Primers for Metabolic Control Analysis

YUGI, Katsuyuki
Kuroda Lab., The University of Tokyo

初期の試み

- 「律速酵素」の発現量を増やす
  - 流束は上がらず
- 成功しなかった理由は？
  - 「律速酵素」の定義が経験的
  - 研究者によって「律速酵素」が異なる
- 「律速」の度合いを定量化する指標
  - Metabolic Control Analysis (MCA) の登場

MCA (Metabolic Control Analysis)

- 「律速」の度合いを定量化する指標を導入
  - 流束制御係数 (Flux Control Coefficient)

$$C_{v_1}^{J} = \frac{v_1}{J}\frac{\partial J}{\partial v_1}$$

- 反応速度v_1が1%増えたとき流束Jは何%増えるか

- C^J=1を「律速酵素(rate limiting enzyme)」と定義

Kacser and Burns (1973), Heinrich and Rapoport (1974)

流束制御係数の加法定理

- Summation Theorem

$$\sum_{i=1}^{n} C_{v_i}^{J} = 1$$

- 流束Jに影響するすべてのC^Jの総和は1　(=100%)

- 限られたC^Jを複数の酵素で分け合っている

- MCA学派の主張
  - 「律速酵素は存在しない」

– C^J=1 となる酵素を「律速」と定義する限りにおいて正しい

加法定理の証明 (1/2)

- 流束の全微分を考える

$$dJ = \frac{\partial J}{\partial v_1} dv_1 + \frac{\partial J}{\partial v_2} dv_2 + \cdots + \frac{\partial J}{\partial v_n} dv_n$$

- 両辺Jで割り、右辺の各項に v_n / v_n をかける

$$\begin{aligned}\frac{dJ}{J} &= \frac{v_1}{J}\frac{\partial J}{\partial v_1}\frac{dv_1}{v_1} + \frac{v_2}{J}\frac{\partial J}{\partial v_2}\frac{dv_2}{v_2} + \cdots + \frac{v_n}{J}\frac{\partial J}{\partial v_n}\frac{dv_n}{v_n} \\ &= C^J_{v_1}\frac{dv_1}{v_1} + C^J_{v_2}\frac{dv_2}{v_2} + \cdots + C^J_{v_n}\frac{dv_n}{v_n}\end{aligned}$$

加法定理の証明 (2/2)

- v_1〜 v_n を同じ割合αだけ増やすと、JもαだけJ増加する。

$$\alpha = \frac{dJ}{J} = \frac{dv_1}{v_1} = \frac{dv_2}{v_2} = \cdots = \frac{dv_n}{v_n}$$

- よって

$$\begin{aligned} \frac{dJ}{J} &= C^J_{v_1}\frac{dv_1}{v_1} + C^J_{v_2}\frac{dv_2}{v_2} + \cdots + C^J_{v_n}\frac{dv_n}{v_n} \\ \alpha &= \alpha C^J_{v_1} + \alpha C^J_{v_2} + \cdots + \alpha C^J_{v_n} \end{aligned}$$

MCAの3大指標

- 流束制御係数

$$C^J_{v_1} = \frac{v_1}{J}\frac{\partial J}{\partial v_1}$$

- 濃度制御係数
  - 反応速度が細胞内基質濃度に与える影響

Concentration Control Coefficient

$$C^S_{v_1} = \frac{v_1}{[S]}\frac{\partial [S]}{\partial v_1}$$

- 弾力性係数
  - 基質濃度が反応速度に与える影響

Elasticity

$$\varepsilon^{v_1}_S = \frac{[S]}{v_1}\frac{\partial v_1}{\partial [S]}$$

流束制御係数の結合定理

- Connectivity Theorem

$$\sum_{i=1}^{n} C_{v_i}^{J} \varepsilon_{S}^{v_i} = 0$$

- 局所的な要素と大域的な性質との関係
  - 弾力性と流束

- εが小さい酵素
  - 基質濃度に影響されにくい
  - 高いC^Jを持つ傾向がある

結合定理の証明 (1/3)

- 反応速度の全微分を考える

$$dv_i = \frac{\partial v_i}{\partial E} dE + \frac{\partial v_i}{\partial S_j} dS_j$$

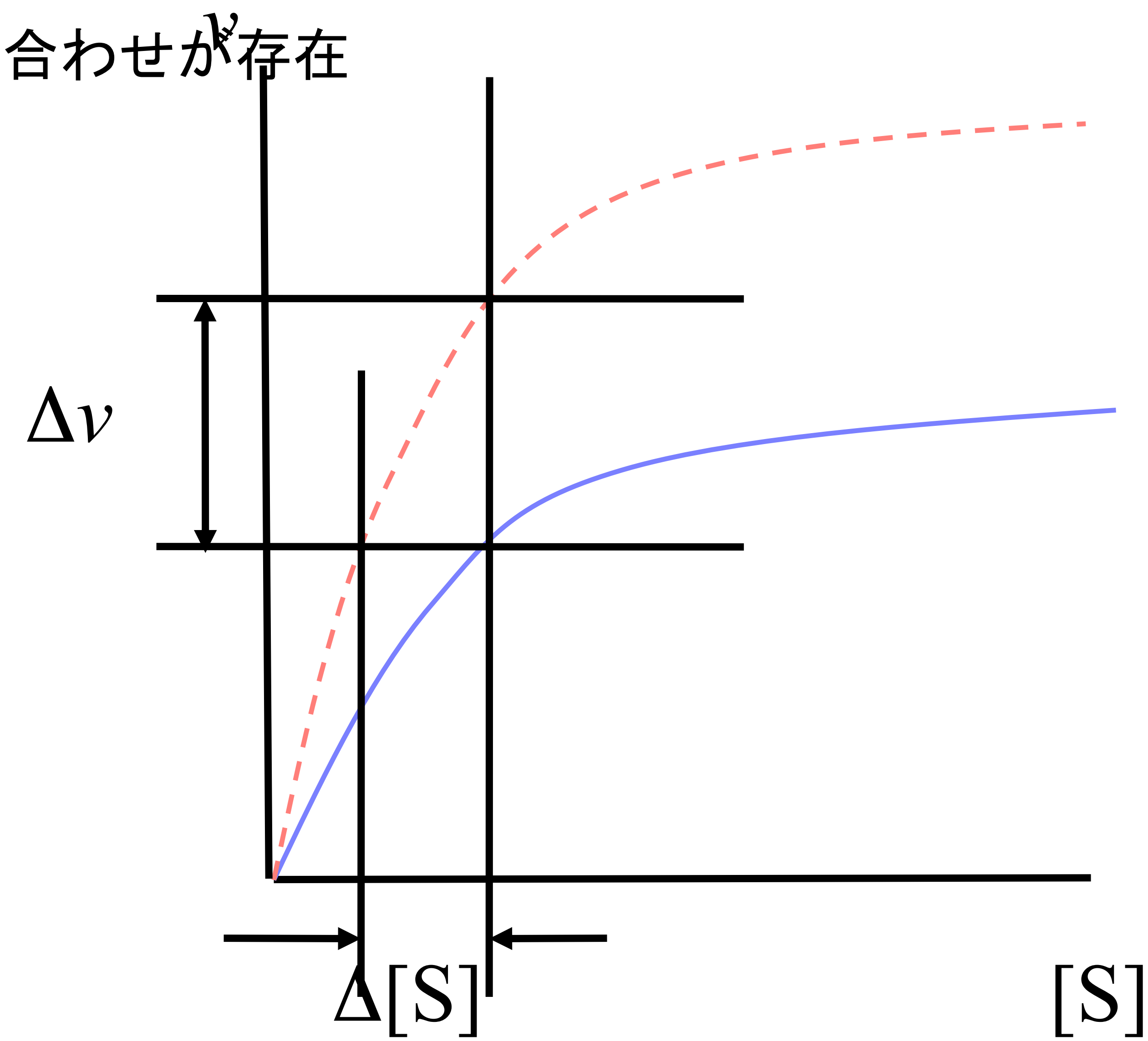
- これを変形 (v_i ∝ E より $v_i = k$ E とおいた)

$$\begin{aligned}\frac{dv_i}{v_i} &= \frac{E}{v_i}\frac{\partial v_i}{\partial E}\frac{dE}{E} + \frac{S_j}{v_i}\frac{\partial v_i}{\partial S_j}\frac{dS_j}{S_j} \\ &= \frac{1}{k} k \frac{dE}{E} + \varepsilon^{v_i}_{S_j}\frac{dS_j}{S_j}\end{aligned}$$

$$\frac{dv_i}{v_i} = \frac{dE}{E} + \varepsilon^{v_i}_{S_j}\frac{dS_j}{S_j}$$

結合定理の証明 (2/3)

- 酵素濃度増、基質濃度増による効果
  - 打ち消しあってdv_i=0になる組み合わせが存在



- すなわち、先ほど導いた

$$\frac{dv_i}{v_i} = \frac{dE}{E} + \varepsilon^{v_i}_{S_j}\frac{dS_j}{S_j}$$

より、

$$0 = \frac{dE}{E} + \varepsilon^{v_i}_{S_j}\frac{dS_j}{S_j}$$

結合定理の証明 (3/3)

$$\frac{dJ}{J} = C^J_{v_1}\frac{dv_1}{v_1} + C^J_{v_2}\frac{dv_2}{v_2} + \cdots + C^J_{v_n}\frac{dv_n}{v_n}$$ に

$$0 = \frac{dE}{E} + \varepsilon^{v_i}_{S_j}\frac{dS_j}{S_j}$$ および $dJ = dv_1 = \cdots = dv_n = 0$ を代入

↓ ($v_i \propto E_i$ より $v_i = k_i E_i$ とおく)

$$0 = C^J_{v_1}\left(-\varepsilon^{v_1}_{S_j}\frac{dS_j}{S_j}\right) + \cdots + C^J_{v_n}\left(-\varepsilon^{v_n}_{S_j}\frac{dS_j}{S_j}\right)$$

$$\left(\frac{dv_i}{v_i} = \frac{k_i}{k_i}\frac{dE_i}{E_i} = \frac{dE_i}{E_i}\right)$$

$$0 = C^J_{v_1}\varepsilon^{v_1}_{S_j} + \cdots + C^J_{v_n}\varepsilon^{v_n}_{S_j}$$

基質濃度制御係数の定理

- 加法定理

$$\sum_{i=1}^{n} C_{v_i}^{S} = 0$$

- 結合定理

$$\sum_{i=1}^{n} C_{v_i}^{S_j} \varepsilon_{S_k}^{v_i} = -\delta_{jk}$$

- 証明は省略

係数の測定法

- ε　:　ダブルモジュレーション法

$$\longrightarrow \text{G6P} \xrightarrow{\text{GPI(isomerase)}} \text{F6P} \longrightarrow$$

$$dJ = \frac{\partial v_{\mathrm{GPI}}}{\partial[\mathrm{G6P}]} d[\mathrm{G6P}] + \frac{\partial v_{\mathrm{GPI}}}{\partial[\mathrm{F6P}]} d[\mathrm{F6P}]$$

  - [Glucose]増加時の[G6P]、[F6P]、流束Jの変化量を測定
  - 上の実験を2回行うと、εの2元1次連立方程式を得る

- C^J :　(方法1) 菌体抽出液に精製酵素を添加

  (方法2) ε を求め、結合定理を適用

演習I

- ある細胞の解糖系についてダブルモジュレーション実験を行い、下記のようなデータを得た。ε を求めなさい。

コントロール

[G6P]=80μM、[F6P]=12μM、v_{GPI}=2400μM/min

Δ[Glucose]=1.0mMのとき

[G6P]=88μM、[F6P]=15μM、v_{GPI}=2440μM/min

Δ[Glucose]=2.0mMのとき

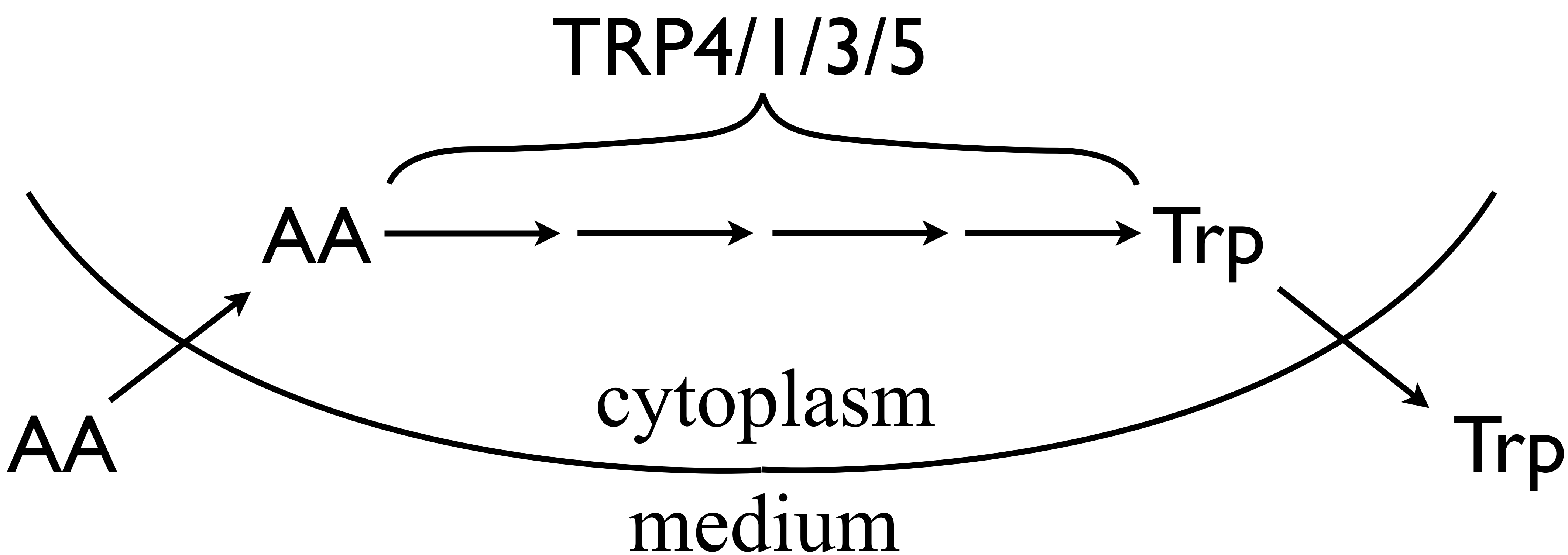
[G6P]=90μM、[F6P]=14μM、v_{GPI}=2520μM/min

今日の内容

- 代謝流束 (flux) の定義
- 代謝制御解析 (Metabolic Control Analysis)
  - 係数いろいろ
  - 加法定理、結合定理
- 代謝工学への応用
  - 酵母トリプトファン合成の収率向上

MCAを代謝工学に応用

- 酵母トリプトファン合成の収率向上
    - Niederberger, P. et al. "A strategy for increasing an *in vivo* flux by genetic manipulations", *Biochem. J.* 287:473-9, 1992.
- 培地のAnthranilic acid (AA) を取り込んでTrp生産



MCAに基づく生産効率向上

- C^J が比較的大きい酵素5つ
  - Anthranilate synthetase (TRP3C, C^J=0.018)
  - phosphoribosyltransferase (TRP4, C^J=0.174)
  - phosphoribosylanthranilate isomerase (TRP1, C^J=0.013)
  - indoleglycerol phosphate synthase (TRP3B, C^J=0.013)
  - tryptophan synthase (TRP5A, C^J=0.040)

- これら5つをコードしたプラスミドを形質転換
  - Trp 生産の流束 8.8 倍
  - 酵素1つだけでは 1.0-1.3倍

MCAとロバストネス

- MCAの結論
  - 流束を制御する酵素は分散している
- 近年、ロバストネスの一種として解釈
  - 制御を分散はダメージコントロールを高める
  - 1酵素の点変異くらいなら流束を保てる

行列表記への拡張

- 今までの議論
  - 一直線の代謝経路のみ
- 実際の代謝系
  - いたるところに分岐点
- 分岐点のある経路でもMCAを使いたい
  - 代謝系を行列で表現するとうまくいく
  - MCAの基本方程式 (今日のゴール)

MCAの基本方程式

$$\begin{pmatrix} {}^{\mathbf{non}}\mathbf{C}^{\mathbf{J}} \\ {}^{\mathbf{non}}\mathbf{C}^{\mathbf{S}} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \mathbf{K} & {}^{\mathbf{non}}\varepsilon\mathbf{L} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \mathbf{K} & \mathbf{0} \\ \mathbf{0} & -\mathbf{L} \end{pmatrix}$$

- C^J、 C^S 、εはそれぞれの係数からなる行列
  - “non” は正規化されていないことを表す
- Kは零行列。Lはこれから紹介。

C^J、C^S、εの中身

$$\mathbf{C_J} = \begin{pmatrix} C_{v_1}^{J_1} & C_{v_2}^{J_1} & \cdots & C_{v_n}^{J_1} \\ C_{v_1}^{J_2} & C_{v_2}^{J_2} & & C_{v_n}^{J_2} \\ \vdots & & \ddots & \vdots \\ C_{v_1}^{J_m} & C_{v_2}^{J_m} & \cdots & C_{v_n}^{J_m} \end{pmatrix} \quad \mathbf{C_S} = \begin{pmatrix} C_{v_1}^{S_1} & C_{v_2}^{S_1} & \cdots & C_{v_n}^{S_1} \\ C_{v_1}^{S_2} & C_{v_2}^{S_2} & & C_{v_n}^{S_2} \\ \vdots & & \ddots & \vdots \\ C_{v_1}^{S_k} & C_{v_2}^{S_k} & \cdots & C_{v_n}^{S_k} \end{pmatrix}$$

$$\boldsymbol{\varepsilon} = \begin{pmatrix} \varepsilon_{S_1}^{v_1} & \varepsilon_{S_2}^{v_1} & \cdots & \varepsilon_{S_k}^{v_1} \\ \varepsilon_{S_1}^{v_2} & \varepsilon_{S_2}^{v_2} & & \varepsilon_{S_k}^{v_2} \\ \vdots & & \ddots & \vdots \\ \varepsilon_{S_1}^{v_n} & \varepsilon_{S_2}^{v_n} & \cdots & \varepsilon_{S_k}^{v_n} \end{pmatrix}$$

分子が行ラベル、

分母が列ラベル

Link matrix

- Nの線形独立な行を上側に寄せる

$$\mathbf{N} = \begin{pmatrix} \mathbf{N^0} \\ \mathbf{N'} \end{pmatrix} = \mathbf{LN^0} = \begin{pmatrix} \mathbf{I_{rank(N)}} \\ \mathbf{L'} \end{pmatrix} \mathbf{N^0}$$

- 上式のLをLink matrixと呼ぶ

Link matrixの例

$$\mathbf{N} = \begin{pmatrix} 1 & -1 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & -1 & 0 \\ 0 & -1 & 0 & 1 \\ 0 & 1 & 0 & -1 \end{pmatrix} \Rightarrow \mathbf{N^0} = \begin{pmatrix} 1 & -1 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & -1 & 0 \\ 0 & -1 & 0 & 1 \end{pmatrix}$$

線形従属

$\mathbf{N} = \mathbf{L}\mathbf{N^0}$ より $\mathbf{L} = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 1 \\ 0 & 0 & -1 \end{pmatrix}$

MCAの基本方程式

$$\begin{pmatrix} {}^{\mathrm{non}}\mathbf{C}^{\mathbf{J}} \\ {}^{\mathrm{non}}\mathbf{C}^{\mathbf{S}} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \mathbf{K} & {}^{\mathrm{non}}\boldsymbol{\varepsilon}\mathbf{L} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \mathbf{K} & \mathbf{0} \\ \mathbf{0} & -\mathbf{L} \end{pmatrix}$$

加法定理

$${}^{\mathrm{non}}\mathbf{C}^{\mathbf{J}}\mathbf{K} = \mathbf{K}$$

$${}^{\mathrm{non}}\mathbf{C}^{\mathbf{S}}\mathbf{K} = \mathbf{0}$$

結合定理

$${}^{\mathrm{non}}\mathbf{C}^{\mathbf{J}}\,{}^{\mathrm{non}}\varepsilon\mathbf{L} = \mathbf{0}$$

$${}^{\mathrm{non}}\mathbf{C}^{\mathbf{S}}\,{}^{\mathrm{non}}\varepsilon\mathbf{L} = -\mathbf{L}$$

準備1: 2変数の合成関数の微分公式

- z=f(x,y) において x=g(u,v)、y=h(u,v)で表されるとき

$$
\begin{aligned}
\frac{\partial z}{\partial u} &= \frac{\partial z}{\partial x}\frac{\partial x}{\partial u} + \frac{\partial z}{\partial y}\frac{\partial y}{\partial u} \\
\frac{\partial z}{\partial v} &= \frac{\partial z}{\partial x}\frac{\partial x}{\partial v} + \frac{\partial z}{\partial y}\frac{\partial y}{\partial v}
\end{aligned}
$$

準備2: C^{S}の行列表記

$$\mathbf{N}\left(\frac{\partial \mathbf{v}}{\partial \mathbf{S}}\frac{\partial \mathbf{S}}{\partial \mathbf{E}} + \frac{\partial \mathbf{v}}{\partial \mathbf{E}}\frac{\partial \mathbf{E}}{\partial \mathbf{E}}\right) = 0$$

$$\mathbf{N}\frac{\partial \mathbf{v}}{\partial \mathbf{S}}\frac{\partial \mathbf{S}}{\partial \mathbf{E}} = -\mathbf{N}\frac{\partial \mathbf{v}}{\partial \mathbf{E}}$$

$$\frac{\partial \mathbf{S}}{\partial \mathbf{E}} = -\left(\mathbf{N}\frac{\partial \mathbf{v}}{\partial \mathbf{S}}\right)^{-1}\mathbf{N}\frac{\partial \mathbf{v}}{\partial \mathbf{E}}$$

両辺に $\frac{\partial \mathbf{E}}{\partial \mathbf{v}}$ をかける

$${}^{\mathbf{non}}\mathbf{C}^{\mathbf{S}} = \frac{\partial \mathbf{S}}{\partial \mathbf{v}} = -(\mathbf{N}\,{}^{\mathbf{non}}\boldsymbol{\varepsilon})^{-1}\mathbf{N}$$

準備3: CJの行列表記

$$\frac{\partial \mathbf{J}}{\partial \mathbf{E}} = \frac{\partial \mathbf{v}}{\partial \mathbf{S}} \frac{\partial \mathbf{S}}{\partial \mathbf{E}} + \frac{\partial \mathbf{v}}{\partial \mathbf{E}} \frac{\partial \mathbf{E}}{\partial \mathbf{E}}$$

$$\frac{\partial \mathbf{J}}{\partial \mathbf{v}} = {}^{\mathbf{non}}\boldsymbol{\varepsilon} \frac{\partial \mathbf{S}}{\partial \mathbf{v}} + \mathbf{I}$$

両辺に $\frac{\partial \mathbf{E}}{\partial \mathbf{v}}$ をかける

$${}^{\mathbf{non}}\mathbf{C}^{\mathbf{J}} = {}^{\mathbf{non}}\boldsymbol{\varepsilon}\,{}^{\mathbf{non}}\mathbf{C}^{\mathbf{S}} + \mathbf{I}$$

まとめ: C^J、C^Sの行列表記

$$ {}^{\mathbf{non}}\mathbf{C}^{\mathbf{J}} = {}^{\mathbf{non}}\boldsymbol{\varepsilon}\,{}^{\mathbf{non}}\mathbf{C}^{\mathbf{S}} + \mathbf{I} $$

$$ {}^{\mathbf{non}}\mathbf{C}^{\mathbf{S}} = -(\mathbf{N}\,{}^{\mathbf{non}}\boldsymbol{\varepsilon})^{-1}\mathbf{N} $$

基本方程式の導出(1/2)

- C^J、C^Sの行列表記の両辺に${}^{non}\varepsilon L$を掛ける

$$\begin{aligned} {}^{\mathbf{non}}\mathbf{C}^{\mathbf{S}}\,{}^{\mathbf{non}}\varepsilon\mathbf{L} &= -(\mathbf{N}^{\mathbf{non}}\varepsilon)^{-1}\mathbf{N}^{\mathbf{non}}\varepsilon\mathbf{L} \\ &= -\mathbf{L} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} {}^{\mathbf{non}}\mathbf{C}^{\mathbf{J}}\,{}^{\mathbf{non}}\varepsilon\mathbf{L} &= {}^{\mathbf{non}}\varepsilon\,{}^{\mathbf{non}}\mathbf{C}^{\mathbf{S}}\,{}^{\mathbf{non}}\varepsilon\mathbf{L} + {}^{\mathbf{non}}\varepsilon\mathbf{L} \\ &= {}^{\mathbf{non}}\varepsilon(-\mathbf{L}) + {}^{\mathbf{non}}\varepsilon\mathbf{L} \\ &= 0 \end{aligned}$$

結合定理の証明完了

$$\begin{pmatrix} {}^{\mathrm{non}}\mathbf{C}^{\mathbf{J}} \\ {}^{\mathrm{non}}\mathbf{C}^{\mathbf{S}} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \mathbf{K} & {}^{\mathrm{non}}\varepsilon\mathbf{L} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \mathbf{K} & \mathbf{0} \\ \mathbf{0} & -\mathbf{L} \end{pmatrix}$$

加法定理

$${}^{\mathrm{non}}\mathbf{C}^{\mathbf{J}}\mathbf{K} = \mathbf{K}$$

$${}^{\mathrm{non}}\mathbf{C}^{\mathbf{S}}\mathbf{K} = \mathbf{0}$$

結合定理

$${}^{\mathrm{non}}\mathbf{C}^{\mathbf{J}}\,{}^{\mathrm{non}}\varepsilon\mathbf{L} = \mathbf{0}$$

$${}^{\mathrm{non}}\mathbf{C}^{\mathbf{S}}\,{}^{\mathrm{non}}\varepsilon\mathbf{L} = -\mathbf{L}$$

残るは加法定理2つ

C^J、C^Sの行列表記の両辺にKを掛ける

$$
\begin{aligned}
{}^{\mathbf{non}}\mathbf{C}^{\mathbf{S}}\mathbf{K} &= -(\mathbf{N}^{\mathbf{non}}\boldsymbol{\varepsilon})^{-1}\mathbf{N}\mathbf{K} \\
&= \mathbf{0} \qquad (\because \mathbf{N}\mathbf{K} = \mathbf{0})
\end{aligned}
$$

$$
\begin{aligned}
{}^{\mathbf{non}}\mathbf{C}^{\mathbf{J}}\mathbf{K} &= {}^{\mathbf{non}}\boldsymbol{\varepsilon}^{\mathbf{non}}\mathbf{C}^{\mathbf{S}}\mathbf{K} + \mathbf{K} \\
&= \mathbf{K}
\end{aligned}
$$

基本方程式の証明完了

$$\begin{pmatrix} {}^{\mathrm{non}}\mathbf{C}^{\mathbf{J}} \\ {}^{\mathrm{non}}\mathbf{C}^{\mathbf{S}} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \mathbf{K} & {}^{\mathrm{non}}\varepsilon\mathbf{L} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \mathbf{K} & \mathbf{0} \\ \mathbf{0} & -\mathbf{L} \end{pmatrix}$$

加法定理

$${}^{\mathrm{non}}\mathbf{C}^{\mathbf{J}}\mathbf{K} = \mathbf{K}$$

$${}^{\mathrm{non}}\mathbf{C}^{\mathbf{S}}\mathbf{K} = \mathbf{0}$$

結合定理

$${}^{\mathrm{non}}\mathbf{C}^{\mathbf{J}}\,{}^{\mathrm{non}}\varepsilon\mathbf{L} = \mathbf{0}$$

$${}^{\mathrm{non}}\mathbf{C}^{\mathbf{S}}\,{}^{\mathrm{non}}\varepsilon\mathbf{L} = -\mathbf{L}$$

基本方程式の使い方

- K、L
  - Nから求められる
- ${}^{non}\varepsilon$ 、${}^{non}\mathbf{C}^{\mathbf{J}}$、${}^{non}\mathbf{C}^{\mathbf{S}}$
  - どれか1つがわかっていればあとは方程式から求まる
- 最後に${}^{non}\varepsilon$ 、${}^{non}\mathbf{C}^{\mathbf{J}}$、${}^{non}\mathbf{C}^{\mathbf{S}}$ を正規化
- 分岐のある代謝経路でもMCAが可能に

正規化の方法

- 対角行列を左右からかける

$$
\begin{aligned}
\mathbf{C}^{\mathbf{J}} &= (\mathrm{diag}\ \mathbf{J})^{-1}({}^{\mathbf{non}}\mathbf{C}^{\mathbf{J}})(\mathrm{diag}\ \mathbf{J}) \\
\mathbf{C}^{\mathbf{S}} &= (\mathrm{diag}\ \mathbf{S})^{-1}({}^{\mathbf{non}}\mathbf{C}^{\mathbf{S}})(\mathrm{diag}\ \mathbf{J}) \\
\boldsymbol{\varepsilon} &= (\mathrm{diag}\ \mathbf{J})^{-1}({}^{\mathbf{non}}\boldsymbol{\varepsilon})(\mathrm{diag}\ \mathbf{S})
\end{aligned}
$$

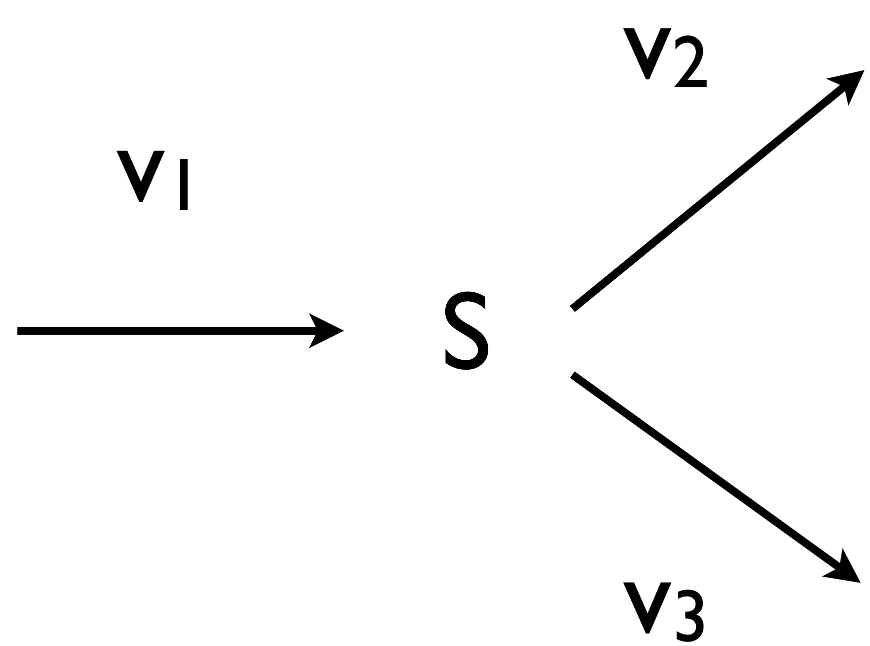
diagの例

$$\mathbf{J} = \begin{pmatrix} J_1 \\ J_2 \\ J_3 \end{pmatrix} \quad \Rightarrow \quad \mathrm{diag}\ \mathbf{J} = \begin{pmatrix} J_1 & 0 & 0 \\ 0 & J_2 & 0 \\ 0 & 0 & J_3 \end{pmatrix}$$

$$(\mathrm{diag}\ \mathbf{J})^{-1} = \begin{pmatrix} \frac{1}{J_1} & 0 & 0 \\ 0 & \frac{1}{J_2} & 0 \\ 0 & 0 & \frac{1}{J_3} \end{pmatrix}$$

演習2 (1/2)

- 下のような代謝経路について、下記の問いに答えなさい
- 1. Link matrix が1(スカラー)であることを示しなさい。
- 2. K行列を求めなさい



演習2 (2/2)

- 3. 以下の条件のもとでC^J 行列を求めなさい。

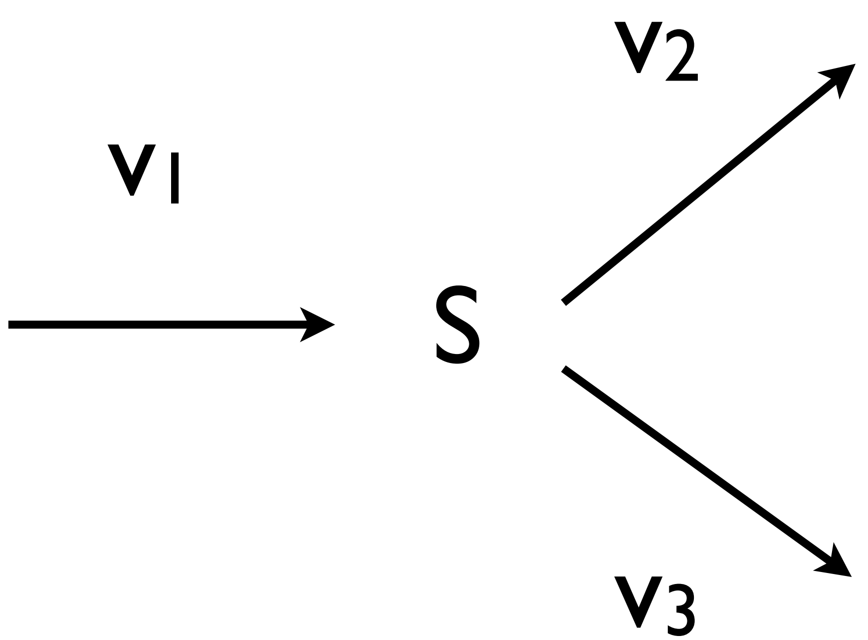
$$
{}^{\mathbf{non}}\varepsilon = \begin{pmatrix} -0.4 \\ 0.4 \\ 0.2 \end{pmatrix} \mathrm{min}^{-1}
$$

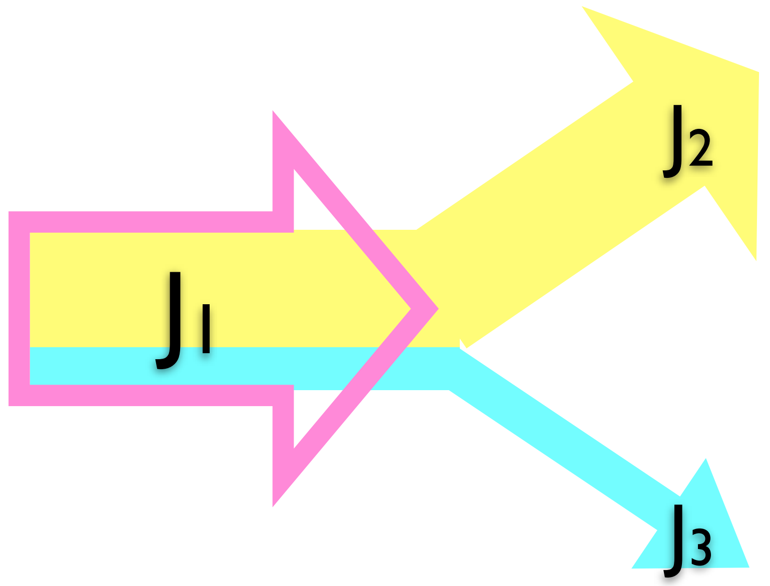
$$
\begin{pmatrix} v_1 \\ v_2 \\ v_3 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1.0 \\ 0.6 \\ 0.4 \end{pmatrix} \mathrm{mM/min}
$$

- 4. 加法定理が成り立っていることを確認しなさい。

分岐点と流束

- 次のように考える





参考図書

- ステファノポーラス、アリスティド、ニールセン 「代謝工学 原理と方法論」　東京電機大学出版局

- Reinhart Heinrich and Stefan Schuster "The regulation of cellular systems", Chapman & Hall

- Edda Klipp et al. "Systems biology in practice", Wiley VCH

- David Fell "Understanding the control of metabolism", Portland press