

Strukturelle Analyse von Stoffwechselnetzen illustriert am bakteriellen Redox- und Zentralstoffwechsel

Von der Fakultät Maschinenbau der Universität Stuttgart zur Erlangung der
Würde eines Doktors der Ingenieurwissenschaften (Dr. Ing.)
genehmigte Abhandlung

Vorgelegt von

Diplom-Systemwissenschaftler
Steffen Klamt

aus Magdeburg

Hauptberichter:	Prof. Dr. Dr. h.c. mult. E. D. Gilles
Mitberichter:	Prof. Dr. Stefan Schuster

Tag der mündlichen Prüfung: 22.03.2005

Institut für Systemdynamik und Regelungstechnik
der Universität Stuttgart
2005

Forschungsberichte aus dem Max-Planck-Institut
für Dynamik komplexer technischer Systeme

Band 9

Steffen Klamt

**Strukturelle Analyse von Stoffwechselnetzen
illustriert am bakteriellen
Redox- und Zentralstoffwechsel**

D 93 (Diss. Universität Stuttgart)

Shaker Verlag
Aachen 2005

Bibliografische Information der Deutschen Bibliothek

Die Deutsche Bibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

Zugl.: Stuttgart, Univ., Diss., 2005

Copyright Shaker Verlag 2005

Alle Rechte, auch das des auszugsweisen Nachdruckes, der auszugsweisen oder vollständigen Wiedergabe, der Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen und der Übersetzung, vorbehalten.

Printed in Germany.

ISBN 3-8322-3976-6

ISSN 1439-4804

Shaker Verlag GmbH • Postfach 101818 • 52018 Aachen

Telefon: 02407 / 95 96 - 0 • Telefax: 02407 / 95 96 - 9

Internet: www.shaker.de • eMail: info@shaker.de

Vorwort

Die vorliegende Dissertation entstand während meiner Tätigkeit als wissenschaftlicher Mitarbeiter am Max-Planck-Institut für Dynamik komplexer technischer Systeme in Magdeburg.

Die Rahmenbedingungen am Max-Planck-Institut waren ideal. Meinen besonderen Dank richte ich an Prof. Ernst Dieter Gilles für die wissenschaftliche Betreuung und für die angenehme Arbeitsatmosphäre, die er durch den aufgeschlossenen Umgang mit seinen Mitarbeitern schafft. Die wissenschaftliche Freiheit, die mir unter seiner Regie vergönnt war, hatte einen entscheidenden Anteil daran, daß die Arbeit in der vorliegenden Form entstehen konnte.

Ebenfalls in ganz besonderem Maße danke ich dem Mitberichter Prof. Stefan Schuster (Universität Jena). Er lenkte damals meine Aufmerksamkeit auf das spannende Gebiet der Strukturanalyse zellulärer Netzwerke und schuf letztlich mit seinen Vorarbeiten überhaupt die Grundlage für wesentliche Inhalte dieser Arbeit. Viele gemeinsame Diskussionen waren für diese Promotion unentbehrlich.

Danken möchte ich auch den Kollegen vom MPI Magdeburg für das jederzeit freundschaftliche und stimulierende Arbeitsklima, was letztlich auch in viele gemeinsame Stunden nach getaner Arbeit mündete. Hervorheben möchte und kann ich hier nur jene, mit denen ich wissenschaftlich direkt zusammengearbeitet habe.

Prof. Dietrich Flockerzi stand mir oft in heiklen Fragen der linearen Algebra zur Seite, wodurch so manches in mathematisch präziser Form kam. Viele theoretische Betrachtungen über Elementarmoden entstanden in enger Zusammenarbeit mit Dr. Jörg Stelling. Martin Ginkel half mir beim Optimieren von Teilen des Programmcodes im *FluxAnalyzer*. Dr. Hartmut Grammel weckte mein Interesse für die *Rhodospirillen* und war mein ständiger Ansprech- und Diskussionspartner bei Fragen rund um diese faszinierenden Organismen. Viele Daten und Ergebnisse aus Experimenten, die er zusammen mit Dr. Ruxandra Rehner und Andrea Focke durchführte, flossen in die vorliegende Arbeit ein.

Dank der exzellenten Kaffeemaschine von Renate Müller konnte ich jeden Arbeitstag mit einer Tasse frisch gebrühten Kaffees beginnen. Jeder Wissenschaftler weiß, was das bedeutet.

Last but not least danke ich meiner Familie. Die lange Unterstützung und Förderung meiner Eltern brachte mich überhaupt in die Situation, das Unterfangen einer Promotion angehen zu

können. Meinen speziellen Dank richte ich an meine beiden Frauen: An Grit, für Liebe, Rückhalt und Unterstützung – nicht nur während der Promotion. Und an Svenja, weil sie mich mit leuchtenden Kinderaugen und natürlicher Selbstverständlichkeit immer daran erinnert, daß auch die einfachen Dinge des Lebens größte Freude bereiten.

Magdeburg, April 2005

Steffen Klamt

Für Svenja und Grit

Inhaltsverzeichnis

1	EINFÜHRUNG UND ÜBERSICHT	1
2	GRUNDLAGEN STRUKTURELLER ANALYSEN IN STOFFWECHSELNETZEN	5
2.1	Stoffwechselnetze und ihre mathematische Beschreibung	5
2.2	Strukturbasierte Aussagen zur Existenz, Stabilität und Eindeutigkeit von stationären Zuständen	10
2.3	Graphentheoretische Strukturanalysen	11
2.4	Stationäre Flußverteilungen	15
2.4.1	Nullraum der stöchiometrischen Matrix	15
2.4.2	Optimale Flußverteilungen – Flux Balance Analysis	17
2.4.3	Elementarmoden und Metabole Pathwayanalyse	18
2.4.4	Theoretische Eigenschaften der Elementarmoden, konvexer Flußkegel und Vergleich mit extremen Pathways	22
2.4.5	Metabole Flußanalyse	28
2.5	Erhaltungsrelationen	29
2.6	Zusammenfassende Übersicht über metabolische Strukturanalysen	31
3	ZWEI AUSGEWÄHLTE MODELLSYSTEME DES BAKTERIELLEN ZENTRAL- UND REDOXSTOFFWECHSELS	33
3.1	Organisation des Stoffwechsels in Bakterien	33
3.2	Netzmodell für Stoffwechsel in <i>Escherichia coli</i>	35
3.3	Netzmodell für Stoffwechsel in schwefelfreien Purpurbakterien (<i>Rhodospirillum rubrum</i>)	36
4	FLUXANALYZER: COMPUTERGESTÜTZTE ANALYSE VON STOFFWECHSELNETZEN	41
4.1	Motivation	41
4.2	Konzeption des FluxAnalyzers: Netzwerk-Projekte und interaktive Flußkarten	42
4.3	Konstruktion eines Netzwerk-Projektes	43
4.4	Toolbox: Struktur-, Pathway- und Flußanalyse in Stoffwechselnetzen	46
5	BERECHENBARKEIT VON STATIONÄREN FLÜSSEN IN STOFFWECHSELNETZEN	55
5.1	Berechenbarkeit und Redundanz in metabolischen Flußanalysen	55
5.1.1	Klassifikation von Szenarien: Bestimmtheit und Redundanz	56
5.1.2	Klassifikation von Raten: Spezifische Berechenbarkeit und Redundanz	57
5.1.3	Umsetzung im FluxAnalyzer	59
5.1.4	Beispiele	60
5.2	Verallgemeinerte Berechenbarkeitsanalyse in stationären Reaktionsnetzwerken	61
5.3	Parallelen mit der Beobachtbarkeitsanalyse in der Regelungstechnik	65
5.4	Realisierbarkeit eines Flußszenarios	66
5.5	Anwendungsbeispiel: Redoxbalance im Stoffwechsel der <i>Rhodospirillum rubrum</i>	67
5.5.1	Reduktionsgrad des Substrats, Biomasseausbeute und Netto- CO_2 -Freisetzung	70
5.5.2	Bedeutung des Calvin-Zyklus für die Redoxbalance	72
5.5.3	Zusammenhang zwischen Calvin-Zyklus und reduktiven/oxidativen TCA	74
5.5.4	Calvin-Zyklus, Transhydrogenase und oxidativer Pentosephosphat-Weg	75
5.5.5	Verallgemeinerte Berechenbarkeitsanalyse für phototrophes Wachstum	76
5.5.6	Chemotrophes Wachstum unter aeroben Bedingungen	77
6	KOMBINATORISCHE ELEMENTARMODENANALYSE	79
6.1	Spezifische Selektion einer Teilmenge von Elementarmoden	79

6.2	Flexibilität des Netzes und Relevanz einer Reaktion für vorgegebene Umweltbedingungen	80
6.2.1	Relative Auftrittshäufigkeiten von Reaktionen und Flexibilität eines Szenarios	80
6.2.2	Anwendung auf <i>E. coli</i> : Wachstum auf verschiedenen Substraten	83
6.2.3	Anwendung für Rhodospirillaceae: Phototropher und respirativer Stoffwechsel auf verschiedenen Substraten	87
6.3	Gewichtete Relevanz	90
6.4	Strukturelle Kopplungen zwischen Reaktionen	95
6.5	Kombinatorische Elementarmodenanalyse im FluxAnalyzer	99
7	MINIMALE SCHNITTMENGEN: ELEMENTARE FEHLERMODEN UND EFFIZIENTE EINGRIFFE IN METABOLEN REAKTIONSNETZWERKEN	101
7.1	Definition von minimalen Schnitten	101
7.2	Algorithmus zur Berechnung minimaler Schnittmengen	104
7.3	Anwendungen	108
7.3.1	Identifikation von Targets zur Unterdrückung zellulärer Funktionen	108
7.3.2	Falsifikation der Netzstruktur und Mutanten-Phänotyp-Prädiktionen	108
7.3.3	Strukturelle Fragilität und Robustheit	110
7.3.4	Minimale Maßkombinationen	112
7.3.5	Elimination von Erhaltungsgleichungen	114
7.4	Minimale Schnittmengen in der Risikoanalyse und Graphentheorie	114
8	KOMBINATORISCHE KOMPLEXITÄT DER ELEMENTARMODENBESTIMMUNG	117
8.1	Maximal mögliche Anzahl von Elementarmoden	117
8.2	Realistische Netze: $S \ll S_{max}$	119
8.3	Rechenaufwand	122
9	VON DER STRUKTUR ZUR DYNAMIK: MODELLIERUNG DER ELEKTRONENTRANSPORTKETTE UND DER REDOXREGULATION IN PHOTOSYNTHETISCHEN BAKTERIEN	125
9.1	Physiologie und Modellierung der Elektronentransportkette	125
9.1.1	Die Elektronentransportkette der Rhodospirillaceae	125
9.1.2	Operationsweisen der Elektronentransportkette: Elementarmoden	130
9.1.3	Dynamisches Modell der Elektronentransportkette	131
9.2	Physiologie und Modellierung der Redoxregulation	135
9.3	Modellstudien	139
9.3.1	Simulationen für verschiedene Sauerstoffkonzentrationen und Lichtintensitäten	139
9.3.2	Der Redoxzustand des Ubichinons als integrierendes Signal	143
9.3.3	Zusammenfassung zum dynamischen Modell der ETK	146
10	ZUSAMMENFASSUNG / SUMMARY	147
ANHANG		157
Anhang A:	Stoffwechselnetze <i>Escherichia coli</i> und Rhodospirillaceae	158
Anhang B:	<i>E. coli</i> Deletionsstudien	173
Anhang C:	Elementarmoden mit phototrophem Wachstum der Rhodospirillaceae auf Acetat ohne Einbeziehung des Citramalat-Zyklus	175
Anhang D:	Beispiel zur Berechnung einer gewichteten Relevanz	176
Anhang E:	Theoretische und gemessene Transkriptverhältnisse von Genen des Zentralstoffwechsels in <i>E. coli</i> für die Substratpaare Acetat/Glucose und Glycerin/Glucose	178
Anhang F:	Dynamisches Modell der Elektronentransportkette der Rhodospirillaceae	180
LITERATURVERZEICHNIS		187