

Dipl.-Ing. Michael Baltes, Müllheim

**Entwurf eines metabolisch
strukturierten Modells zur
dynamischen Simulation
des Katabolismus von
*Saccharomyces cerevisiae***

Reihe **17**: Biotechnik

Nr. **148**

Inhaltsverzeichnis

| | |
|---|------|
| Symbolverzeichnis | VIII |
| Abkürzungen | VIII |
| Lateinische Buchstaben | X |
| Griechische Buchstaben | XIV |
| | |
| Zusammenfassung | XVI |
| | |
| 1.0 Einleitung | 1 |
| | |
| 2.0 Physiologie der Hefe <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | 4 |
| 2.1 Katabolischer Stoffwechsel | 6 |
| 2.1.1 Glycolyse (Emden-Meyerhof-Parnas-Weg) | 7 |
| 2.1.2 Pentosephosphatzyklus | 9 |
| 2.1.3 Tricarbonsäurezyklus | 11 |
| 2.1.4 Atmungskette | 12 |
| 2.2 Regulationsphänomene des Katabolismus | 14 |
| 2.3 Biosynthese nieder- und hochmolekularer Bausteine | 16 |
| | |
| 3.0 Modelle für das Wachstum von <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | 22 |
| 3.1 Unstrukturierte Modelle | 23 |
| 3.2 Segregierte Modelle | 24 |
| 3.3 Strukturierte Modelle | 26 |
| 3.3.1 Modelle mit Verzögerungsfunktionen | 26 |
| 3.3.2 Berücksichtigung interner Metabolitkonzentrationen | 27 |
| 3.4 Beschreibung von Oszillationen in der Glycolyse | 29 |
| | |
| 4.0 Modellbildung | 31 |
| 4.1 Modellstruktur und Bilanzgleichungen | 31 |
| 4.2 Reaktionskinetische Ansätze | 34 |
| 4.2.1 Permease | 36 |

| | |
|---|-----------|
| 4.2.2 Hexokinase | 37 |
| 4.2.3 Glucosephosphat-Isomerase | 38 |
| 4.2.4 Phosphofruktokinase | 39 |
| 4.2.5 Aldolase | 41 |
| 4.2.6 Triosephosphat-Isomerase | 42 |
| 4.2.7 Reaktionsschritt: RES,2 | 42 |
| 4.2.8 Pyruvatkinase | 44 |
| 4.2.9 Pyruvat-Decarboxylase | 44 |
| 4.2.10 Alkoholdehydrogenase | 45 |
| 4.2.11 Aldehyd-Dehydrogenase | 45 |
| 4.2.12 Reaktionsschritt RES,1 | 46 |
| 4.2.13 Pyruvatdehydrogenase | 46 |
| 4.2.14 Adenylatkinase | 47 |
| 4.2.15 Reaktionsraten der Biosynthese | 48 |
| 4.2.16 Transport über die mitochondriale Membran | 49 |
| 4.2.17 Reaktionsraten in den Mitochondrien | 51 |
| 4.3 Intrazelluläre Bilanzen | 54 |
| 4.4 Stoffbilanzen der Flüssigphase | 58 |
| 4.5 Stoffbilanzen der Gasphase | 60 |
| 5.0 Werkzeuge für die Modellverifikation und Modellanalyse | 61 |
| 5.1 Methode der kombinierten Parameteranalyse | 62 |
| 5.2 Analyse der Identifikationsgüte | 65 |
| 5.2.1 Das Schätzproblem | 66 |
| 5.2.2 Die Fisher-Informationsmatrix | 67 |
| 5.2.3 Kriterien zur Bewertung der Identifikationsgüte | 69 |
| 6.0 Vergleich zwischen Modell und Experiment | 72 |
| 6.1 Durchführung der Experimente | 72 |
| 6.2 Analyse der stationären Zustände | 74 |
| 6.2.1 Anfangsbedingungen | 74 |
| 6.2.2 Abschätzung der Maximalraten anhand der stationären Stoffflußanalyse | 76 |
| 6.2.3 Stationäre Flüsse | 78 |
| 6.2.3.1 Stoffflüsse der Biosynthese | 79 |

VII

| | | |
|-------------------|---|------------|
| 6.2.3.2 | Abzweigende Stoffflüsse zur Bildung von Ethanol, Acetat, Glycerin | 85 |
| 6.2.3.3 | Stoffflüsse der Co-Metabolite | 86 |
| 6.2.3.4 | Sauerstoffverbrauch und CO ₂ -Bildung | 87 |
| 6.2.4 | Ergebnisse | 88 |
| 6.3 | Analyse der dynamischen Zustände | 93 |
| 6.3.1 | Methode der In-Vivo-Diagnose | 93 |
| 6.3.1.1 | Dekomposition des Modells in Submodelle | 93 |
| 6.3.1.2 | Methode der "Top-Down-Classification" | 99 |
| 6.3.1.3 | Zusammenfassende Darstellung der In-Vivo-Diagnose | 103 |
| 6.3.2 | Ergebnisse | 104 |
| 6.4 | Optimale Versuchsplanung für die Analyse metabolischer Netzwerke | 117 |
| 6.4.1 | Methodik | 117 |
| 6.4.2 | Ergebnisse | 121 |
| 7.0 | Analyse der Sensitivitäten von metabolischen Netzwerken | 124 |
| 7.1 | Methoden zur Analyse stationärer metabolischer Netzwerke | 124 |
| 7.2 | Analyse dynamischer Netzwerke mit Hilfe der kombinierten Sensitivitätsanalyse | 127 |
| 7.2.1 | Reduktion der Zahl kinetischer Parameter | 128 |
| 7.2.2 | Interpretation der dynamischen Regulation auf der Basis des reduzierten Modells | 133 |
| 7.2.3 | Identifikation der den Stofffluß limitierenden Enzyme | 135 |
| Anhang | | 142 |
| Anhang A | Stöchiometriegleichungen | 142 |
| Anhang B | Identifikationsergebnisse | 146 |
| Anhang C | Modellparameter | 158 |
| Anhang D | Reduzierte reaktionskinetische Ansätze | 166 |
| Schrifttum | | 171 |