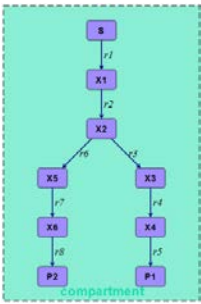


Pràctica 8

Introducció a la simulació en COPASI

Exercicis

1. -	<p>8 reaccions enzimàtiques, 2 branques cap a l'equilibri</p> <p>R1: $S=X1$ R2: $X1=X2$ R3: $X2=X3$ R4: $X3=X4$ R5: $X4=P1$ R6: $X2=X5$ R7: $X5=X6$ R8: $X6=P2$</p>  <p>Cinètiques reversibles Uni-Uni amb K_{ms} i K_{mp} iguals a 50 mmol/l. Velocitat màxima $V_f=100$ (mmol·l⁻¹·s⁻¹), i constant d'equilibri K_{eq} igual a 1. Concentració inicial de substrat $S=10$ mmol/l. Concentracions inicials dels altres metabòlits iguals a 1.</p> <p>a) Com evoluciona la dinàmica? (en quin ordre es consumeixen i s'estabilitzen) b) A quin valor s'estabilitzen (steady state). c) Calcula la relació d'acció de masses o 'mass action ratio' (MAR) a cada reacció. Es igual a la K_{eq}? Calcula el desequilibri (MAR/K_{eq}) i la ΔG. ($\Delta G=R \cdot T \cdot \ln(\text{desequilibri})$ kJ/mol. $R:0.008314$ kJ·K·mol. $T: 297$ K) d) Quin és el flux final net. e) Si canvies totes les K_{eq} a 64 com queda tot al final?.</p>
2. -	<p>Extensió del cas anterior. 8 reaccions enzimàtiques, 2 branques cap a l'estat estacionari. Només cal afegir les reaccions d'entrada i sortida.</p> <p>R1: $S=X1$ R2: $X1=X2$ R3: $X2=X3$ R4: $X3=X4$ R5: $X4=P1$ R6: $X2=X5$ R7: $X5=X6$ R8: $X6=P2$ R9: $P1 \rightarrow$ R10: $P2 \rightarrow$ R11: $\rightarrow S$</p> <p>Cinètiques reversibles Uni-Uni amb K_{ms} i K_{mp} iguals a 50 mmol/l. Velocitat màxima $V_f=100$ (mmol·l⁻¹·s⁻¹), i constant d'equilibri K_{eq} igual a 1. Concentració inicial de tots els metabòlits a 1 mmol/l. Reacció R11 'constant flux irreversible' de 50 (mmol·l⁻¹·s⁻¹) Reaccions R9 i R10 'mass action irreversible' amb $k: 1$ (s⁻¹)</p> <p>a) A quin valor s'estabilitzen (steady state). b) Calcula la relació d'acció de masses o 'mass action ratio' (MAR) a cada reacció. Es igual a la K_{eq}? Calcula el desequilibri (MAR/K_{eq}) i la ΔG. ($\Delta G=R \cdot T \cdot \ln(\text{desequilibri})$ kJ/mol. $R:0.008314$ kJ·K·mol. $T: 297$ K) c) Quin és el flux final net. d) Compara els resultats amb el cas de reaccions en línia.</p>

3. -	<p>Les mateixes reaccions anteriors: 8 reaccions enzimàtiques, 2 branques, canvi d'una Keq. Keq igual a 1 a totes les reaccions menys a r7 que passa a ser 64 (64 vegades més gran).</p> <p>a) A quin valor s'estabilitzen (steady state) les concentracions?</p> <p>b) Calcula la relació de desequilibri (MAR/Keq) i la ΔG. ($\Delta G = R \cdot T \cdot \ln(\text{desequilibri})$ kJ/mol. R: 0.008314 kJ·K·mol. T: 297 K)</p> <p>c) Què passa amb la distància a l'equilibri, la ΔG i les concentracions respecte al cas anterior?</p> <p>d) Quin és el flux final a les reaccions?</p> <p>e) Quin és el resultat (fluxos, concentracions, ΔG, distància a l'equilibri i ?) si canviem totes les constants d'equilibri a la vegada?</p>
4. -	<p>Les mateixes reaccions anteriors: 8 reaccions enzimàtiques, 2 branques, canvi d'un enzim. (Exercici 8 de la pràctica anterior)</p> <p>Vf igual a 100 a totes les reaccions menys la de la r7 que passa a ser 6400 (64 vegades més gran).</p> <p>a) A quin valor s'estabilitzen (steady state) les concentracions?</p> <p>b) Calcula la relació de desequilibri (MAR/Keq). Què passa amb la distància a l'equilibri i la ΔG? ($\Delta G = R \cdot T \cdot \ln(\text{desequilibri})$ kJ/mol. R: 0.008314 kJ·K·mol. T: 297 K)</p> <p>c) Quin és el flux final a les reaccions.</p> <p>d) Tenint en compte que augmentar la velocitat màxima Vf és equivalent a augmentar la quantitat d'enzim, medita sobre la relació entre l'increment en la quantitat d'un enzim i l'increment en el flux final que s'obté, si no es varia res més.</p>
5. -	<p>Sistema similar al de l'exercici 1 amb regulació tal com a l'esquema següent.</p> <div data-bbox="391 1052 622 1657"> </div> <p> r1: $S = M1; M2$; Hill reversible amb 1 modificador r2: $M1 + A = M2 + AH$; Ordenada Bi-Bi (A primer, AH últim) r3: $M2 = M3$; AH ; Hill reversible amb 1 modificador r4: $M3 + AH = A + M4$; Ordenada Bi-Bi (AH primer, A últim) r5: $M4 = P1$; Uni-Uni r6: $M2 = M5$; AH; Hill reversible amb 1 modificador r7: $M5 + AH = A + M6$; Ordenada Bi-Bi (AH primer, A últim) r8: $M6 = P2$; Uni-Uni </p> <p>Concentracions inicials de tots els metabòlits 1 excepte S:1, P1: 0.1, P2: 0.1, A: 0.05, AH: 0.05, M2: 0.2.</p> <p>Tots els paràmetres tenen valor 1 exceptuant:</p> <p>Velocitats màximes de les reaccions (Vf, Vr) : 10</p> <p>h:4,</p> <p>alfa: 0.1.</p> <p>Al mantenir S, P1, i P2 constants s'assumeix que altres processos cel·lulars governen les seves concentracions i el sistema s'hi adapta.</p> <p>La retroalimentació (feedback) de M2 a R1 té la funció de mantenir el funcionament de la branca S->M2 en funcionament per generar M2 qualsevol que sigui el consum d'aquest que hi hagi a les branques a P1 i a P2. Quan s'acumula M2 aquest reprimeix la seva síntesi ($\alpha < 1$). De manera similar, cada branca augmenta el seu flux consumint el cofactor (AH) generat en la r2 però la seva activitat disminueix si es consumeix massa AH. Això permet mantenir un nivell de AH mínim que permeti operar també altres vies.</p> <p>a) Fes una simulació de 50 segons i després comprova que s'assoleix l'estat estacionari comparant els valors finals amb els de la tasca 'steady state'. Aquest serà el resultat de referència per comparar.</p>

	<p>b) Quin és l'efecte d'augmentar la concentració d'un metabòlit final (P2) sobre les concentracions i els fluxos.</p> <p>c) Quin és l'efecte d'augmentar la V_{max} de la reacció r_6 (V_f i V_r) fins a 15. I la d'augmentar la V_{max} (V_f i V_r) a tots els enzims d'una branca (r_6, r_7 i r_8)?</p> <p>d) Hi ha relacions de conservació? Que volen dir aquestes relacions referent als elements de la xarxa. Com es relacionen amb la matriu d'enllaç (link matrix).</p> <p>e) Quants modes elementals hi ha. Quina relació tenen amb el rendiment?.</p> <p>f) Es aquest un node rígid o flexible?</p> <p>--- OPCIONAL ---</p> <p>g) Grava en un fitxer els resultats de a tasca 'Mass Conservation' i importa les dades a un full d'Excel. Fes el mateix amb el resultat d'un dels estats estacionaris trobats anteriorment.</p> <p>h) Llegeix des de Matlab/Octave les dades de l'Excel de la matriu estequiomètrica i el vector de fluxos a l'estat estacionari.</p> <p>i) A partir de 2 dels fluxos importats calcula la resta amb una operació matricial (sist. determinat).</p> <p>j) Determina el rang de la matriu i el seu espai nul. Quants graus de llibertat hi ha?</p> <p>k) Comprova que diferents combinacions lineals de l'espai nul son solució d'estat estacionari del sistema (el producte amb la matriu importada és zero).</p> <p>l) Troba una de les possibles solucions al sistema subdeterminat (pex. Alfa:0.01)</p> <p>m) Troba una solució del sistema a partir de 3 mesures i la pseudoinversa (sobredeterminat).</p> <p>Nota: Instruccions de Matlab /Octave útils 'xlsread', 'rank', null, pinv, size, .</p>
6. -	<p>A partir del que has vist fins ara per a l'estat estacionari en els exercicis anteriors intenta completar les següents frases:</p> <p>a) Per les mateixes condicions, un increment de concentració de metabòlit al final de la cadena d'enzims fa que les concentracions anteriors</p> <p>b) Al combinar reaccions en una sola, les ΔG es (multipliquen, sumen resten, divideixen?) i les K_{eq} es</p> <p>c) Comparant un l'exercici on s'arribava a un equilibri amb un d'estat estacionari. Les 'rates' son (iguals, diferents, zero, no zero ...) i els fluxos son (iguals, diferents, zero, no zero,...)</p> <p>d) Una reacció amb una constant d'equilibri més elevada que les del voltant, resulta en una ΔG (mes gran, mes petita, igual?) i una MAR?</p> <p>e) Con afecta al flux metabòlic el que una branca tingui una reacció mes desplaçada cap a l'equilibri?</p> <p>f) Com queden afectats la ΔG i el flux metabòlic a mesura que s'augmenta la concentració d'enzim?.</p>