

# 계층적 유전자 조절 네트워크와 대사 네트워크를 통합한 가상 미생물 시스템의 모델링

## Modeling of *in Silico* Microbe System based on the Combination of a Hierarchical Regulatory Network with Metabolic Network

이성근, 한상일, 김경훈, 김영한, 황규석\*  
(Sung Gun Lee, Sang il Han, Kyung -Hoon Kim, Young Han Kim, and Kyu Suk Hwang)

**Abstract :** FBA(flux balance analysis) with Boolean rules for representing regulatory events has correctly predicted cellular behaviors, such as optimal flux distribution, maximal growth rate, metabolic by-product, and substrate concentration changes, with various environmental conditions. However, until now, since FBA has not taken into account a hierarchical regulatory network, it has limited the representation of the whole transcriptional regulation mechanism and interactions between specific regulatory proteins and genes. In this paper, in order to solve these problems, we describe the construction of hierarchical regulatory network with defined symbols and the introduction of a weight for representing interactions between symbols. Finally, the whole cellular behaviors with time were simulated through the linkage of a hierarchical regulatory network module and dynamic simulation module including FBA. The central metabolic network of *E. coli* was chosen as the basic model to identify our suggested modeling method.

**Keywords :** FBA, flux balance analysis, maximal growth rate, *E. coli*

### I 서론

정교한 대사 네트워크의 구축을 위해서는 대사산물, 대사 회로, 유전정보 및 단백질-단백질 반응 등의 수많은 자료가 요구된다. 최근 주요 미생물에 관련된 지놈 데이터(genomic data)의 급속한 증가와 전산학적 도구의 개발로 지놈 수준의 체계적이고도 집적된 정보를 제공하는 수많은 DB들이 구축되게 되었다[1]. 이러한 데이터 베이스들 중에서, 완전히 서열화된 미생물 지놈들에 관련된 데이터 베이스들에 대하여 정확하게 전산적 분석을 실행함으로써, 미생물 전체의 종합적인 생화학적 대사네트워크를 구축할 수 있게 되었다. 이로 인해서 미생물의 생체 반응을 PC상에서 모사할 수 있는 가상 미생물 모델(*in silico* microbe model)에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다.

구축된 생화학적 대사 네트워크를 기반으로 한 가상 미생물 모델링 분석은 여러 분야에 좋은 결과를 가져다 준다. 특히 마이크로 어레이(microarrays)를 다루는 분야에서는 유전자의 발현패턴을 분석하기 위해서 개발되었기 때문에, 여러 환경조건에서 세포 내부 전사(intracellular transcription)와 전사 조절(transcriptional regulation)을 예측하는 것은 필수적이다. 또한, 대사공학자들이 이 모델링 방법을 사용하여 원하고자 하는 생화학적성분들을 대량으로 만들 수 있기 때문에 대사공학에도 매우 유용하다[2]. 이러한 유용성 때문에 여러 연구자들은 모사에 의해서, 조절과 대사 모델(regulation and metabolism models)을 분석하는 여러 가지 방법을 제안하였다. 그 중에서 정성적 모델들(qualitative models)은 그 하나의 예이며, 분자

생물학에서 정량적인 데이터와 세포 대사에 관련된 정보 부족의 문제를 대처하기 위해서 제안된 방법이다. 그러나 이 방법은 조합의 발산 때문에 부정확한 거동이나 결과를 생성시키는 단점이 있다[1,3,4]. 속도론을 기반으로 한 미생물 가상 시스템의 구축은 상세한 속도식과 농도 데이터를 필요로 하는 단점이 있으며, 속도식에 필요한 모든 파라미터를 직접 실험적으로 측정해야하는 단점이 있다. 대표적으로 *E-Cell*의 경우, *Mycoplasma genitalium*의 전체 모델링은 가능할 수가 있다. 왜냐하면 가장 적은 수의 지놈과 유전자를 가지고 있어서, 상대적으로 적은 수의 파라미터와 속도식만 필요하기 때문이다. 그러나 이 시스템을 4000개 이상의 유전자를 가지고 있는 *Escherichia coli*로 확대할 경우, 엄청난 수의 파라미터와 속도식이 필요하며, 이를 실험에 의해서 모두 구한다는 것은 불가능하다[5].

상세한 속도식 정보가 부족한 상황에서, 흐름 평균 분석(flux balance analysis)은 대사 능력(metabolic capabilities), 세포 성장율, 대사 부산물, 기질의 농도와 원하는 성분을 생성시킬 수 있는 중요한 반응들을 정확하게 분석할 수 있다[6-9]. 분석에 필요한 정보는 대사경로의 양론계수, 대사이구량, 그리고 기본적인 물리화학적 제약조건이며, 이러한 정보는 잘 알려져 있기 때문에 쉽게 이용할 수 있다. 그러나 이 모델링만으로 구축된 시스템들은 잘못된 미생물의 거동을 예측할 수 있다. 그 이유는 외부 환경 변화에 따라서 특정 대사흐름을 제한하는 유전자들의 모델링이 포함되어 있지 않기 때문이며, 일반적으로 이러한 유전자들은 세포의 거동에 큰 영향을 미친다[2].

최근에는 이러한 조절 제약조건(regulatory constraints)을 생성규칙(production rule-if then rule)과 불리언 논리(boolean logic)로 표현하여 흐름 평균 분석에 통합시키려고 시도하고 있다[10,11]. 그러나 이러한 생성 규칙은 이진 시스템(binary system)이기 때문에, 복잡한 조절 단백질의 상호관계를 나타낼 수

\* 책임저자(Corresponding Author)

논문접수 : 2005. 8. 25., 채택확정 : 2005. 9. 12.

이성근, 한상일, 김경훈, 황규석 : 부산대학교 화학공학과

(lee\_73@pusan.ac.kr/sanggilh@pusan.ac.kr/khokim@pusan.ac.kr/kshwang@pusan.ac.kr)

김영한 : 동아대학교 화학공학과(yhkim@mail.donga.ac.kr)

※ 본 연구는 두뇌한국21(BK21) 사업의 지원으로 연구되었음.

없으며, 어떤 규칙이 적용되었는지 알 수 없기 때문에 유전자들의 조절 메커니즘을 알 수가 없다[12-15]. 본 논문에서는 위에서 언급한 것들을 해결하기 위해서, 조절 요소들 (regulatory protein, genes, effectors etc.) 사이의 관계를 더욱더 유연하게 표현하기 위해서 결합의 정도를 나타내는 가중치 개념을 도입하였고, 외부환경 변화에 따른 유전자들의 조절 메커니즘을 표현하기 위해서, 정의된 기호로 계층적 조절 네트워크(hierarchical regulatory network)를 모델링하고, 이를 흐름 평균 분석에 통합하였다.

II. 재료 및 방법

1. 모사를 위한 소프트웨어

*E. coli*의 중앙 대사 네트워크에서 최적 흐름 분배(optimal flux distribution)를 계산하고, 기질농도와 세포량의 변화를 시간에 따라 정량적으로 예측하기 위해서, 최적화 프로그램 LINGO(Lindo System Inc.)와 공학계산용 프로그램 Matlab(The MathWorks, Inc.)을 각각 사용하였다.

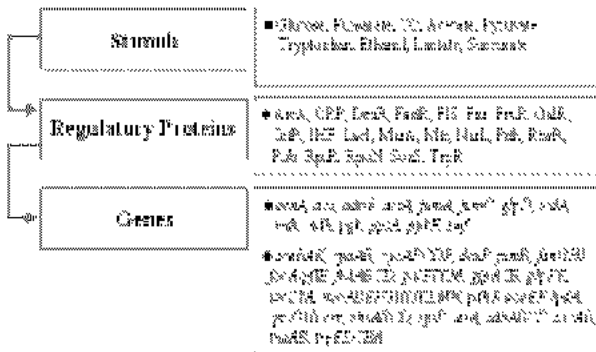


그림 1. 대장균의 중앙 대사 네트워크에 관련된 환경자극, 조절 단백질과 유전자.

Fig. 1. Stimuli, regulatory proteins, and genes in the central metabolic network of *E. coli*.

표 1. 기본적인 모델링 기호들.

Table 1. Fundamental modeling symbols.

	Function	Symbol
Biological Symbols	• Operator	→
	• Directed Link	→
	• Promoter	→
	• Regulator Protein in transcription factor	→
	• Inhibitor	→
	• Gene Transcription in active control	→
Non-Biological Symbols	• Weight Distribution	→
	• Not Gate	→
	• Not Gate	→
	• Not Gate	→
	• Symbol State active/inactive	→

2. *E. coli*의 중앙 대사 네트워크

본 논문에서는 모든 대사산물(metabolic by-product) 생산의 핵심인 *E. coli*의 중앙 대사 네트워크[16]를 기본 모델로 채택했다. 이 네트워크는 조절 단백질이 21개, 두 개 이상의 유전자로 구성된 오페론이 19개, 하나의 조절 단백질에 의해서 조절되어 지는 유전자들이 87(71.9%, 87/121), 두 개 이상의 조절 단백질에 의해서 제어되는 유전자들이 66(75.9%, 66/87) 개였다(그림 1).

3. 기본적인 모델링 기호

미생물의 대사 흐름에 제한 조건으로 작용하는 계층적 조절 네트워크는 오페론을 기본 구조로하여 구축된다. 다시 이 오페론들은 기호(symbol), 간선(arc), 가중치(weight)로 구성되어 있다.

모델링 기호는 조절(regulation)을 위한 생물학적 기호들과 가중치를 위한 비생물학적 기호들로 구분된다(표 1). 생물학적 기호들 중에서 'promoter', 'not gate', 'operator' 기호들은 하나의 클러스터를 형성하여 유전자 전사(gene transcription)의 기능을 담당한다. 간선은 각 기호들 간에 인과관계의 유무와 가중치를 전파시키는 기능을 한다. 가중치가 심볼들의 활성 유무를 결정하기 위해서 사용되어지는 것 이외에, 기호 사이에 결합의 정도를 나타낼 수 있다. 이는 이진 시스템으로 나타낼 수 없는 경우에 효과적으로 사용할 수 있다. 그림 2와 같이 이진 시스템인 경우에 True와 False가 동시에 발생하는 경우, 이를 처리할 수 가 없다. 그러나 가중치에 결합의 정도를 부가함으로써, 이를 처리할 수 있다. 실제로 이러한 상황이 혐기 조건(anaerobic condition)하에서 FNR → *cydAB* and ArcA → *cydAB* 관계에서 발생한다. FNR은 *cydAB*에 repressor, ArcA는 *cydAB*에 activator로 작용한다[17-19]. 이러한 상황이 동시에 발생할 수 있기 때문에 이진 시스템으로 처리할 수 없는 상황이 발생한다.

4. 계층적 유전자 조절 네트워크 모듈

정의된 기호들로 구성된 계층적 유전자 조절 네트워크(hierarchical regulatory network module)는 조절 단백질들이 어떻게 유전자들의 세트를 조절하는지 직관적으로 알 수 있게 한다(그림 3).

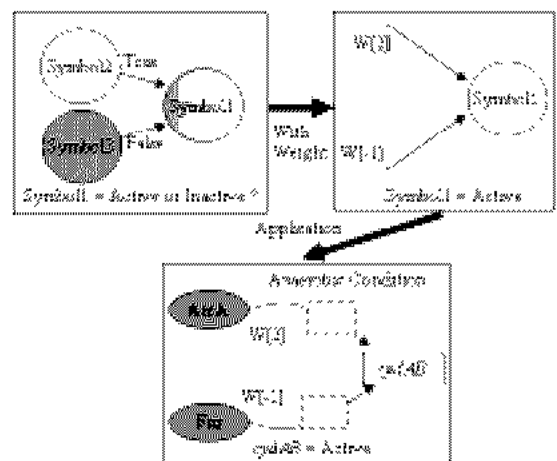


그림 2. 이진 시스템에 가중치 적용.

Fig. 2. Weight application to the binary system.

이 네트워크는 환경자극(stimulus), 모듈론(modulon), 레귤론/오페론 (regulon/operon), 유전자, 대사 네트워크 수준 (metabolic network level)으로 나눌 수 있게 구성한다. 환경자극 수준은 단순한 환경 변화(a simple environmental change)를 나타낸다. 모듈론 수준은 세포 외부 환경의 변화에 반응하고, 하나 이상의 효과를 나타내는 조절 단백질(regulatory protein)에 의해서 레귤론/오페론을 통합적으로 조절하는 기능을 한다. 레귤론/오페론 수준은 공통의 조절 단백질(common regulatory protein)에 의해서 직접적으로 오페론들의 세트 또는 유전자들의 세트를 조절한다[20]. 유전자 수준은 오페론에 의해서 조절되는 유전자들의 활성/비활성(active /inactive)을 나타낸다. 이러한 유전자들은 대사 네트워크 수준에서 미생물 성장에 필요한 대사물질을 합성하거나 분해하는 기능을 한다.

5. 동적 모사 모듈

동적 모사 모듈(dynamic simulation module)은 흐름 평균 분석과 미분식들을 이용하여 기질의 농도와 세포량을 정량적으로 모사하는 기능을 하며, 두 개의 하부모듈(submodule)인 흐름 평균 분석 모듈(flux balance analysis module)과 예측모듈(prediction module)로 이루어진다.

5.1 흐름 평균 분석 모듈(flux balance analysis module)

흐름 평균 분석을 실행하기 위해서는 먼저 생화학적 대사 경로가 구축되어야 한다. 대사경로는 모든 대사반응과 대사물질에 의해서 구축되며, 구축된 대사경로는 대사물질 (metabolite)과 흐름(flux)으로 이루어져 있다. 대사경로는 동적

물질수지(dynamic mass balance)형태로 나타낼 수 있다. 이 물질수지는 시간에 대해서 대사물질의 농도 변화가 대사물질의 생성과 분해의 차와 같다는 것을 설명한다. 이러한 물질수지 식은 행렬(matrix) 형태로 나타낼 수 있으며, 정상상태로 가정하면 다음과 같이 표현할 수 있다.

$$S \cdot V = 0 \tag{1}$$

여기서 S는 양론계수행렬 이고, V는 흐름들의 행렬이다. (1)을 풀기 위해서, 제한 조건들을 부가한다. 제한 조건으로는 최대 흡수율 또는 분비율, 반응의 가역성, 비가역성 등이 있다. 이러한 제한 조건에 의해서 해공간(solution space)의 경계가 정의된다. 이러한 조건에서 추가적인 제한 조건 없이 대사흐름을 구하기 위해서 최적화(optimization)기법을 사용한다. 이때, 대사 네트워크는 목적함수(objective)에 대해서 최적화된다고 가정한다[8,9,12].

$$\text{Minimize } Z = -V_{gro} \tag{2}$$

$$\sum dm \cdot M \xrightarrow{v_{gro}} \text{Biomass} \tag{3}$$

여기서 Z는 목적함수, Vgro는 Growth Flux, M은 생합성 전구체(biosynthetic precursors), dm은 세포(biomass)를 생성하기 위한 M의 요구량을 각각 나타낸다.

5.2 예측 모듈(predictive module)

비정상상태를 나타내는 대사부산물, 미생물량, 기질의 농

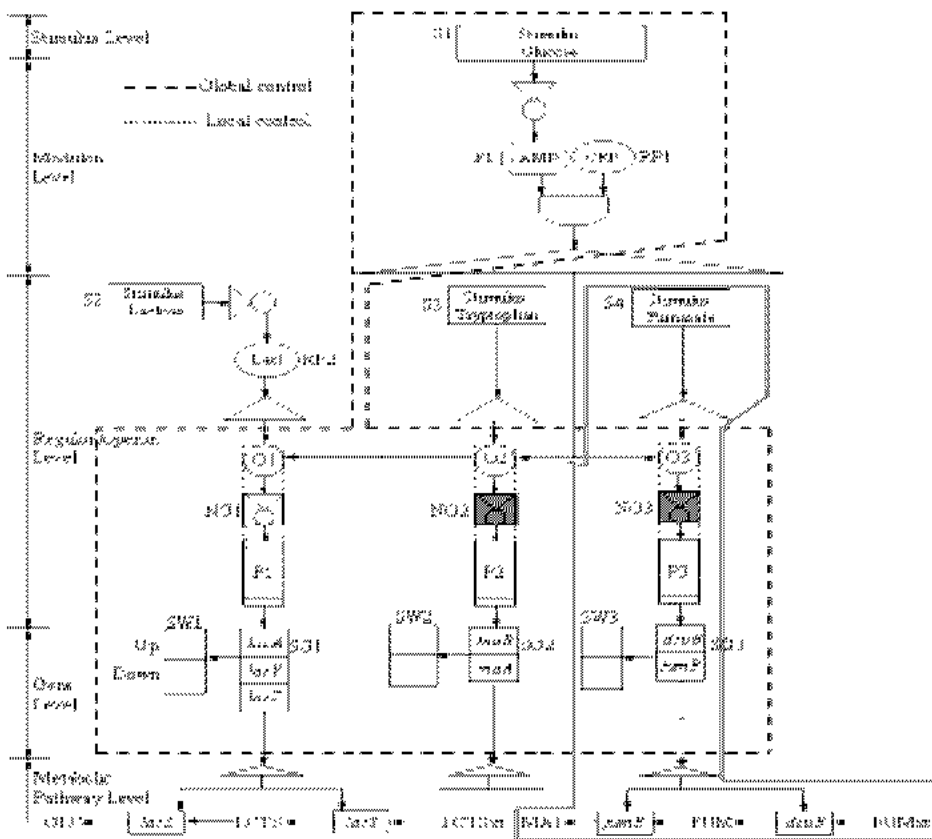


그림 3. 계층적 유전자 조절 네트워크.

Fig. 3. Hierarchical regulatory network.

도를 시간에 따라 정량적으로 예측하기 위해서, 먼저 회분 시간(batch time)을 작은 시간구간으로 나눈다. 초기값들이 주어지면, 흐름 평균 분석이 실제 기질농도, 성장율, 그리고 부산물을 평가하기 위해서 사용 된다[8,9,12]. 이러한 데이터를 가지고 다음 시간구간의 농도를 예측하기 위해서, 반복 알고리즘이 상미분식을 반복적으로 계산한다. 최종적으로 작은 시간구간을 적분함으로써, 전 구간에 대해서 시간에 따른 농도 변화를 예측하게 된다. 이때, 시간구간 내에서는 흐름들(fluxes)이 동일하다고 가정하고 적분하게 된다. 실제 기질 흡수율, 성장율, 초기 농도가 결정되면, 다음 구간의 농도를 구하기 위해서 상미분식의 해를 구하고, 나온 해는 다음 구간에서 초기농도가 된다. 이러한 방식으로 반복 계산을 하고 각 농도를 적분함으로써, 전체 시간구간에 대해서 농도변화를 예측하게 된다.

$$S = S_0 + \frac{Su}{\mu} (X_0 - X) \tag{4}$$

$$X = X_0 * e^{\mu \Delta t} \tag{5}$$

여기서  $S_0$ 는 초기 기질 농도,  $S$ 는 다음 시간 구간에서는 기질 농도,  $S_u$ 는 흡수율(uptake rate),  $X_0$ 는 초기 세포량,  $\mu$ 는 성장율,  $\Delta t$ 는 시간구간을 나타낸다.

III. 결과

1. 계층적 유전자 조절 네트워크 모듈과 동적 모사 모듈의 연계  
가상 미생물 시스템은 계층적 유전자 조절 네트워크 모듈과 동적 모사 모듈의 연계를 통하여 이루어진다(그림 4). 유전자 조절 네트워크는 환경 변화에 따른 조절 단백질(regulatory

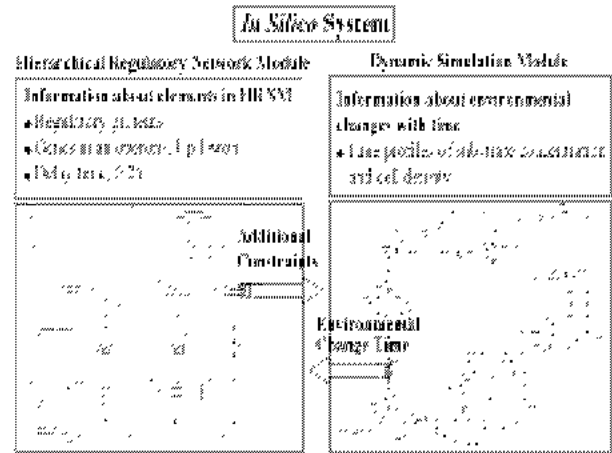


그림 4. 가상 미생물 시스템의 구조  
Fig. 4. Structure of in silico microbe system.

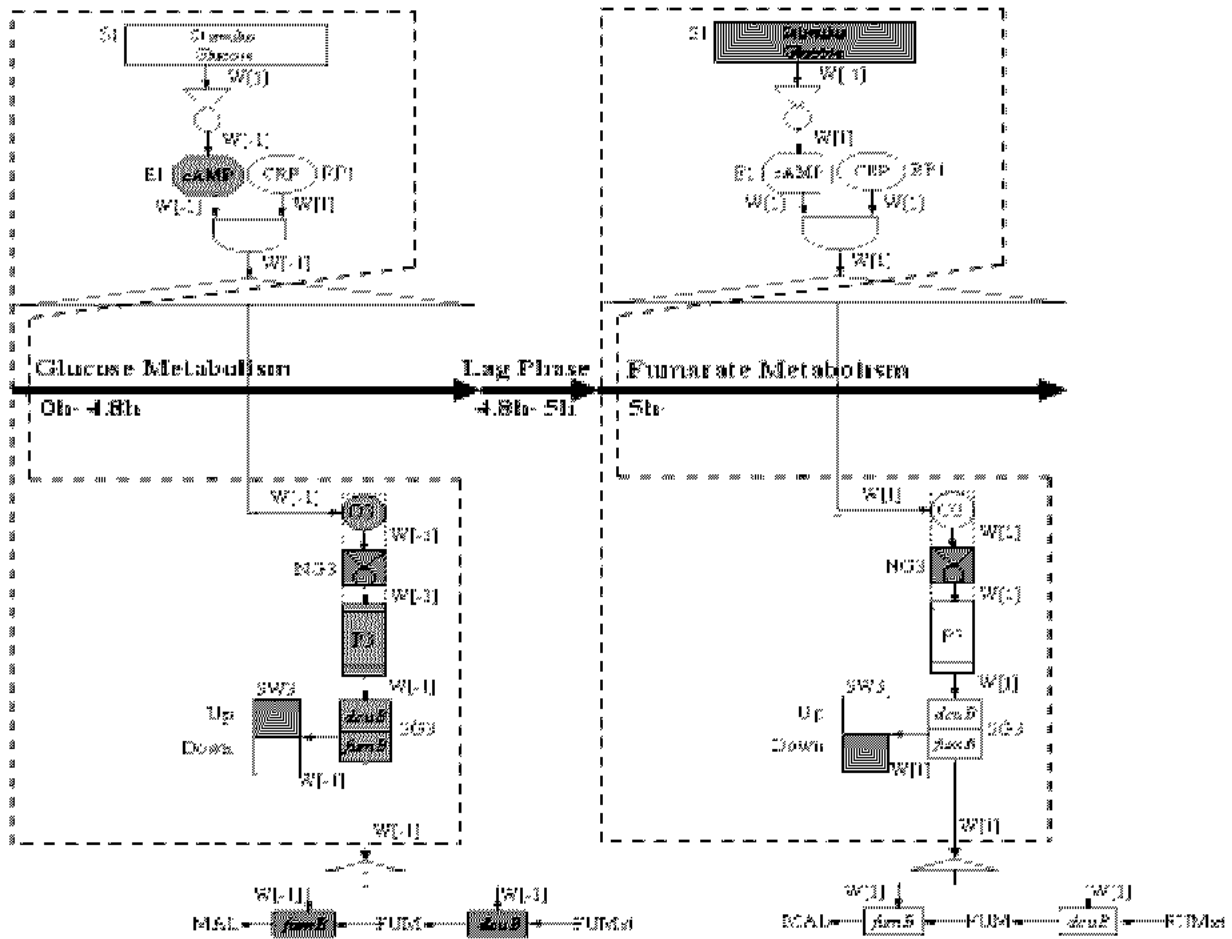


그림 5. 두 가지 탄소원들에서 동적 유전자 조절 모사.  
Fig. 5. Dynamic gene regulation for two carbon sources through weight propagation.

표 2. 계층적 유전자 조절 네트워크에서 조절 요소들의 활성/비활성.

Table 2. Active/inactive regulatory elements in hierarchical regulatory network with time.

Time (h)	S1	S4	E1	RP1	O1	NG3	P3	SG3	SW3
0~4.8	A	N	I	A	I	I	I	I	I
4.8~5.0	I	N	A	A	A	I	A	A	A
5.0~	I	N	A	A	A	I	A	A	A

A: Active, I Inactive, N: None.

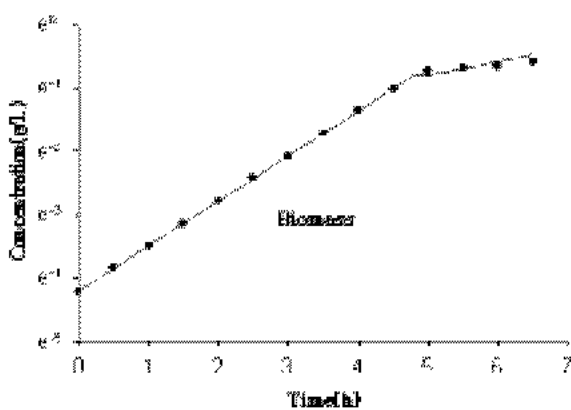
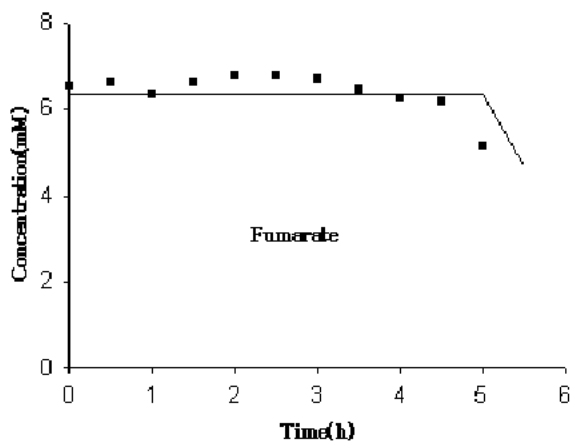
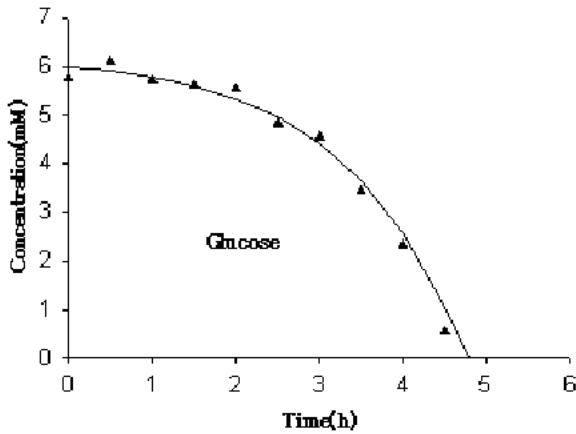


그림 6. Glucose와 fumarate에서 호기성 성장. Narang et al.의 실험데이터(●,■,▲)와 모사 결과(—)의 비교를 보여주는 time profile.

Fig. 6. Aerobic growth on glucose and fumarate. Three time profile showing the comparison of simulation results(—) and experimental data (●,■,▲) obtained by Narang et al.

protein), 오페론 및 유전자의 활성과 비활성, 단백질의 합성과 분해를 위한 지연시간(delay time)과 같은 정보를 제공하며, 이들 모두는 동적 모사 모듈의 제약조건으로 작용하게 된다.

유전자 및 오페론의 비활성은 대사흐름에 제약조건으로 작용하며, 지연시간은 오페론이 비활성에서 활성으로 변화할 때 발생하고, 세포 성장이 일어나지 않는 구간을 생성시킨다.

동적 모사 모듈에서는 유전자 조절 네트워크에서 생성된 제약조건들을 고려함으로써, 성장을, 세포량, 기질의 농도변화, 그리고 흐름 평균 분석 등을 실시하게 되고, 세포의 외부 환경을 나타내는 기질 농도의 time profiles은 환경변화에 민감한 계층적 유전자 조절 네트워크에 환경 변화 시점을 알려준다. 변화된 환경은 다시 계층적 유전자 조절 네트워크에서 새로운 제약조건들을 생성하게 한다. 이렇게 계층적 유전자 조절 네트워크 모듈에서 생성된 정보와 동적 모사 모듈에서 생성된 정보가 서로 연계됨으로써, 가상 미생물 시스템이 실행된다.

2. 동적 유전자 조절 모사

계층적 유전자 조절 네트워크, *E. coli*의 중앙 대사 네트워크, 모사 변수들을 이용함으로써, 본 연구에서 제시한 모델링이 설명되어진다. 초기조건 (biomass: 0.015 g/L, glucose: 6 mM, fumarate: 6.4 mM, delay time: 0.3h)과 최대 흡수율(glucose: 10 mM/ g-DCW-h, fumarate: 7 mM/ g-DCW-h, estimated, Oxygen: 20mM/ g-DCW-h)이 문헌[21,22]으로부터 획득되어졌다.

세포 외부 환경에 두 개의 탄소원인 glucose와 fumarate가 존재할 경우, 계층적 조절 네트워크의 최고 상부에 있는 환경자극 레벨 S1이 활성화된다. glucose가 배지에 존재하기 때문에 가중치가 W[1]이 되며, 이 값은 arc를 따라서 전파하게 된다. 모듈론 레벨에서는 가중치가 'not gate'에 의해서 W[-1]이 되고 cAMP가 비활성화 된다. 이는 glucose가 cAMP 농도 레벨을 낮게 하여 cAMP/CRP 복합체를 생성 못하게 되어 [23-25], W[-1]이 레플론/오페론 레벨로 전파된다. 레플론/오페론 레벨에서는 W[0]에 의해서 O3가 비활성화 된다. NG3는 S1에 의해서 positive control mode가 선택되기 때문에 비활성화 되고, NG3에서 나온 W[-1]이 P3를 비활성화되게 한다. 최종적으로, 유전자가 전사되지 않는다. 유전자 레벨에서 *dcuB*와 *fumB*는 유전자 전사의 W[-1]에 의해서 비활성화 된다. 결국, *dcuB*와 *fumB* operon이 'down-regulation' 상태가 되고, 이로 인해서 대사 네트워크 레벨에서 fumarate를 대사하지 못하게 된다. *dcuB*와 *fumB*의 비활성화 상태는 동적 모사 모듈에서 glucose의 농도가 '0'의 값이 리턴될 때까지 지속된다.

동적 모사 모듈에서 glucose가 '0'의 값이 리턴되면, S1에는 fumarate만 존재하게 되어 W[-1]이 arc를 따라서 모듈론 레벨로 전파된다. Glucose가 없기 때문에 'not gate'에 의해서 W[1]로 전환되고, E1과 RP1이 활성화된다. 모듈론 레벨에서의 가

중치 값은 앞서 설명한 것처럼, 차례로 하위 레벨로 전파되어 *dcuB*와 *fumB*가 대사 네트워크 레벨에서 *fumarate*를 대사하게 한다. 시간에 따른 각 조절 요소들의 활성/비활성은 *E. coli*가 선호하는 탄소원(preferred carbon source)인 *glucose*를 먼저 대사시키는 상태를 잘 나타내고 있다(그림 5, 표 2).

### 3. 동적 성장 모사

*Glucose*와 *fumarate*가 배지에 동시에 존재할 경우, *E. coli*의 성장 패턴이 전형적인 이단계 적응 성장 곡선(diauxic growth curve)이 예측되었다. 이 성장 패턴은 *E. coli*의 선택적 대사에 의해서 생성된 것으로, 두 개의 지수 성장 구간과 하나의 정체 구간을 가진다(그림 6).

1차 성장구간( $t = 0 \sim t = 4.8h$ )은 *glucose*가 대사되며, 성장율이  $0.71 h^{-1}$ 로 *E. coli*가 지수적으로 성장되었다.

이 구간에는 세포의 외부환경에 *glucose*의 존재를 나타내는 S1과 이화 대사 억제(catabolite repression)를 위한 조절 단백질 CRP만이 활성화되고, 나머지 모두가 비활성화되었다. 정체 구간( $t = 4.8 \sim t = 5.0h$ )은 두 번째 탄소원인 *fumarate*를 대사하기 위한 효소가 합성되는 구간으로 *E. coli*가 성장하지 않는다.

2차 성장 구간( $t = 5.0 \sim$ )은 정체 구간 동안에 합성된 유전자 *fumB*에 의해서 *fumarate*가 대사되는 구간이며, 최대 성장율이  $0.21 h^{-1}$ , 최대 흡수율이  $7 mM/g \cdot DCWh$ 로 예측되었다.

## VI. 고찰

본 논문에서는 *E. coli*의 중앙 대사 네트워크에 관련된 유전자 조절 메커니즘을 표현하기 위해서, 정의된 기호로 계층적 조절 네트워크를 구축하였고, 결합의 정도를 나타내는 가중치의 개념을 도입함으로써, 조절 단백질과 유전자사이의 관계를 더욱더 유연하게 표현하였다. 최종적으로 제안한 모델링 방법의 타당성을 검증하기 위해서 두 가지 탄소원에서 동적 유전자 모사와 동적 성장 모사를 실행하였다.

계층적 유전자 조절 네트워크에서 각각의 오페론은 유전자 발현을 위한 선행조건들과 전체적인 제어 흐름을 보여준다. 그림 5에서 *dcuB-fumB* operon을 구성하고 있는 *dcuB*와 *fumB*들이 active되는 선행 조건들과 전체적인 과정을 보여주고 있다. 여기서 genes의 active/inactive여부는 세포외부 환경인 환경자극에 종속적인 조절 단백질과 효과기(effector)들에 의해서 결정되며, 계층적 조절 네트워크에서 상위 레벨에 있는 환경자극이 선택되면, global하게 제어되고, 하위 레벨에 있는 환경자극이 선택되면 local하게 제어되어 탄소원을 선택적으로 대사시키는 것을 알 수 있다.

환경자극은 직접적으로 조절 단백질의 활성/비활성에 영향을 미치며, 중앙 대사 네트워크에 관련된 유전자들 중에서 하나 이상의 조절 단백질에 영향을 받는 유전자들이 71.9%(87/121)였으며, 이는 중앙 대사 네트워크가 환경에 매우 민감하다는 것을 알 수 있다.

정의된 기호로 모델링한 계층적 조절 네트워크와 동적 모사 모듈의 연계는 시간에 따른 동적인 유전자 조절 예측(prediction of dynamic gene regulation)을 가능하게 하고, 환경변화에 따라서 유전자들이 어떻게 조직적으로 조절되는지를 직관적으로 잘 보여준다. 이러한 예는 그림 5에서 볼 수 있으며, 두 가지 탄소원의 농도 변화와 오페론을 구성하고 있

는 유전자들의 활성/비활성 과정을 잘 보여준다. 모사 결과에서 오페론이 비활성 상태에서 활성 상태로 변화할 때에 지연 시간(0.2h)이 적용되고, 각 오페론이 활성화된 상태에서 탄소원인 *fumarate*의 감소가 발생한다. 만약 오페론이 비활성화가 될 경우에는 *fumarate*의 감소가 발생하지 않는다. 이러한 관점에서 보면, 오페론이 제한 요소로 작용하기 때문에 오페론을 통합적으로 조절하는 환경자극, 모듈론, 레귤론과 제어 패턴(positive, negative)의 인지는 중요할 수 있다.

*Glucose*와 *fumarate* 농도의 time profile과 성장 곡선은 기존의 논문 [22]의 실험 결과와 거의 동일한 값을 가진다. 그림 6의 성장 곡선에서 *glucose* 대사 구간의 성장율은  $0.71 h^{-1}$ , *fumarate* 대사 구간의 성장율  $0.21 h^{-1}$ 로 예측되었다. 이 예측된 혼합 기질(mixed-substrate) 성장율들과 실제 단일 기질(single-substrate) 성장율을 비교했을 때(*glucose*:  $0.73 h^{-1}$ , *fumarate*:  $0.41 h^{-1}$ )[22], *glucose*의 성장율은 거의 동일한 값을 나타냈으나, *fumarate*의 성장율이 거의 반 정도로 감소되었다. 이는 혼합된 기질의 최대 성장율이 단일 기질의 최대 성장율을 초과하지 못한다[22]는 것을 잘 보여준다.

본 연구에서는 (I)조절 요소들(regulatory protein, genes, effectors etc.) 사이의 관계를 더욱더 유연하게 표현하기 위해서 가중치의 개념을 도입하였고, (II) 정의된 기호로 계층적 조절 네트워크를 구축하였으며, (III) 구축된 계층적 조절 네트워크 모듈과 동적 모사 모듈을 연계함으로써, 환경변화에 따른 종합적인 미생물의 거동을 모사하였다. 이러한 모사 결과들은 생물학자와 공학자에게 여러 환경 조건하에서 성장하는 미생물의 대사 조절, 조절 단백질, 유전자 등의 거동에 관련된 유용한 정보를 제공할 수 있을 것이다.

## 참고문헌

- [1] H. H. MacAdams, and L. Shapiro, "Circuit simulation of genetic networks," *Science*, vol. 269, pp. 650-656, 1995.
- [2] W. C. Covert, C. H. Schilling, and B. O. Palsson, "Regulation of gene expression in flux balance models of metabolism," *J. Theor. Biol.* vol. 213, pp. 73-88, 2001.
- [3] S. Meyers, and P. Friedland, "Knowledge-based simulation of genetic regulation in bacteriophage lambda," *Nucleic Acids Res.*, vol. 12, pp. 1-9, 1984.
- [4] M. Tomita, K. Hashimoto, K. Takahashi, T. S. Shimizu, Y. Matsuzaki, F. Miyoshi, K. Saito, S. Tanida, K. Yugi, J. C. Venter, and C. A. Hutchison III, "E-Cell: software environment for whole-cell simulation," *Bioinformatics*, vol. 15, pp. 72-84, 1999.
- [5] J. C. Liao and M. K. Oh, "Toward predicting metabolic fluxes in metabolically engineered strains," *Metabolic Engineering*, vol. 1, pp. 214-223, 1999.
- [6] S. Y. Lee and Papoutsakis, *Metabolic flux balance analysis*, Marcel Dekker, New York, U.S.A, pp13-57, 1999.
- [7] A. Varma, B. W. Boesch, and B. O. Palsson, "Stoichiometric interpretation of *Escherichia coli* glucose catabolism under various oxygenation rates," *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 59, pp. 2465-2473, 1993.
- [8] A. Varma and B. O. Palsson, "Stoichiometric flux balance models quantitatively predict growth and metabolic by-product Secretion in wild type *Escherichia coli* W3110," *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 60, pp. 3724-3731, 1994a.

- [9] A. Varma and B. O. Palsson, "Metabolic flux balancing: basic concepts, scientific and practical use," *BioTechnology*, vol. 12, pp. 994-998, 1994b.
- [10] W. C. Covert and B. O. Palsson, "Transcriptional regulation in constraints-based metabolic models of *Escherichia coli*," *J. Biol. Chem.*, vol. 277, pp. 28058-28064, 2002.
- [11] M. W. Covert, E. M. Knight, J. L. Reed, M. J. Hengard, and B. O. Palsson, "Integrating high-throughput and computational data elucidates bacterial networks," *Nature*, vol. 429, pp. 92-96, 2004.
- [12] S. G Lee, "A study on in silico simulation of various carbon sources-grown *Escherichia coli* based on a hierarchical regulatory network and flux balance analysis," Doctoral Thesis, Pusan National University, 2005.
- [13] S. G Lee, C. M. Kim, and K. S. Hwang, "Development of a software tool for in silico simulation of *Escherichia coli* using a visual programming environment," *Journal of Biotechnology*, vol. 119, pp. 87-92, 2005.
- [14] S. G Lee, K. S. Hwang, and C. M. Kim, "Dynamic behavior of regulatory elements in the hierarchical regulatory network of various carbon sources-grown *Escherichia coli*," *Journal of Microbiology and Biotechnology*, vol. 15, pp. 551-559, 2005.
- [15] P. H. Winston, *Artificial Intelligence*, Addison Wesley, U.S.A, pp. 119-137, 1992.
- [16] C. H. Schilling, J. S. Edwards, Letscher D., and B.O. Palsson, "Combining pathway analysis with flux balance analysis for the comprehensive study of metabolic systems," *Biotechnol. Bioeng.*, vol. 71, no. 4, pp. 286-306, 2000.
- [17] P. A. Cotter and R. P. Gunsalus, "Contribution of the *fir* and *arcA* gene products in coordinate regulation of cytochrome *o* and *d* oxidase (*cyoABCDE* and *cydAB*) genes in *Escherichia coli*," *FEMS Microbiol Lett*, vol. 70, pp. 31-36, 1992.
- [18] A. M. Huerta, H. Salgado, D. Thieffry, and J. Collado-Vides, "RegulonDB: A database on transcriptional regulation in *Escherichia coli*," *Nucleic. Acids Res.*, vol. 26, pp. 55-59, 1998.
- [19] S. S. Shen-Orr, R. Milo, S. Mangan, and U. Alon, "Network motifs in the transcriptional regulation network of *Escherichia coli*," *Nature Genetics*, vol. 31, pp. 64-68, 2002.
- [20] G. N. Stephanopoulos, A. A. Aristidou, and J. Nielsen, *Metabolic Engineering: Principles and Methodologies*, Academic press, London, UK, pp180-193, 1998.
- [21] K. B. Andersen and K. V. Meyenburg, "Are growth rates of *Escherichia coli* in batch cultures limited by respiration?," *J. Bacteriol.* vol. 144, no. 1, pp114-123, 1980.
- [22] A. Narang, A. Konopka, and D. Ramkrishna, "New patterns of mixed-substrate utilization during batch growth of *escherichia coli* K12," *Biotechnol. Bioeng.*, vol. 55, no 5, pp747-757, 1997.
- [23] A. Kremling, K. Bettenbrock, B. Laube, J. W. Lengeler, and E. D. Gilles, "The organization of metabolic reaction networks: Application for diauxic growth on glucose and lactose," *Meta. Eng.*, vol. 3, pp. 362-379, 2001.
- [24] R. Mahadevan, J. S. Edwards, and J. D. Francis, "Dynamic flux balance analysis of diauxic growth in *Escherichia coli*," *Biophys. J.*, vol. 83, pp. 1331-1340, 2002.
- [25] P. Wong, S. Gladney, and J. D. Keasling, "Mathematical model of the lac operon: Inducer exclusion, catabolite repression, and diauxic growth on glucose and lactose," *Biotechnol. Progr.*, vol. 13, pp 132-143, 1997.



### 이성근

1973년 3월 1일생. 1996년 부경대학교 화학공학과 학사. 1998년 부산대학교 화학공학과 석사. 2005년~현재 부산대학교 화학공학과 박사. 관심분야는 생물정보학, 시스템 미생물학.



### 한상일

1978년 4월 4일생. 2003년 부산대학교 화학공학과 학사. 2005년~현재 부산대학교 화학공학과 석사. 관심분야는 생물정보학, 시스템 미생물학.



### 김경훈

1968년 3월 1일생. 1992년 부산대학교 화학공학과 학사. 1994년 부산대학교 화학공학과 석사. 2000년 부산대학교 화학공학과 박사. 2002년 일본 JAIST post-doc. 2003년~현재 부산대학교 화학공학과 BK 21 핵심분야 사업팀 post-doc.



### 김영한

1952년 8월 21일생. 1976년 동아대학교 화학공학과 학사. 1980년 한국과학기술원 화학공학과 석사. 1984년 미국 Lamar Univ. 화학공학과 박사. 현재 동아대학교 화학공학과 교수. 관심분야는 화학공정설계, 화학공정제어, 화학공정센서.



### 황규석

1955년 1월 4일생. 1982년 부산대학교 화학공학과 학사. 1985년 일본 동경공업대학 화학공학과 석사. 1988년 일본 동경공업대학 화학공학과 박사. 현재 부산대학교 화학공학과 교수. 관심분야는 화학공장 자동화, 화학공정 전문가 시스템, 화학공정안전, 생물정보학.

시스템, 화학공정안전, 생물정보학.