiel kann eine höhere Infektionsrate dazu führen, dass mehr Individuen schneller infiziert werden, was die Höhe und das Timing des Peaks in der Anzahl der Infizierten (I) beeinflusst. Ebenso kann eine höhere Genesungsrate dazu führen, dass die Personen schneller in die Gruppe der resistenten (R) übergehen, was die Anzahl der anfälligen (S) und infizierten (I) Personen beeinflusst. In einigen Fällen könnte es sogar möglich sein, dass sich kein Steady-State einstellt, z.B. wenn die Krankheit so ansteckend ist, dass sie ständig neue Personen infiziert, oder wenn die Genesung nicht zu dauerhafter Immunität führt.

Korrekt, aber die Frage zielte nur auf die steady states ab.

Frage 4

Sie haben ein stöchiometrisches Netzwerkmodell für den Menschen mit m Metaboliten und n enzym-katalysierten Reaktionen erhalten. Sie wollen nun FBA anwenden und so metabolische Funktionen des Netzwerkes analysieren.

a) Geben Sie ein kleines aber effizientes Skript in Pseudocode an, das es Ihnen erlaubt, herauszufinden welche Doppelmutanten letal für Zellwachstum sind. Berücksichtigen Sie dabei alle letalen Doppelmutanten, nicht nur synthetisch letale.

- 1 Initialisiere ein Array, um die Ergebnisse zu speichern
- 2
- 3 Für jede Reaktion i in der Stöchiometrischen Matrix:
- 4 Setze die obere und untere Grenze der Reaktion i auf 0 (simuliere den ersten Genknockout)
- 5 Führe die FBA aus (Ziel: Optimierung der Biomasse)
- 6
- 7 Für jede andere Reaktion j in der Stöchiometrischen Matrix:
- 8 Setze die obere und untere Grenze der Reaktion j auf 0 (simuliere den zweiten Genknockout)
- 9 Führe die FBA erneut aus (Ziel: Optimierung der Biomasse)
- 10
- 11 Wenn die Biomasseproduktion auf Null fällt:
- 12 Speichere die Kombination der Reaktionen i und j als letale Doppelmutante im Array
- 13
- 14 Setze die obere und untere Grenze der Reaktion j zurück auf die ursprünglichen Werte
- 15 Setze die obere und untere Grenze der Reaktion i zurück auf die ursprünglichen Werte
- 16
- 17 Gib das Array mit den gespeicherten letalen Doppelmutanten zurück
- 18

Fuer dieses Skript sind alle letalen Kombinationen gefragt (das Skript ist die Antwort auf b). Hier wuerden zunaechst alle einzelnen gene knockouts analysiert und nur Doppelmutanten unter den nicht-essentiellen Genen getestet.

b) Wie müssten Sie Ihr Skript anpassen, wenn Sie nur an synthetisch letalen Doppelmutanten interessiert sind? Antworten Sie qualitativ, nicht durch Angabe eines neuen Skripts.

Man müsste zusätzlich zur Überprüfung des gleichzeitigen Ausfalls beider Gene auch überprüfen, ob der Ausfall eines jeden einzelnen Gens die Lebensfähigkeit der Zelle nicht beeinträchtigt.

Die Schritte die man hinzufügen müsste:

1. Bevor man die gleichzeitige Inaktivierung von zwei Genen testen, müsse man sicherstellen, dass das Ausschalten jedes Gens einzeln die Lebensfähigkeit der Zelle nicht beeinträchtigt. Dazu führt man eine FBA für jeden einzelnen Genknockout durch und überprüfen, ob die Biomasseproduktion erhalten bleibt.
2. Wenn beide einzelnen Genknockouts die Lebensfähigkeit der Zelle nicht beeinträchtigen, führt man eine FBA mit beiden Genen als Knockouts durch. Wenn die Biomasseproduktion auf Null fällt, dann ist das Paar synthetisch letal.

Siehe a).

c) Welche der generell üblichen Objective Function würden Sie für dieses Beispiel nicht wählen, um Vorhersagen über Flussverteilungen zu erhalten? Erklären Sie warum.
Die Maximierung der Biomasseproduktion wäre nicht sinnvoll. Bei der Suche nach letalen

Frage 4

Doppelmutanten sind wir an der Situation interessiert, in denen das Zellwachstum gestoppt wird. Daher könnte die Objective Function, die die Biomasse maximiert, zu irreführenden Ergebnissen führen, indem sie Situationen favorisiert, in denen das Zellwachstum fortgesetzt wird, auch wenn zwei Gene ausgeschaltet sind.

Biomass objective wuerde fuer die Suche nach letalen Doppelmutanten benutzt werden, da max. biomass flux = 0 in Mutanten Letalitaet bedeutet. Nicht benutzt wuerden max. ATP generation, minimal fluxes. Fuer die Vorhersage von Fluessen in den (nicht-letalen) Mutanten wuerde mimization of metabolic adjustments (MoMA) verwendet, da biomass objective Evolution der Mutante zu max. Wachstum annimmt.

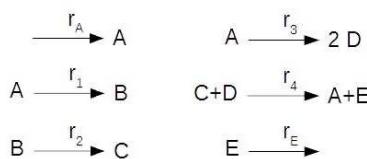
d) Aus Genexpressionsanalysen wissen Sie, dass bestimmte Enzyme in bestimmten Geweben nicht exprimiert werden. Wie könnten Sie dieses Wissen nutzen, um das Modell zu verfeinern?

Jede enzymkatalysierte Reaktion im Netzwerk ist abhängig von der Expression des entsprechenden Enzyms. Wenn bekannt ist, dass ein bestimmtes Enzym in einem bestimmtem Gewebe nicht exprimiert wird, kann die Reaktion, die durch dieses Enzym katalysiert wird, aus dem Netzwerk dieses Gewebes entfernt werden.

Korrekt.

Frage 3

Sie analysieren ein metabolisches Netzwerk im stationären Zustand. Das Netzwerk hat fünf interne Metabolite (A-E), vier interne Reaktionen mit Flüssen r1-r4, sowie zwei externe Reaktionen mit Flüssen rA und rE. Alle Reaktionen sind irreversibel; sie lauten:



a) Geben Sie die stöchiometrische Matrix des metabolischen Netzwerkes an, das aus diesen Reaktionen entsteht.

	rA	r1	r2	r3	r4	rE
A	+1	-1	0	-1	+1	0
B	0	+1	-1	0	0	0
C	0	0	+1	0	-1	0
D	0	0	0	+2	-1	0
E	0	0	0	0	+1	-1

Korrekt.

b) Sie haben den Fluss rE = 1 mmol/h gemessen. Welche anderen stationären Flüsse können Sie basierend auf dieser Information nun sofort auch bestimmen und welche Werte haben

Vers. 20.02.2023

Frage 4
diese?

Wenn man sich das gegebene Netzwerk ansieht und weiss, dass $r_E = 1 \text{ mmol/h}$ ist, kann man auch den Fluss r_A bestimmen, da im stationären Zustand die Gesamteingangsrate in das System (r_A) gleich der Gesamtausgangsrate (r_E) sein muss, um das System im Gleichgewicht zu halten. Daher ist $r_A = 1 \text{ mmol/h}$.

Da die Reaktion r_4 die einzige Reaktion ist, die E produziert und das System durch r_E verlässt, muss der Fluss durch r_4 auch 1 mmol/h betragen, um das Gleichgewicht zu halten. Daher ist $r_4 = 1 \text{ mmol/h}$.

Es ist auch wichtig zu beachten, dass $r_2 = r_4$ (da beide C verbrauchen), was bedeutet, dass r_2 auch 1 mmol/h betragen muss.

Reaktion r_2 konvertiert Metabolit B in Metabolit C, und Reaktion r_4 verbraucht C (zusammen mit D) und produziert A und E. Da das System im stationären Zustand ist, muss die Produktionsrate von C durch Reaktion r_2 der Verbrauchsrate von C durch Reaktion r_4 entsprechen. Andernfalls würde sich die Konzentration von C im Laufe der Zeit ändern. Daher muss r_2 auch 1 mmol/h sein.

Aus der stoichiometrischen Matrix (für die Fälle mit nur einem Zufluss und einem Abfluss pro Metabolit) können Sie direkt ablesen: $r_E = r_4 = 2r_3 = r_2 = r_1$ und mit der Massenbilanz

für A ($r_A - r_1 - r_3 + r_4 = r_A - \frac{1}{2}r_E = 0$) führt dies zu $r_E = r_4 = r_2 = r_1 = 1 \text{ mmol/h}$ und

$r_3 = r_A = 0.5 \text{ mmol/h}$.

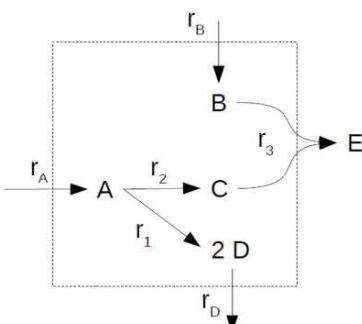
Field Code Changed

Field Code Changed

Field Code Changed

Field Code Changed

Sie analysieren das unten gezeigte metabolische Netzwerk im stationären Zustand. Pfeile notieren Reaktionen (alle Reaktionen sind irreversibel, die entsprechenden Symbole für Flüsse sind annotiert) und Buchstaben die Metabolite. Die Zellgrenze ist durch die gestrichelte Linie gezeigt.



a) Geben Sie die stöchiometrische Matrix des Netzwerkes an.

rA r1 r2 rB r3 rD
 A +1 -1 -1 0 0 0
 B 0 0 0 +1 -1 0
 C 0 0 +1 0 -1 0
 D 0 +2 0 0 0 -1

Formatted: German (Switzerland)

Frage 4

E 0 0 0 0 +1 0

E ist kein interner (balancierter) Metabolit, deshalb nur die ersten 4 Zeilen der Matrix.

b) Sie haben die Aufnahmeraten $r_A = 2 \text{ mmol/h}$ und $r_B = 1 \text{ mmol/h}$ gemessen. Welche anderen steady state Flüsse können Sie bestimmen und welche Werte haben diese?

Hinweis: Um Teilaufgabe b) zu beantworten ist die Antwort zu Teilaufgabe a) nicht zwingend notwendig.

1. Da Metabolit A nur durch r_A aufgenommen und durch die Reaktionen r_1 und r_2 verbraucht wird, folgt:

$$r_A = r_1 + r_2$$

Da r_A gegeben ist als 2 mmol/h , folgt:

$$2 \text{ mmol/h} = r_1 + r_2$$

2. Da Metabolit B nur durch r_B aufgenommen und durch die Reaktion r_3 verbraucht wird, folgt:

$$r_B = r_3$$

Da r_B gegeben ist als 1 mmol/h , folgt:

$$r_3 = 1 \text{ mmol/h}$$

3. Da Metabolit D nur durch die Reaktion r_1 produziert (mit doppelter Rate) und durch die Reaktion r_D verbraucht wird, folgt:

$$2 * r_1 = r_D$$

4. Da Metabolit C durch die Reaktionen r_2 und r_3 produziert und verbraucht wird, folgt:

$$r_2 = r_3$$

Da r_3 bekannt ist, folgt:

$$r_2 = 1 \text{ mmol/h}$$

Setzen wir nun $r_2 = 1 \text{ mmol/h}$ in die erste Gleichung ein, erhalten wir:

$$2 \text{ mmol/h} = r_1 + 1 \text{ mmol/h}$$

was zu $r_1 = 1 \text{ mmol/h}$ führt.

Setzen wir dann $r_1 = 1 \text{ mmol/h}$ in die dritte Gleichung ein, erhalten wir:

$$2 * 1 \text{ mmol/h} = r_D$$

was zu $r_D = 2 \text{ mmol/h}$ führt.

Zusammengefasst haben wir also folgende steady state Flüsse:

- $r_A = 2 \text{ mmol/h}$ (gegeben)
- $r_B = 1 \text{ mmol/h}$ (gegeben)
- $r_1 = 1 \text{ mmol/h}$

Frage 4

- $r_2 = 1 \text{ mmol/h}$
- $r_3 = 1 \text{ mmol/h}$
- $r_D = 2 \text{ mmol/h}$

Formatted: German (Switzerland)

Korrekt. Sie koennen dies auch ueber die stoechiometrische Matrix wie oben beantworten.

Frage 5

Sie haben ein stöchiometrisches Netzwerkmodell für humane Krebszellen mit m Metaboliten und n enzymkatalysierten Reaktionen gegeben. Sie wollen FBA anwenden, um metabolische Funktionen des Netzwerkes zu analysieren.

a) Mit diesem Modell ist kein Zellwachstum möglich. Sie vermuten, dass eine Komponente der im Modell repräsentierten Biomasse nicht synthetisiert werden kann. Geben sie ein kleines Skript in Pseudocode an, das es Ihnen erlaubt, herauszufinden welche Biomassekomponente dies ist.

1. Initialisiere eine leere Liste, die die fehlenden Komponenten speichern wird
2. Für jede Komponente in der Biomasse:
 3. Setze das Ziel der FBA auf die aktuelle Biomassekomponente
 4. Führe die FBA aus
 5. Wenn das Ergebnis der FBA gleich Null ist:
 6. Füge die aktuelle Biomassekomponente der Liste der fehlenden Komponenten hinzu
 7. Gib die Liste der fehlenden Komponenten aus

Dieses Skript geht jede Komponente der Biomasse durch und führt eine Flux-Balance-Analyse (FBA) mit dieser Komponente als Ziel durch. Wenn das Ergebnis der FBA für eine bestimmte Komponente Null ist, bedeutet das, dass diese Komponente nicht produziert werden kann, und sie wird der Liste der fehlenden Komponenten hinzugefügt. Am Ende gibt das Skript die Liste der Komponenten aus, die nicht synthetisiert werden können.

Generell korrekt, aber Sie koennen keine Komponenten (nur Fluesse) zur Definition der Zielfunktion verwenden. Entweder setzen einzelne Biomassekomponenten (stoechioemtrische Koeffizienten) in der Biomassereaktion und testen mit FBA ob Wachstum ohne die Komponente moeglich ist, oder Sie definieren virtuelle exchange reactions fuer die einzelnen Biomassekomponenten und maximieren deren Fluss ueber FBA.

b) Nach Korrektur des Modells: welche der in der FBA Projekten gemeinhin üblichen Objective Functions würden Sie nun wählen, um Vorhersagen über Flussverteilungen zu erhalten? Begründen Sie Ihre Antwort.

MOMA: In einigen Fällen, insbesondere wenn man die Auswirkungen genetischer Mutationen modelliert, kann es sinnvoll sein, die Änderungen im Metabolismus zu minimieren. Das bedeutet, dass die Zellen versuchen, den Stoffwechsel nach einer Mutation so nahe wie möglich an den ursprünglichen Zustand anzupassen. Das kann durch MOMA erreicht werden.

Die Maximierung des Wachstums empfinde ich nicht als sinnvoll. Denn insbesondere in Krebszellen ist das Muster zur Maximierung der Biomasse abnormal (zB der Warburg-Effekt)

Maximierung der Biomasse, da es sich um Krebszellen handelt (nicht MOMA, da nur das Modell korrigiert wurde, keine reale Mutation eingefuegt wurde).

c) Wie könnten Sie das Modell verwenden um zu analysieren, welche metabolischen

Vers. 20.02.2023

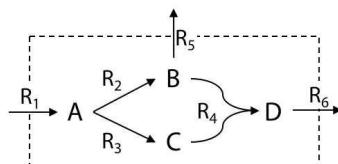
Frage 4

Reaktionen für diese Krebszellen essentiell sind?

Um essentielle metabolische Reaktionen in Krebszellen zu identifizieren, können Sie eine Methode namens "Genknockout" verwenden. Diese Methode simuliert die Deaktivierung jeder Reaktion (die einer Genknockout entspricht) und beobachtet die Auswirkungen auf das Zellwachstum oder einen anderen interessanten Phänotyp.

Korrekt (via FBA).

Gegeben ist das folgende Reaktionssystem, das aus vier Metaboliten (A, B, C, D) und sechs irreversiblen Reaktionen (R1 bis R6) besteht:



a) Stellen Sie die Massenbilanz für jeden der vier Metaboliten auf.

Unter der Annahme R1-R6 haben die

Reaktionsraten k_1-k_6 gilt:

$$\frac{d[A]}{dt} = k_1 - k_2[A] - k_3[C]$$

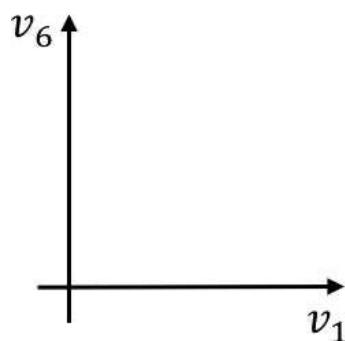
$$\frac{d[B]}{dt} = k_2[A] - k_4[B][C] - k_5[B]$$

$$\frac{d[C]}{dt} = k_3[A] - k_4[B][C]$$

$$\frac{d[D]}{dt} = k_4[B][C] - k_6[D]$$

[Massenbilanzen als Funktion der Flüsse wären korrekt \(Sie haben keine Angaben über Kinetiken\).](#)

b) Zeichnen Sie den Lösungsraum für die Geschwindigkeit v_5 in Abhängigkeit von v^* in das Diagramm.



[Fehler in der Beispielfrage, muss von uns korrigiert werden.](#)

Frage 7

Was ist die Hauptannahme bei einer Flux Balance Analysis? Erklären Sie anhand dieser Annahme den Namen der Analysemethode.

Die Hauptannahme bei der FBA ist, dass das biologische System sich im steady state befindet.

Diese Annahme erlaubt es uns, die Änderungsrate der Metaboliten auf Null zu setzen, wodurch sich das Problem zu einem linearen Programmierproblem vereinfacht. In diesem Zustand können die Flüsse (also die Geschwindigkeiten) der metabolischen Reaktionen bestimmt werden, die die Massenerhaltung gewährleisten und die biologischen Ziele (wie beispielsweise maximale Wachstumsrate oder maximale ATP-Produktion) optimieren.

Der Name "Flux Balance Analysis" reflektiert genau diese Aspekte. "Flux" bezieht sich auf die Geschwindigkeiten der metabolischen Reaktionen, die durch diese Analyse bestimmt werden. "Balance" bezieht sich auf die Annahme, dass das System im Gleichgewicht ist, also dass Ein- und Ausflüsse für jeden Metaboliten ausgeglichen sind. "Analysis" bezeichnet schliesslich den analytischen Prozess, in dem die optimalen Flüsse berechnet werden.

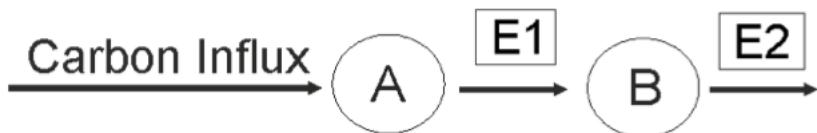
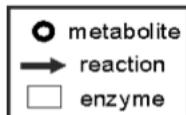
Somit beschreibt der Name "Flux Balance Analysis" die Methode sehr treffend: Sie analysiert die optimalen Flussraten der Stoffwechselreaktionen in einem biologischen System, das sich in einem ausgeglichenen Zustand befindet.

Korrekt.

Beispielfragen aus der Vorlesung

Ein biologisches System mit irreversiblen Reaktionen hat die in der Abbildung gezeigten Topologie (nehmen Sie Michaelis-Menten Kinetik für Enzyme E1 und E2 an und einen Carbon Influx mit konstanter Rate r_{in} an).

Model Topology



Der Carbon Influx bildet A welches dann durch E1 zu B wird. B wird weiter metabolisiert zu E2

A) Schreiben Sie die Bilanzgleichung für Metabolitkonzentrationen

$$\frac{d[A]}{dt} = r_{in} - v_{max,E1} \frac{[A]}{[A] + K_{M,E1}}$$

$$\frac{d[B]}{dt} = v_{max,E1} \frac{[A]}{[A] + K_{M,E1}} - v_{max,E2} \frac{[B]}{[B] + K_{M,E2}}$$

korrekt

B) Ändern sich die Steady State Konzentrationen von Metabolit A und/oder B wenn die Startkonzentration von Metabolit A von 4 mM auf 0.01 mM geändert wird?

Im Allgemeinen sollten die Steady-State-Konzentrationen nicht von den Startkonzentrationen abhängen. Der Steady State ist ein Gleichgewichtszustand, der letztendlich erreicht wird, unabhängig von den Anfangsbedingungen.

korrekt

Analoge Stausee: Man stellt sich vor, der Stausee ist ein Metabolit in einem biologischen System und der Wasserhahn, durch den Wasser in den Stausee fliesst, repräsentiert die Produktionsrate dieses Metaboliten. Das Loch im Boden des Sees, durch das Wasser abfliesst, repräsentiert die Abbaugeschwindigkeit des Metaboliten.

Die Wasserhahnöffnung entspricht der Produktionsrate des Metaboliten (r_{in}). Sie ist konstant und nicht von der Wassermenge im Stausee abhängig.

Die Grösse des Lochs entspricht der maximalen enzymatischen Aktivität, die den Metaboliten abbaut (v_{max}). Je grösser das Loch, desto schneller kann Wasser abfliessen.

Die Wassermenge im Stausee entspricht der Metabolitenkonzentration. Je mehr Wasser im Stausee ist, desto schneller fliesst es durch das Loch ab.

Nun, unabhängig davon, wie viel Wasser ursprünglich im Stausee war (was der Anfangskonzentration des Metaboliten entspricht), wird nach einer gewissen Zeit ein Gleichgewicht erreicht, in dem genau so viel Wasser in den Stausee fliesst, wie es abfliesst.

Bitte in Prüfungen nicht soviel schreiben ;-)

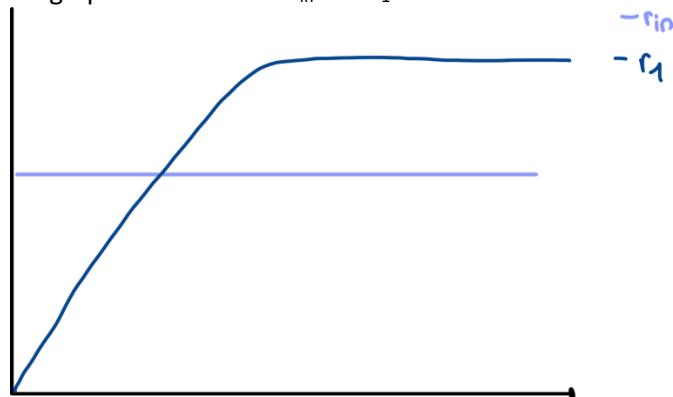
C) Ändert sich die Steady State Konzentration von Metabolit A und/oder B wenn der K_M Wert von Enzym 2 von 0.05 mM auf 0.25 mM geändert wird.

In dem Modell bedeutet die Erhöhung des K_M -Werts von Enzym E2, dass dieses Enzym weniger effizient ist, d.h. es benötigt höhere Konzentrationen von Metabolit B, um die gleiche Aktivität zu erreichen. Infolgedessen wird weniger Metabolit B in Metabolit C umgewandelt, was zu einer höheren Steady-State-Konzentration von Metabolit B führt.

Darüber hinaus, weil E1 und E2 in Reihe geschaltet sind und B das Produkt von E1 und das Substrat von E2 ist, könnte eine Änderung der Aktivität von E2 auch die Aktivität von E1 und damit die Konzentration von Metabolit A beeinflussen. In diesem Fall könnte eine Verringerung der Effizienz von E2 zu einer Verringerung der Abbaugeschwindigkeit von A führen, was zu einer höheren Steady-State-Konzentration von A führen könnte

nur B ändert sich, A nicht. Auch hier, bitte nicht zuviel schreiben, da es am Ende nur um A und B geht.

D) Der Carbon Influx r_{in} ist konstant und der Fluss durch Enzym E1 wird mit r_1 bezeichnet. Skizzieren sie graphisch die Raten r_{in} und r_1 als Funktion der Konzentration von Metabolit A.



Das System erreicht den Steady State an dem Punkt wo die zwei Graphen sich schneiden. Wenn Enzym 1 inhibiert wird fällt r_1 runter unter r_{in} je nachdem. Ist das der Fall dann kann kein Gleichgewicht erreicht werden.

korrekt

Frage 2

Sie beobachten dass eine Deletionsmutante eines Enzyms des Pentose Phosphat Weges zunächst nicht wachsen kann, aber sich nach längerer Wartezeit Supressormutanten entwickeln welche wachsen. Mit Hilfe von Flux Balance Analysis möchten Sie mögliche alternative Stoffwechselwege hypothetisieren. (Stichworte reichen aus)

- a) Beschreiben Sie Ihr Vorgehen wenn Sie ein Genome-scale Model aus der Literatur dazu verwenden und wonach Sie entscheiden welche Reaktion(en) im Model der gesuchte Bypass ist. (2 P)

Wir laden ein Genome-scale Model des Pentosephosphatweges der Deletionsmutante.
Ein genome-scale Model des PP pathways?

In unserem Modell versuchen wir nun, jede chemische Reaktion im Pentosephosphatweg "auszuschalten", lower und upper bound auf Null setzen. Das ist also ein "Knockout".

Als Mass für das Überleben der Zelle nutzen wir die Menge an produzierter Biomasse (Biomasse = objective Function). Wenn diese Biomasseproduktion Null erreicht, bedeutet das, dass die Zelle stirbt.

Falls wir aber einen "Knockout" simulieren und die Zelle trotzdem noch wächst, haben wir einen alternativen Weg gefunden, den die Zelle nutzen kann. Das bedeutet, dass es andere Wege im Stoffwechsel der Zelle gibt, die einspringen können, wenn der ursprüngliche Weg durch die Mutation blockiert ist.

Tja, und wie findet man die mit dem Model?

Wir müssen auch noch die Umwelt definieren denn jenachdem kann die auch ein Einfluss auf das überleben haben

Die Einzelpunkt sind richtig, aber es wird nicht klar wie sie die alternativen Wege durch das Model hypothetisieren würden. Es gäbe 1.5 von 2 Punkten.

- b) Nach welchen Kriterien würden Sie Ihre ersten Folgeeexperimente auswählen, wenn es mehrere Lösung gibt? (1 P)

Die Auswahl der Folgeeexperimente könnte auf Grundlage der folgenden Kriterien erfolgen:

- Weglänge: Ein kürzerer alternativer Stoffwechselweg ist wahrscheinlicher als ein längerer.
- Energiebedarf: Ein Weg, der weniger Energie benötigt, ist wahrscheinlicher.
- Thermodynamische Machbarkeit: Alle Reaktionen sollten thermodynamisch machbar sein.
- Biomasseproduktion: Ein Weg, der mehr Biomasse produziert, ist wahrscheinlicher.

Alles korrekt und reicht aus. Noch offensichtlicher wäre es zu schauen ob die entsprechenden Enzyme überhaupt da sind bzw die Gene exprimiert werden

- c) Nennen Sie 2 mögliche Experimente um einen solchen Bypass zu beweisen und was diese Experimente zeigen müssten.

Man könnten die Genexpression in der Suppressor-Mutante analysieren und sie mit dem Wildtyp und der ursprünglichen Deletionsmutante vergleichen. Wenn der von uns vorgeschlagene Bypass aktiv ist, sollten die Gene, die für die Enzyme in diesem Bypass kodieren, in der Suppressor-Mutante stärker exprimiert werden.

Eine weitere Möglichkeit wäre, die Aktivität der Enzyme im vorgeschlagenen Bypass zu messen. Wenn der Bypass tatsächlich verwendet wird, sollten die Enzyme, die daran beteiligt sind, in der Suppressor-Mutante eine erhöhte Aktivität aufweisen. Dies könnte durch Enzymassays gemessen werden.

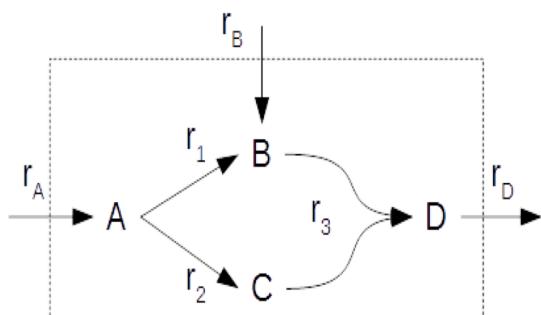
Beides korrekt

Man könnte auch das Profil der Metabolite in der Suppressor-Mutante analysieren. Wenn der vorgeschlagene Bypass aktiv ist, sollten bestimmte Metabolite, die in diesen Reaktionen produziert oder verbraucht werden, in der Suppressor-Mutante in unterschiedlichen Mengen vorhanden sein im Vergleich zum Wildtyp und der ursprünglichen Deletionsmutante.

Kann sein, muss aber nicht. Als Prüfungsantwort würde ich es aber korrekt werten.
Eindeutiger wäre ein knockout des entsprechenden Enzyms.

FRAGE 3

Sie analysieren ein metabolisches Netzwerk im stationären Zustand. Das Netzwerk hat vier interne Metabolite A-D, drei interne Reaktionen R1-R3 mit Flüssen r₁-r₃, drei externe Reaktionen. Alle Reaktionen sind irreversibel.



- A) Geben Sie die stöchiometrische Matrix des Netzwerkes an
- B) Welche Reaktionen sind essentiell um einen Steady State zu erhalten in dem nicht alle Flüsse null sind (begründen sie die Antwort)?
- C) Sie haben den Fluss r_D = 1 mmol/h gemessen. Welche anderen stationären Flüsse können sie direkt bestimmen und welche Werte haben diese?
- D) Mit dem Messwert aus C), wie müssen sich r_A und r_B zueinander im Steady State verhalten?

A) Die stöchiometrische Matrix des Netzwerks kann wie folgt aufgestellt werden:

	r _A	r ₁	r ₂	r ₃	r _B	r _D
A	+1	-1	-1	0	0	0
B	0	+1	0	-1	+1	0
C	0	0	+1	-1	0	0
D	0	0	0	+1	0	-1

Korrekt.

B) Die Reaktionen r₁, r₂ und r₃ sind essentiell für den Erhalt eines Steady State, in dem nicht alle Flüsse null sind. r₁ und r₂ sind die einzigen Wege, um B und C zu produzieren, welche wiederum

notwendig sind, um D durch r3 zu produzieren. Ohne r3 kann D nicht produziert werden, und ohne D würde das System keinen Steady State erreichen.

rD ist essentiell (einiger Ausfluss), daraus folgt, dass r3, r2 und rA essentiell sind (r2,rB sind nicht essentiell, sondern koennen alternativ B produzieren).

C) Im Steady-State ist die Produktionsrate von D gleich seiner Verbrauchsrate, das heißt $r3 = rD = 1 \text{ mmol/h}$. Da r3 auf B und C basiert, wissen wir auch, dass r1 und r2 ebenfalls 1 mmol/h betragen müssen, um den Bedarf an B und C zu decken.

$r2=r3=rD$ (als enzyme subset, Raten muessen gleich sein), aber rB kann B liefern, deshalb sind rB,r2,r! unbestimmt.

D) Da $r1 = rA$ und $r2 = rA$, müssen rA und rB beide gleich 1 mmol/h sein, um im Steady State den Bedarf an B und C zu decken. Also $rA = rB = 1 \text{ mmol/h}$.

rA ist zwischen 1 mmol/h und 2 mmol/h, rB zwischen 0 mmol/h und 1 mmol/h um $r3=1 \text{ mmol/h}$ zu erreichen.

FRAGE 4

Sie untersuchen die MAP Kinase Kaskade mit drei Kinasen (K_1 reagiert auf ein Rezeptorsignal, K_3 kontrolliert den Output des Signalweges) mit Hilfe eines dynamischen (ODE) Modells. Sie haben ausserdem *n vivo*, dynamische Daten für die Aktivität aller Kinasen in Antwort auf drei verschiedene externe Stimuli in jeweils drei biologische Replikaten.

- Wie würden Sie die objective funtion (Zielfunktion) für eine Parameterschätzung mit diesem Modell und diesen Daten definieren (formal oder verbal mit Begründung)?
- In einem der Datensätze sehen Sie, dass das Signal von K_3 oszilliert. Stellen Sie eine mechanistische Hypothese für dieses Verhalten auf und begründen sie diese.

a) Die Zielfunktion für eine Parameterschätzung in diesem Kontext wird oft als die Summe der quadrierten Fehler (Sum of Squared Errors, SSE) zwischen den Modellvorhersagen und den gemessenen Daten definiert. In diesem Fall könnten wir die SSE über alle Zeiten, Kinasen und Bedingungen (externe Stimuli und biologische Replikate) berechnen. Dies könnte formal wie folgt ausgedrückt werden:

Zielfunktion = Summe über alle Zeiten, Kinasen, Stimuli und Replikate von $((\text{beobachtete Aktivität} - \text{vorhergesagte Aktivität})^2)$

Das Ziel der Parameterschätzung wäre es, die Parameter des Modells so zu wählen, dass der Wert dieser Zielfunktion minimiert wird. Dies würde bedeuten, dass die Modellvorhersagen so nahe wie möglich an den gemessenen Daten liegen. Diese Methode ist bekannt als die Methode der kleinsten Quadrate und wird häufig in der Systembiologie und anderen Bereichen verwendet, um Modellparameter zu schätzen.

Korrekt, Sie wuerden ab die Replikate verwenden, um Standardabweichungen der Messdaten (pro Zeitpunkt und Stimulus) zu schaetzen und diese als Gewichte (Nenner) in der Zielfunktion verwenden.

b) Die Beobachtung, dass das Signal von K_3 oszilliert, könnte auf eine Art Feedback-Mechanismus in der MAP-Kinase-Kaskade hindeuten. Ein möglicher Mechanismus könnte eine negative Rückkopplungsschleife sein, in der eine hohe Aktivität von K_3 die Aktivität von K_1 oder K_2 hemmt, was wiederum die Aktivität von K_3 reduziert. Wenn diese Hemmung zeitlich verzögert ist, könnte dies zu einem oszillatorischen Verhalten führen. Eine andere Möglichkeit könnte eine positive Rückkopplung sein, in der eine hohe Aktivität von K_3 die Aktivität von K_1 oder K_2 stimuliert, was zu einer weiteren Erhöhung der Aktivität von K_3 führt. Auch hier könnte eine zeitliche Verzögerung zu Oszillationen führen.

Korrekt.

Beispielaufgaben: Modellierung von Signaltransduktion

Frage 1

Die Aktivität einer Signalkaskade im stationären Zustand kann mit Hilfe der sogenannten Hill-Kinetik beschrieben werden:

$$A_i = \frac{A_{i-1}^n}{K_i^n + A_{i-1}^n}$$

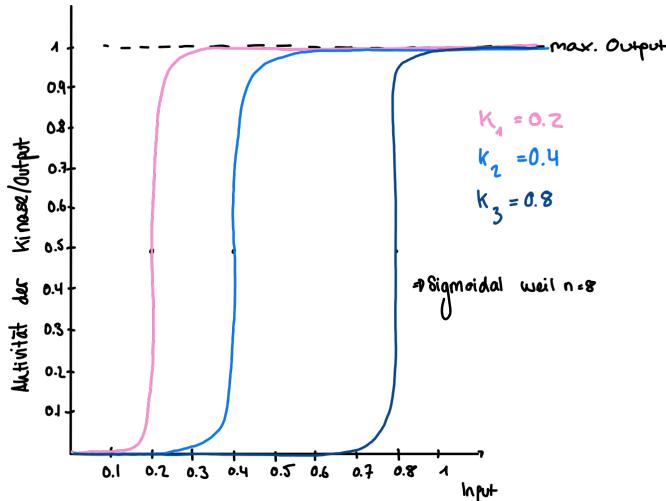
wobei A_i die Aktivität der i -ten Kinase in einer Signalkaskade ist, welche von der vorhergehenden Kinaseaktivität A_{i-1} abhängt, n der Hill-Koeffizient (Exponent) ist und K_i die Michaelis-Menten Konstante für die Aktivierung von Kinase i ist.

- a) Welche Werte von n , führen dazu, dass der von der Gleichung beschriebene Schritt in der Signalkaskade als ultrasensitiv gilt?

Der Hill-Koeffizient (n) bestimmt die Steilheit der Antwort auf die Änderung der Konzentration des Stimulus. Ultrasensitivität in der Signalkaskade wird typischerweise für $n > 1$ betrachtet, da dies zu einer Steigung führt, die steiler als die Michaelis-Menten-Kinetik ($n=1$) ist. Hohe Werte von n führen zu einem Schalter-ähnlichen Verhalten der Reaktion, bei dem kleine Änderungen in der Konzentration des Stimulus zu grossen Änderungen in der Reaktion führen können

Korrekt.

- b) Nehmen Sie an, dass eine MAPK-Kaskade mit $i = 1\dots3$ Kinasen die folgenden Parameterwerte hat: $n = 8$, $K_1 = 0.2$, $K_2 = 0.4$ und $K_3 = 0.8$. Skizzieren Sie graphisch die Aktivitäten der einzelnen Kinasen als Funktion der vorhergehenden Kinaseaktivität bzw. des Inputs A_0 (alle Signale sind in $[0,1]$).



- c) Welche Kinasekaskade wird den Output auf der letzten Ebene bereits bei einem geringeren Inputsignal aktivieren: die Kaskade aus b) oder ein alternativer Signalweg mit $n = 8, K_1 = 0.8, K_2 = 0.4$ und $K_3 = 0.2$? Begründen Sie Ihre Antwort.

In der ersten Kaskade sind die Michaelis-Menten-Konstanten aufsteigend geordnet ($0.2, 0.4, 0.8$), während sie in der zweiten Kaskade absteigend geordnet sind ($0.8, 0.4, 0.2$). Da eine kleinere Michaelis-Menten-Konstante eine höhere Sensitivität gegenüber dem Input-Signal bedeutet, würde die zweite Kaskade (mit K_i -Werten von $0.8, 0.4, 0.2$) den Output auf der letzten Ebene bereits bei einem geringeren Input-Signal aktivieren, da die erste Kinase in dieser Kaskade eine höhere Sensitivität hat und somit weniger Input-Signal benötigt, um aktiviert zu werden.

Korrekt, dass die Sensitivität der ersten Kinase entscheidend ist, aber dies ist der Fall für die Kaskade aus b) mit aufsteigender Ordnung.

Formatted: German

Beispielaufgaben: Modellierung von Stoffwechselwegen

Frage 1

Im Stoffwechselweg $A \rightarrow B \rightarrow C$ gibt es eine Feedbackhemmung von C auf das erste Enzym (i.e. dasjenige welches die Umwandlung von A zu B katalysiert).

Nennen Sie 2 Gründe, wieso dieses Feedback für die Zelle notwendig sein könnte.

Ressourceneffizienz: Wenn Produkt C in ausreichender Menge vorhanden ist, würde eine weitere Produktion von C Ressourcen verschwenden, die die Zelle anderweitig nutzen könnte. Durch die Hemmung des ersten Enzyms, das A zu B umwandelt, wenn genügend C vorhanden ist, wird die Ressourcennutzung optimiert und Verschwendungen minimiert.

Vermeidung von toxischen Zwischen- oder Endprodukten: Ein Übermass an bestimmten Stoffen kann für die Zelle schädlich sein. Wenn zu viel von Produkt C oder vielleicht sogar von Produkt B erzeugt wird, könnte dies toxische Effekte haben. Durch die Hemmung der Produktion, wenn genug von Produkt C vorhanden ist, kann die Zelle sicherstellen, dass sich keine schädlichen Mengen anhäufen.
Grundsätzlich korrekt, aber wie beschrieben sind die beiden Punkte etwas Deckungsgleich. Schauen sie doch nochmal die Slides zu den Pulseexperimenten aus der 5ten Vorlesung zu Pathways an. Dort ging es speziell auch um die Dynamik mit Overshoots und Verzögerungen ein steady state u erreichen.

Frage 2

Sie konstruieren einen synthetischen Stoffwechselweg zu einem biotechnologischen Produkt mit mehreren Enzymen, die sich alle durch Michaelis-Menten Kinetik beschreiben lassen. Dieser Stoffwechselweg wird ohne Regulationsmechanismen in ein Bakterium eingebaut.

a) Während des Produktionsprozesses verdoppelt sich der Zuckerfluss in das Bakterium schlagartig. Nennen Sie 2 mögliche Konsequenzen, die diese dynamische Veränderung für ihren synthetischen Stoffwechselweg haben könnte.

Überlastung des Stoffwechselwegs: Die Enzyme in Ihrem synthetischen Stoffwechselweg könnten durch den plötzlichen Anstieg des Substratflusses überlastet werden. Dies könnte dazu führen, dass sie nicht schnell genug arbeiten können, um das zusätzliche Substrat zu verarbeiten, was zu einem Rückstau und einer Ansammlung von Substraten führen kann.

Erhöhte Nebenproduktion: Ein erhöhter Zuckerfluss könnte dazu führen, dass andere Stoffwechselwege in der Zelle aktiviert werden, die sonst nicht oder nur wenig aktiv wären. Dies könnte zur Produktion unerwünschter Nebenprodukte führen.

Die Antworten sind nicht ganz falsch aber etwas zu allgemein und ich würde Teilpunkte geben.
Schauen sie nochmal die oben erwähnten Slides an, wo wir speziell die dynamischen Probleme von Wegen ohne Regulation besprochen hatten. Es ging um das allgemeine Problem aller Zellen die Level von Pathway Intermediaten in einem „gesunden“ Bereich zu halten – wofür es eben Regulation braucht.

b) Zu welchen konkreten Zellstoffwechselproblemen könnten diese Konsequenzen führen? Nennen Sie 3 Beispiele.

Stoffwechselstörungen: Eine Überlastung des Stoffwechselwegs und ein übermässiger Substratfluss könnten die normale Stoffwechselfunktion stören und zu metabolischen Störungen in der Zelle führen.

Energiedefizit: Die zusätzliche Verarbeitung von Zucker könnte mehr Energie erfordern als die Zelle zur Verfügung hat, was zu einem Energiedefizit führen könnte.

Zu allgemein

Toxizität: Die Akkumulation von Substraten oder Nebenprodukten könnte toxisch für die Zelle sein und ihre Vitalität oder Lebensfähigkeit beeinträchtigen.

Grundsätzlich richtig, aber bisher haben sie noch nicht erklärt wieso etwas akkumuliert. In A hatten sie nur von Metaboliten ausserhalb des Pathways gesprochen.

c) Wie könnten Sie diese Probleme verhindern?

Man könnte Feedback-Regulierungsmechanismen in den Stoffwechselweg einbauen. Dies würde dazu beitragen, die Enzymaktivität entsprechend den Bedürfnissen der Zelle zu steuern und eine Überlastung des Stoffwechselwegs zu verhindern.

Ja, aber das beist sich logisch mit ihrer Antwort zu A. Dort haben sie das Problem im Anstau VOR dem Pathway lokalisiert. Dafür würde Feedback IM Pathway eben gerade nicht helfen

Frage 3

In einem Stoffwechselweg wie dem im Bild unten gezeigten wird der Fluss v_1 durch das Endprodukt Y inhibiert; Fluss v_3 repräsentiert den zellulären Bedarf an Y.



a) Welche Funktionen haben negative Feedbacksysteme im Allgemeinen?

Negative Feedbacksysteme dienen dazu, die Stabilität eines Systems zu gewährleisten, indem sie auf Änderungen reagieren und versuchen, das System in einen stabilen Zustand zurückzubringen. Im Kontext eines Stoffwechselweges kann ein negatives Feedback dazu beitragen, die Produktion eines bestimmten Metaboliten zu kontrollieren, indem es die Aktivität eines Enzyms herunterreguliert, wenn die Konzentration des Metaboliten zu hoch wird. Dies hilft, die Homöostase innerhalb der Zelle aufrechtzuerhalten und Ressourcen effizient zu nutzen.

Korrekt: Homoeostase / Erreichen eines steady-state.

b) Welche Aussagen können Sie über die Konzentration von Y machen, wenn das System im stationären Zustand ist und Sie nicht mehr zu dem Stoffwechselweg wissen?

Im stationären Zustand (Steady-State) ist die Konzentration von Y konstant. Dies bedeutet, dass die Produktion von Y (durch v_1 und v_2) genau dem Verbrauch (durch v_3) entspricht. Das heisst, es gibt keine Nettoänderung in der Konzentration von Y im Laufe der Zeit. Dies impliziert auch, dass der Stoffwechselweg effizient arbeitet, um den zellulären Bedarf an Y zu decken.

Sie koennen keine weitere Aussage ueber die Konzentration (d.h. den numerischen Wert oder die Effizienz) machen, außer, dass per definitionem fuer steady state die Konzentration ueber die Zeit konstant ist.

c) Für ein vereinfachtes Modell des Stoffwechselwegs nehmen Sie an: $v_1 = k_1/(1+[Y])$ und $v_2 = k_2[X]$ wobei k_1 und k_2 kinetische Parameter und $[X]$ und $[Y]$ Metabolitkonzentrationen sind. Stellen Sie das ODE-Modell für diesen Stoffwechselweg auf.

Die Differentialgleichungen (ODEs), die dieses System beschreiben, könnten wie folgt aussehen:

$$d[X]/dt = v_1 - v_2 = k_1/(1+[Y]) - k_2[X]$$

$$d[Y]/dt = v_2 - v_3 = k_2[X] - v_3$$

Formatted: German (Switzerland)

Korrekt.

Vers. 15.03.2023

d) Mit dem Modell, dem gemessenen Fluss $v_3 = 1 \text{ mmol/h}$ und den Parameterwerten $k_1 = 2 \text{ mmol/h}$ und $k_2 = 1 \text{ mmol/h}$, was sind die stationären Konzentrationen von X und Y?

Für den stationären Zustand (Steady-State) setzen wir $d[X]/dt = 0$ und $d[Y]/dt = 0$, was bedeutet, dass die Konzentrationen von X und Y konstant sind (sich nicht mit der Zeit ändern). Dies führt zu den folgenden Gleichungen:

$$0 = k_1/(1+[Y]) - k_2[X]$$

$$0 = k_2[X] - v_3$$

→ Das lösen der beiden Gleichungen ergibt [X] und [Y] dass beide eine 1 mM sind.

Korrekt.

Frage 4

Diese Frage knüpft an Frage 3 in Woche 2 an. Ein Substrat S wird mit der Rate v_D von der Zelle über die Plasmamembran aufgenommen und in einem irreversiblen metabolischen Pathway weiterverwendet. Die Kinetik des ersten Enzyms des Pathways ist in der folgenden Abbildung gezeigt. Gehen Sie bei der Beantwortung der Fragen davon aus, dass sich das System immer im *steady state* befindet.

- a) Die Aufnahmegeschwindigkeit in die Zelle v_D sei gegeben durch die Gleichung $v_D = D([S_{\text{extern}}] - [S])$, wobei $D = 1\text{s}^{-1}$ eine Diffusionskonstante und $[S_{\text{extern}}]$ die Substratkonzentration außerhalb der Zelle ist. Zeichnen Sie v_D als Funktion von $[S]$, wenn $[S_{\text{extern}}] = 4.5\text{mM}$ in das Diagramm ein.

Rote Funktion

Korrekt.

- b) Welche interne(n) Substratkonzentration(en) sind möglich für $[S_{\text{extern}}] = 4.5\text{mM}$? Begründen Sie Ihre Antwort und geben Sie eine ungefähre Abschätzung.
Die realisierbaren Konzentrationen sind die Steady State Konzentrationen die in schwarz umkreist wurden.

Korrekt, aber hier ist auch eine ungefährte Abschätzung gefragt.

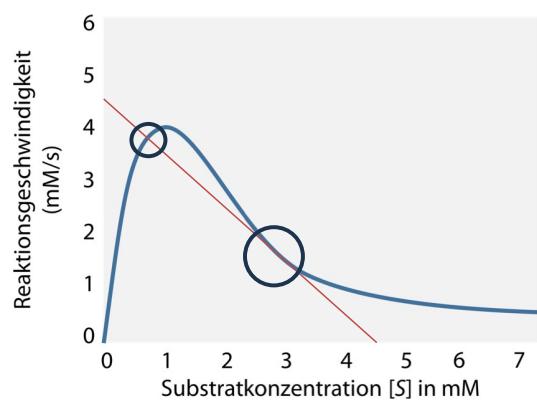
- c) Falls in b) mehrere stationäre Zustände existieren, was ist der Mechanismus und wovon hängt ab, in welchem Zustand sich das System befindet?

Das Vorhandensein mehrerer stationärer Zustände kann auf die nichtlineare Natur der Substratinhibition zurückgeführt werden. Bei geringen Substratkonzentrationen steigt die Reaktionsrate, bei hohen Substratkonzentrationen sinkt sie jedoch wieder. In Kombination mit der Diffusion, die einen Konzentrationsgradienten zwischen der inneren und äußeren Substratkonzentration erzeugt, kann es mehrere Gleichgewichtszustände geben, je nachdem, wie die Diffusionsrate und die Substratinhibitionsrate miteinander interagieren.

Korrekt.

Systemerinnerung: Dies bezieht sich auf die Fähigkeit des Systems, seine "Vorgeschichte" oder seinen vorherigen Zustand zu "erinnern". Wenn das System bei einer hohen internen Substratkonzentration startet, kann es auch bei einer Erhöhung der äußeren Substratkonzentration in diesem Zustand bleiben, anstatt zu einem Zustand mit niedrigerer interner Substratkonzentration zu wechseln. Dies liegt daran, dass bei hohen internen Substratkonzentrationen die Substratinhibitionsrate die Diffusionsrate übersteigen kann, wodurch das System in einem Zustand mit hoher interner Substratkonzentration stabil bleibt.

Generell korrekt, aber ... kann es auch bei einer ERNIEDRIGUNG der äußeren Substratkonzentration in diesem Zustand bleiben ...'



Beispielaufgaben:

Modelling enzymatischer Reaktionen mit ODEs

Frage 1

Sie möchten die ersten 5 Minuten der Stoffwechselreaktion von Leberzellen auf die Zugabe von Inhibitoren der Glykolyse vorhersagen. Dazu entwickeln Sie ein Modell welches Sie mit der Reaktion auf einen bekannten Inhibitor trainieren.

a) Welche Art von Modell brauchen Sie für diese Aufgabe?

Für diese Aufgabe wäre ein ODE geeignet. In diesen Modellen wird die Konzentration des Substrats, des Produkts und möglicherweise des Enzyms über die Zeit als kontinuierliche Funktion dargestellt.

ODE hätte als Antwort gereicht!

b) Welche Informationen und welche Daten brauchen Sie dafür?

Man benötigt spezifische Daten zu den enzymatischen Reaktionen, wie die Konzentration des Substrat, des Produkts und des Enzyms zu verschiedenen Zeitpunkten nach Zugabe des Inhibitors. Zusätzlich wenn man Michaelis-Menten Kinetik verwendet benötigt man die Parameter vmas, Km und kact.

Hmmmh, die kinetischen Parameter ja. Sie müssten als Input auch noch wissen wo der Inhibitor angreift. Bei den Daten reicht mir die Antwort nicht aus, da zu generisch. Es gibt bei einer Leberzelle ja nicht EIN Substrat, Produkt, und Enzym. Ziel der Frage war zu prüfen ob sie den Schritt von einer *in vitro* Reaktion zu einer Zelle mit mehreren Reaktionen machen können. Sie brauchen also mehrere Metabolitkonzentrationen und vor allem nicht DIE Konzentration sondern deren dynamisch Veränderung Brauchen sie steady state oder dynamische Enzymkonzentrationen?

c) Beschreiben Sie kurz wie Sie das Problem angehen, wie Sie das Modell entwickeln werden, und was Ihr Vorgehen ist falls das Modell die Daten nicht beschreiben kann.

Um das Problem anzugehen, würde ich zunächst die vorliegenden Daten analysieren, um einen Überblick über die enzymatische Reaktion zu bekommen. Dann würde ich ein einfaches Modell erstellen, vielleicht basierend auf der Michaelis-Menten-Kinetik oder Mass-action kinetics, und dieses Modell an die Daten anpassen.

Das Modell können wir durch die ODE's aufstellen.

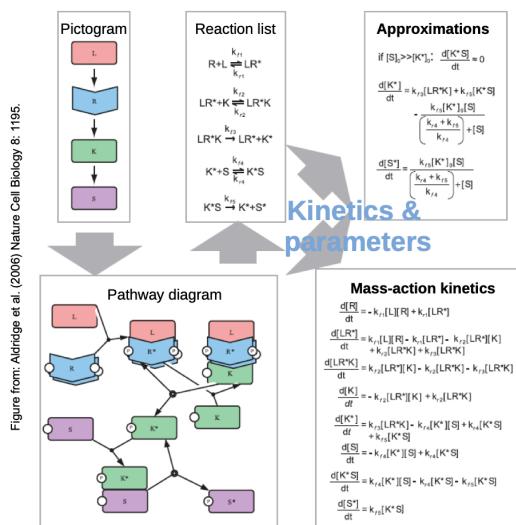


Figure from: Aldridge et al. (2006) Nature Cell Biology 8: 1195.

Der nächste Schritt wäre die Validierung des Modells, um sicherzustellen, dass es die Daten genau repräsentiert.

Wenn das Modell die Daten nicht gut beschreibt, könnte es notwendig sein, ein komplexeres Modell zu erstellen oder zusätzliche Parameter zu berücksichtigen, die in das Modell einfließen könnten. Beispielsweise könnten zusätzliche Interaktionen oder Rückkopplungsschleifen in der enzymatischen

Reaktion berücksichtigt werden. Es könnte auch notwendig sein, mehr Daten zu sammeln oder die Qualität der vorhandenen Daten zu überprüfen.

Auch hier ist die Antwort viel zu allgemein und geht garnicht auf die erhobenen Daten ein bzw was genau das Model machen soll. Die Frage war wie sie das PROBLEM angehen. Also was wäre das Experiment und was messen sie? Was machen sie jetzt mit dem Model und den Daten? Entweder sie geben alle Parameter genau vor und schauen ob dann (wie durch ein Wunder) alle Metabolitdynamiken korrekt vorhergesagt werden. Wohl eher nicht – was müssten sie dann tun?

Die Alternative wäre sie lassen die Parameter frei und bitten das Model Parameter zu ermitteln (durch Fitting) die die dynamischen Daten beschreiben. Klappt das nicht, was dann (bzw was fehlt)?

Frage 2

Ein Substrat S wird mit der Rate v_D von einer Zelle über die Plasmamembran aufgenommen und in einem irreversiblen metabolischen Pathway weiterverwendet. Die Kinetik des ersten Enzyms des Pathways ist in der folgenden Abbildung gezeigt. Gehen Sie für Ihre Überlegungen davon aus, dass sich das System immer in einem *steady state* befindet.

- a) Um welche Art von Kinetik handelt es sich bei dem Enzym?

Substrat Inhibition

Korrekt.

- b) Die Aufnahmgeschwindigkeit in die Zelle v_D sei gegeben durch die Gleichung $v_D = D([S_{extern}] - [S])$, wobei $D = 1 \text{ s}^{-1}$ eine Diffusionskonstante und $[S_{extern}]$ die Substratkonzentration außerhalb der Zelle und $[S]$ die Konzentration des Substrats in der Zelle ist. Zeichnen Sie ein dem unten vorgegebenen Diagramm v_D als Funktion von $[S]$ ein, für den Fall dass $[S_{extern}] = 4 \text{ mM}$ ist.

Um v_D als Funktion von $[S]$ zu zeichnen, wenn $[S_{extern}] = 4 \text{ mM}$ ist, würden man die Gleichung $v_D = D([S_{extern}] - [S])$ verwenden. Für $D = 1 \text{ s}^{-1}$, würde dies zu $v_D = 4 \text{ mM} - [S]$ führen. Dies ist eine lineare Gleichung mit negativer Steigung und würde auf einem Graphen eine abfallende Linie darstellen, die bei $v_D = 4 \text{ mM}$ beginnt, wenn $[S] = 0 \text{ mM}$.

Korrekt.

- c) Begründen Sie, warum die interne Substratkonzentration unter den Bedingungen, die in Aufgabenteil b) beschrieben wurden, im *steady state* $[S] < 1 \text{ mM}$ sein muss.

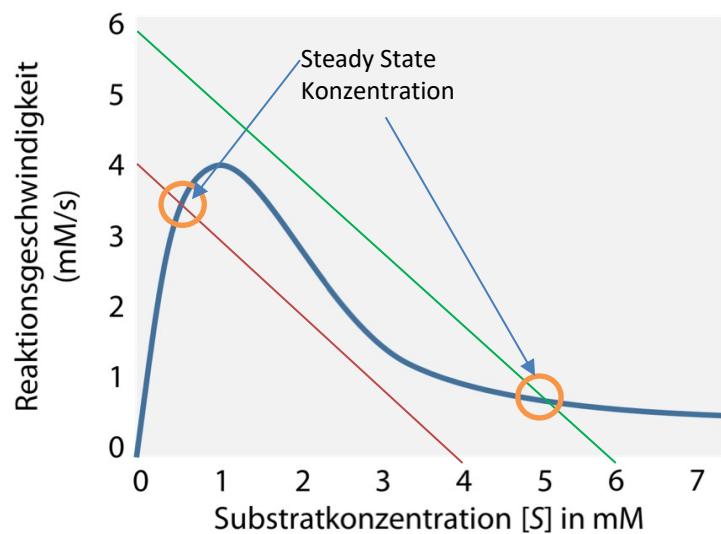
In solchen Diagrammen repräsentiert ein Schnittpunkt zweier Graphen immer ein Steady State. -> siehe Abbildung.

Korrekt.

- d) Schätzen Sie ab, welche interne Substratkonzentration sich für $[S_{extern}] = 6 \text{ mM}$ einstellen wird. Zeigen Sie auch dies zeichnerisch.

Wenn wir die Gleichung $v_D = D([S_{extern}] - [S])$ nehmen und $[S_{extern}] = 6 \text{ mM}$ einsetzen erhalten wir die Funktion $f([Substrat]) = v_D = 6 - x$. Dies würde auf einem Diagramm eine Linie repräsentieren, die bei $v_D = 6 \text{ mM}$ beginnt, wenn $[S] = 0 \text{ mM}$ und bei $[S] = 6 \text{ mM}$, $v_D = 0 \text{ mM}$ ist (in grün ersichtlich). Der Schnittpunkt mit der Enzymkinetik-Kurve würde die interne Substratkonzentration im Steady State anzeigen.

Korrekt, d.h. $[S] \sim 5 \text{ mM}$.



Beispielaufgaben:

Modellierung von Stoffwechselwegen

Frage 1

Im Stoffwechselweg $A \rightarrow B \rightarrow C$ gibt es eine Feedbackhemmung von C auf das erste Enzym, welches die Umwandlung von A zu B katalysiert.

Nennen Sie 3 Beispiele, wie diese Hemmung mechanistisch erreicht werden könnte und geben Sie eine kurze Erklärung bezüglich der Zeitskala auf der diese 3 Feedbackmechanismen agieren würden.

Allosterische Regulation: In diesem Fall bindet das Endprodukt C an eine regulatorische Stelle (nicht die aktive Stelle) des Enzyms, das A in B umwandelt. Diese Bindung führt zu einer Konformationsänderung des Enzyms, die seine Aktivität hemmt. Diese Form der Regulation ist schnell und erfolgt auf der Zeitskala von Sekunden, sobald genug Produkt C vorhanden ist, um an das Enzym zu binden.

Kovalente Modifikation: Eine häufige Form der kovalenten Modifikation ist die Phosphorylierung. In diesem Fall könnte das Produkt C die Aktivierung einer Kinase veranlassen, die dann das Enzym, das A in B umwandelt, phosphoryliert und seine Aktivität hemmt. Die Zeitskala dieser Form der Regulation ist etwas länger als die allosterische Regulation und kann von Sekunden bis zu mehreren Minuten dauern, da sie die Aktivierung einer Kinase und die Phosphorylierung des Enzyms erfordert.

Veränderungen der Genexpression: Das Produkt C könnte einen Transkriptionsfaktor aktivieren oder inaktivieren, der die Expression des Enzyms, das A in B umwandelt, reguliert. Wenn die Expression des Enzyms heruntergeregt wird, wird weniger von diesem Enzym produziert, was zu einer Abnahme seiner Aktivität führt. Diese Form der Regulation ist viel langsamer und kann auf einer Zeitskala von Stunden bis Tagen auftreten, da sie die Transkription und Translation von Genen erfordert.

Alles richtig. Ist aber viel zu ausführlich beschrieben. Stichworte um die Logik klarzumachen würden reichen.

Frage 2

Die irreversible Reaktion $S \rightarrow P$ wird vom Enzym E mit dem katalytischen Koeffizienten k_{cat} und der Substrataffinität k_m katalysiert. Die Reaktion folgt einer Michaelis-Menten-Kinetik und der Fluss durch diese Reaktion wird durch die folgende Gleichung beschrieben.

$$v = [E] \cdot k_{cat} \cdot \frac{[S]}{k_m + [S]}$$

Nehmen Sie an, dass System wäre transkriptionell reguliert. Welcher Teil der Gleichung wird sich ändern und wieso? Wird der Fluss v grösser, kleiner oder bleibt er unverändert, wenn sich das Expressionsniveau des durch diese Gleichung beschriebenen Enzyms auf 10% des Normalzustandes reduziert. (Gehen Sie dabei davon aus, dass von jedem Transkript des entsprechenden Gens dieselbe Anzahl an Enzymmolekülen gebildet wird)?

Die transkriptionelle Regulation beeinflusst das Expressionsniveau des Enzyms, was in dieser Gleichung durch den Term $[E]$ repräsentiert wird, also die Konzentration des Enzyms. Wenn die Expression des Enzyms auf 10% des Normalzustandes reduziert wird, dann bedeutet dies, dass $[E]$ auf 10% seines ursprünglichen Wertes reduziert wird.

Da $[E]$ ein Multiplikator im Ausdruck für die Geschwindigkeit (v) ist, führt eine Reduktion von $[E]$ zu einer direkten Reduktion von v , vorausgesetzt, alle anderen Bedingungen (wie $[S]$ und die kinetischen Parameter k_{cat} und k_m) bleiben konstant.

Also, wenn das Expressionsniveau des Enzyms auf 10% des Normalzustandes reduziert wird, würde

der Fluss (v) ebenfalls auf 10% seines ursprünglichen Wertes reduziert werden, wenn alle anderen Bedingungen konstant bleiben

Zu Beginn ja. Da S eine Variable ist und mehr E den Fluss erhöht wird S aber sinken und der Fluss in der Zelle würde letztlich (in der Regel) gleich bleiben.