

代谢网络流分析进展及应用

陈琦, 王卓*, 魏冬青*

上海交通大学生命科学技术学院, 上海 200240

* 联系人, E-mail: zhuowang@sjtu.edu.cn; dqwei@sjtu.edu.cn

2009-04-26 收稿, 2009-07-21 接受

国家自然科学基金(30800199, 20773085, 30770502)和国家高技术研究发展计划(2007AA02Z333)资助项目

摘要 代谢网络的研究已经成为系统生物学研究的一个热门话题, 基于代谢网络流分析的方法在寻求生物体代谢网络特征中具有很重要的作用. 回顾了几种主要的代谢网络静态分析方法如: 流平衡分析(FBA)、代谢调节最小化分析(MOMA)、调节的开关最小化(ROOM)、含有二次线性规划的动态流平衡分析方法(DFBA-LQR)等. 另外, 介绍了几种常用的代谢网络流分析软件, 如 FluxAnalyzer, COBRA Toolbox, PathwayAnalyser, 并对这些软件的性能进行了比较. 代谢网络的研究不仅能使人们更好地了解代谢网络性质, 也在很多方面得到了应用, 将代谢网络流分析和其他生化数据分析方法整合起来的理念逐渐形成并已有进展, 如代谢流与基因表达调控的结合、代谢流对蛋白质进化的影响、代谢流与拓扑特征的关联分析、代谢工程优化改造等. 今后的研究方向可以将代谢流分析与网络拓扑特征分析以及动态建模等结合起来以获得更全面更准确的代谢网络性质.

关键词

代谢网络
流平衡分析
代谢调节最小化分析
基因调控
拓扑特征

1 代谢网络研究及现状

代谢网络是决定细胞生理、生化特性的一整套代谢过程和物理过程. 正因如此, 代谢网络包含与代谢物相关的一系列化学反应以及引起这些反应的用于调节的一系列相互作用. 代谢网络理论把这些反应和相互作用看成是一个完备的整体, 从网络的层面上进行分析和研究, 而不是孤立地进行考虑. 从 20 世纪 70 年代开始, 对于代谢网络的研究逐渐成为生物学的热点问题之一. 一方面, 对代谢网络拓扑性质、代谢流、代谢途径等网络特性的研究, 使得人们能了解代谢网络的形成和演化, 并且更好地认识生命体进化的过程. 另一方面, 通过对代谢网络的研究人们能更好地了解生物体代谢过程, 并利用这一过程促进药物设计、发酵工程和微生物工程等产业的发展.

随着基因组测序技术的迅速发展, 完整的基因

序列信息、高通量的实验技术和生物工程理论的基础使得我们能利用已知生物体的一系列生化反应, 将从细菌到人类等不同生物的代谢网络完整地重建出来. 目前许多生物代谢网络已经构造完成并且可以通过在线互连网络获得相关的信息, 其中比较著名和常用的代谢反应数据库有: 京都基因与基因百科全书 KEGG(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) (<http://www.genome.ad.jp/kegg>)^[1], 美国 Argonne 国家实验室 WIT(WhatIsThere) 系统 (<http://wit.mcs.anl.gov/WIT/>), 关于大肠杆菌 *E. coli* 所有代谢反应信息的 EcoCyc 数据库(<http://ecocyc.org>), BioCyc(<http://biocyc.org/>)等. 利用这些信息内容丰富并逐渐完善的数据库, 代谢途径、基因表达、蛋白质序列等网络构建和研究所需要的信息也能快速准确并且大批量的获得, 这些数据库已成为代谢网络研究的基础和强有力工具之一.

对于研究并模拟代谢活动的特征和性质,代谢网络无疑是一种强大的工具,目前对于代谢网络的研究方法也层出不穷,主要可以分为静态分析和动态分析两种.静态分析方法主要是基于网络拓扑结构的分析,研究代谢网络的静态方法主要有:Schilling等人^[2,3]提出的流平衡分析方法(flux balance analysis),Schilling和Dandekar等^[4]提出的基于凸分析的基元模式方法(elementary flux mode analysis),Schuster等人^[5-8]提出的同样是基于凸分析的极端途径方法(extreme pathway analysis),以及Jeong等^[9,10]提出的图论方法(graph theory).基于动力学信息的代谢网络的动态分析方法主要有控制论模拟方法(cybernetic modeling)^[11]、代谢控制分析(metabolic control analysis)^[12].目前对于大规模代谢网络来说,大量的反应动力学参数和代谢物浓度参数是未知的,不利于采用动态分析方法进行研究.所以研究代谢网络,尤其是大规模代谢网络的主要方法是基于网络拓扑的静态分析方法.

2 代谢流分析方法及原理

2.1 流平衡分析方法(FBA)

Schilling等人^[2,3]提出用流平衡分析(FBA)的方法来预测当满足某一个目标代谢物产量最高的条件下,整个代谢网络中的流分布情况.FBA方法假设生

物体在进化过程中自身的一系列生化网络在外界不断变化的环境下能不断地自我调整和优化,然后利用数学模型将网络自我调整优化的性质模拟出来.图1给出了流平衡模型的构建和计算步骤^[13].

(1) 系统定义.定义所研究的系统内所有反应和代谢物.图中A, B, C为反应物; v_1, v_2, v_3, v_4 为内部反应,其中 v_2, v_3 为可逆反应; b_1, b_2, b_3 为外部交换反应.

(2) 质量守恒.根据每个反应的流和化学计量系数列出所有代谢物的质量守恒方程,构成一个常微分方程组.图中化学计量矩阵为S、流矩阵为v、在稳态中可以得到: $S \cdot v = 0$.

(3) 定义可测量的代谢流.由于反应的数目多于代谢物的数目,使得未知数的个数多于方程的个数,理论上是无法求解所有代谢流的.因此需要加入一些约束条件,一般给出某些反应流的值或范围作为约束,如化学计量信息、热力学信息、代谢能力约束等.

(4) 目标优化.给定目标函数,用线性规划的方法寻找最优的代谢流分布,不同的目标函数可能得到不同的最优解.图中定义目标函数Z,如化合物产量最大化.

总之,流平衡分析是一种基于约束的代谢网络分析方法,通过加入代谢网络的化学计量信息、热力学信息、代谢能力约束等,系统的行为可被约束在一

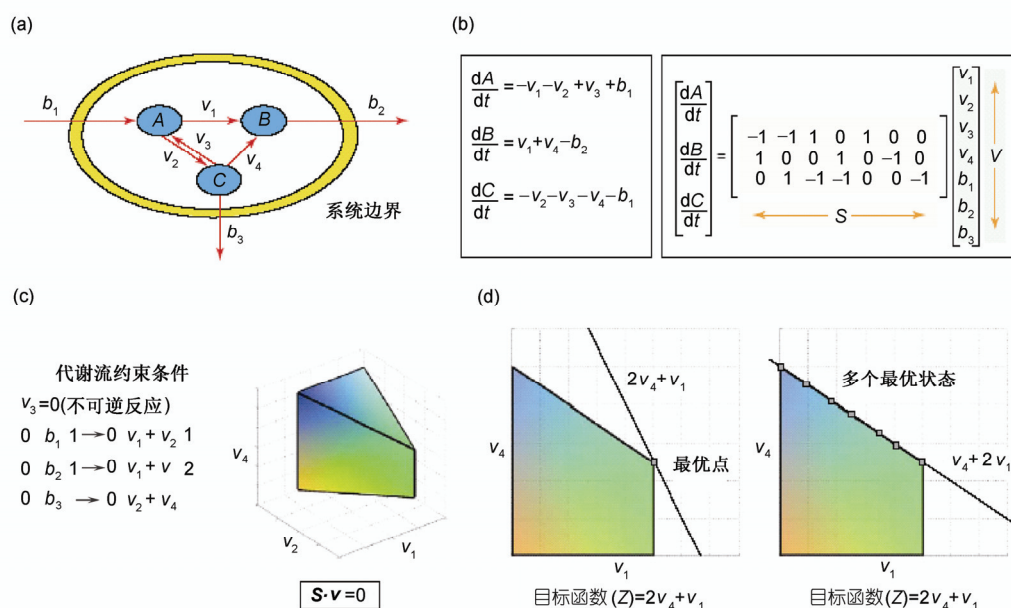


图1 流平衡模型的构建和计算步骤^[13]

个封闭的解空间内,然后通过线性规划即可得到最优解. FBA的目的是计算系统在稳定状态下所有的代谢流,预测在满足某个目标物产量最高的条件下,整个代谢网络内的流分布. 流平衡分析可以不依赖于反应动力学常数等信息,但如果具有较准确的动力学参数信息,也可以将其融合到网络分析中去.

2.2 代谢调节最小化分析(MOMA)

正常野生型能在选择压力下准确地从所有可行的生长方案中找到最优方法并朝着该状态进化,但是基因敲除型在功能上不能进行类似的优化选择. FBA方法的局限性就在于,它并没有考虑到在突变情况下系统的最优化目标可能会发生变化. 实际上当系统遇到扰动后,如环境压力、基因突变等,代谢网络通常不能立刻调控代谢流的分布来继续保持目标函数的最优.

为了更好地了解发生扰动时的系统流分布情况,2002年哈佛大学系统生物学系的 Segre 等人^[14]提出了代谢调节最小化(minimization of metabolic adjustment, MOMA)思想. 该方法的假设是,代谢网络在有扰动的影响下会对系统做出调整来维持生存,而这种调整使系统在调整后,其流分布状态与野生型情况下相比发生的变化最小. MOMA 利用二次规划的方法寻求与用 FBA 分析得到的正常野生型最优流分布之间欧几里德距离最小的流状态,并将其作为扰动后的网络状态. 事实上 MOMA 方法也就是计算与基因敲除前的最佳流分布状况最接近的可行的解^[15].

MOMA 方法被成功地用于预测大肠杆菌基因敲除后的网络可行性并定量分析流分布状况,这个实验在使用 FBA 方法计算时并不能得到理想的结果^[16]. 除此之外, MOMA 也是十分实用型的工具,可以用来约束代谢产量等,基于 MOMA 方法的基因敲除的模拟在提高番茄红素的生产量、有效抗氧化剂化合物、大肠杆菌的试验中都被证实具有良好的改善外界扰动的能力. 大量结果表明 MOMA 的结果优于 FBA.

2.3 ROOM

ROOM(regulatory on/off minimization)是一种新开发出的确定扰动后代谢流状况的分析方法^[17],该方法寻找与正常野生型流分布状况相比具有显著流值改变的数目最小的解,用它来作为扰动后的代谢流分布,这里“显著”是指用户在考虑可行的计算时间的前提下所指定的一系列阈值. 实验证实 ROOM

准确地预测了大肠杆菌在基因敲除等扰动后,经过一段时间所计算出的调整的流分布.

MOMA 方法与 ROOM 方法有一个共同的特点,它们都是寻求距离最小的调整来满足扰动后的网络流分布,不同的距离的定义会产生不同的计算结果,如 MOMA 中使用欧几里德距离,ROOM 中使用的是发生变化的流的数目^[18]. 在一般的计算中研究人员还可以自行定义其不同的距离,根据实际情况寻求最适合的求解方法.

2.4 DFBA-LQR

由于 FBA 是一种静态分析方法, Mahadevan 等人^[19]提出了动态流平衡分析方法(dynamic flux balance analysis, DFBA),这种方法利用代谢反应的计量信息来计算某一时间的流分布情况,但是这种方法具有一定的局限性,如在构建模型时需要部分重要反应的参数等. 因此 Uygun 和 Matthew 等人^[20]在 DFBA 的基础上提出将最优控制理论和改进的二次线性规划方法相结合,用来估计给定的代谢模型经过调整后的代谢网络流分布情况,这种方法被称为基于二次线性规划调节器的流平衡分析方法 DFBA-LQR(dynamic flux balance analysis with linear quadratic regulator). 该方法能实现对于动态流平衡模型的构建、分析扰动后代谢流的反应,也能用来计算流控制系数和系统的线性化反应动力学. 通过老鼠肝细胞环境下油脂生成的网络构建和模拟,该方法被证实具有很好的应用价值.

3 流平衡分析常用软件

3.1 CellNetAnalyzer/FluxAnalyzer

由德国马格德堡马普复杂技术系统动力学研究所 Gilles 教授系统生物学小组的 Klamt 等人开发的 CellNetAnalyzer/FluxAnalyzer 软件是基于 MATLAB 的软件包^[21],能在不依赖于动力学参数的情况下,为生化网络和细胞网络的结构和功能分析提供一个全面的、用户友好的环境. 该软件将抽象的网络模型与可视的网络相连以实现软件的可视化和交互式,用户可以在交互式网络图上输入数据或显示计算机结果,也可以通过图形用户界面上的菜单控制选项选择所需要的计算和分析方法. 此外该软件还具有强大的工具箱和算法,如代谢流分析、流优化、拓补性质检测、基元模式或极端途径方法等.

CellNetAnalyzer 是 FluxAnalyzer 5.3 的继承和进一步发展。后者最初是用来分析大规模代谢网络结构的, CellNetAnalyzer 扩展了 FluxAnalyzer, 使其能分析信号调控网络的特性。FluxAnalyzer 的图形化界面使得操作起来十分简单。该软件发展较早, 所以它的技术十分成熟, 功能比较其他同类软件来说也更加强大, 并且该软件基于 MATLAB 环境, 具有较强的应用能力。

3.2 哈佛大学基于 OAA 代理的 BioSPICE MOMA

Bio-SPICE 全称是 Biological Simulation Program for Intra- and Inter- Cellular Evaluation, 是为了研究系统生物学所设计的开源的软件工具集, 它能帮助生物学家对细胞的各种时间上、空间上的过程进行建模和模拟^[22,23]。该软件利用 OAA agent(Open Agent Architecture)实现对 BioSPICE MOMA 客户机和服务器的使用, 如果服务器和客户机在同一个 OAA 代理下注册, 它们可以在不同的计算机上运行, 例如服务器在 Linux 系统下执行, 客户机在 Windows 系统下执行。此外该软件所提供的图形化用户界面是用 JAVA 语言编写的, 用户可以选择一些模拟参量, 执行 MOMA Perl 程序, 读取输出量。

Bio-SPICE 提供图形化界面, 便于用户操作; 数据直接由表格形式列出, 较为直观, 并且整合了 FBA, MOMA 两种代谢网络分析方法使得分析更全面。它与其他软件的最大区别是该软件是基于服务器、客户机的分布式操作模式, 可以在不同的计算机上实现运算。但是由于该软件是基于 Java 环境和 Perl 语言的, 实际操作起来比较复杂。

3.3 COBRA Toolbox

Palsson 和 Herrgard 小组于 2007 年设计了一个基于约束的构建分析软件 COBRA Toolbox(CONstraint-Based Reconstruction and Analysis Toolbox)^[24], 这个软件包可以运行于 MATLAB 的环境下, 能用基于约束的方法对细胞行为进行量化预测, 用户可以输入 SBML 格式的代谢网络模型, 通过一些简单的命令语句对网络进行构建和分析, 这个软件的特点是具有强大的分析功能如: 稳态系统、产量的动态优化、基因敲除分析、系统稳健性、网络模块化分析等。

3.4 FluxExplorer

FluxExplorer 是上海生物信息技术研究中心开发

的一个图形化的代谢网络建模分析平台^[25]。用户只需在用户窗口界面进行简单的操作, 就能构建出所需要的代谢网络模型, 如圆圈表示代谢物, 短竖线表示反应, 箭头标记反应进行的方向。图形中所有的节点都可根据用户的需要而移动, 相关参数可通过软件提供的公式编辑器输入。

FluxExplorer 平台中除了 FBA 方法, 还整合了其他一些代谢网络分析方法, 如代谢调整的最小化分析(MOMA)、端途径分析、影子价格分析和奇异值分解等。此外, 该软件还增加了一个曲线分析模块, 用于描述在不同的约束条件下一个流的变化趋势或两个流之间比例的连续变化。但目前它也存在不足之处, 即网络必须通过手动构建出, 在构建大型网络时耗时会长。

3.5 其他分析软件

MetaFluxNet 是一个用于通过交互式或者定制的方法管理代谢网络信息, 分析代谢流的程序包^[26]。用户能够使用它模拟和分析由于遗传或者环境改变所引起的代谢行为, 并且用户能通过量化模拟代谢通路更好地了解代谢状况并进行代谢工程的设计。这个程序的主要特点包括了一个良好的模型构造环境、代谢流分析所用的用户友好界面, 以及自动化的代谢通路布局构建。该软件已经被成功地用于分析大肠杆菌的代谢通路和研究碳源对细胞内流分布的影响。

PathwayAnalyser(PA)是生物学家分析代谢通路, 特别是流平衡分析、ODE 模拟的一种工具^[27]。PA 利用 GNU 线性规划工具箱(GLPK)来进行线性规划, 用泰勒展开来进行高精度模拟, 并用 OOQP 进行 MOMA 分析中的二次规划。对于输入的基于系统生物学标记语言的模型所做的基因敲除, 该软件能提供一份全面报告结果。目前该软件是一个命令行的工具包并且只适合 Linux 操作系统, 但是很快将推出一个图形用户界面而且适用于各种类型的操作系统。

其他可用的代谢网络流分析软件还有 CSC 公司的 Fbatool 软件, 它能读取 SBML 格式所描述的代谢网络模型, 并计算目标函数的最大或者最小值。

3.6 软件性能比较

近年来, 关于代谢流分析的相关软件层出不穷, 软件的性能和功能逐渐完善。对于常用软件的性能比较如表 1 所示。

表 1 常用代谢流分析软件性能的比较^{a)}

	CellNetAnalyzer FluxAnalyzer	BioSPICE MOMA	COBRA Tool- box	FluxExplorer	MetaFluxNet	Pathway Analyser	Fbatool
图形化界面	有	有	无	有	有	无	无
网络构建方法	Four Network Element files	SBML files	SBML files	Mannually	SBML files	SBML files	SBML files
适用操作系统	Windows (Matlab)	Windows Linux	Windows (Matlab)	Windows	Windows	Linux UNIX	Corona
网络分析算法	MFA SNA	FBA MOMA	FBA MOMA DFBA FVA	FBA MOMA EPA SVD	MFA	FBA MOMA	FBA
适用网络规模	中	大	大	小	大	大	大
操作难易程度	易	难	中	易	易	中	中
软件可用性	优	良	优	中	良	良	中

a) MFA 表示代谢流分析(Metabolic Flux Analysis), SNA 表示网络结构分析(Structural Network Analysis), DFBA 表示动态流平衡分析(Dynamic Flux Balance Analysis), FVA 表示流可变性分析(Flux Variability Analysis), EPA 表示极端途径分析(Extreme Pathway Analysis), SVD 表示奇异值分解(Singular Value Decomposition)

不同软件适用于不同情况, 要根据具体数据的特点和需要分析的网络特性选择相应的分析软件. 近年来较常用的代谢网络流分析软件为 CellNetAnalyzer/FluxAnalyzer, 该软件发展较早、有良好的图形用户界面, 但是网络的输入文件格式不符合 SBML 标准, 限制了其可扩展性. 目前, Palsson 等开发的 COBRA Toolbox 工具得到越来越广泛的应用, 该软件尽管没有图形界面, 但 Matlab 操作也比较简单并且融合了多种代谢网络流分析算法, 具有较强的分析功能, 通过输入相应的操作命令就能将代谢网络的各种特性准确地预测出来.

4 代谢流分析的应用

随着系统生物学的不断发展, 生物体代谢网络的生化数据被不断完善, 相应出现了不同的代谢网络分析方法, 随之也产生了许多代谢网络的分析软件. 这不仅对代谢网络研究本身提供了良好的发展空间, 也为代谢网络研究与其他生物学特性相结合的研究方法提供了基础. 近年来, 这种新思想在很多方面得到了应用, 如代谢流与基因表达调控的结合、代谢流对蛋白质进化的影响、代谢流与拓扑特征的关联分析、代谢工程优化改造等.

基因表达调控是生物适应环境生存所必需的, 当周围环境的营养、温度、湿度等变化时, 生物体就要改变自身基因表达状况, 以调整体内执行相应功能蛋白质的种类和数量, 从而维持细胞增殖分化, 维持个体生长发育, 改变自身的代谢活动等以适应外界环境. 近些年来, 大量关于微生物代谢网络的研究

表明, 基因调控与代谢网络的测量和预测之间有着十分重要的相互关系. 基因组代谢网络可以通过利用反应生物体的生化和生理信息的基因组数据构建出来, 对于这些数据的分析可以对构建出的网络的能力进行评估. 另外, 利用基于约束的流平衡的方法对网络流分布进行分析可以使我们对目标产物增长、基因突变、基因敲除的影响、基因表达的过程进行分析. 但是流平衡分析方法对于有调控参与的网络分析不能得出准确的结论, 因此 Schilling 和 Palsson 等人提出将转录调控信息作为分析的约束条件融合到代谢网络模拟中去, 以扩大 FBA 方法的作用范围和预测能力^[28]. 他们通过模拟一个简化的代谢调控网络在不同情况下的生长情况来详细说明代谢物抑制、喜氧/厌氧二峰转移、氨基酸合成通路抑制等对于整个系统的影响. 将转录调控与 FBA 的方法合并, 能更好地分析和预测转录调控在系统水平上对细胞代谢的影响.

利用这一思想, Åkesson 等人^[29]将对于啤酒酵母利用恒化器和批量培养所得的基因表数据与最近开发的全基因组模型融合起来, 把基因表达数据中的调整信息作为代谢流模型中的额外约束条件, 利用流平衡分析方法对该网络进行了分析. 他们将用该方法所得到的流分布的值与通过碳原子标记实验和代谢网络分析所得到的实验值进行比较, 发现增加了基因表达数据后系统能对在批量培养环境下代谢流行为进行更好地预测, 并且能对流变化进行量化预测, 对细胞内流的改变进行量化估计.

同样是利用啤酒酵母进行分析, Oascale 等人^[30]研

究了转录调控在啤酒酵母核心碳源代谢流控制中的作用. 他们主要利用在有氧的碳限制恒化器环境下的啤酒酵母来分析, 比较了为了实现两种糖(葡萄糖和麦芽糖)和两种 C2 化合物(乙醇和醋酸)的生长的情况下全基因组转录水平和生物体内的流的分布. 结果显示, 在乙醋酸循环和糖质新生中的转录与生物体内的流有很好的关系, 在一个稳定的碳限制恒化器环境中的啤酒酵母核心碳源代谢中的流在很大程度上由转录后调节机制来控制.

在生物进化的过程中的基因改变, 如变异、基因敲除、基因复制等能影响分子网络的结构和进化. 相反地, 网络的功能也可以约束基因的进化. 目前为止, 大部分关于分子进化研究的重点都是单独的基因和蛋白质, 但是要了解分子网络的设计原则和进化特性则需要全面系统化的方法. 与用蛋白质网络对一些蛋白质分子进化的研究相比, 代谢网络能更好地对网络整体功能进行定义. Vitkup 等人^[31]将基因水平上的分子进化和细胞代谢网络的系统特征相结合, 通过研究代谢网络中的流, 将网络中每一个酶的功能和进化速率联系起来. 研究结果表明, 一些重要的进化过程如单核苷酸突变的固定、基因复制和基因敲除等是由网络的结构和功能所影响的. 具体来说, 中心和高连接度的酶比低连接度的酶进化得慢, 同样在自然生物学条件下, 越具有高代谢流的酶受到的进化约束越大, 它在进化过程中越有可能被保留复制下来. 但是用蛋白质相互作用网络所做的研究并不能得出高连接度的酶比低连接度的酶更具有生物学意义的相应结论.

由于代谢网络的故障会导致人类的部分疾病, 代谢网络研究的另一个重要的应用在于医药领域, 该方向的研究成果可以用于识别药物作用靶标来进行药物设计, 或者进行基因疗法的设计. Raman 等人^[32]利用流平衡分析方法对分枝菌酸代谢通路(Mycolic acid pathway, MAP)进行分析来确定用于治疗结核病的抗结核药的药物靶标. Duarte 等人^[33]利用基因组数据和近 50 多年的传统数据(如 bibliomic data)构建了人类代谢网络, 并采用系统的计算方法来说明代谢物基因型和表型之间的关系. 对于构建出的网络的结构分析表明, 细胞内的分区和药物靶点鉴定中可能用到的相互关联的反应之间有着密切的联系, 同时对于网络重构时的大量数据的分析能更好地对功能型代谢状态进行评估.

另外, 由于不同的组织有不同的代谢功能, 所以对于哺乳动物直接生物体内的代谢研究是十分复杂的, Shlomi 等人^[34]提出了将组织特异基因和蛋白质表达数据与人类全代谢网络重建相结合的方法来描述大规模人类代谢的组织特异性, 并预测了 10 种人类组织的特异性代谢活动, 结果表明转录后调控对于组织特异性代谢活动起着至关重要的作用. 这种方法虽然依赖于人类组织特异性模型的发展, 但是对今后人类代谢紊乱的计算研究有着很大的帮助, 对研究代谢疾病也有十分重要的作用.

近年来, 国内的代谢网络研究也得到了迅速发展. Zhou 等人^[35]在同时约束代谢流和能量平衡的前提下分析了 *E. coli* 的代谢网络流量分布最优化, 他们通过代谢网络的行为研究了能量平衡对网络的影响, 发现能量平衡约束对于生物代谢系统所产生的影响是十分有限的. Xu 等人^[36]利用基因-蛋白相互作用模型和基于约束的方法计算了酵母网络的代谢流分布, 并分别对 438 个基因进行了基因敲除, 分析了每个基因的连接度、敲除后的影响以及受该基因控制的流量总和之间的关系, 发现它们之间并没有明显的线性关系, 另外通过对 38 个提取出的重要基因进行分析证实了重要的基因通常会与多个功能子系统有相互关联.

动态流平衡分析方法(DFBA)通过定量地描述代谢网络的流分布尤其是对于生物体一些重要代谢物的动态流信息, 使人们能更好地了解代谢网络的性质. Zhou 等人^[37]通过引入一个特殊的补偿函数方法(Heaviside 函数)分析了 *E. coli* 代谢网络的动态流分布并且预测网络的代谢物浓度值, 发现该方法能比现有的浓度预测方法得到更精确的预测值. Luo 等人^[38]构建了哺乳动物心肌细胞的能量代谢网络, 利用动态流平衡分析方法模拟正常和缺血条件下网络代谢行为的变化. 他们将目标函数从 ATP 的产量最大化调整为使得代谢物浓度的改变最小, 即采用最小代谢调节的动态流平衡分析方法(Minimization of Metabolic Adjustment Dynamic Flux Balance Analysis, M-DFBA), 研究发现该方法所得到的结果比 DFBA 方法更接近实验值, 特别是证实了脂肪酸对生成 ATP 的重要作用. 由此可以发现代谢网络的系统状态并不总是保持最佳状态, 当某个暂时的扰动出现时, 系统可能出现不满足最优化的状态, 这一结果对了解代谢网络动态调节的机制有很大作用. 同样是利用 M-DFBA

方法, Luo 等人^[39]还研究了 C3 植物在缺水和高 CO₂ 浓度情况下叶绿体中光合作用代谢物的稳定性, 证实了在扰动情况下生物系统能通过高度协调的调节作用使得代谢物浓度的变化达到最小, 从而保持相应的稳定性。

5 总结

代谢网络的研究对我们了解生物体生化特性、代谢过程以及其网络的形成和进化有很大帮助。基于流平衡分析的代谢网络分析方法目前已经逐渐成熟和完善, 科学家通过将代谢网络与其他生化数据、分析方法相结合, 深入分析和解释了网络结构与功能之间的关系, 结构和功能与酶的进化之间的关系, 代谢流与基因表达的关系等。为今后生物体代谢和进化的研建、研究和分析, 使得人们能更好地了解某些疾病, 识别药物靶标, 有针对性地进行药物设计或基因疗法设计, 具有重要的现实意义。

但是, 利用代谢流分析方法对代谢网络进行分析仍然具有一定的局限性, 未来的发展趋势将不仅仅局限于单纯的代谢流分析。Wunderlich 等人^[40]在利用流平衡分析方法预测大肠杆菌和酵母基因敲除后代代谢网络可行性的基础上提出了利用代谢网络的拓扑学统计参数来预测基因敲除后网络可行性, 并将两者的结果进行比较。结果显示节点的度、图的直径等

基于拓扑学的参数能很好地指示代谢网络的基本性质, 并且能对基因敲除后的网络可行性进行较为准确的预测。事实上, 还有很多拓扑结构的特征可以与代谢流结合反映网络的特性, 例如基于拓扑连接划分的功能模块, 同一模块内的反应所承担的代谢流是否具有协同性, 不同模块之间的代谢流具有怎样的差异并对应哪些特异的代谢通路。当然, 这些要通过多个物种多个网络的分析才能得到具有统计意义的结论。

另外, 流平衡分析主要关注稳定状态下网络的代谢行为, 而有些中间的过渡态环节可能发生了关键性转变并蕴含着重要的生物学意义, 因此需要结合动力学信息来实时描述生物体的代谢行为。Ao 等人^[41]提出结合稳态代谢流、代谢物浓度、通用酶促反应方程等信息构建大规模动力学代谢模型的方法, 并将这种方法成功地应用于 *Methylobacterium extorquens* AM1 的中心代谢网络建模中。由此可知, 我们可以将代谢流分析方法与网络拓扑特征分析^[31,40]以及动态建模等结合起来以获得更全面更准确的代谢网络性质。但是由于很多生化反应的动力学参数还是未知的, 并且部分信息还存在冗余现象, 因此如何对网络空间进行降维并采用更适合的数理方程建模, 从而在有限的参数条件下准确描述代谢状态是需要解决的关键问题。

参考文献

- 1 Kanehisa M, Goto S. KEGG: Kyoto encyclopedia of genes and genomes. *Nucleic Acids Res*, 2000, 28: 27—30
- 2 Schilling C H, Edwards J S, Palsson B O. Toward metabolic phenomics: Analysis of genomic data using flux balances. *Biotechnol Prog*, 1999, 15: 288—295
- 3 Schilling C H, Schuster S, Palsson B O, et al. Metabolic pathway analysis: Basic concepts and scientific applications in the post-genomic era. *Biotechnol Prog*, 1999, 15: 296—303
- 4 Schuster S, Dandekar T, Fell D A. Detection of elementary flux modes in biochemical networks: A promising tool for pathway analysis and metabolic engineering. *Trends Biotechnol*, 1999, 17: 53—60
- 5 Schuster S, Fell D A, Dandekar T. A general definition of metabolic pathways useful for systematic organization and analysis of complex metabolic networks. *Nat Biotechnol*, 2000, 18: 326—332
- 6 Schuster S, Hilgetag C, Woods J H, et al. Exploring the pathway structure of metabolism: Decomposition into subnetworks and application to *Mycoplasma pneumoniae*. *Bioinformatics*, 2002, 18: 351—361
- 7 Schilling C H, Edwards J S, Letscher D, et al. Combining pathway analysis with flux balance analysis for the comprehensive study of metabolic systems. *Biotechnol Bioeng*, 2000, 71: 286—306
- 8 Schilling C H, Letscher D, Palsson B O. Theory for the systemic definition of metabolic pathways and their use in interpreting metabolic function from a pathway-oriented perspective. *J Theor Biol*, 2000, 203: 229—248
- 9 Jeong H, Tombor B, Albert R, et al. The large-scale organization of metabolic networks. *Nature*, 2000, 407: 651—654
- 10 Wagner A, Fell D A. The small world inside large metabolic networks. *Proc Biol Sci*, 2001, 268: 1803—1810
- 11 Varner J, Ramdrishna D. Metabolic engineering from a cybernetic perspective. 1. Theoretical preliminaries. *Biotechnol Prog*, 1999, 15: 407—425

- 12 Fell D. Understanding the Control of Metabolism. London: Porland Press, 1996
- 13 Kauffman K J, Prakash P, Edwards J S. Advances in flux balance analysis. *Curr Opin Biotechnol*, 2003, 14: 491—496
- 14 Segre D, Vitkup D, Church G M. Analysis of optimality in natural and perturbed metabolic networks. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99 : 15112—15117
- 15 Papp B, Pál C, Hurst L D. Metabolic network analysis of the causes and evolution of enzyme dispensability in yeast. *Nature*, 2004, 429 : 661—664
- 16 Alper H, Jin Y S, Moxley J F, et al. Identifying gene targets for the metabolic engineering of lycopene biosynthesis in *Escherichia coli*. *Metab Eng*, 2005, 7: 155—164
- 17 Lee J M, Gianchandani E P, Papin J A. Flux balance analysis in the era of metabolomics. *Brief Bioinform*, 2006, 7 : 140—150
- 18 Shlomi T, Berkman O, Ruppin E. Regulatory on/off minimization of metabolic flux changes after genetic perturbations. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 7695—7700
- 19 Mahadevan R, Edwards J S, Doyle F J. Dynamic flux balance analysis of diauxic growth in *Escherichia coli*. *Biophys J*, 2002, 83: 1331—1340
- 20 Uygun K, Matthew H W T, Huang Y L. DFBA-LQR: An optimal control approach to flux balance analysis. *Ind Eng Chem Res*, 2006, 45 : 8554—8564
- 21 Klamt S, Stelling J, Ginkel M, et al. FluxAnalyzer: Exploring structure, pathways, and flux distributions in metabolic networks on interactive flux maps. *Bioinformatics*, 2003, 19: 261—269
- 22 Segre D, Zucker J, Katz J, et al. From annotated genomes to metabolic flux models and kinetic parameter fitting. *OMICS*, 2003, 7: 301—316
- 23 Price N D, Reed J L, Palsson B Ø. Genome-scale models of microbial cells: Evaluating the consequences of constraints. *Nat Rev Microbiol*, 2004, 2: 886—897
- 24 Becker S A, Feist A M, Mo M L, et al. Quantitative prediction of cellular metabolism with constraint-based models: The COBRA Toolbox. *Nat Protoc*, 2007, 2: 727—738
- 25 Luo R Y, Liao S, Zeng S Q. FluxExplorer: A general platform for modeling and analyses of metabolic networks based on stoichiometry. *Chinese Sci Bull*, 2006, 51: 689—696
- 26 Lee S Y, Lee D Y, Hong S H, et al. MetaFluxNet, a program package for metabolic pathway construction and analysis, and its use in Large-Scale Metabolic Flux Analysis of *Escherichia coli*. *Genome Inform*, 2003, 14: 23—33
- 27 Raman K, Chandra N. Pathway Analyser: A systems biology tool for flux analysis of metabolic pathways. *Nat Prec*, 2008, doi:10.1038/npre.2008.1868.1
- 28 Covert M W, Schilling C H, Palsson B O. Regulation of gene expression in flux balance models of metabolism. *J Theor Biol*, 2001, 213: 73—88
- 29 Åkesson M, Förster J, Nielsen J. Integration of gene expression data into genome-scale metabolic models. *Metab Eng*, 2004, 6: 285—293
- 30 Pascale D L, Mickel L A J, Jean-Marc D, et al. Role of transcriptional regulation in controlling fluxes in central carbon metabolism of *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biol Chem*, 2004, 279: 9125—9138
- 31 Vitkup D, Kharchenko P, Wagner A. Influence of metabolic networks structure and function on enzyme evolution. *Genome Biol*, 2006, 7: R39
- 32 Raman K, Rajagopalan P, Chandra N. Flux balance analysis of mycolic acid pathway: Targets for anti-tubercular drugs. *PLoS Comput Biol*, 2005, 1: 0349—0358
- 33 Duarte N C, Becker S A, Jamshidi N, et al. Global reconstruction of the human metabolic network based on genomic and bibliomic data. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 1777—1782
- 34 Shlomi T, Cabili M N, Herrgård M J, et al. Network-based prediction of human tissue-specific metabolism. *Nat Biotechnol*, 2008, 26: 1003—1010
- 35 Zhou Q H, Shiu S C K, Pal S K. New results on energy balance analysis of metabolic networks. *PREMI*, 2007, LNCS4815: 433—438
- 36 Xu Z X, Sun X. Constrain-based analysis of gene deletion on the metabolic flux redistribution of *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biomed Sci Eng*, 2008, 1: 121—126
- 37 Zhou Q H, Wang D, Xiong M M. Dynamic flux balance analysis of metabolic networks using the penalty function methods. *SMC IEEE*, 2007: 3594—3599
- 38 Luo R Y, Liao S, Tao G Y, et al. Dynamic analysis of optimality in myocardial energy metabolism under normal and ischemic conditions. *Mol Syst Biol*, 2006, doi: 2006.0031
- 39 Luo R Y, Wei H B, Ye L. Photosynthetic metabolism of C3 plants shows highly cooperative regulation under changing environments: A systems biological analysis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 847—852
- 40 Wunderlich Z, Mirny L A. Using the topology of metabolic networks to predict viability of mutant strains. *Biophys J*, 2006, 91: 2304—2311
- 41 Ao P, Lee L W, Lidstrom M E, et al. Towards kinetic modeling of global metabolic networks: *Methylobacterium extorquens* AM1 growth as validation. *Chin J Biotech*, 2008, 24: 980—994