

# 化学量論に基づく代謝経路の探索

太田潤<sup>†1,a)</sup>

**概要**：細胞内の酵素反応の化学量論情報から算出される elementary flux mode と extreme pathway は、その一次結合により酵素反応の、細胞内の代謝産物濃度を変化させない流速分布を生じるベクトルであり、反応の集合としての代謝経路に対応する。本稿では elementary flux mode と extreme pathway の考え方を説明し、その算出による Calvin-Benson 回路の理論的に可能な新しい variant の発見を紹介する。

**キーワード**：代謝ネットワーク, elementary flux mode, extreme pathway

## Exploring for metabolic pathways based on stoichiometry

JUN OHTA<sup>†1,a)</sup>

### 1. はじめに

ある細胞が代謝定常状態（代謝産物濃度が変化しない状態）であるための条件は、細胞内の酵素反応と代謝産物の流入・流出の流速分布を未知数とし、それらの酵素反応の化学量論式と同じ値の係数を持つ、斉次の連立一次方程式として表現される。したがって、代謝定常状態にある細胞における酵素反応と代謝産物の流入・流出の流速分布は、この斉次の連立一次方程式の解空間を構成する基底ベクトルの一次結合として表現される。この解空間は物理化学的に実現不可能な流速（不可逆反応の流速が負である）を含む可能性があるが、物理化学的に実現可能なあらゆる流速分布を非負係数の一次結合により生成し得るベクトルとして elementary flux mode と extreme pathway が提案されている [1,2]。elementary flux mode と extreme pathway は、代謝定常状態を維持するような最小数の反応の集合としての代謝経路に対応する。反応の集合としての elementary flux mode と extreme pathway からどの反応を除いても代謝定常状態は維持されなくなる。本稿では“2. 化学量論に基づく代謝定常状態の数学的表現と elementary flux mode, extreme pathway”において elementary flux mode と extreme pathway の2つの側面（流速分布を一次結合により生成するベクトルとしての側面と代謝経路としての側面）の関係を説明し、“3. 化学量論に基づく代謝経路の探索の例”において、elementary flux mode と extreme pathway の算出による Calvin-Benson 回路の理論的に可能な新しい variant の発見 [3] を紹介する。”

### 2. 化学量論に基づく代謝定常状態の数学的表現と elementary flux mode, extreme pathway

3種類の反応（酵素反応）と1種類の代謝産物の流入・1種類の代謝産物の流出からなる系（図1）において代謝定

常状態を与える流速分布を求めることを考える。図1においては、M1, M2, M3は代謝産物であり、そこに見られる反応は、下記の反応1, 反応2, 反応3である。

反応1：M1→M2

反応2：M2→M3

反応3：M1→M3

また、 $v_1$ ,  $v_2$ ,  $v_3$ ,  $b_1$ ,  $b_2$ は下記の速度を示す。

$v_1$ ：反応1の反応速度

$v_2$ ：反応2の反応速度

$v_3$ ：反応3の反応速度

$b_1$ ：M1の流入速度

$b_2$ ：M3の流出速度

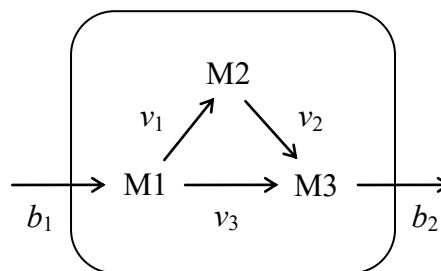


図1

系が代謝定常状態にある（M1, M2, M3の濃度が変化しない）とき、下記の(1), (2), (3)が成り立つ。

(1)  $b_1 = v_1 + v_3$  (M1の濃度が一定)

(2)  $v_1 = v_2$  (M2の濃度が一定)

(3)  $v_2 + v_3 = b_2$  (M3の濃度が一定)

(1), (2), (3)は、3つの方程式に対して未知数が5つある斉次の連立一次方程式である。図1の系の代謝定常状態における流速分布を求めることは、この斉次の連立一次方

†1 岡山大学 学術研究院医歯薬学域（医）生化学分野  
a) jo25@md.okayama-u.ac.jp

式の  $v_1, v_2, v_3, b_1, b_2$  が非負であるような解空間を探索することである。

(2) より

$$(4) \quad v_1 = 1 \times v_2 + 0 \times v_3$$

明らかに

$$(5) \quad v_2 = 1 \times v_2 + 0 \times v_3$$

$$(6) \quad v_3 = 0 \times v_2 + 1 \times v_3$$

(2) を (1) に代入して

$$(7) \quad b_1 = 1 \times v_2 + 1 \times v_3$$

(3) より

$$(8) \quad b_2 = 1 \times v_2 + 1 \times v_3$$

(4), (5), (6), (7), (8) をまとめると

$$(v_1, v_2, v_3, b_1, b_2) = v_2 \times (1, 1, 0, 1, 1) + v_3 \times (0, 0, 1, 1, 1)$$

ここで,  $v_2$  を  $p$ ,  $v_3$  を  $q$  とおくと

$$(v_1, v_2, v_3, b_1, b_2) = p \times (1, 1, 0, 1, 1) + q \times (0, 0, 1, 1, 1)$$

と書けるが,  $p$  が負の値になると, 反応速度である  $v_2$  が,  $v_2 = p < 0$  となるので,  $p$  は 0 以上に限られ,  $q$  が負の値になると, 反応速度である  $v_3$  が,  $v_3 = q < 0$  となるので,  $q$  も 0 以上に限られる. すなわち, 可能な  $(v_1, v_2, v_3, b_1, b_2)$  は, すべてが  $(1, 1, 0, 1, 1)$  と  $(0, 0, 1, 1, 1)$  の非負係数の  $(p, q)$  が 0 以上の一次結合 (線形結合) として表現できる.

ところで,  $(1, 1, 0, 1, 1)$  は

$$(v_1, v_2, v_3, b_1, b_2) = (1, 1, 0, 1, 1)$$

すなわち,

$$v_1 = 1, v_2 = 1, v_3 = 0, b_1 = 1, b_2 = 1$$

の状態 (M1, M2, M3 の濃度を変化させない) であり,



(M1 の流入  $\rightarrow$  反応 1  $\rightarrow$  反応 2  $\rightarrow$  M3 の流出)

に対応する.

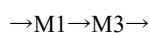
また,  $(0, 0, 1, 1, 1)$  は

$$(v_1, v_2, v_3, b_1, b_2) = (0, 0, 1, 1, 1)$$

すなわち,

$$v_1 = 0, v_2 = 0, v_3 = 1, b_1 = 1, b_2 = 1$$

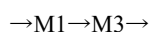
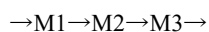
の状態 (M1, M2, M3 の濃度を変化させない) であり,



(M1 の流入  $\rightarrow$  反応 3  $\rightarrow$  M3 の流出)

に対応する.

したがって, 系の (M1, M2, M3 の濃度を変化させない) 代謝定常状態は, すべてが 2 経路



の組み合わせとして理解できる. これらの 2 経路は, 系への流入を許された M1 を原料として系からの流出を許された M3 を生成する経路となっている.

$(1, 1, 0, 1, 1)$  と  $(0, 0, 1, 1, 1)$  が, 図 1 の系の elementary flux mode でありかつ extreme pathway である.  $(1, 1, 0, 1, 1)$  と  $(0, 0, 1, 1, 1)$  は斉次の連立一次方程式 (1), (2), (3) の解空間の基底であるが, (1), (2), (3) の解空間の基底すべてが elementary flux mode と extreme pathway になり得る (代謝経路に対応付けられる) わけではない. (1), (2), (3) の解空間の基底が elementary flux mode や extreme pathway である (代謝経路に対応付けられる) ためには, その成分がすべて非負である必要がある. ある elementary flux mode が他の elementary flux mode の一次結合として表現されることはあり得るが, ある extreme pathway が他の extreme pathway の一次結合として表現されることはあり得ない. extreme pathway の集合は elementary flux mode の集合の部分集合である. 系が不可逆反応のみからなる場合, elementary flux mode (の集合) と extreme pathway (の集合) は完全に一致する [4,5].

$v$  で  $(v_1, v_2, v_3, b_1, b_2)$  を,  $S$  で化学量論係数行列

$$\begin{bmatrix} -1 & 0 & -1 & 1 & 0 \\ 1 & -1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 1 & 0 & -1 \end{bmatrix}$$

を表すと, 斉次の連立一次方程式 (1), (2), (3) は,

$$S \cdot v = 0$$

と表現できる. 化学量論係数行列の 1 行目から 3 行目はそれぞれ M1, M2, M3 に, 1 列目から 5 列目はそれぞれ  $v_1, v_2, v_3, b_1, b_2$  に対応する.

### 3. 化学量論に基づく代謝経路の探索の例 [3]

前項では特定の酵素反応, 特定の代謝産物の流入, 特定の代謝産物の流出のみが許される系を設定すると, 系への流入が許された代謝産物を原料として系からの流出が許された代謝産物を生成する経路が elementary flux mode あるいは extreme pathway として求まることを述べた. この方法を Calvin-Benson 回路による  $\text{CO}_2$  からの glyceraldehyde 3-phosphate (GAP) 生成経路に応用した. Calvin-Benson 回路は重要な炭酸固定経路である. Calvin-Benson 回路としては, 一般の教科書に記載されている canonical な回路以外に, transaldolase による sedoheptulose 7-phosphate (S7P) 生成反応が関与する回路 (本稿で S7P-forming transaldolase variant と呼ぶもの) が知られている. canonical な Calvin-Benson 回路を構成する 13 種類の酵素反応とそれらの逆反応, transaldolase 反応の正反応と逆反応,  $\text{CO}_2$  の流入, GAP の流出のみが許される系を設定して elementary flux mode, extreme pathway を求めた. 計算には ExPA [6] を用いた.

elementary flux mode と extreme pathway が一致するよう、計算上、系内の酵素反応は何れも正反応と逆反応を別の反応として取り扱った。

計算を行うと、既に知られている canonical な Calvin-Benson 回路と S7P-forming transaldolase variant 以外に、transaldolase を S7P 生成とは逆向きの S7P 除去の向きに利用する回路（本稿で S7P-removing transaldolase variant と呼ぶもの）が elementary flux mode, extreme pathway として算出された [6]。3 分子の CO<sub>2</sub> から 1 分子の GAP が生成する経路において、S7P-removing transaldolase variant は、transaldolase を S7P 除去の方向に利用するとともに aldolase による sedoheptulose 1,7-bisphosphate (SBP) 生成反応, SBP から S7P を生成する sedoheptulose 1,7-bisphosphatase (SBPase) 反応をそれぞれ 2 回利用するが aldolase による fructose 1,6-bisphosphate (FBP) 生成反応, FBP から fructose 6-phosphate (F6P) を生成する fructose 1,6-bisphosphatase (FBPase) 反応を利用しない経路であった。それに対して、canonical な Calvin-Benson 回路は、aldolase による FBP 生成反応, FBP から F6P を生成する FBPase 反応, aldolase による SBP 生成反応, SBP から S7P を生成する SBPase 反応をそれぞれ 1 回利用する経路であり、S7P-forming transaldolase variant は、transaldolase を S7P 生成の方向に利用するとともに aldolase による FBP 生成反応, FBP から F6P を生成する FBPase 反応をそれぞれ 2 回利用するが aldolase による SBP 生成反応, SBP から S7P を生成する SBPase 反応を利用しない経路であった。

化学量論に基づき elementary flux mode と extreme pathway を算出することにより、確立した経路と一般にみなされている Calvin-Benson 回路の理論的に可能な新しい variant が見つかった。化学量論に基づく elementary flux mode と extreme pathway の算出は代謝経路の探索のために有効な方法であると考えられる。

## 参考文献

- [1] Schuster, S.; Hilgetag, C. On elementary flux modes in biochemical reaction systems at steady state. *J. Biol. Syst.* **1994**, *2*, 165-182. DOI: 10.1142/S0218339094000131.
- [2] Schilling, C. H.; Palsson, B. Ø. The underlying pathway structure of biochemical reaction networks. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **1998**, *95*, 4193-4198. DOI: 10.1073/pnas.95.8.4193.
- [3] Ohta, J. A novel variant of the Calvin-Benson cycle bypassing fructose bisphosphate. *Sci. Rep.* **2022**, *12*, 3984. DOI: 10.1038/s41598-022-07836-7.
- [4] Palsson, B. Ø. *Systems Biology: properties of reconstructed networks*. Cambridge University Press. **2006**. ISBN-13: 978-0-521-85903-5; ISBN-10: 0-521-85903-4.
- [5] 江口至洋 細胞のシステム生物学. 共立出版, **2008**. ISBN: 978-4-320-05669-5.
- [6] Bell, S. L.; Palsson, B. Ø. expa: A program for calculating extreme pathways in biochemical reaction networks. *Bioinformatics.* **2005**, *21*, 1739-1740. DOI: 10.1093/bioinformatics/bti228.