

제약조건 대사모델을 기반으로 한 중앙 대사 경로에 관련된 탄소원들에서
성장하는 *Escherichia coli*의 생리학적 거동모사

이성근, 황규석*

부산대학교 화학공학과

(kshwang@pusan.ac.kr*)

**Physiological behavior simulation of *Escherichia coli* growing on carbon sources related to the
central metabolic pathway with constraints-based metabolic models**

Sung Gun Lee, Kyu Suk Hwang*

Department of Chemical Engineering, Pusan National University.

(kshwang@pusan.ac.kr*)

서론

정교한 대사 네트워크의 구축을 위해서는 대사산물, 대사회로, 유전정보 및 단백질-단백질 반응 등의 수많은 자료가 요구된다. 최근 genomics, proteomics, transcriptomics, metabolomics, fluxomics에서 생성된 다량의 omics data와 전산학적 도구의 개발로 미생물 전체의 종합적인 생화학적 대사네트워크를 구축할 수 있게 되었다[2]. 이로 인해서, FBA에 여러 생리학적 조건들을 부가함으로써, 더욱더 정확한 미생물의 거동모사를 할 수 있는 제한조건 대사모델(constraints-based metabolic models)과 이를 이용하여 세포의 생리학적 현상을 컴퓨터상에서 모사할 수 있는 가상 미생물 모델(*in silico* microbe model)에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다.

본 연구에서는 조절 요소들(regulatory protein, genes, effectors etc.) 사이의 관계를 더욱더 직관적이고, 유연하게 표현하기 위해서 가중치(weight)와 정의된 기호로 계층적 조절 네트워크(hierarchical regulatory network)를 모델링하였고, 이를 제약조건 대사모델에 통합하였다. 이 모델링 방법을 기반으로 해서, *E. coli*의 중앙대사경로에 관련된 glucose, succinate, acetate, fumarate, lactate, pyruvate, galactose, mannose, glycerol에서 성장하는 *E. coli*의 생리학적 거동을 모사하고, 이를 실험결과와 비교하였으며, 문헌에 나와있는 파라미터로부터 각 탄소원들의 최대흡수율(maximum uptake rate)를 예측하였다.

본론

1. Construction of hierarchical regulatory network

정의된 기호들로 구성된 계층적 조절 네트워크(Fig. 1)는 조절 단백질들이 어떻게 유전

자들의 세트를 조절하는지 직관적으로 알 수 있다. 이 네트워크는 stimulus, modulon, regulon/operon, gene level, metabolic pathway level로 나눌 수 있다.

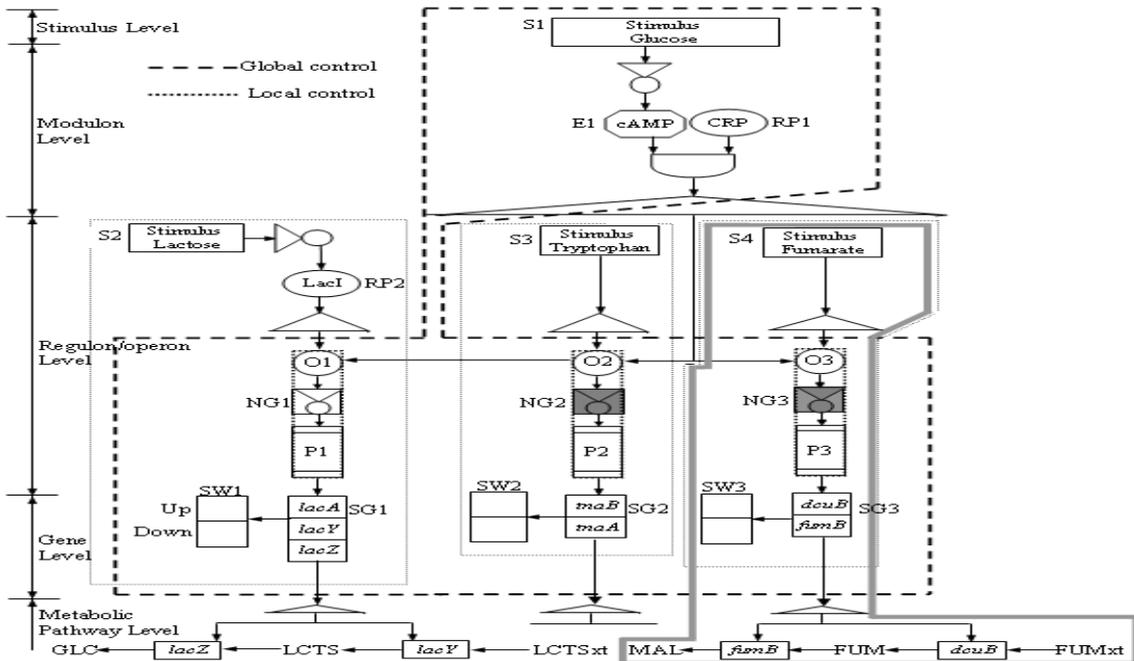


Fig. 1 Hierarchical regulatory network.

2. Combination of hierarchical regulatory network and dynamic simulation module

가상 미생물 시스템은 계층적 유전자 조절 네트워크 모듈과 동적 모사 모듈의 연계를 통하여 이루어진다. 유전자 조절 네트워크는 환경 변화에 따른 조절 단백질(regulatory protein), 오페론 및 유전자의 활성화와 비활성, 단백질의 합성과 분해를 위한 지연시간(delay time)과 같은 정보를 제공하며, 이들 모두는 동적 모사 모듈의 제약조건으로 작용하게 된다. 유전자 및 오페론의 비활성은 대사흐름에 제약조건으로 작용하며, 지연시간은 오페론이 비활성에서 활성화로 변화할 때 발생하고, 세포 성장이 일어나지 않는 구간을 생성시킨다.

동적 모듈 모사에서는 유전자 조절 네트워크에서 생성된 제약조건들을 고려함으로써, 성장을, 세포량, 기질의 농도변화, 그리고 흐름 평균 분석 등을 실시하게 되고, 세포의 외부환경을 나타내는 기질 농도의 time profiles은 환경변화에 민감한 계층적 유전자 조절 네트워크에 환경 변화 시점을 알려준다. 변화된 환경은 다시 계층적 유전자 조절 네트워크에서 새로운 제약조건들을 생성하게 한다. 이렇게 계층적 유전자 조절 네트워크 모듈에서 생성된 정보와 동적 모사 모듈에서 생성된 정보가 서로 연계됨으로써, 가상 미생물 시스템이 실행된다.

결론

1. Growth rate and uptake rate prediction of *E. coli* on growing on single carbon sources

조절 네트워크의 계층적 구조, central metabolic pathway와 parameters의 값들을 이용하여, 시간에 따른 유전자 조절을 모사함으로써, 본 연구에서 제시한 모델링이 설명되어졌다. 우리의 대사모델은 P/O ratio, non-growth associated maintenance value, Aerobic Condition을 각각 1.33, 5.87(mmol ATP/g-DW \cdot h), 15 (mmol/g-DW $^{-1}\cdot$ h $^{-1}$)로 지정[4]하여 *E. coli*의 growth rate와 uptake rate(Table 2)를 예측하였다. Growth rate의 모사결과를 실험값과 비교하였을 때, 거의 유사한 결과(Table 1)를 보였다.

Table 1. Growth rate prediction of *E. coli* on growing on single carbon sources.

Carbon Source	Experimental Date		Simulation Results
	Maximum specific uptake rate (mmol g-DW $^{-1}\cdot$ h $^{-1}$)	Maximum specific growth rate (h $^{-1}$)	Maximum specific uptake rate (mmol g-DW $^{-1}\cdot$ h $^{-1}$)
Glucose	9.8	0.73 ^[3]	0.77
Succinate	17.8	0.44 ^[3]	0.45
Acetate	13.2	0.25 ^[5]	0.27

Table 2. Uptake rate prediction of *E. coli* on growing on single carbon sources.

Carbon source	Experimental Date ^[1]			Simulation Results
	Maximum specific growth rate (h $^{-1}$)	Maximum specific uptake rate of O ₂ (mmol g-DW $^{-1}\cdot$ h $^{-1}$)	By-product quotient	Maximum specific uptake rate (mmol g-DW $^{-1}\cdot$ h $^{-1}$)
Galactose	0.69	17	0.24	7.3
Mannose	0.38	6.8	0	4.6
Glycerol	0.87	21.2 \pm 2.5	0.02	16.6
Pyruvate	0.48	29.9	0.24	14.5
Glycolate	0.21	22.1	0	22

2. Growth of *E. coli* on a mixture of glucose and fumarate, and lactate and fumarate

세포외부환경에 세포 외부환경에 glucose와 fumarate가 있는 경우에, glucose와 fumarate환경에서는 catabolite repression에 의해서 전형적인 이단계적 성장을 보였다. t=0(h)에서 t=4.8(h)에서 glucose가 대사되었다. t=4.8(h)에서 t=5.0(h)에서는 alternate carbon source인 fumarate를 대사하기 위한 gene들이 발현된 후, t=5.0(h)에서 fumarate가 대사되기 시작하였다. 또한 lactate와 fumarate의 경우에 동시에 두 탄소원들이 t=6.23(h)까지 대사하였고, 6.23(h)이후로 fumarate만 탄소원으로 이용되었다. 이러한 생리학적 거동을 모사하기 위한 maximum specific uptake rate가 문헌[2, 3]으로부터 획득되어 졌으며, 모사결과와 실험결과가 거의 유사한 결과를 보였다(Fig. 2).

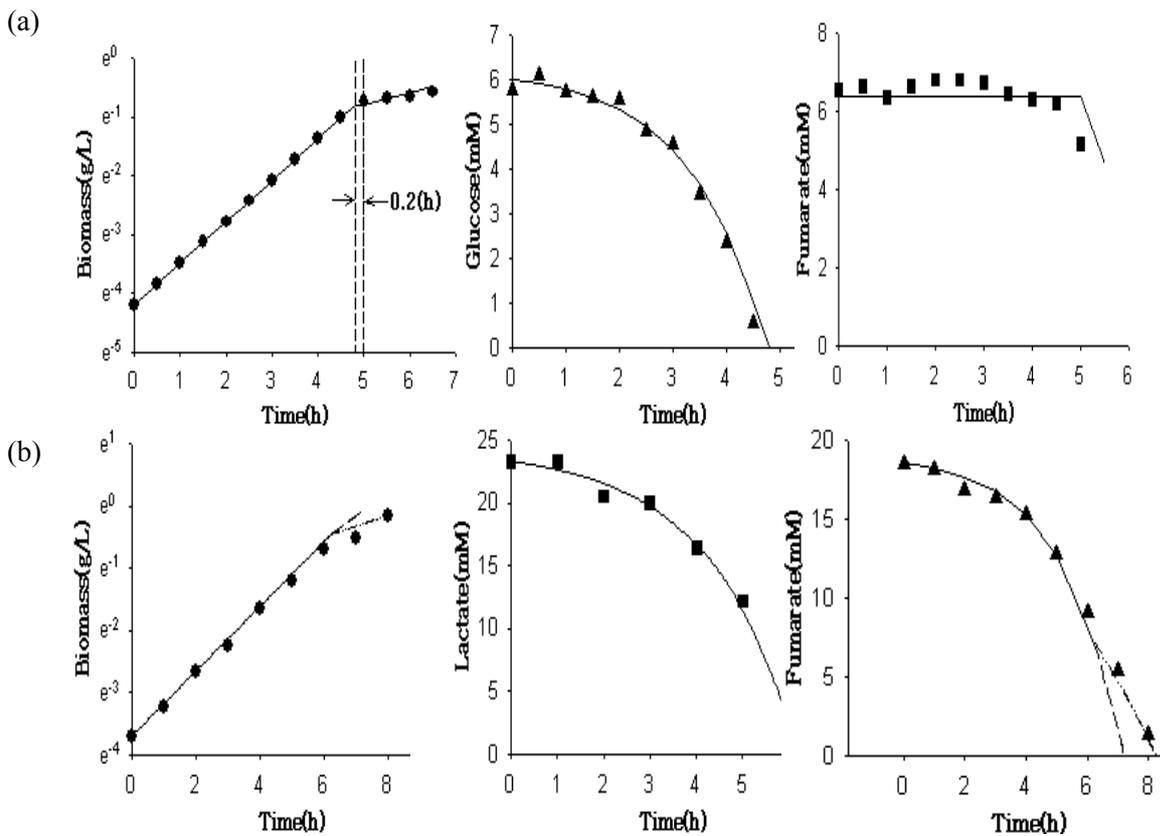


Fig. 2. Growth of *E. coli* on a mixture of glucose and fumarate(a), and fumarate and lactate(b).

참고문헌

- [1] Andersen, Klaus B. and Kaspar von Meyenburg, 1980. "Are growth rates of *Escherichia coli* in batch cultures limited by respiration?", *Journal of Bacteriology*, **144**:114-123.
- [2] Lee, Sung Gun, San il Han, Kyung-Hoon Kim, Young Han Kim, and Kyu Suk Hwang, 2005. "Modeling of *in silico* microbe system based on the combination of a hierarchical regulatory network with metabolic network", *Journal of Control, Automation, and Systems Engineering*, **11**: 843-850.
- [3] Narang, A., A. Konopka, and D. Ramkrishna, 1997. "New patterns of mixed-substrate utilization during batch growth of *Escherichia coli* K12," *Biotechnology and Bioengineering*, **5**: 747-757.
- [4] Varma, Amit, Brian W. Boesch, and Bernhard O. Palsson, 1993. "Stoichiometric interpretation of *Escherichia coli* glucose catabolism under various oxygenation rates", *Applied and Environmental Microbiology*, **59**: 2465-2473.
- [5] Edwards, Jeremy S., Rafael U. Ibarra, and Bernhard O. Palsson, 2001. "In silico predictions of *Escherichia coli* metabolic capabilities are consistent with experimental data", *Nature Biotechnology*, **19**: 125-130.