





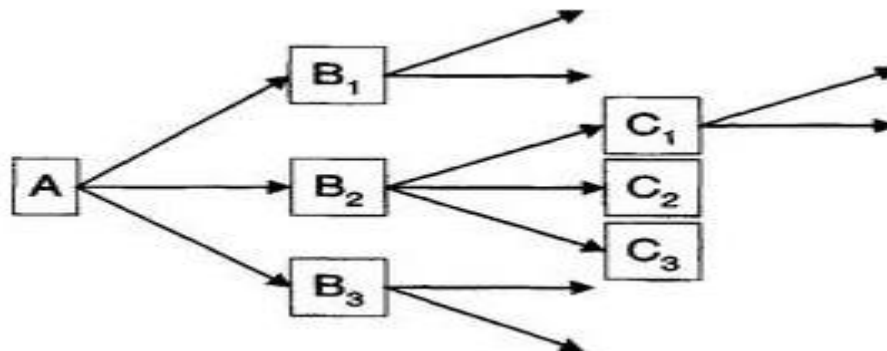
- Η **σύνθεση των μεταβολικών οδών** ασχολείται με την κατασκευή στοιχειομετρικά συνεπών βιοχημικών οδών με αντιδράσεις οι οποίες πληρούν ορισμένες προϋποθέσεις
- Υπάρχουν διάφοροι τύποι προϋποθέσεων οι οποίες μπορούν να διαχωριστούν σύμφωνα με το ρόλο των μεταβολιτών και των βιοδιεργασιών
- Μια κοινή προδιαγραφή είναι η σύνθεση ενός προϊόντος από ένα καθορισμένο υπόστρωμα
- Ως εκ τούτου, ορισμένοι μεταβολίτες ορίζονται ως απαραίτητα υποστρώματα ή απαραίτητα τελικά προϊόντα, ενώ οι περισσότεροι άλλοι μεταβολίτες απλά συμμετέχουν ως ενδιάμεσα προϊόντα ή αντιδραστήρια. Ομοίως, πολλές βιοδιεργασίες συμμετάσχουν στην κατασκευή ενός κοινού μονοπατιού, ενώ άλλων η συμμετοχή μπορεί να παύσει μετά από ανθρώπινη παρέμβαση



- Η συστηματική μελέτη όλων των πιθανών διαδρομών που οδηγούν σε ένα καθορισμένο προϊόν έχει ιδιαίτερη σημασία όχι μόνο στο πλαίσιο της μεταβολικής ανάλυσης του μονοπατιού, αλλά και στα αρχικά στάδια σχεδιασμού μιας βιολογικής διεργασίας.
  - Εάν μελετηθούν όλες οι πιθανές εναλλακτικές οδοί προς το επιθυμητό προϊόν τότε θα εντοπισθούν τα κοινά χαρακτηριστικά από τα διαφορετικά μονοπάτια κάτι που θα επιτρέψει την εκ βάθους ανάλυση των βιοσυνθετικών μονοπατιών και της ενέργειας που απαιτείται.
  - Δεύτερον, οι υπολογισμοί της απόδοσης για τις διάφορες εναλλακτικές λύσεις μπορεί να πραγματοποιηθεί ούτως ώστε να βρεθεί η οδός με την ευνοϊκότερη απόδοση μεταξύ όλων των εναλλακτικών λύσεων.
  - Τρίτον, η γνώση όλων των πιθανών οδών είναι σημαντική για τον προσδιορισμό με μεγαλύτερη ακρίβεια του φαινότυπου στελεχών που στερούνται ένα συγκεκριμένο ένζυμο. Με τον τρόπο αυτό δύναται να προσδιοριστούν τα σύνολα των υποστρωμάτων επί των οποίων ο μεταλλαγμένος μικροοργανισμός είναι σε θέση να αναπτυχθεί
- Δεδομένου ότι η ικανότητα να αναπτύσσονται εξαρτάται πρωτίστως από τη λειτουργία των κατάλληλων οδών που καταβολίζουν τις διαφορετικές πηγές άνθρακα και αζώτου, η μελέτη των εναλλακτικών μονοπατιών μπορεί να επιτρέψει την εξάλειψη ενζύμων που εμποδίζουν την ανάπτυξη.



- Ένα μονοπάτι δεν είναι μια απλή συλλογή βιοαντιδράσεων, καθώς πολλές διαφορετικές πορείες μπορούν να περιλαμβάνουν τις ίδιες αντιδράσεις για να επιτύχουν διαφορετικούς μετασχηματισμούς.
  - Για παράδειγμα, οι αντιδράσεις  $A \rightarrow B + O$  και  $2B + C \rightarrow D$  μπορούν να σχηματίσουν τα μονοπάτια  $2A \rightarrow \rightarrow D + C$ , καθώς και  $A + B \rightarrow \rightarrow D$ , ανάλογα με το αν οι αντιδράσεις συνδυάζονται σε 2: 1 ή 1: 1 αναλογίες.
- Μια πλήρως καθορισμένη μεταβολική οδός πρέπει να περιλαμβάνει μια σειρά από συντελεστές, ένα για κάθε βιοαντίδραση, και οι οποίοι θα αναφέρουν την στοιχειομετρία κάθε αντίδρασης. Το σύνολο αυτών των συντελεστών είναι η στοιχειομετρία του μονοπατιού, ενώ ο συνολικός μετασχηματισμός που επιτυγχάνεται από την οδό, όσων αφορά τα αντιδρώντα και τα προϊόντα, είναι η μοριακή στοιχειομετρία του μονοπατιού.



- Το παραπάνω σχήμα παρουσιάζει μια προσέγγιση που ξεκινά από ένα συγκεκριμένο υπόστρωμα και παραθέτει όλες τις πιθανές αντιδράσεις μεταβολισμού αυτού του υποστρώματος.
  - Κάθε μία από αυτές τις αντιδράσεις παράγει προϊόντα ( $B_1$ ,  $B_2$ ,  $B_3$ ), τα οποία με τη σειρά τους, χρησιμοποιούνται από μετέπειτα αντιδράσεις. Έτσι κατασκευάζονται διαφορετικά μονοπάτια προχωρώντας από το υπόστρωμα προς το τελικό προϊόν.
- Για να επεκταθεί οποιαδήποτε οδός, θα πρέπει να περιλαμβάνει όλα τα προϊόντα που έχουν παραχθεί μέχρι εκείνο το σημείο. Δεδομένου ότι αυτή η προσέγγιση οδηγεί γρήγορα σε συνδυαστικό πρόβλημα, λόγω πολυπλοκότητας, μη απαραίτητες οδοί μπορούν να εξαλειφθούν για να επιτευχθεί μείωση της υπολογιστικής πολυπλοκότητας.

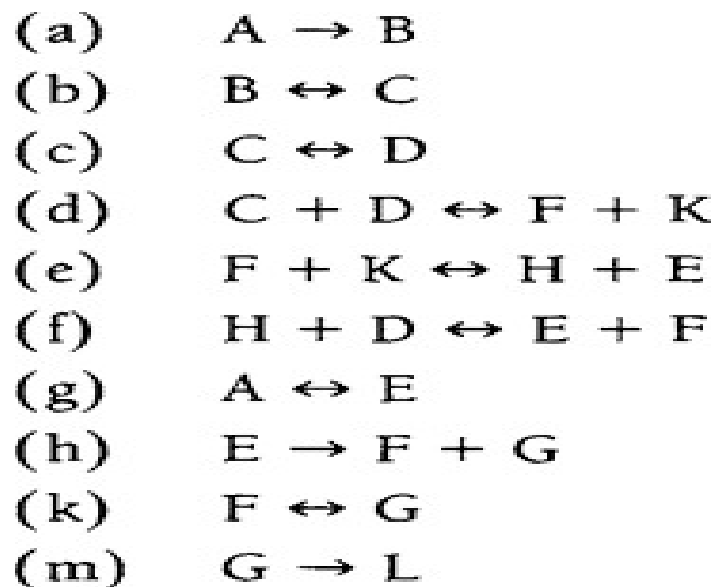


- Παρά την μεγάλη απήχηση που έχει η μέθοδος αυτή, εξακολουθεί να παρουσιάζει μια σειρά από θεμελιώδεις αδυναμίες:
  - (Α) είναι ατελής υπό την έννοια ότι υπάρχουν μονοπάτια με τα οποία με τη χρήση της μεθόδου αυτής δεν επιτρέπεται σύνδεση
  - 
  - (Β) η λύση του προβλήματος παρουσιάζεται με περιοριστικό τρόπο, διότι λαμβάνει υπόψη μόνο απαιτούμενα υποστρώματα και τελικά προϊόντα, αλλά δεν κάνει καμία πρόβλεψη για τα αντιδραστήρια και τα υποπροϊόντα
  - (Γ) η εφαρμογή της μεθόδου σε μεγάλα δίκτυα βιοαντιδράσεων απαιτεί εκθετικά αυξανόμενη υπολογιστική ισχύ
  - (Δ) η μέθοδος αυτή δεν είναι πραγματικά ένας αλγόριθμος, αλλά περισσότερο ένα υπολογιστικό πρόγραμμα.



# Αλγόριθμος σύνθεσης μεταβολικών μονοπατιών

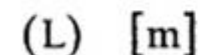
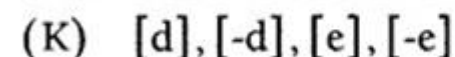
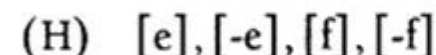
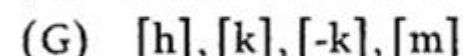
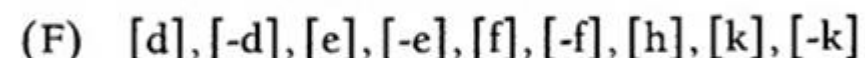
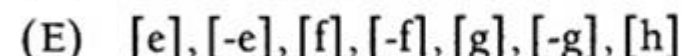
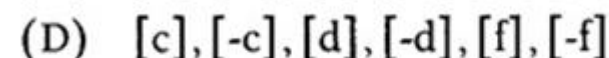
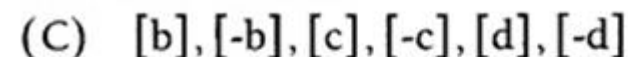
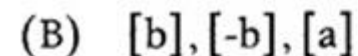
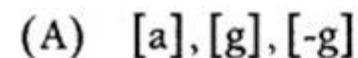
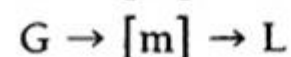
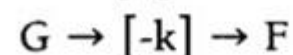
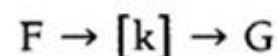
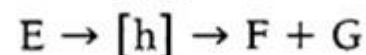
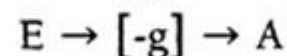
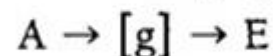
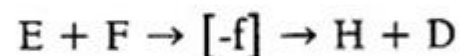
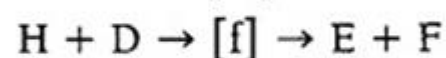
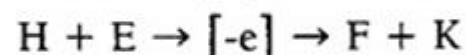
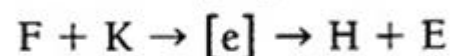
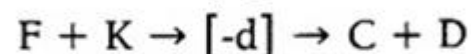
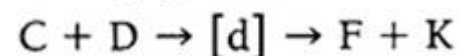
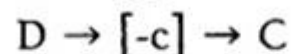
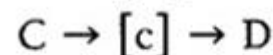
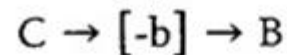
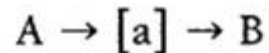
- Όλοι οι μεταβολίτες ορίζονται ως εξαιρούμενα αντιδραστήρια και εξαιρούμενα προϊόντα, με εξαίρεση το **A**, το οποίο είναι ένα απαιτούμενο αντιδραστήριο, και **L**, το οποίο είναι ένα απαιτούμενο προϊόν.





- Σύμφωνα με τον αλγόριθμο, οι μεταβολίτες που συμμετέχουν σε λιγότερες αντιδράσεις πρέπει να μελετώνται με προτεραιότητα.
  - Εδώ, το L που είναι ένα επιθυμητό προϊόν και εξαιρούμενο αντιδραστήριο, το οποίο συμμετέχει σε ένα μόνο μονοπάτι, επεξεργάζεται πρώτο.
  - Ο μεταβολίτης που υποβάλλεται σε επεξεργασία στο επόμενο βήμα πρέπει να είναι είτε το A ή το B, η σειρά με την οποία μελετώνται οι δύο αυτοί μεταβολίτες δεν επηρεάζει τα αποτελέσματα.
  - Λαμβάνοντας αυθαίρετα το B μια νέα οδός κατασκευάζεται: [a, b], ως ένας συνδυασμός του [α] και [β]. Αυτή η λειτουργία συμβολίζεται ως  $[a] + [b] = [a, b]$ .
  - Δεν είναι επιτρεπτό να κατασκευάσει η οδός  $[b] + [b]$ , διότι συνεπάγεται την ίδια αντίδραση με αμφίδρομη φορά. Μετά το συνδυασμό [a, b] τα μονοπάτια [a], [b] και [-b] αφαιρούνται από τη βάση δεδομένων των επιτρεπόμενων αντιδράσεων με αποτέλεσμα τη μείωση του συνόλου των ενεργών οδών:



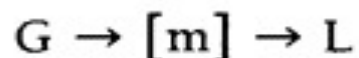
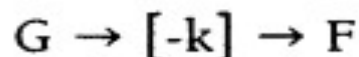
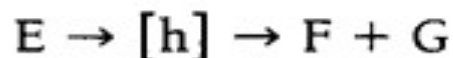
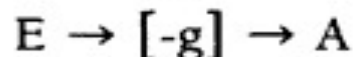
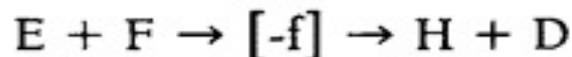
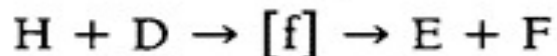
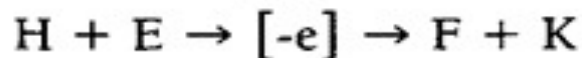
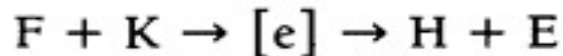
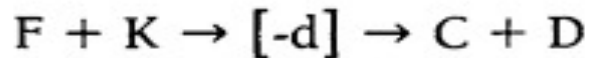
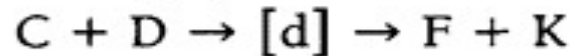
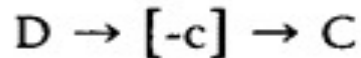
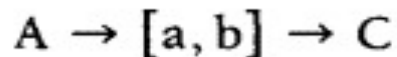


**Το σέτ των μεταβολιτών και οι  
αντιδράσεις στις οποίες συμμετέχουν**

**Το αρχικό πρόβλημα περιέχει  
τις παραπάνω αντιδράσεις**

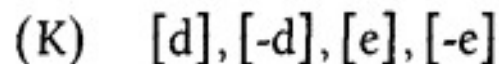
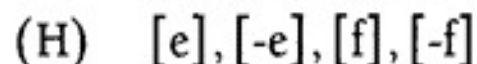
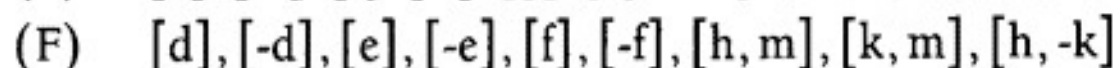
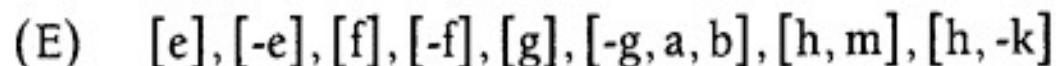
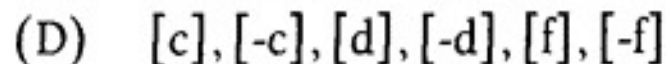
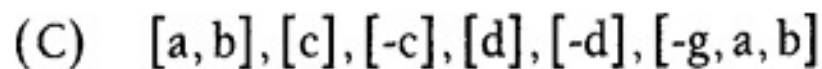
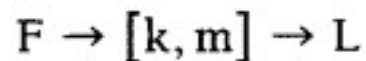
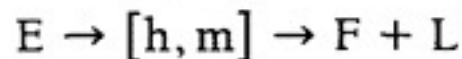
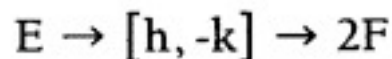
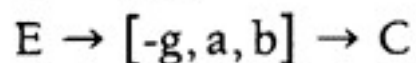
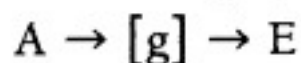
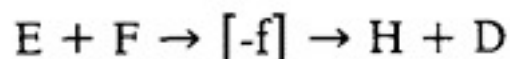
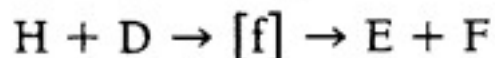
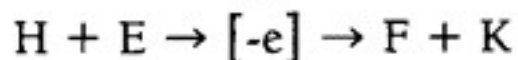
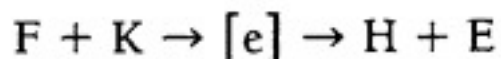
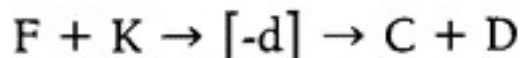
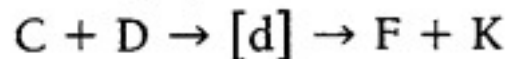
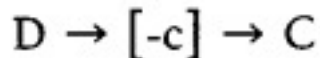
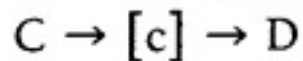
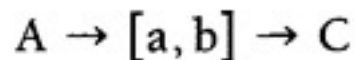


- Το σετ των μεταβολικών δράσεων που πρέπει να μελετηθεί περαιτέρω





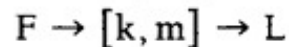
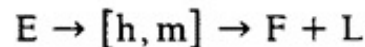
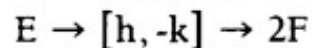
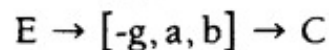
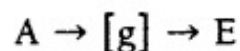
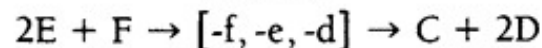
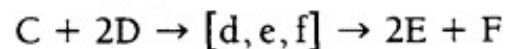
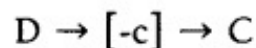
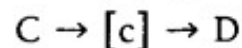
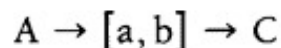
- Ο μεταβολίτης A επεξεργάζεται στο επόμενο στάδιο καθότι είναι ένα απαιτούμενο αντιδραστήριο.
  - ένα νέο συνδυαστικό μονοπάτι κατασκευάζεται ως  $[-g] + [a, b] = [-g, a, b]$ , και πλέον το μονοπάτι  $[-g]$  διαγράφεται.
  - Για το επόμενο βήμα, το G επιλέγεται αυθαίρετα από τους μεταβολίτες G, H, και K, οι οποίοι συμμετέχουν στο ίδιο αριθμό αντιδράσεων. Στο μονοπάτι του G, υπάρχουν δύο οδοί που το καταναλώνουν,  $[-k]$  και  $[m]$ , και δύο οδοί όπου παράγεται,  $[h]$  και  $[k]$ . Ως εκ τούτου, τέσσερις συνδυασμοί θα πρέπει να κατασκευαστούν, αφαιρείται όμως ο  $[k]$  καθότι δεν μπορεί να συνδυαστεί με  $[-k]$ . Έτσι παραμένουν τρεις συνδυασμοί, δηλαδή,  $[h] + [-k] = [h, -k]$ ,  $[h] + [m] = [h, m]$ , και  $[k] + [m] = [k, m]$ .
  - Διαγράφονται οι αρχικές τέσσερις διαδρομές στις οποίες συμμετείχε το G. Μετά την επεξεργασία του A και G, οι ενεργοί οδοί είναι οι εξής:



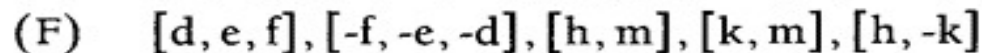
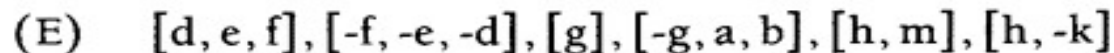
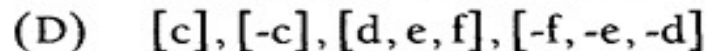
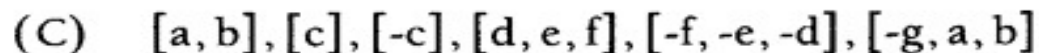
**Και το νέο σέτ μεταβολιτών που απαιτεί μελέτη**



- Με την επεξεργασία του Η με ένα παρόμοιο τρόπο, κατασκευάζονται δυο συνδυαστικά μονοπάτια, δηλαδή  $[-f] + [-e, -d] = [-f, -e, -d]$  και  $[d, e] + [f] = [d, e, f]$ .  
Θυμίζω πάλι ότι οι οδοί που περιλαμβάνουν την ίδια αντίδραση με αμφίδρομη κατεύθυνση δεν κατασκευάζονται. Μετά τη μελέτη του Η το μονοπάτι μεταβάλλεται σε:

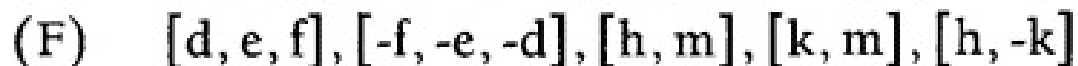
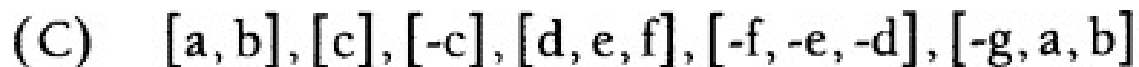


- Και οι μεταβολίτες που απαιτούν παραπέρα μελέτη σε:



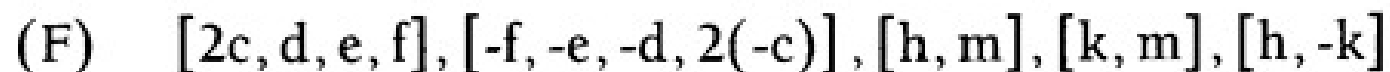


- Επειδή το D συμμετέχει σε μόνο τέσσερις διαδρομές, γίνεται η επεξεργασία τους διπλά. Το γεγονός ότι ο συντελεστής του D σε αντιδράσεις [d, e, f] και [-f, -e, -d] είναι 2 πρέπει να αντανakλάται στην κατασκευή των συνδυασμών. Οι νέες οδοί κατασκευάζονται ως  $2 [c] + [d, e, f] = [2c, d, e, f]$  και  $[-f, -e, -d] + 2 [c] = [-f, -e, -d, 2 (-c)]$ , και οι τέσσερις οδοί που περιλαμβάνουν D διαγράφονται. Το σύνολο των ενεργών διαδρομών έχει γίνει πλέον σημαντικά μικρότερο:



- Μόνο τρεις μεταβολίτες μένουν να για να επεξεργαστούμε

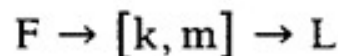
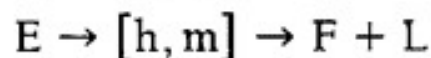
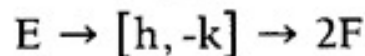
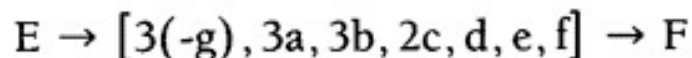
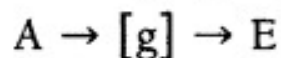
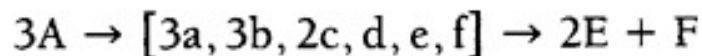
- 





- Στη συνέχεια μελετάται το C καθότι συμμετέχει μόνο σε τέσσερα μονοπάτια, κάτι το οποίο οδηγεί στην παραγωγή δυο συνδυασμών:
  - $3[a, b] + [2c, d, e, f] = [3a, 3b, 2c, d, e, f]$
  - $3[-g, a, b] + [2c, d, e, f] = [3(-g), 3a, 3b, 2c, d, e, f]$ .

- Με τη διαγραφή των τεσσάρων αρχικών μονοπατιών, τα ενεργά μονοπάτια μετατρέπονται σε:



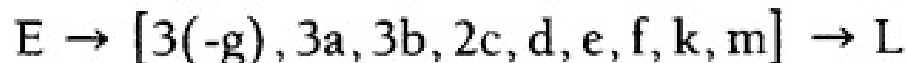
- Και οι δυο μεταβολίτες που παραμένουν προς μελέτη είναι οι







- Καθότι οι παρακάτω μεταβολίτες λαμβάνουν μέρος στον ίδιο αριθμό μεταβολικών οδών μπορούν να μελετηθούν με οποιαδήποτε σειρά για να βρεθεί το τελικό αποτέλεσμα. Μελετώντας πρώτα το F παράγονται τρία νέα συνδυαστικά μονοπάτια:
  - ❖  $[3a, 3b, 2c, d, e, f] + [k, m] = [3a, 3b, 2c, d, e, f, k, m]$ ;
  - ❖  $[h, m] + [k, m] = [h, k, 2m]$ ; Και
  - ❖  $[3(-g), 3a, 3b, 2c, d, e, f] + [k, m] = [3(-g), 3a, 3b, 2c, d, e, f, k, m]$ .
- Με την αφαίρεση των πέντε αρχικών μονοπατιών στα οποία λαμβάνει χώρα το F, τα ενεργά μονοπάτια που παραμένουν είναι τα ακόλουθα







- Ο τελευταίος μη μελετημένος μεταβολίτης, E, συμμετέχει και στα τέσσερα μονοπάτια. Η μελέτη του E (μη μελετώντας τα μονοπάτια που έχουν αντίθετη φορά) παράγει τους παρακάτω συνδυασμούς:
  - $(1/3)[3a, 3b, 2c, d, e, f, k, m] + (2/3)[3(-g), 3a, 3b, 2c, d, e, f, k, m] = [2(-g), 3a, 3b, 2c, d, e, f, k, m]$ ;
  - $[3a, 3b, 2c, d, e, f, k, m] + 2[h, k, 2m] = [3a, 3b, 2c, d, e, f, 3k, 5m, 2h]$ ;
  - $[g] + [h, k, 2m] = [g, h, k, 2m]$ .
  - Θα πρέπει να σημειωθεί ότι, προκειμένου να ληφθούν μικρότεροι ακέραιοι συντελεστές για τις συνδυαστικές οδούς, τα κλάσματα του 1/3 και 2/3, χρησιμοποιούνται αντί 1 και 2. Αυτό έχει το ίδιο αποτέλεσμα με τη διαίρεση του προκύπτοντος μονοπατιού με το 3.
  - Σαφώς, η ουσία του μετασχηματισμού και η δυναμικότητα της οδού δεν επηρεάζεται από πολλαπλασιαστικές σταθερές, αλλά μόνο από τις μοριακές αναλογίες των μεταβολιτών και των αντιδρώντων. Έτσι, οι τελικές διαδρομές είναι:





- Κάποιος μπορεί να παρατηρήσει ότι από τις τρεις οδούς που κατασκευάστηκαν, μόνο δύο είναι γραμμικά ανεξάρτητες.
  - Το μονοπάτι [P2] μπορεί να ληφθεί ως  $[P1] + 2 [P3]$ , εν τούτοις και οι τρεις οδοί είναι χρήσιμοι, καθότι είναι γονοτυπικά ανεξάρτητοι, δηλαδή, περιλαμβάνουν ανεξάρτητα σύνολα ενζύμων.
  - Παρά το γεγονός ότι [P2] είναι το άθροισμα των [P1] και 2 [P3], το σύνολο των ενζύμων του [P2] δεν είναι η ένωση των αντίστοιχων συνόλων για [P1] και [P3]. Συγκεκριμένα, το ένζυμο g υπάρχει τόσο στο [P1] και [P3], αλλά όχι στο [P2].
- Εάν μας ενδιαφέρει η υψηλή απόδοση του προϊόντος L, η οδός [P3] είναι η καλύτερη από τις τρεις. Έτσι, εκτός από τη διερεύνηση διαφορετικών μεταβολικών οδών μεταξύ του υποστρώματος (w) και του μεταβολικού προϊόντος (s), ο αλγόριθμος σύνθεσης είναι χρήσιμος για την αξιολόγηση της συνολικής μεταβολής του άνθρακα .
- Σε πολλές περιπτώσεις τα μονοπάτια που σχηματίζονται από τον αλγόριθμο εξαρτώνται άμεσα από τη φυσιολογική κατάσταση του κυττάρου, π.χ., η παραγωγή και έκκριση ορισμένων μεταβολιτών που είναι απαραίτητοι για την ανάπτυξη. Ως εκ τούτου είναι δεδομένο πως η παραγωγή των προϊόντων δεν είναι ανεξάρτητη από την ανάπτυξη του κυττάρου, την οποία όμως συνήθως δεν μελετά ο αλγόριθμος.



# ΕΠΙΣΚΟΠΗΣΗ ΤΟΥ ΑΛΓΟΡΙΘΜΟΥ

- Οι μεταβολίτες μπορούν να συμμετέχουν σε βιοχημικές οδούς με μία από τις τρεις ακόλουθες ιδιότητες: (1) ως καθαρά αντιδραστήρια της οδού, όπου υπάρχει καθαρή μείωση του μεταβολίτη (2) ως καθαρά προϊόντα της οδού, όπου υπάρχει καθαρή παραγωγή μεταβολίτη και (3) ως ενδιάμεσα προϊόντα, με άλλα λόγια, συμμετέχοντας χωρίς καθαρή κατανάλωση ή παραγωγή
- Ο αλγόριθμος που παρουσιάστηκε στις προηγούμενες διαφάνειες επιχειρεί ουσιαστικά να ικανοποιήσει τους περιορισμούς που επιβάλλονται σχετικά με τη συμμετοχή των μεταβολιτών στα βιοχημικά μονοπάτια. Το πρώτο βήμα για την εφαρμογή του αλγορίθμου είναι να δημιουργηθεί μια βάση των επιτρεπτών βιοχημικών αντιδράσεων που να περιλαμβάνει και τη στοιχειομετρία τους. Σε αυτή τη μορφή, το αρχικό σύνολο των βιοαντιδράσεων σε γενικές γραμμές δεν ικανοποιεί τους περιορισμούς, καθότι απαιτείται η καθαρή κατανάλωση των αποκλεισμένων αντιδραστηρίων που δεν δύναται να καταναλώνονται από το μονοπάτι.
- Ο αλγόριθμος επιχειρεί την επαναληπτική ικανοποίηση των διαφόρων περιορισμών, σύμφωνα με την οποία το αρχικό σετ βιοαντιδράσεων μεταμορφώνεται σταδιακά, στην τελική σειρά των οδών που ικανοποιούν όλους τους περιορισμούς.



- Ο αλγόριθμος αντιμετωπίζει έναν περιορισμό ανά κύκλο.
- Σε κάθε επόμενο κύκλο ο αλγόριθμος χαρακτηρίζεται από μονοπάτια τα οποία ικανοποιούν κάποιους συνθετικούς περιορισμούς και τα οποία έχουν είδη τύχει επεξεργασίας και από σετ στοιχειομετρικών περιορισμών οι οποίοι έχουν μένει να ικανοποιηθούν.
- Στο επόμενο στάδιο επέκτασης ένας ακόμη περιορισμός θα ικανοποιηθεί, επιλέγοντας ένας από τους εναπομείναντες μεταβολίτες. Ο ποιο κατάλληλος μεταβολίτης είναι αυτός ο οποίος συμμετέχει στο μικρότερο αριθμό ενεργών αντιδράσεων, με το μεταβολίτη να μπορεί να δρα ως αντιδρών ή προϊόν
- Κατά την επιλογή του εν λόγω μεταβολίτη, το σύνολο των ενεργών διαδρομών τροποποιούνται για την ικανοποίηση του περιορισμού. Εάν, για παράδειγμα, ο περιορισμός ορίζει ένα μεταβολίτη ως αποκλειώμενο αντιδραστήριο ή αποκλειώμενο προϊόν, όλες οι πιθανές οδοί θα πρέπει να κατασκευαστούν με συνδυασμό ενός μονοπατιού που καταναλώνει το μεταβολίτη και μία οδό που τον παράγει, έτσι ώστε ο μεταβολίτης να απομακρυνθεί από τη στοιχειομετρία του μονοπατιού.



- Η γραμμική φύση των περιορισμών έχει ένα σημαντικό αποτέλεσμα. Μόλις ένας περιορισμός ικανοποιείται από όλα τα ενεργά μονοπάτια, περαιτέρω γραμμικοί συνδυασμοί αυτών των οδών ποτέ δε θα παραβιάσουν τους περιορισμούς. Έτσι, μετά την επεξεργασία του κάθε περιορισμού, οι νέες ενεργοί οδοί ικανοποιούν όλους τους ήδη μελετημένους/ικανοποιημένους περιορισμούς.
- Μια απαίτηση για την εφαρμογή του αλγορίθμου των βιοχημικών συνθετικών οδών είναι η χρήση βάσεων δεδομένων που περιλαμβάνουν τις πιθανές ενζυματικές αντιδράσεις. Μια τέτοια βάση δεδομένων με 250 ενζυματικές αντιδράσεις και 400 μεταβολίτες έχει δημιουργηθεί από τον Mavrouniotis (1989)
  - (Mavrouniotis M.L. Computer-aided design of biochemical pathways. Ph.D. Thesis. MIT, Cambridge, MA, 1989).
  - .



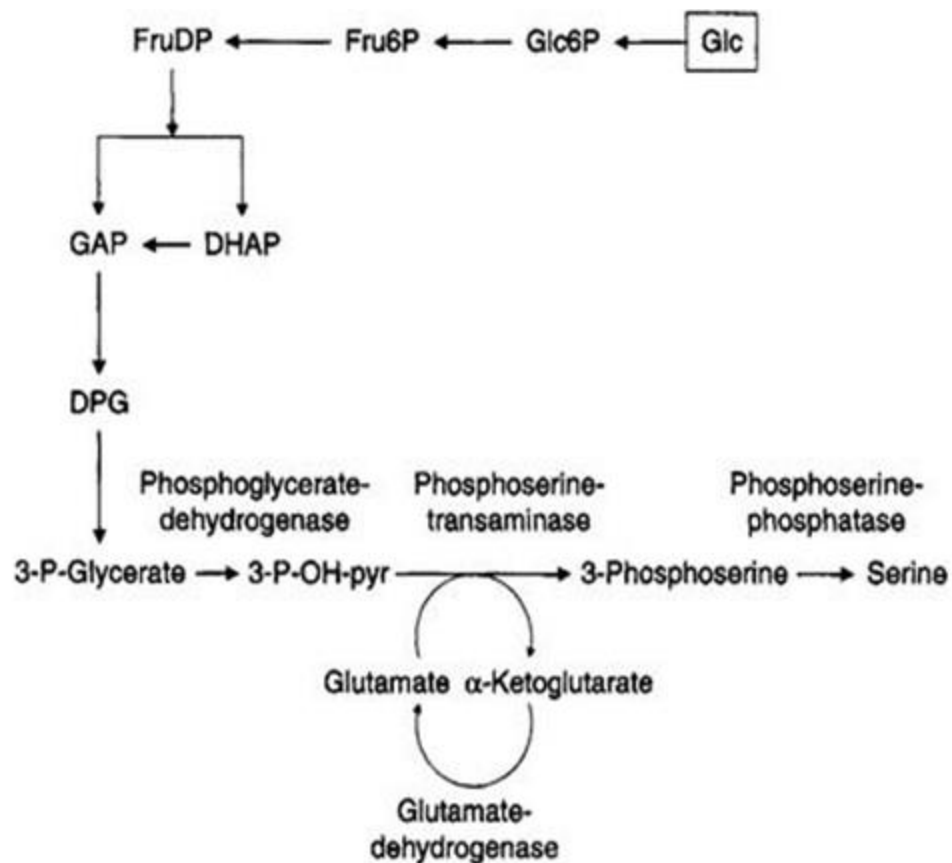
# Παράδειγμα, η σύνθεση της σερίνης

- Η Σερίνη είναι ένα α-αμινοξύ το οποίο διαδραματίζει σημαντικό βιολογικό ρόλο ως πρόδρομη ένωση για τη βιοσύνθεση πολλών απαραίτητων ενδοκυτταρικών ενώσεων όπως είναι τα αμινοξέα, τα φωσφολιπίδια και οι αζωτούχες βάσεις.
- Το πρόβλημα της σύνθεσης του μεταβολικού μονοπατιού ορίζεται με βάση τις ακόλουθες προϋποθέσεις:
  - Απαρίθμηση όλων των πιθανών οδών που εμφανίζονται στη βάση δεδομένων των ενιαίων ενζυματικών αντιδράσεων οι οποίες μπορούν να οδηγήσουν στη σύνθεση της σερίνης (προϊόν). Η γλυκόζη αποτελεί απαραίτητο αντιδραστήριο και η  $\text{NH}_3$  και  $\text{CO}_2$  επιτρεπτό αντιδραστήριο και προϊόν, αντίστοιχα.
  - Επιπλέον, οι οξειδωτικοί μεταβολίτες - ( $\text{NAD}$ ,  $\text{NADH}$ ,  $\text{NADP}$ ,  $\text{NADPH}$ ,  $\text{FAD}$ , και  $\text{FADH}_2$ ), τα ενεργειακά νομίσματα ( $\text{ATP}$ ,  $\text{ADP}$ ,  $\text{AMP}$ ), τα ενδιάμεσα μεταβολικά νομίσματα ( $\text{GTP}$ , το  $\text{GDP}$ ,  $\text{GMP}$ ,  $\text{TTP}$ ,  $\text{TDP}$ ,  $\text{TMP}$ ,  $\text{UTP}$ ,  $\text{UDP}$ ,  $\text{UMP}$ ,  $\text{CTP}$ , το  $\text{CDP}$ , και  $\text{CMP}$ ), και κάποιοι άλλοι όπως [ $\text{Co-A}$ , φωσφορικά ιόντα ( $\text{P}_i$ ), και το πυροφωσφορικό ιόν ( $\text{PP}_i$ )], εντάσσονται ως επιτρεπτοί μεταβολίτες



- Με αυτήν την διατύπωση, ο αλγόριθμος μειονεκτεί στα στάδια επεξεργασίας των περιορισμών σχετικά με το ακετυλο-CoA και τους μεταβολίτες του μηλικού, κάτι το οποίο δείχνει και την μεγάλη σημασία που έχουν οι μεταβολίτες αυτοί στη σύνθεση της σερίνης.
- Για το λόγο αυτό αυτοί οι μεταβολίτες προσδιορίζονται ως επιτρεπτοί, πράγμα που σημαίνει ότι, αν εμφανίζονται στη συνολική οδό, επιπλέον μονοπάτια θα πρέπει να συμπεριλαμβάνονται. Με την προσθήκη αυτή ο αλγόριθμος δύναται να ολοκληρωθεί. Με την παραγωγή 1526 μονοπατιών, το μεγαλύτερο από τα οποία περιλαμβάνει 26 αντιδράσεις.

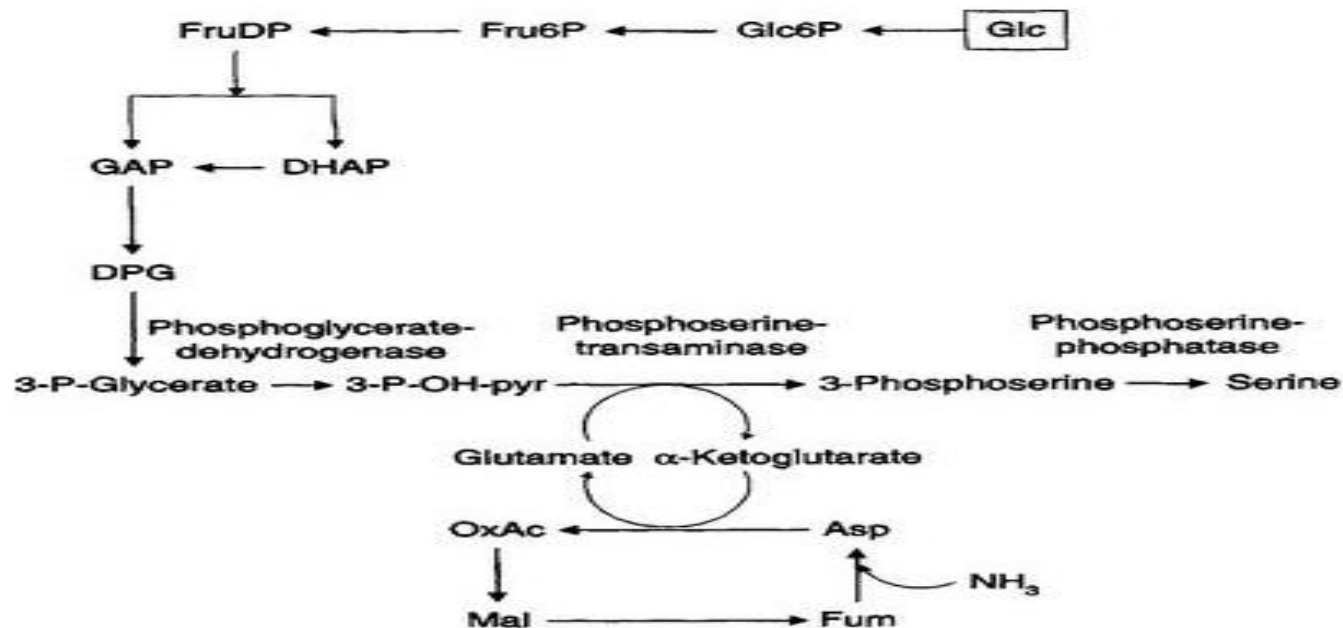




Πορεία σύνθεσης της σερίνης από γλυκόζη με ανάκτηση του γλουταμικού από την αφυδρογόνωση του γλουταμικού



- Το παρακάτω σχήμα παρουσιάζει μία εναλλακτική διαδρομή για τη σύνθεση της σερίνης παρόμοια με το προηγούμενο σχήμα, μόνο όμως που η ανάκτηση του γλουταμικού δεν γίνεται με χρήση της γλουταμικής δεϋδρογενάσης αλλά μέσω μιας σειράς αντιδράσεων που περιλαμβάνει τα ενδιάμεσα προϊόντα όπως: φουμαρικό, ασπαρτικό, οξαλοξικό και μηλικό. Αυτή η συγκεκριμένη επιλογή για τη μετατροπή του α-κετογλουταρικού και της αμμωνίας σε γλουταμικό είναι απλώς μία από τις πολλές δυνατότητες. Μια άλλη ανάλογη δυνατότητα είναι η γνωστή διαδρομή δια μέσω της γλουταμίνης, χρησιμοποιώντας τις αντιδράσεις που καταλύονται από τη συνθετάση της γλουταμίνης





Ο αλγόριθμος προσδιορίζει διαφορετικές διαδρομές για την ανάκτηση του γλουταμικού, και αυτό καταδεικνύει σαφώς την πολυπλοκότητα του κυτταρικού μεταβολισμού.

Χρησιμοποιώντας μόνο βιοχημική βιβλιογραφία μπορεί κανείς να σχηματίσει την εντύπωση ότι οι οδοί που καταγράφονται είναι εκείνες που εκτελούνται στο κύτταρο.

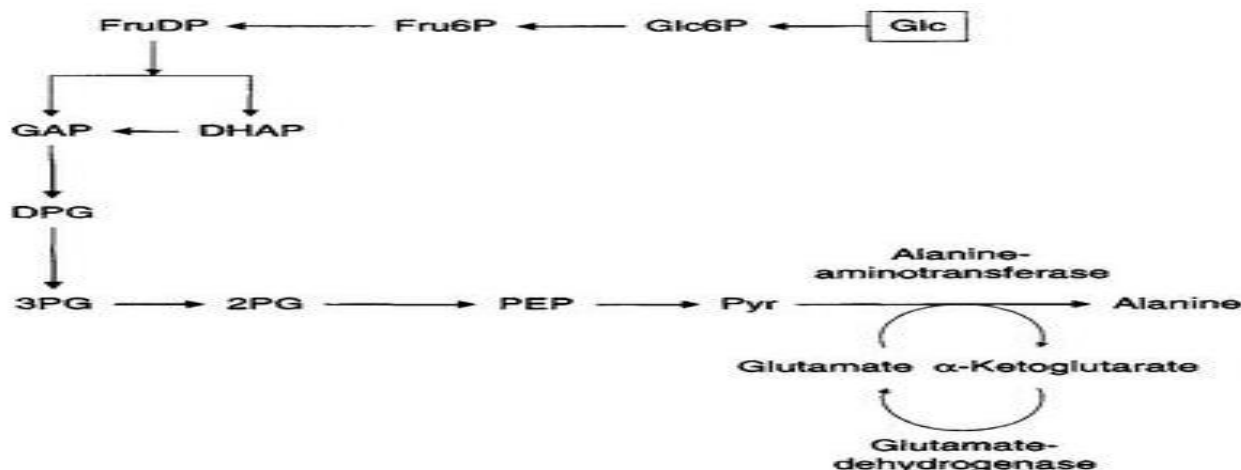
Ωστόσο, όταν πρόκειται για βασικές ενώσεις, όπως το γλουταμικό, μπορεί να υπάρχουν πολλές διαφορετικές διαδρομές για την ανάκτηση του, και αρκετές από αυτές μπορούν να δρουν παράλληλα.

Αυτό απεικονίζεται από τις διάφορες οδούς που παράγονται από τον αλγόριθμο.



# Παράδειγμα 2 η σύνθεση της αλανίνης

- Η αλανίνη είναι το δεύτερο απλούστερο πρωτεϊνικό αμινοξύ μετά τη γλυκόζη. Η αλανίνη είναι σημαντική για τη διατήρηση ισορροπημένων επιπέδων αζώτου και γλυκόζης στο σώμα μέσω του κύκλου της αλανίνης, ταυτόχρονα διαδραματίζει εξέχοντα ρόλο στον ενεργειακό εφοδιασμό των κυττάρων
- Στην περίπτωση της σύνθεσης της αλανίνης, πρέπει αρχικά να προσδιοριστεί η γλυκόζη ως το απαιτούμενο αντιδραστήριο και η αλανίνη ως το απαιτούμενο προϊόν, με την  $\text{NH}_3$  και το  $\text{CO}_2$  να αποτελούν το επιτρεπτό αντιδραστήριο και το προϊόν αντίστοιχα. Όπως και με τη σερίνη, το μηλικό οξύ και το ακετυλό-CoA ορίζονται σαν επιτρεπτά αντιδραστήρια και προϊόντα. Η συνήθης πορεία για τη σύνθεση της αλανίνης με γλυκόζη ως το κύριο αντιδρών παρουσιάζεται παρακάτω.



- Όπως και στην περίπτωση της σερίνης, η γλυκόζη καταβολίζεται με γλυκόλυση σε πυροσταφυλικό οξύ, το οποίο στη συνέχεια μετατρέπεται σε αλανίνη με χρήση της αμινοτρανσφεράσης της αλανίνης. Το γλουταμικό οξύ που απαιτείται για την αντίδραση ανακτάται από το α-κετογλουταρικό οξύ από την αφυδρογονάση γλουταμικού.

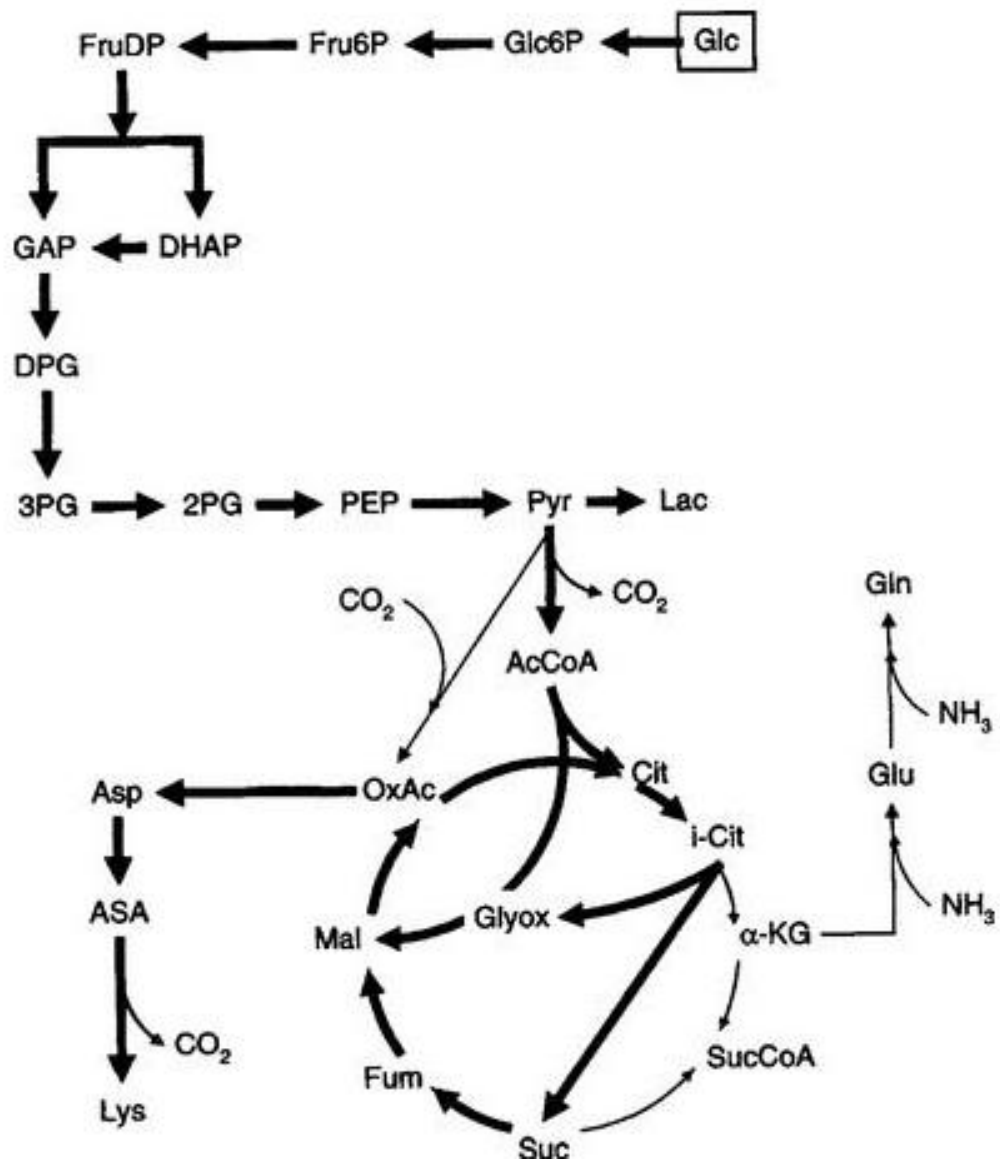


- Εναλλακτικές οδοί μπορούν να παραχθούν με την ενσωμάτωση επιμέρους αντιδράσεων - διαδρομών για την ανάκτηση του γλουταμινικού οξέος όπου αυτές θα περιλαμβάνουν το φουμαρικό οξύ, το ασπαρτικό οξύ, το οξαλοξικό οξύ και το μηλικό οξύ.
- Ακόμα ένα μονοπάτι μπορεί να μετατρέψει το πυροσταφυλικό σε αλανίνη όχι με τη χρήση της αμινοτρανσφεράσης της αλανίνης, αλλά από την αφυδρογονάση της αλανίνης. Επειδή η τελευταία αντίδραση χρησιμοποιεί άμεσα αμμωνία, δεν υπάρχει ανάγκη για χρήση της αφυδρογονάσης του γλουταμικού ή οποιοδήποτε άλλο σύστημα για την μετατροπή του α-κετογλουταρικού οξέος σε γλουταμικό οξύ



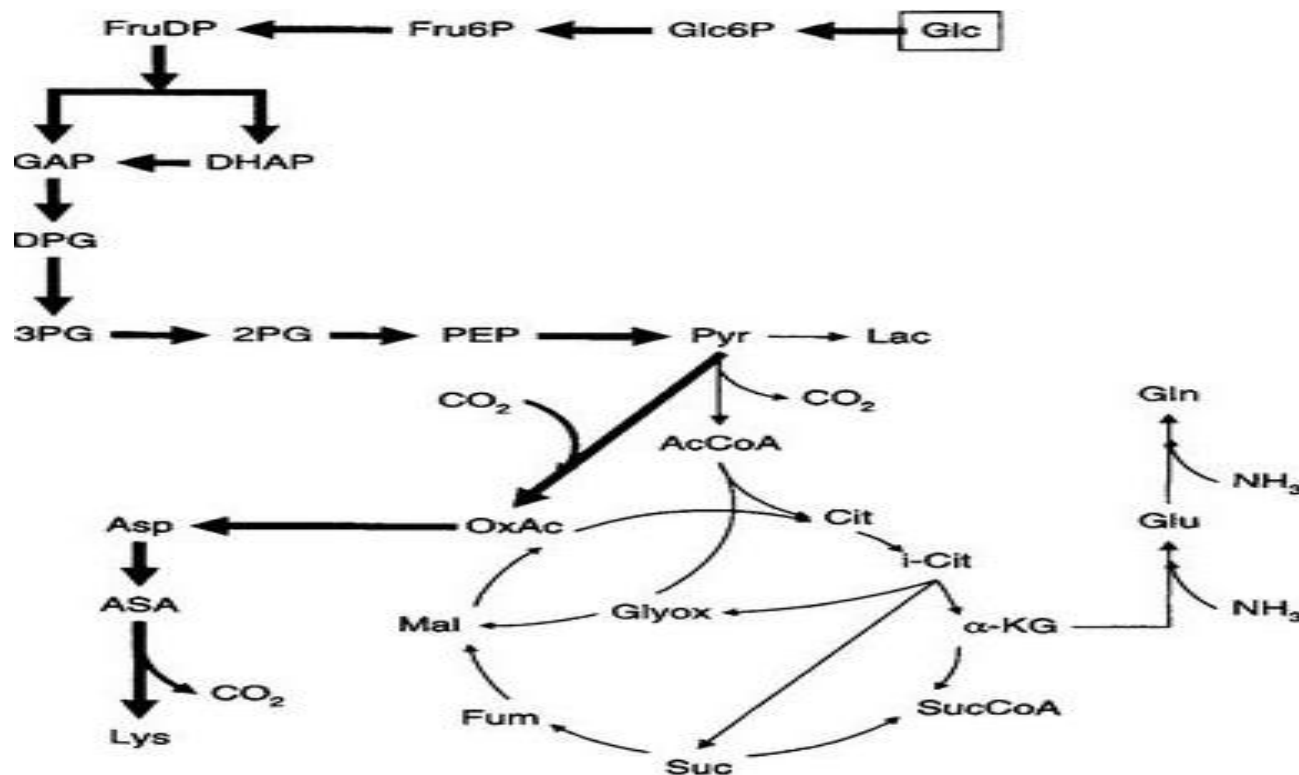
# Η βιοσύνθεση της λυσίνης

- Μια μελέτη της σύνθεσης της λυσίνης από γλυκόζη και αμμωνία εμφανίζονται στις παρακάτω διαφάνειες, προκειμένου να παρουσιαστούν τα διάφορα είδη μονοπατιών που μπορούν να επιτευχθούν από την εφαρμογή του αλγόριθμου σύνθεσης.
- Κύριος στόχος είναι να απεικονιστεί η κατασκευή των αποδεκτών μονοπατιών και να διερευνηθούν εναλλακτικές λύσεις όσον αφορά τη συμμετοχή των βασικών ενζύμων και των μεταβολιτών.
- Αυτή η διαδικασία μπορεί να οδηγήσει σε ορισμένους θεμελιώδεις περιορισμούς σχετικά με τη δομή και την απόδοση της λυσίνης που παράγουν τα διαφορετικά μονοπάτια. Σημειώνεται ότι το σύνολο των οδών κατασκευάζονται είναι πλήρης μόνο σε σχέση με τη βάση δεδομένων που αξιοποιείται.
- Όταν εισάγονται πρόσθετες βιοαντιδράσεις στη βάση δεδομένων, τα αποτελέσματα του αλγορίθμου μεταβάλλονται σε ελλιπή, Ωστόσο, τα προηγούμενως κατασκευασμένα μονοπάτια εξακολουθούν να ισχύουν.
- Με την ίδια λογική, αν ο αριθμός των οδών που κατασκευάζονται είναι μεγάλος, μπορεί κανείς να εξετάσει την συνετή μείωση της ενζυματικής βάσης της αντίδρασης, προκειμένου να μειωθεί ο αριθμός των διαδρομών που δημιουργούνται. Με τη χρήση της ίδιας βάσης όπως για τη σερίνη και τη σύνθεση της αλανίνης, ο αλγόριθμος που παράγει περίπου 500 διαφορετικές οδούς. Προκειμένου να απλοποιηθεί η μελέτη, η αφυδρογονάση του α-κετογλουταρικού θεωρήθηκε ότι είναι μη λειτουργικό και αποκλείεται από τη βάση δεδομένων.
- Εκτός από την απλούστευση των αποτελεσμάτων, η υπόθεση αυτή δείχνει επίσης τι θα χρειαζόταν για την παραγωγή λυσίνης με χρήση ενός μεταλλαγμένου ενζύμου. Το παραγόμενο μονοπάτι παρουσιάζεται στο επόμενο σχήμα, όπου φαίνεται ότι έχει γίνει αξιοποίηση της ροής του γλυκοξυλικού προκειμένου να συμπληρωθεί ο κύκλος TCA και να αντισταθμιστεί η έλλειψη της δραστηριότητας της α-κετογλουταρικής αφυδρογονάσης. Η συνολική οδός περιλαμβάνει τις βασικές διεργασίες της γλυκόλυσης, του κύκλος TCA, της μετατροπής του οξαλοξικού σε ασπαρτικό, και την ακολουθία των αντιδράσεων μεταξύ ασπαρτικού και λυσίνης.





- Μία από τις εφαρμογές του αλγορίθμου σύνθεσης είναι η διερεύνηση της δυνατότητας να παρακαμφθεί μια αντίδραση, αν αποδειχθεί ότι μια τέτοια αντίδραση συνιστά εμπόδιο στη συνολική μετατροπή.
  - Για παράδειγμα, αν υποτεθεί ότι η μηλική αφυδρογονάση ήταν ένα βασικό περιοριστικό ένζυμο στην οδό, θα ήταν επιθυμητό να δημιουργηθούν εναλλακτικές οδοί παρακάμπτοντας αυτό το ένζυμο.



- Το παραπάνω διάγραμμα δείχνει ένα τέτοιο μονοπάτι που αποκλείει την μηλική αφυδρογονάση. Αυτή η οδός, στην πραγματικότητα, παρακάμπτει το σύνολο του κύκλου TCA μέσω της άμεσης καρβοξυλίωσης του πυροσταφυλικού οξέος προς οξαλοξικό, η οποία μπορεί να επιτευχθεί είτε από την πυροσταφυλική καρβοξυλάση ή με χρήση της αποκαρβοξυλάσης του οξαλοξικού οξέος. Αυτό το μονοπάτι δίνει επίσης μια πιο ελκυστική μέγιστη απόδοση που φτάνει θεωρητικά στο 100% σε αντίθεση με την περιηγούμενη αντίδραση που μπορεί να αποδώσει έως και 76%





- Κάποιος μπορεί να διερευνήσει το αποτέλεσμα μικρότερων διαταραχών αν είναι επιθυμητή μόνο η παράκαμψη ενός μόνο μέρους των αντιδράσεων με διατήρηση του μεγαλύτερου μέρους της δομής του αρχικού μονοπατιού, συμπεριλαμβανομένου του κύκλου του Crebs. Μια τέτοια εναλλακτική λύση παρακάμπτει την αφυδρογονάση του μηλικού με μόλις δύο αντιδράσεις μετατροπής του μηλικού προς οξαλοξικό:

- **Μηλικό + πυροσταφυλικό → οξαλοξικό + γαλακτικό**

Από τη γαλακτικό-μηλικό τρανσυδρογενάση

- **Γαλακτικό → πυροσταφυλικό**

Από τη τρανσυδρογενάση του γαλακτικού με αντίθετη φορά



- Μία άλλη εναλλακτική λύση, περιλαμβάνει την μετατροπή του μηλικού σε φουμαρικό με χρήση της φουμαράσης και μετατροπή του ηλεκτρικού οξέος σε φουμαρικό με χρήση της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης, όπως και στην αρχική οδό. Επιπλέον, το φουμαρικό μετατρέπεται σε ασπαρτικό μέσω της ασπαρτικής αμινοτρανσφεράσης.
- Επειδή το οξαλοξικό οξύ χρησιμοποιείται για να σχηματιστεί κιτρικό οξύ, το ήμισυ του ασπαρτικού πρέπει να ανακυκλωθεί σε οξαλοξικό οξύ για να κλείσει ο κύκλος TCA.
- στην αντίδραση του ασπαρτικού, η γλουταμινικό τρανσαμινάση μετατρέπει το ασπαρτικό προς οξαλοξικό οξύ. Μια μικρή παραλλαγή στην προηγούμενη οδό δημιουργείται εάν ένα σετ από δύο αντιδράσεις χρησιμοποιείται για την μετατροπή του ασπαρτικού προς οξαλοξικό οξύ. Πρώτον, η γλυκίνο-οξαλοξικό αμινοτρανσφεράση μετατρέπει τα γλυοξυλικά και το ασπαρτικό σε γλυκίνη και οξαλοξικό οξύ. Δεύτερον, η αφυδρογονάση της γλυκίνης ανακυκλώνει τη γλυκίνη σε γλυοξυλικό οξύ

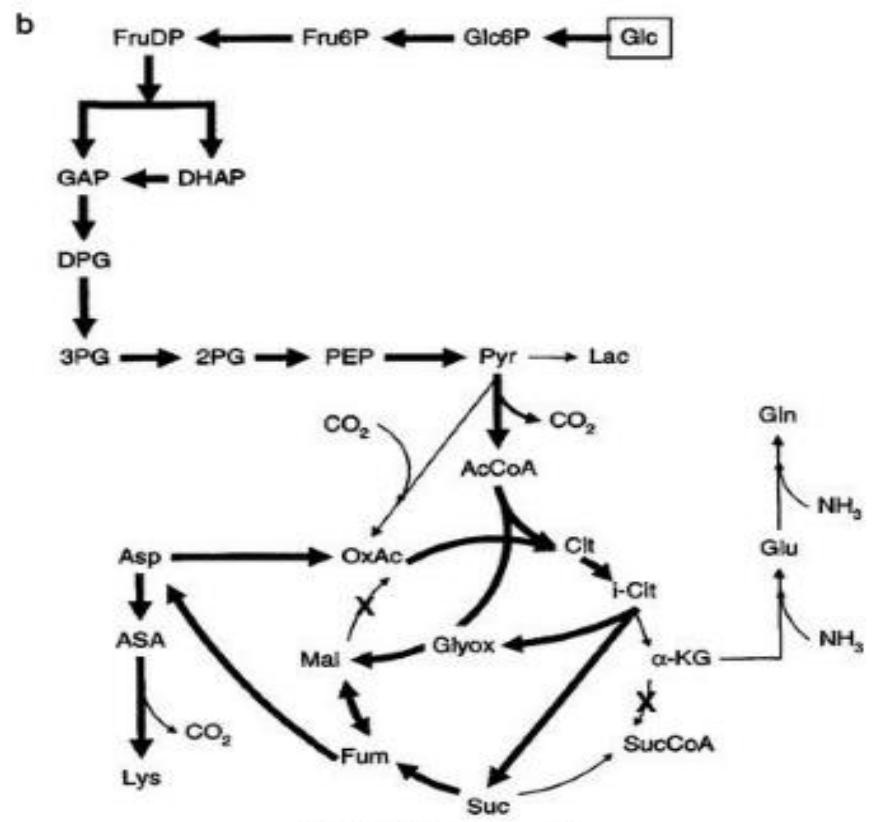
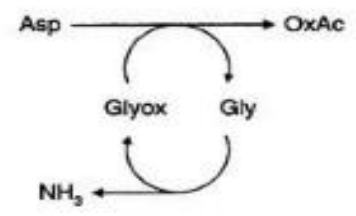


FIGURE 7.6 Continued.





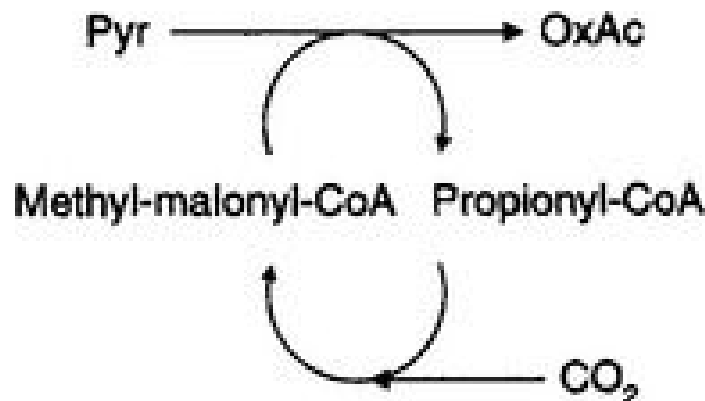
# Ο ρόλος του οξαλοξικού οξέος

- Στις προηγούμενες οδούς το οξαλοξικό οξύ αποτελεί έναν κεντρικό μεταβολίτη. Μολονότι το οξαλοξικό εν μέρει παρακάμπτεται στην οδό του προηγούμενου σχήματος, ένα βασικό ερώτημα είναι αν αυτός ο μεταβολίτης μπορεί να παρακαμφθεί εντελώς και αν μονοπάτια μπορούν να κατασκευαστούν για την παραγωγή λυσίνης από το πυροσταφυλικό οξύ ή τη γλυκόζη χωρίς τη συμμετοχή του οξαλοξικού οξέος σε οποιοδήποτε σημείο.
- Μετά την εξέταση όλων των οδών που παράγονται, αποδείχθηκε ότι αυτό είναι αδύνατο.
- Έτσι το οξαλοξικό οξύ είναι ένα βασικό ενδιάμεσο στην παραγωγή της λυσίνης. Στο μονοπάτι του προηγούμενου σχήματος το ασπαρτικό και η λυσίνη δεν προέρχονται απ' ευθείας από οξαλοξικό οξύ, καθότι το φουμαρικό οξύ μετατρέπεται σε ασπαρτικό με χρήση ενζύμων. Στην πραγματικότητα το ασπαρτικό μετατρέπεται σε οξαλοξικό οξύ, αντί για το αντίστροφο.
- Έτσι, σε αυτή την περίπτωση, ο μεταβολισμός στη γειτονιά του ασπαρτικού, φουμαρικού, μηλικού, και οξαλοξικού είναι εντελώς διαφορετικός από ό, τι θα έπρεπε. Αυτό το τμήμα του μεταβολισμού μπορεί να δείξει ότι είναι δυνατόν να παραχθεί ασπαρτικό χωρίς την παρέμβαση οξαλοξικού. οξέος
- Αποδεικνύεται, ωστόσο, ότι τα απαραίτητα ενδιάμεσα του TCA (μηλικό ή ηλεκτρικό) δεν μπορούν να παραχθούν από τη γλυκόζη, χωρίς την παρέμβαση του οξαλοξικού οξέος. Ο περιορισμός αυτός απαιτεί την παρουσία του οξαλοξικού σε οποιαδήποτε οδό που οδηγεί από γλυκόζη σε λυσίνη.
- Για την περαιτέρω επεξήγηση αυτού του σημείου, ας υποθέσουμε ότι εκτός από την γλυκόζη θα μπορούσαμε να χρησιμοποιήσουμε ηλεκτρικό οξύ ως επιτρεπόμενη αντιδραστήριο. Εντούτοις οι βιοσυνθετικές ταξινομήσεις θα εξακολουθούσαν να θεωρούν το οξαλοξικό οξύ ως απαιτούμενο ενδιάμεσο.



# Εναλλακτικά μονοπάτια

- Τα μονοπάτια της παραγωγής της λυσίνης που έχουν εξεταστεί μέχρι τώρα εμπλέκουν είτε την πυροσταφυλική αφυδρογονάση είτε την πυροσταφυλική καρβοξυλάση ως βασικό αντιδράσεις για το σχηματισμό του ασπαρτικού οξέος.
- Υπάρχουν, ωστόσο, μονοπάτια που παρακάμπτουν την πυροσταφυλική καρβοξυλάση και την πυροσταφυλική αφυδρογονάση, παρουσιάζοντας άλλους τρόπους με τους οποίους το πυροσταφυλικό οξύ μπορεί να εισέλθει στον κύκλο του κιτρικού οξέος.



- Άλλο μονοπάτι που μπορεί να επιτύχει την καρβοξυλίωση του πυροσταφυλικού οξέος είναι μέσω των methylmalonyl-CoA καρβοξυτρανσφεράσης, και της propionyl-CoA καρβοξυλάσης
- Ακόμη μια οδός είναι η άμεση καρβοξυλίωση του φωσφοενολο-πυροσταφυλικού οξέος, επιτρέποντας τη γλυκόλυση να συνδεθεί με τον κύκλο TCA μέσα από μια διαδρομή που παρακάμπτει πλήρως το πυροσταφυλικό οξύ.



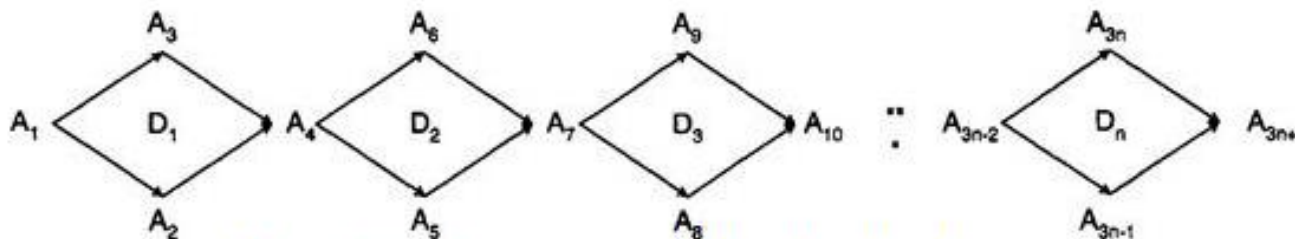
## ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΣΧΕΤΙΚΑ ΜΕ ΤΗ ΜΕΓΙΣΤΗ ΑΠΟΔΟΣΗ

- Μία από τις πιο ενδιαφέρουσες εφαρμογές του αλγορίθμου είναι η μελέτη υποθέσεων. Για παράδειγμα, αναφέρθηκε προηγουμένως ότι δεν είναι δυνατή η παραγωγή λυσίνης από γλυκόζη χωρίς τη συμμετοχή οξαλοξικού ως ενδιάμεσο.
- Ο αλγόριθμος αποκάλυψε επίσης ότι η μέγιστη απόδοση του μονοπατιού μπορεί να υπερβαίνει το 67% μόνο μέσα δέσμευσης διοξειδίου του άνθρακα με αντίδραση καρβοξυλίωση. Πράγματι, αν οι αντιδράσεις καρβοξυλίωσης εξαλειφθούν, η απόδοση περιορίζεται στο 67%.
- Χωρίς μια συστηματική απαρίθμηση όλων των δυνατοτήτων και πιθανών οδών δεν είναι δυνατόν να γνωρίζουμε αν άλλα μονοπάτια επιτρέπουν την παραγωγή του ίδιου προϊόντος με μεγαλύτερη απόδοση.
- Για παράδειγμα, εάν ένα μονοπάτι σχεδιάστηκε για να μετατρέψει 2 mole του πυροσταφυλικού οξέος σε 3 mole του ακετυλο-CoA (χωρίς παραγωγή ή κατανάλωση  $\text{CO}_2$ ), θα ήταν δυνατή μια απόδοση λυσίνης από γλυκόζη μεγαλύτερη από 67%.
- Λαμβάνοντας υπόψη ότι το πυροσταφυλικό και το οξαλοξικό συμμετέχουν σε ένα μεγάλο αριθμό ενζυματικών αντιδράσεων, δεν είναι προφανές εκ των προτέρων ότι η ύπαρξη μιας τέτοιας οδού μπορεί να υπάρχει ή μπορεί να αποκλειστεί.
- Ο αλγόριθμος σύνθεση δείχνει ότι μέσα σε μια αρκετά ολοκληρωμένη βάση δεδομένων, δεν υπάρχει τέτοια οδός. Σημειώνεται και πάλι ότι οι μέγιστες αποδόσεις που λαμβάνονται σε σχέση μόνο με την κατανάλωση του άνθρακα. Αυτές οι αποδόσεις είναι πιθανό να μειωθούν περαιτέρω όταν άλλοι παρεμποδιστικοί παράγοντες λαμβάνονται υπόψιν



# Ο αλγόριθμος

- Ο αλγόριθμος των μονοπατιών σύνθεσης που παρουσιάστηκε παραπάνω είναι πολύ αποτελεσματικός και μπορεί να επεξεργαστεί μεγάλο αριθμό στοιχειομετρικών περιορισμών σε ελάχιστο χρόνο.
- Η πολυπλοκότητα αυξάνεται στη χειρότερη περίπτωση, εκθετικά ως προς τον αριθμό των αντιδράσεων. Αυτό, ωστόσο, εμφανίζεται μόνο σε πολύ εξειδικευμένες περιπτώσεις, όπως εκείνη που απεικονίζεται στο παρακάτω σχήμα.



- Για κάθε διαμάντι που αριθμείται D1, D2, κλπ, ένα μονοπάτι μπορεί να ακολουθήσει είτε την πάνω ή την κάτω διακλάδωση. Αν υπάρχουν N διαμάντια, θα υπάρξουν N-1 κόμβοι όπου συμβαίνουν αυτές οι επιλογές. Έτσι, υπάρχουν  $2^{N-1}$  μονοπάτια, τα οποία είναι γενοτυπικά ανεξάρτητα.
- Σε τέτοιες περιπτώσεις, επειδή ο αλγόριθμος θα κατασκευάσει όλες τις γονοτυπικά ανεξάρτητες οδούς, θα απαιτηθεί χρόνος και αποθηκευτική ικανότητα που είναι εκθετική ως προς τον αριθμό των αντιδράσεων. Αυτή, ωστόσο είναι η χειρότερη περίπτωση.



- Ένα άλλο πλεονέκτημα της μεθοδολογίας που παρουσιάστηκε είναι ότι στις φάσεις επεξεργασίας των μεταβολιτών, οι μεταβολίτες επιλέγονται με βάση τον αριθμό των αντιδράσεων στις οποίες συμμετέχουν. Με τον τρόπο αυτό, εξαλείφονται σταδιακά και το μέγεθος του προβλήματος συνεχώς συρρικνώνεται.
- Εάν οι εν λόγω μεταβολίτες συμμετέχουν σε καταρράκτες αντιδράσεων, τέτοιες αλληλουχίες μελετώνται μόνο μία φορά και, κατά συνέπεια, δεν προκαλούν ιδιαίτερη επιβάρυνση στη χρήση της υπολογιστικής ισχύος.
- Ένα τελευταίο σημείο αφορά τη μεταχείριση των κοινών μεταβολικών νομισμάτων. Οι εν λόγω μεταβολίτες, πρέπει να χαρακτηρίζονται ως επιτρεπτοί μεταβολίτες, διαφορετικά ο αλγόριθμος θα πρέπει να παραμείνει ενεργός για ένα πολύ μεγάλο χρονικό διάστημα, προκειμένου να ικανοποιήσει όλους τους στοιχειομετρικούς περιορισμούς.





- Ας πάρουμε, τους νομισματικούς μεταβολίτες που εμπλέκονται στη διαχείριση της ενέργειας κατά Gibbs ( $P_i$  ATP και ADP) και δύο κατηγορίες υπο μονοπατιών: **α)** αυτά που δρουν ως κύκλοι μετατροπής του ATP σε ADP και  $P_i$  και **β)** αυτά που επιτυγχάνουν τον μετασχηματισμό όπως ορίζεται από το πρόβλημα σύνθεσης, οι οποίες οδοί όμως παράγουν ATP και καταναλώνουν ADP και  $P_i$ .
- Το ATP και ADP έχουν θεωρηθεί ως επιτρεπτά αντιδραστήρια και προϊόντα, έτσι τα μονοπάτια αυτά εμφανίζουν άμεσα αποδεκτές λύσεις και δεν χρειάζεται να επεκταθούν περαιτέρω.
- Εάν, ωστόσο, το ATP και ADP εξαιρεθούν από τα στοιχειομετρικά μονοπάτια τότε πρέπει να υπάρξει σύμπλεξη των δυο διαφορετικών μονοπατιών για το σχηματισμό αποδεκτών λύσεων.
- Με άλλα λόγια, ένα υπομονοπάτι από τη δεύτερη κατηγορία πρέπει να συνδυαστεί με ένα από την πρώτη, προκειμένου να εξαλειφθούν τα ATP και ADP από τη στοιχειομετρία.
- Ο αριθμός των συνδυασμών που δημιουργούνται είναι τεράστιος, και αυτό οδηγεί σε σοβαρά προβλήματα εφαρμοσιμότητας. Επομένως, είναι σημαντικό τέτοιοι κοινοί νομισματικοί μεταβολίτες να συμπεριλαμβάνονται στον κατάλογο των επιτρεπτών αντιδρώντων και προϊόντων

***Thank you for your kind  
attention***



***[www.enve-lab.eu](http://www.enve-lab.eu)***

***A connectivity perspective to environmental health***