

Optativa 4rt curs de Biotecnologia

# Modelització i simulació de biosistemes

Anàlisi del control metabòlic (Metabolic control analysis MCA) P1

Joan Albiol

Departament d'Enginyeria Química  
Escola d'Enginyeria  
Universitat Autònoma de Barcelona



## Delimitació del problema

Exemples de cassos generals:

- Volem incrementar la producció d'un producte biotecnològic. Quin/s enzim/s s'han d'activar per aconseguir-ho?
- Una determinada malaltia és el resultat de l'acumulació d'un metabòlit. Quina reacció o reaccions s'han de modificar per reduir-ne la producció?

Aquestes i altres preguntes similars ens porten a reflexionar:

- Coneixem les propietats cinètiques i de regulació dels enzims que formen una determinada via. ¿Quin serà el seu comportament quantitatiu dins la cèl·lula?
- Quin dels passos de la via controla el flux?
- ¿Existeix un sol pas limitant?
- Quins coenzims o efectors tenen més influència en el flux de la via?

Per poder respondre necessitem saber l'efecte que tindrà una modificació sobre la resta del sistema.

Es necessita quantificar el impacte de petits canvis en els paràmetres sobre les variables del sistema metabòlic

Problema:

- La relació entre el valor de les variables en estat estacionari i els paràmetres és habitualment no lineal i no es pot expressar analíticament
- No hi ha una teoria que permeti la predicció quantitativa de l'efecte de **grans** canvis en variables com l'activitat enzimàtica o els fluxos

Per quantificar el impacte de petits canvis en els paràmetres sobre les variables del sistema metabòlic:

- Es necessita una funció matemàtica que quantifiqui el grau de control
- Es pot calcular localment restringint-ho a canvis infinitesimals (derivades).
- Quan les derivades no es poden calcular es pot linealitzar el sistema al voltant de l'estat estacionari
- Al MCA es consideren unes variables controlades (els fluxos i les concentracions)
- Es consideren els paràmetres controladors (les constants cinètiques, les concentracions enzimàtiques,...)

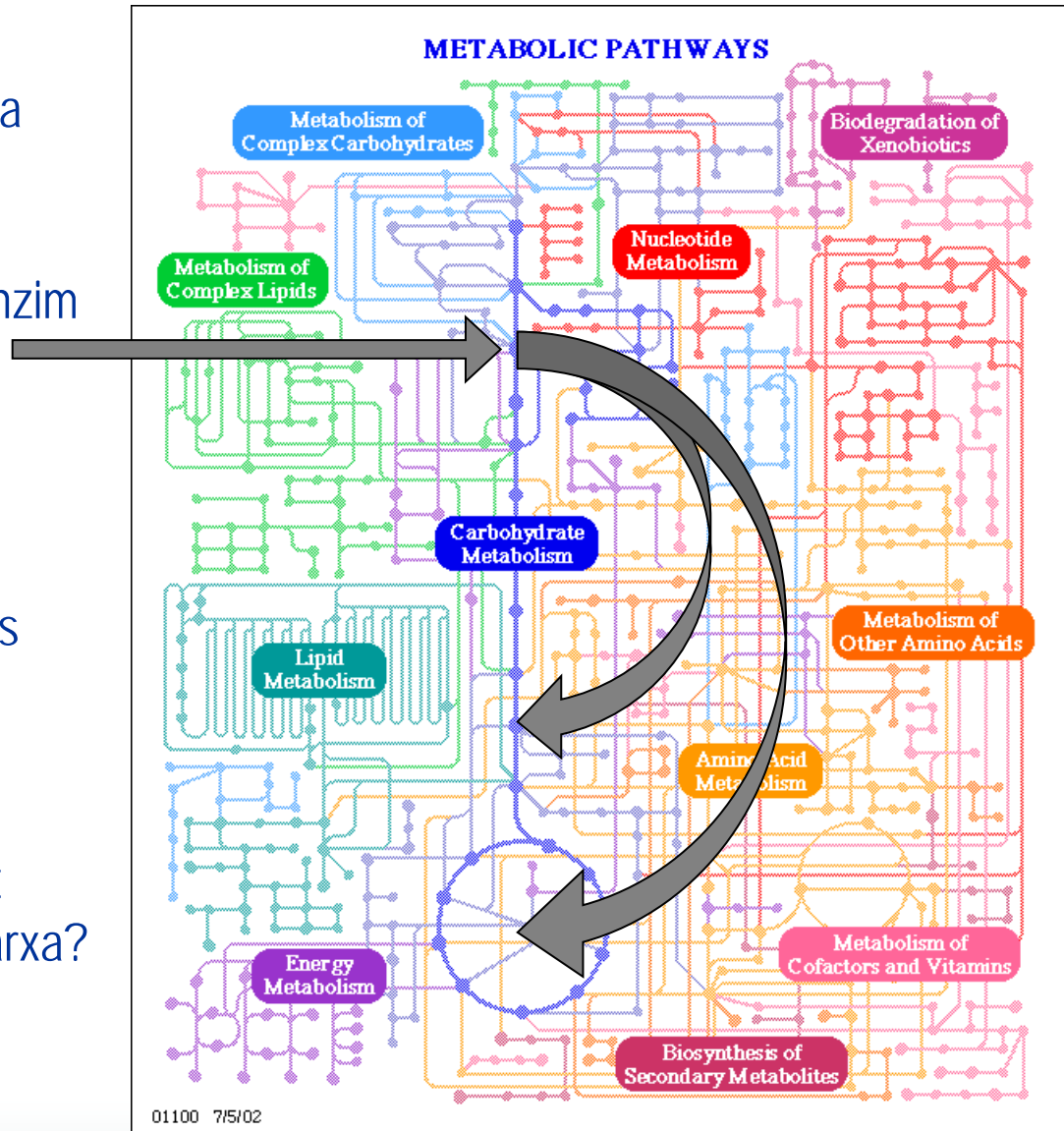
## Anàlisi del Control Metabòlic

Reformulació del problema: Tenim una xarxa formada per metabòlits interconvertits per enzims.

Canviem l'activitat d'un enzim  
p.ex: PFK

Com canviaran les concentracions  
d'altres metabolits a la xarxa?,  
p.ex.. piruvat ?

Com canviaran els fluxes a l'estat  
estacionari a altres parts de la xarxa?  
p.ex. al TCA?



Per poder predir l'efecte de la modificació d'un sistema metabòlic a partir de la disponibilitat de la informació genòmica i els mètodes per alterar-la, cal conèixer:

- el **grau de control** que un determinat pas té sobre una xarxa complexa

L'anàlisi del control metabòlic permet:

- Predir quantitativament una resposta o canvi dinàmic en el sistema com a conseqüència d'un canvi extern o intern
- Identificar passos clau en la regulació metabòlica
- Entendre el disseny i els patrons de regulació implícits a la xarxa (p.ex. Què és més interessant disminuir la síntesi d'un component o d'augmentar-ne la velocitat de degradació?)
- Quantificar el grau control que un determinat efector o enzim té sobre el sistema
- Relacionar propietats sistèmiques (fluxos, nivells de metabòlits) amb propietats locals (característiques cinètiques dels enzims, regulació,...)
- Planificar una modificació racional del sistema
- Entendre millor la correlació genotip-fenotip a nivell molecular

## Anàlisi de sensibilitat

L'anàlisi del control metabòlic es fonamenta en l'anàlisi de sensibilitat

### Sensibilitat a l'estat estacionari

Ex.: Donat un sistema diferencial en estat estacionari:

$$\frac{d\mathbf{S}}{dt} = \mathbf{N} \cdot \mathbf{v}(\mathbf{S}(\mathbf{p}), \mathbf{p}) \quad \longrightarrow \quad \frac{d\mathbf{S}}{dt} = 0 \quad \longrightarrow \quad 0 = \mathbf{N} \cdot \mathbf{v}(\mathbf{S}(\mathbf{p}), \mathbf{p})$$

- Es genera una pertorbació en un paràmetre  $\mathbf{p} \rightarrow \mathbf{p} + D\mathbf{p}$
- S'observa el canvi en l'estat estacionari  $\mathbf{S}^* \rightarrow \mathbf{S}^* + D\mathbf{S}$
- Es determinen els coeficients de sensibilitat:

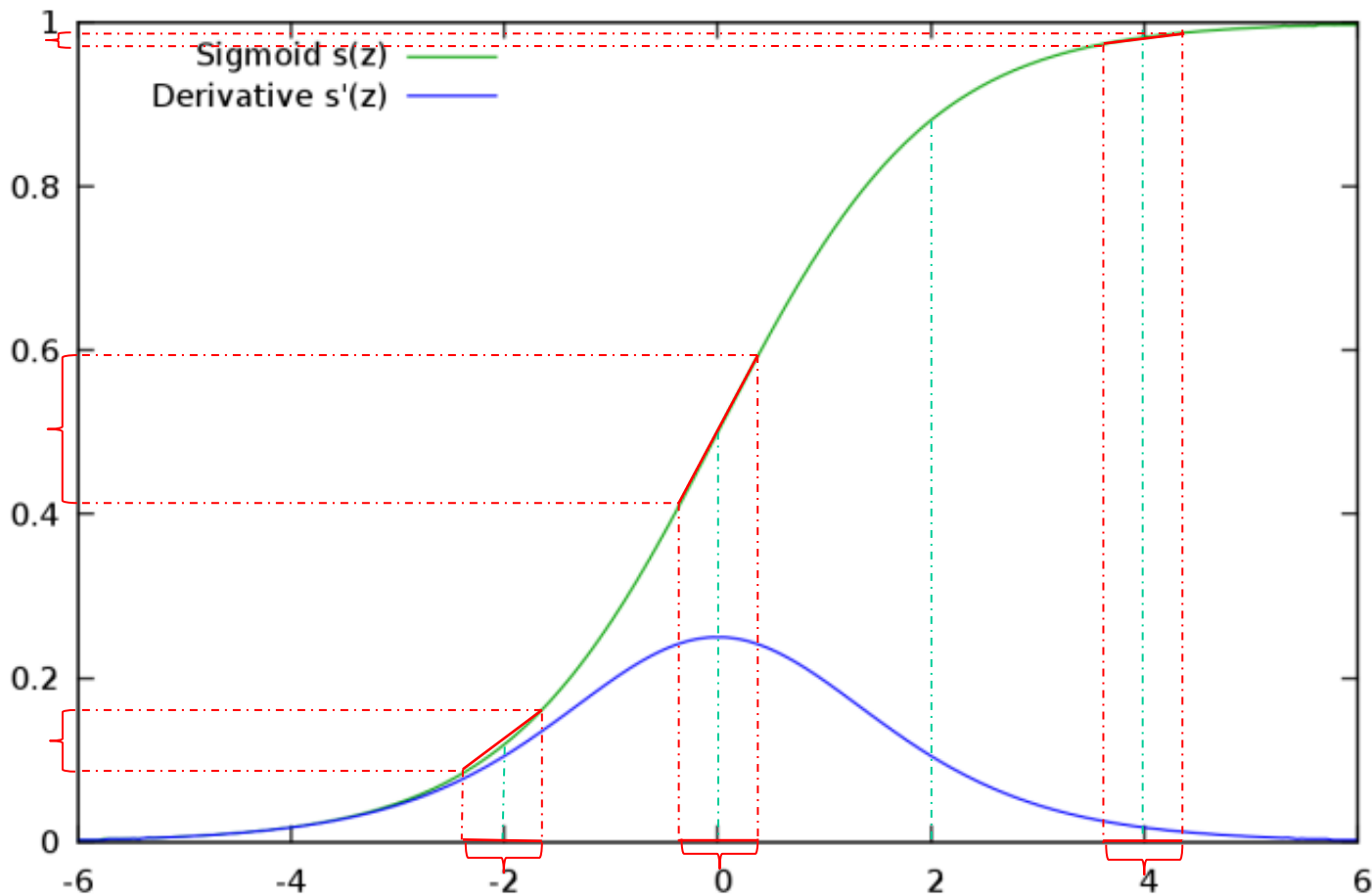
No escalats:  $\mathbf{s} = \frac{D\mathbf{S}}{D\mathbf{p}} \circ \frac{\mathbf{S}}{\mathbf{p}}$

Escalats:  $\mathbf{s}_0 = \frac{D\mathbf{S}}{D\mathbf{p}} \frac{\mathbf{p}^*}{\mathbf{S}^*} \circ \frac{\mathbf{S}}{\mathbf{p}} \frac{\mathbf{p}^*}{\mathbf{S}^*} = \frac{\mathbf{S} \ln \mathbf{S}}{\mathbf{p} \ln \mathbf{p}}$

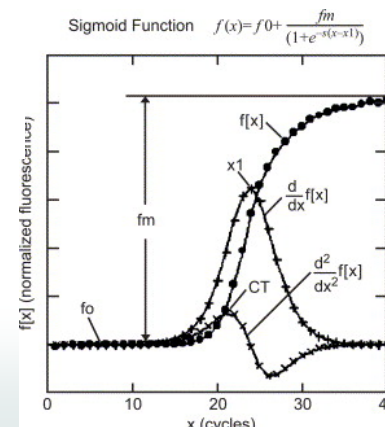
$$\frac{d}{dx} \ln(x) = \frac{1}{x}$$

$$d \ln(x) = \frac{dx}{x}$$

El mateix canvi en una variable resulta en efectes molt diferents



A cada punt la resposta a un petit canvi (diferencial) depèn de la derivada de la funció a aquell punt.





## Interpretació:

- Que s'intenta determinar?

Pendent de la recta tangent que descriu la velocitat de canvi

- En que es basa?

A mesura que el increment de la variable tendeix a zero la pendent de la secant tendeix a equiparar-se a la pendent de la tangent.

- Que obtenim?

Una aproximació a la derivada de la variable dependent respecte de la independent que indica la velocitat de canvi instantani.

L'anàlisi del control metabòlic es fonamenta en determinar la sensibilitat de variables clau del sistema en front a la variació d'altres variables o paràmetres (en forma de coeficients de sensibilitat).

Per portar-ho a terme es defineixen dos grups de coeficients:

- Coeficients **globals** (de control, de resposta)

Permeten avaluar quantitativament l'efecte sobre propietats sistèmiques (fluxos, concentracions,...) de canvis en concentracions d'enzims, efectors, nutrients,...

Quantifiquen els canvis en les variables a l'estat estacionari.

Depenen de l'estructura de la xarxa

- Coeficients **locals** (elasticitats)

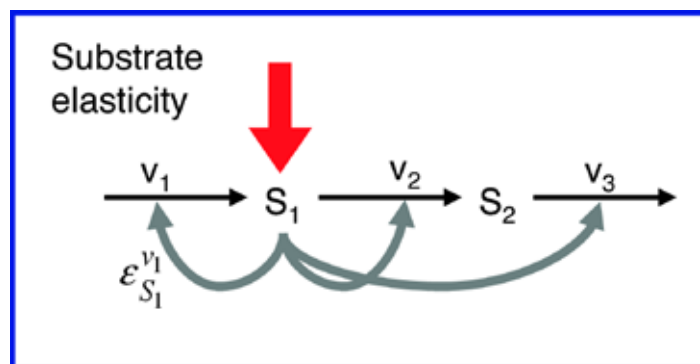
Permeten avaluar quantitativament l'efecte sobre propietats cinètiques d'un pas metabòlic o d'una xarxa de transmissió de senyal. Quantifiquen el grau de canvi immediat sobre un pas determinat. (la sensibilitat de la velocitat de reacció en un pas respecte al canvi en un paràmetre o una concentració)

## Coeficients locals

### Elasticitat èpsilon ( $\epsilon$ -elasticity)

Ex: quan sensible es la velocitat de reacció d'un enzim al canvi en un substrat?

Aspecte matemàtic: Derivada respecte a una concentració (una variable)  
(normalment re-escalada)



Es pot considerar com l'efecte immediat de l'enzim com si estigues aïllat

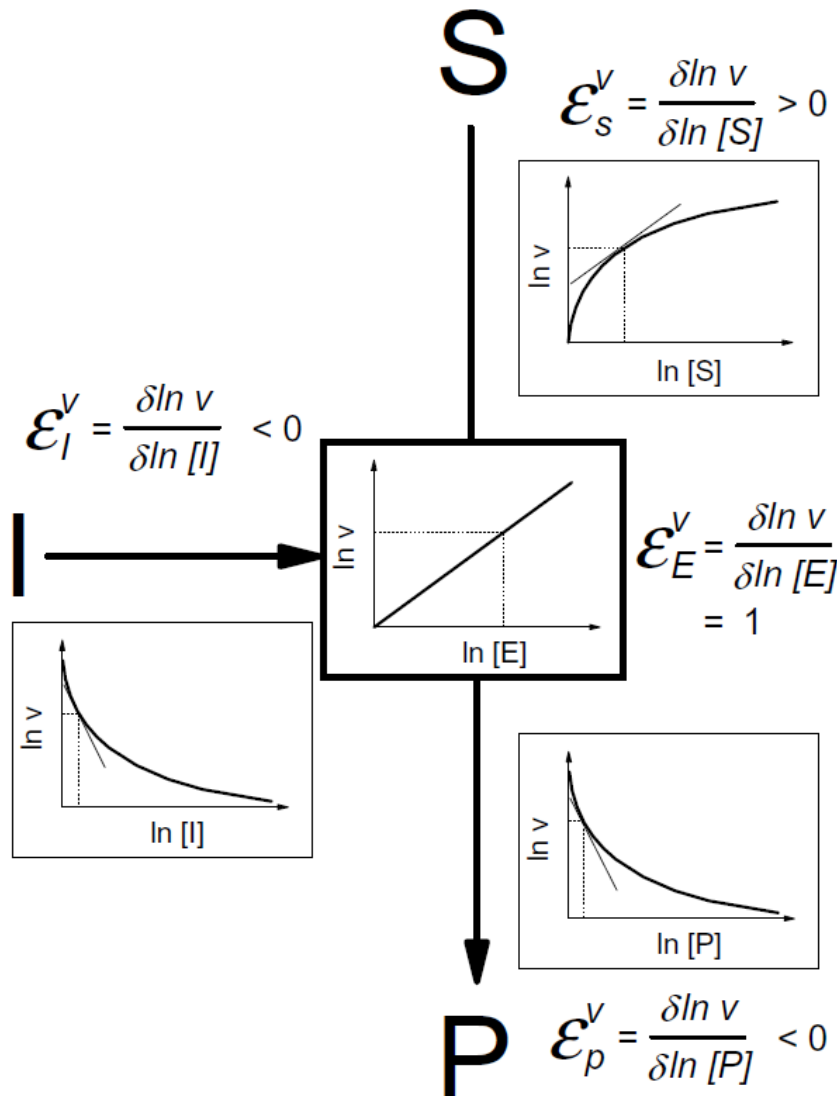
Es una derivada parcial perquè assumim que les altres possibles variables es mantenen constants

$$e_i^k = \frac{\partial v_k}{\partial S_i} \frac{S_i}{v_k} = \frac{S_i}{v_k} \frac{\partial \ln v_k}{\partial \ln S_i}$$

Elasticitat de la velocitat de reacció k respecte al substrat Si

Directament lligat a la derivada de la velocitat de reacció de l'enzim respecte a la concentració local dels seus substrats.

Elasticitats respecte de diferents factors que poden afectar la velocitat de reacció localment (substrat, producte, inhibidor, enzim,..)



Si coneixem la cinètica podem derivar l'equació. P.ex: cinètica Michaelis-Menten reversible.

$$\epsilon_S^v = \frac{1}{1 - \frac{\Gamma}{K_{eq}}} - \frac{\frac{s}{K_s}}{1 + \frac{s}{K_s} + \frac{p}{K_p}}$$

$$\epsilon_e^v = 1$$

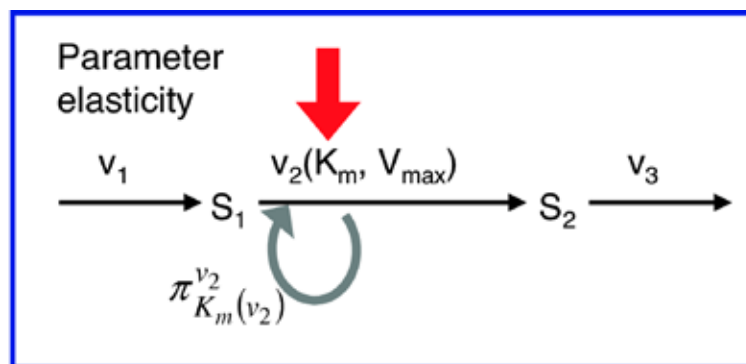
$$\epsilon_P^v = \frac{-\frac{\Gamma}{K_{eq}}}{1 - \frac{\Gamma}{K_{eq}}} - \frac{\frac{p}{K_p}}{1 + \frac{s}{K_s} + \frac{p}{K_p}}$$

## Coeficients locals

### Elasticitat paramètrica o pi ( $\pi$ -elasticity)

Quan sensible és la velocitat de reacció d'un enzim al canvi en un paràmetre?

Aspecte matemàtic: Derivada respecte a un paràmetre (constants cinètiques,  $K_m$ ,  $k_{cat}$ ,  $K_i$ ...) (normalment re-escalada)



$$p_m^k = \frac{p_{mi}}{v_k} \frac{\mathbb{I} v_k}{\mathbb{I} p_m} = \frac{\mathbb{I} \ln v_k}{\mathbb{I} \ln p_m} \quad \begin{array}{l} \text{Elasticitat de la reacció } k \text{ respecte} \\ \text{del paràmetre } p_m \end{array}$$

Directament lligat a la derivada de la velocitat de reacció de l'enzim respecte als seus paràmetres cinètics

# Coeficients **globals**

Coeficients de control del flux (FCC, flux control coefficients)

Sistema en estat estacionari

$$\mathbf{J} = \mathbf{v}(\mathbf{S}(\mathbf{p}), \mathbf{p}) \quad \mathbf{S} = \mathbf{S}(\mathbf{p})$$

Es genera una petita pertorbació. (afegir substrat, afegir enzim,...)

$$v_k \rightarrow v_k + Dv_k$$

El sistema s'aproxima a un nou estat estacionari:

$$\mathbf{J} \rightarrow \mathbf{J} + D\mathbf{J} \quad \mathbf{S}^* \rightarrow \mathbf{S}^* + D\mathbf{S}$$

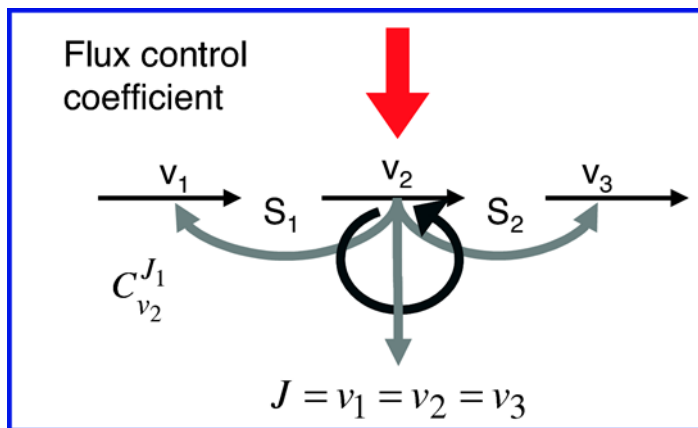
Quin és el canvi produït en les variables del sistema en estat estacionari (fluxos, concentracions) degut a la pertorbació en una sola reacció?

# Coeficients globals

Coeficients de control del flux (FCC, flux control coefficients)

Fracció del **canvi observat en el flux** produït per una fracció de canvi produïda en l'activitat enzimàtica

Punt de vista matemàtic: Derivada del flux (J) respecte a la velocitat de reacció (v) (normalment re-escalada)



$$C_k^{J_j} = \frac{\partial J_j}{\partial v_k} \frac{v_k}{J_j} = \frac{v_k}{J_j} \frac{\partial \ln J_j}{\partial \ln v_k}$$

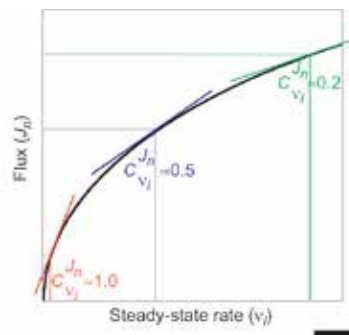
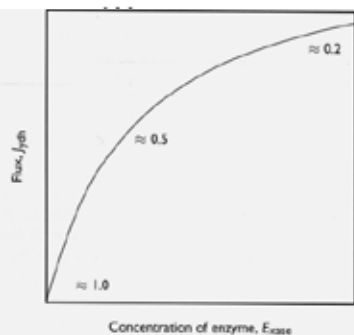
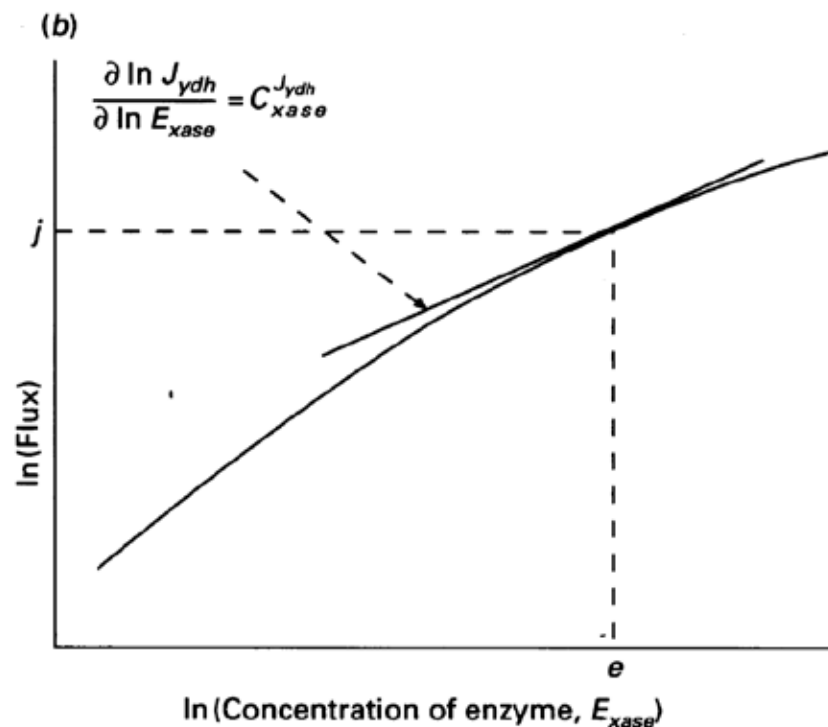
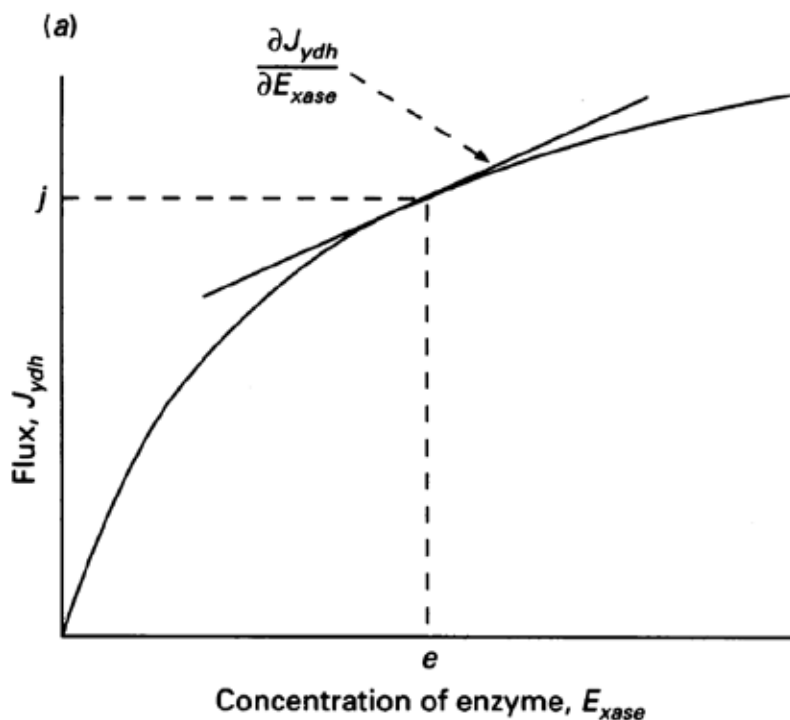
$Dv_k$  Canvi en la velocitat de reacció k

$DJ_j$  Canvi en el flux en estat estacionari a la reacció j

$v_k / J_j$  Factor de normalització (o re-escalat)

# Coeficients globals

## Coeficients de control del flux (FCC, flux control coefficients)





# Quin paràmetre s'ha de pertorbar ?

- El canvi en la velocitat de reacció  $v_k$  es degut al canvi en aquells paràmetres que tenen influència sobre la reacció  $k$  (concentració d'enzim, d'inhibidor, ... ).

- Podem considerar una versió ampliada de l'equació del coeficient de control del flux

$$C_k^{J_j} = \frac{v_k}{J_j} \frac{\partial J_j}{\partial v_k} = \frac{v_k}{J_j} \frac{\partial J_j / \partial p_k}{\partial v_k / \partial p_k}$$

- Recordem que un paràmetre  $p_k$  només té influència directa sobre la seva reacció  $v_k$ . Si s'influencien les altres serà indirectament.

$$\frac{\partial v_k}{\partial p_k} \neq 0, \quad \frac{\partial v_l}{\partial p_k} = 0 \quad (l \neq k)$$

- Els canvis en el flux es produeixen a partir dels canvis en la velocitat de reacció. Per tant **els coeficients de control del flux són independents de quin paràmetre  $p_k$  es modifiqui**
- Ho podem interpretar com una mesura del **grau en que la reacció  $k$  controla un determinat flux a l'estat estacionari**

## Coeficients globals

Coeficients de control de la concentració (CCC, concentration control coefficients)

Fracció de canvi en la concentració produït per una fracció de canvi en l'activitat enzimàtica (velocitat de reacció)

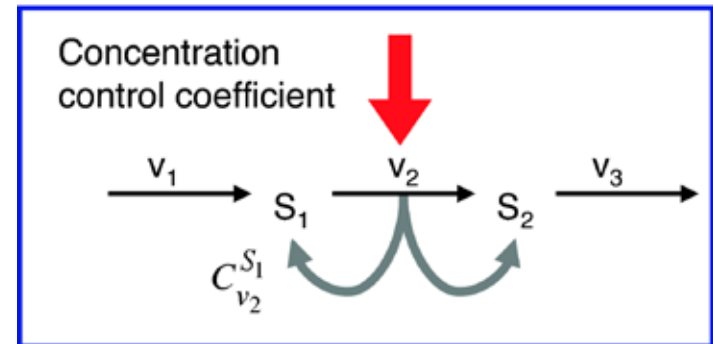
Punt de vista matemàtic: Derivada de la concentració respecte a la velocitat de reacció (normalment re-escalada)

$$C_k^{S_i} = \frac{\partial S_i}{\partial v_k} \frac{v_k}{S_i} = \frac{v_k}{S_i} \frac{\partial S_i / \partial p_k}{\partial v_k / \partial p_k} = \frac{\partial \ln S_i}{\partial \ln v_k}$$

$\partial v_k$  Canvi en la velocitat de reacció k

$\partial S_i$  Canvi en la concentració del substrat

$v_k / S_i$  Factor de normalització



© 2010 Wiley-VCH, Weinheim  
Klipp - Systems Biology  
ISBN: 978-3-527-31874-2 fig-02-11

Coeficients globals

Coeficients de resposta (Response coefficients)

Tenim un sistema en estat estacionari

$$\mathbf{J} = \mathbf{v}(\mathbf{S}(\mathbf{p}), \mathbf{p})$$

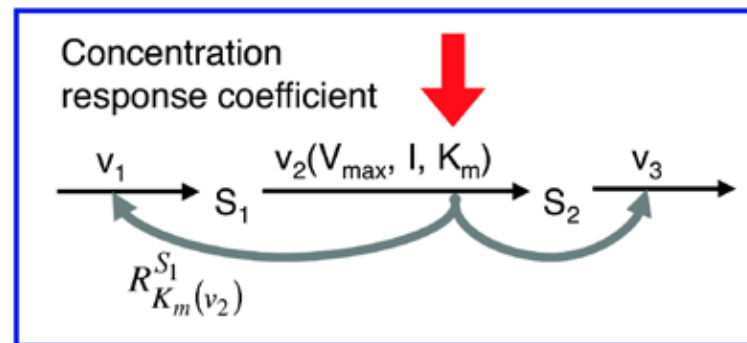
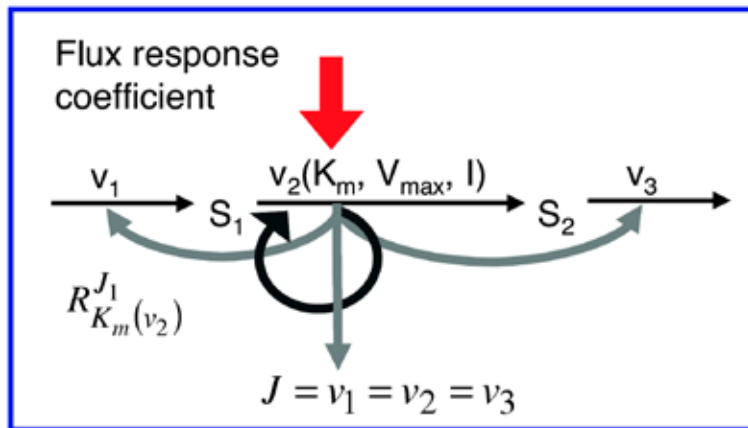
$$\mathbf{S} = \mathbf{S}(\mathbf{p})$$

El valor de des variables a aquest estat (J, S) depèn dels valors dels paràmetres p.

La sensibilitat d'aquestes variables a l'estat estacionari, de manera directa de factors (paràmetres, efectors,...) la indiquen els coeficients de resposta. Generalment s'inclouen els efectes que canvien les característiques cinètiques dels enzims com per exemple efectors al·lostèrics.

$$R_{p_m}^{J_k} = \frac{\mathcal{J} \ln J_k}{\mathcal{J} \ln p_m} = \frac{(dJ_k / J_k)_{t \otimes \mathbb{N}}}{(dp_m / p_m)_{t=0}} = \frac{dJ_k}{dp_m} \frac{p_m}{J_k}$$

$$R_{p_m}^{S_i} = \frac{\mathcal{J} \ln S_i}{\mathcal{J} \ln p_m} = \frac{(dS_i / S_i)_{t \otimes \mathbb{N}}}{(dp_m / p_m)_{t=0}} = \frac{dS_i}{dp_m} \frac{p_m}{S_i}$$



Habitualment la utilització i càlcul dels coeficients té lloc fent servir matrius i vectors.

Normalitzats

No Normalitzats

$$\mathbf{C}^J = \{C_{jk}^J\}$$

$$\mathbf{C}^J = \text{diag}(\mathbf{v})^{-1} \times \mathbf{C}^J \times \text{diag}(\mathbf{J})$$

$$\mathbf{C}^S = \{C_{ik}^S\}$$

$$\mathbf{C}^S = \text{diag}(\mathbf{S})^{-1} \times \mathbf{C}^S \times \text{diag}(\mathbf{J})$$

$$\mathbf{R}^J = \{R_{jm}^J\}$$

$$\mathbf{R}^J = \text{diag}(\mathbf{J})^{-1} \times \mathbf{R}^J \times \text{diag}(\mathbf{p})$$

$$\mathbf{R}^S = \{R_{im}^S\}$$

$$\mathbf{R}^S = \text{diag}(\mathbf{S})^{-1} \times \mathbf{R}^S \times \text{diag}(\mathbf{p})$$

$$\boldsymbol{\pi} = \{\rho_{km}\}$$

$$\boldsymbol{\pi} = \text{diag}(\mathbf{v})^{-1} \times \boldsymbol{\pi} \times \text{diag}(\mathbf{p})$$

$$\boldsymbol{\varepsilon} = \{\mathbf{e}_{ki}\}$$

$$\boldsymbol{\varepsilon} = \text{diag}(\mathbf{v})^{-1} \times \boldsymbol{\varepsilon} \times \text{diag}(\mathbf{S})$$

$$\mathbf{C}^J = \begin{pmatrix} C_{v_1}^{J_1} & C_{v_2}^{J_1} & \dots & C_{v_r}^{J_1} \\ C_{v_1}^{J_2} & C_{v_2}^{J_2} & \dots & C_{v_r}^{J_2} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ C_{v_1}^{J_r} & C_{v_2}^{J_r} & \dots & C_{v_r}^{J_r} \end{pmatrix} \quad \mathbf{diag}(\mathbf{J}) = \begin{pmatrix} J_1 & 0 & \dots & 0 \\ 0 & J_2 & \dots & 0 \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ 0 & 0 & \dots & J_r \end{pmatrix}$$

$j = 1, \dots, r$  Fluxos  
 $k = 1, \dots, r$  Reaccions  
 $i = 1, \dots, n$  Metabolits  
 $m = 1, \dots, p$  Parametres

## Teoremes de la Teoria del Control Metabòlic

Els fluxos  $J$  generalment no es poden expressar com a funcions matemàtiques que relacionin tots els elements de la xarxa.

Com calcular coeficients de control globals a partir de canvis mesurables localment?

Fent servir els teoremes de la MCT

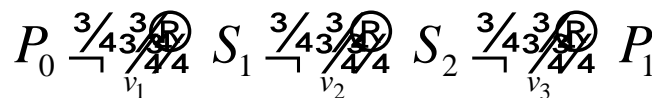
- Teoremes dels sumatoris
- Teoremes de les connectivitats

## Teoremes dels sumatoris

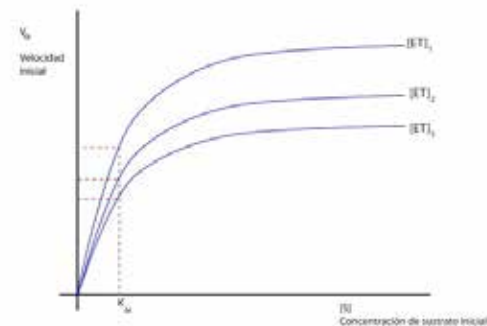
Experiment teòric: donada una via sense embrancaments.

quina serà la conseqüència si experimentalment s'aconsegueix canviar una mateixa fracció  $\alpha$  la velocitat local de tots els passos de la via?

(p. Ex: augmentant la quantitat de tots els enzims)



$$\frac{\cancel{v}_1}{v_1} = \frac{\cancel{v}_2}{v_2} = \frac{\cancel{v}_3}{v_3} = \alpha$$



## Resultat:

- El flux  $J$  ha d'augmentar també en la mateixa fracció  $\alpha$ .
- Com que totes les velocitats de reacció augmenten en la mateixa fracció **la concentració dels substrats  $S_1$  i  $S_2$  no varia.**

## Teoremes dels sumatoris

L'efecte combinat dels canvis a totes les velocitats locals sobre les variables sistèmiques  $J, S_1$  i  $S_2$  es pot descriure com la suma dels efectes combinats dels canvis a cada reacció local.

Per al flux  $J$  tenim:

$$\frac{\partial J}{\partial v_1} + \frac{\partial J}{\partial v_2} + \frac{\partial J}{\partial v_3} + \dots + \frac{\partial J}{\partial v_n}$$

$$C_k^J = \frac{v_k}{J} \frac{\partial J}{\partial v_k}; \quad \frac{\partial J}{\partial v_k} = C_k^J \frac{J}{v_k}$$

$$\frac{dJ}{J} = C_1^J \frac{dv_1}{v_1} + C_2^J \frac{dv_2}{v_2} + C_3^J \frac{dv_3}{v_3}$$

Canvi en el flux: suma dels efectes de cada pas

$$a = a(C_1^J + C_2^J + C_3^J) \rightarrow \text{D'això es dedueix: } \boxed{C_1^J + C_2^J + C_3^J = 1}$$

Idènticament per  $S_1$  (i  $S_2$ ):

$$\frac{dS_1}{S_1} = C_1^{S_1} \frac{dv_1}{v_1} + C_2^{S_1} \frac{dv_2}{v_2} + C_3^{S_1} \frac{dv_3}{v_3}$$

Canvi en la concentració: els efectes de cada pas es cancel·len

$$0 = a(C_1^{S_1} + C_2^{S_1} + C_3^{S_1}) \rightarrow \text{D'això es dedueix: } \boxed{C_1^{S_1} + C_2^{S_1} + C_3^{S_1} = 0}$$

## Resum Teoremes dels sumatoris

$$\sum_{k=1}^r C_{v_k}^{J_j} = 1$$

La suma dels coeficients de control del flux d'una via metabòlica dóna 1

Reflexió : Els enzims comparteixen el control del flux

$$\sum_{k=1}^r C_{v_k}^{S_i} = 0$$

La suma dels coeficients de control de la concentració per un metabòlit o component dóna 0

Reflexió: Uns enzims incrementen les concentracions i altres la disminueixen

En notació matricial:

$$\mathbf{C}^J \mathbf{1} = \mathbf{1}$$

$$\mathbf{C}^S \mathbf{1} = \mathbf{0}$$

on:  $\mathbf{1} = \begin{pmatrix} 1 \\ \vdots \\ 1 \\ \vdots \\ 1 \\ \vdots \end{pmatrix}$



## Teoremes de la connectivitat

Connectivitat entre coeficients de control del flux i elasticitats:

- La suma dels productes entre cada coeficient de control del flux i l'elasticitat de cada reacció dóna 0:

$$\sum_{i=1}^r C_{v_i}^{J_m} e_{S_j}^{v_i} = 0 \qquad C^J \mathbf{e} = 0$$

Connectivitat entre coeficients de control de la concentració i elasticitats:

- La suma dels productes entre el coeficient de control de la concentració i l'elasticitat de cada reacció dóna -1 o 0:

$$\sum_{i=1}^r C_{v_i}^{S_k} e_{S_j}^{v_i} = -d_{jk} \qquad C^S \mathbf{e} = -\mathbf{I}$$

on:  $d_{jk} = \begin{cases} 1, & \text{si } j = k \\ 0, & \text{si } j \neq k \end{cases}$

El CCC i l'elasticitat son del mateix metabòlit

El CCC i l'elasticitat son de diferent metabòlit