

Biologia dei Sistemi  
A.A. 2015/16

# Modelli basati sui flussi

***Prof. Carlo Cosentino***

Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica  
Università degli Studi Magna Graecia di Catanzaro  
tel: 0961-3694051

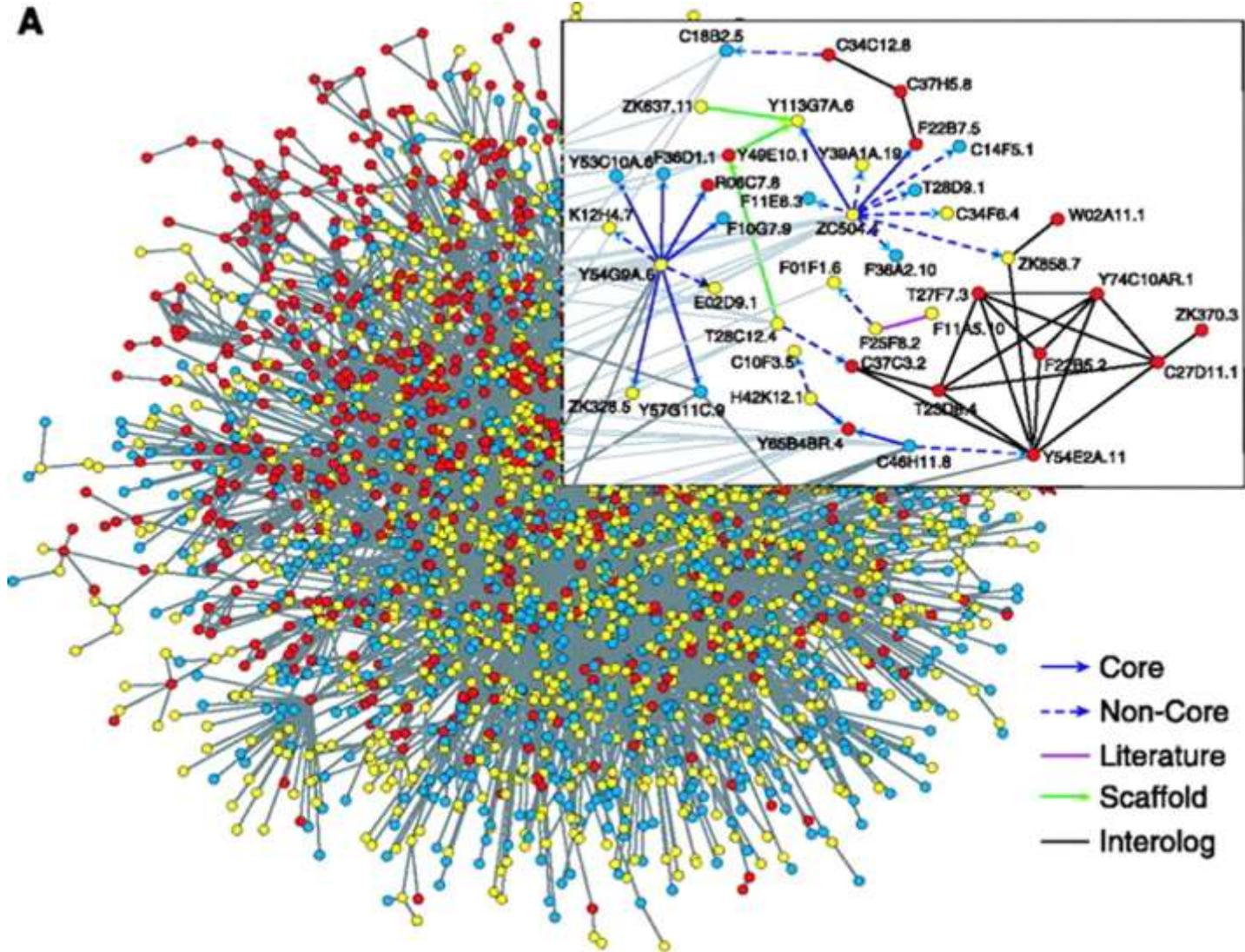
[carlo.cosentino@unicz.it](mailto:carlo.cosentino@unicz.it)

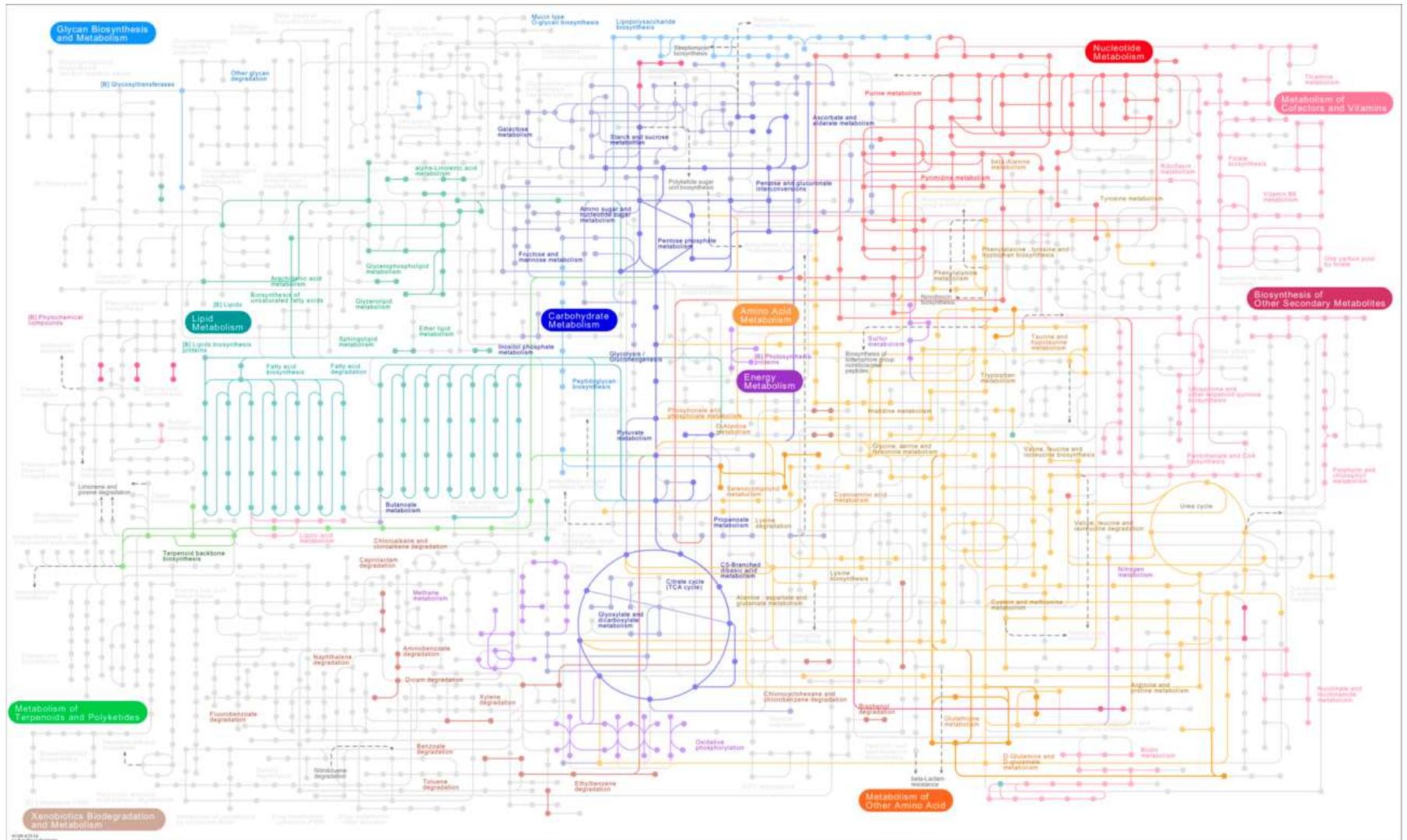
<http://bioingegneria.unicz.it/~cosentino>

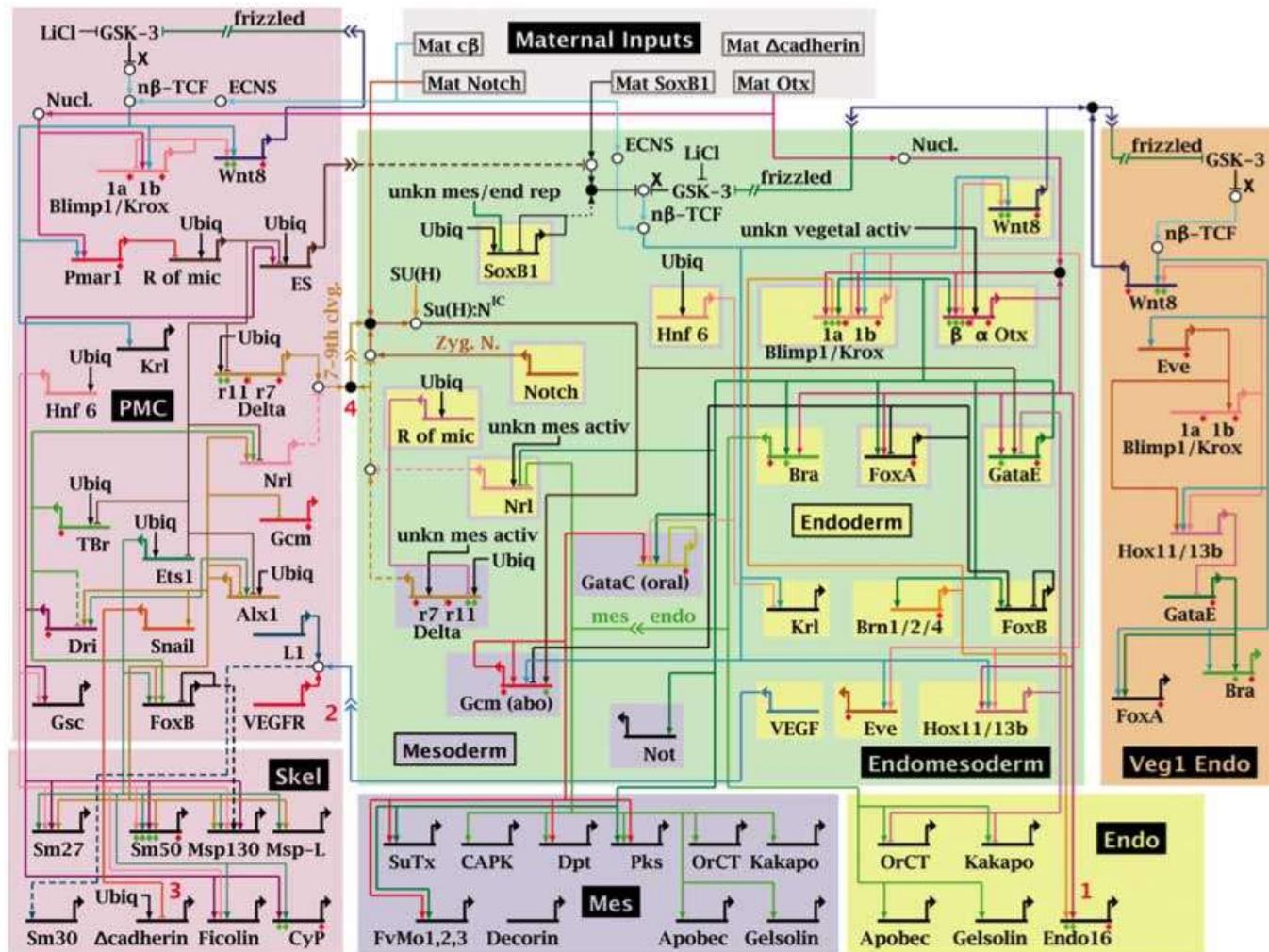
<http://wpage.unina.it/carcosen>



- ✦ Una delle maggiori fonti di complessità dei sistemi biologici risiede nella loro natura di reti interconnesse di numerose specie e reazioni
- ✦ Per ricavare informazioni importanti sul funzionamento di questi sistemi, impareremo a descrivere queste reti in forma matematica compatta
- ✦ Elementi di base:
  - ✦ **Composti**: con questo nome indichiamo genericamente geni, proteine, metaboliti, etc. Ad essi associamo dei valori di concentrazione (o numero di molecole) o di attività
  - ✦ **Reazioni o meccanismi di trasporto**, che determinano come si modificano nel tempo le concentrazioni/attività dei vari composti





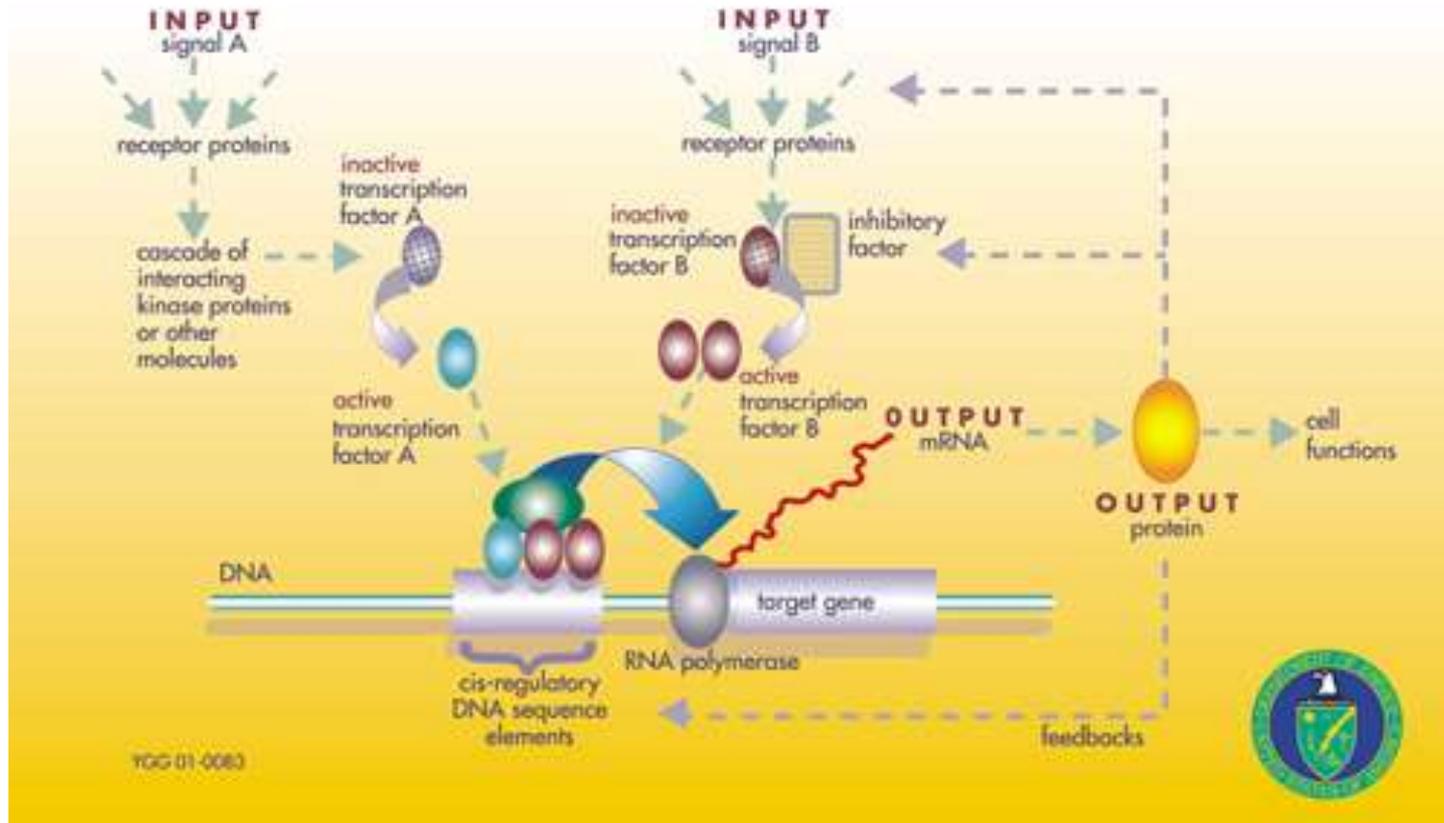


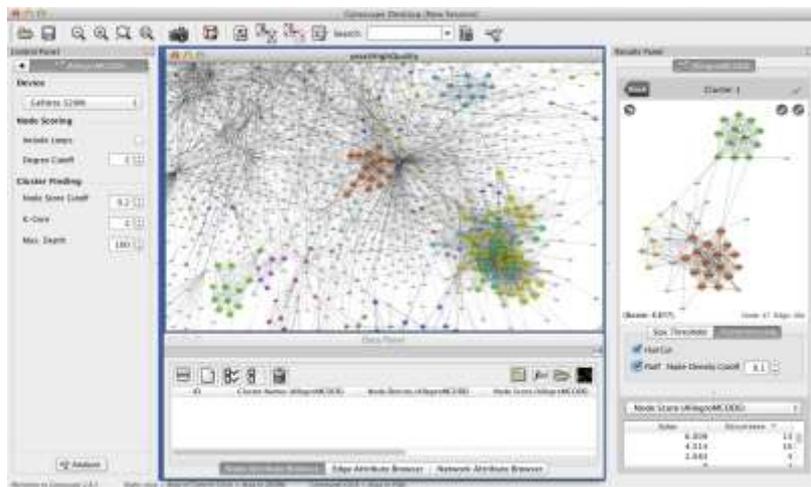
Ubiq=ubiquitous; Mat = maternal; activ = activator; rep = repressor;  
 unkn = unknown; Nucl. = nuclearization;  $\chi$  =  $\beta$ -catenin source;  
 n $\beta$ -TCF = nuclearized  $\beta$ - $\beta$ -catenin-Tcf1; ES = early signal;  
 ECNS = early cytoplasmic nuclearization system; Zyg. N. = zygotic Notch

Copyright © 2001-2006 Hamid Bolouri and Eric Davidson



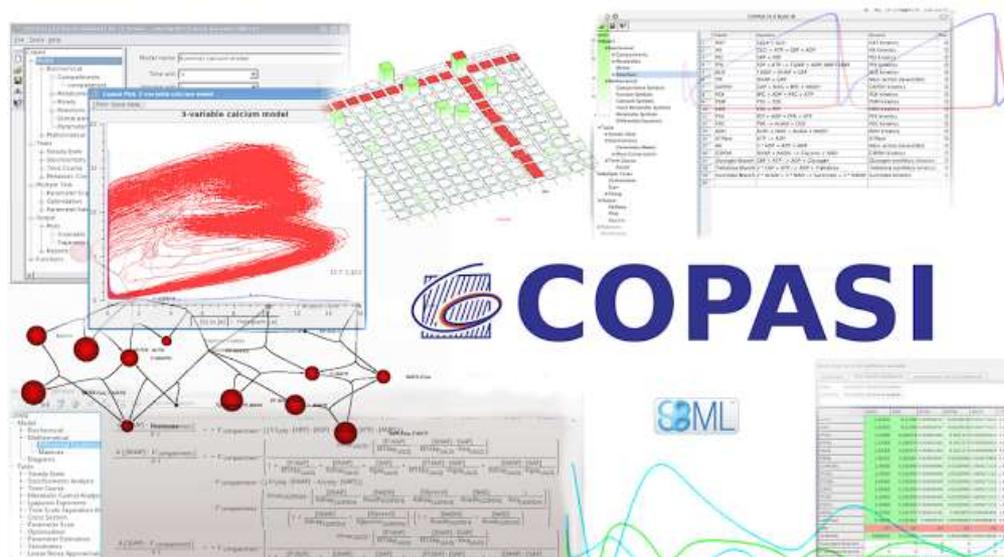
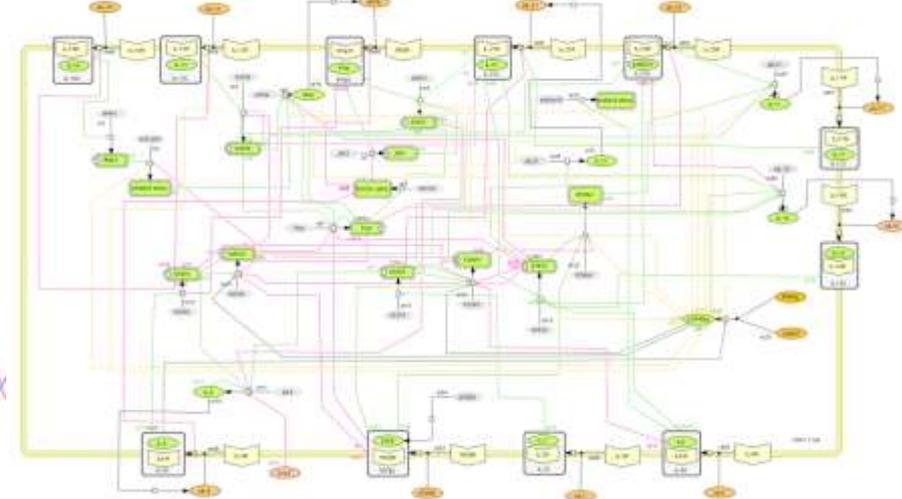
## A GENE REGULATORY NETWORK





**Cytoscape:** visualizzazione e analisi struttura di reti di interazione di grandi dimensioni

**CellDesigner:** Modellistica bottom-up di reti di reazione biochimiche (Diagrammi SBGN)



**COPASI**

**COPASI:** Modellistica bottom-up di modelli biochimici + simulazione e vari metodi di analisi

# Modelli basati sui flussi di reazione



- ⤴ **Coefficienti stechiometrici:** proporzioni di molecole di substrato e prodotto coinvolte in una reazione

- ⤴ Esempio:



- ⤴ I coefficienti di  $S_1$ ,  $S_2$ , e  $P$  sono -1, -1 e 2.
- ⤴ L'assegnazione dei coefficienti dipende da come definiamo il verso positivo della reazione
- ⤴ Si noti, inoltre, che i numeri rappresentano delle proporzioni, ossia la reazione potrebbe coinvolgere qualsiasi multiplo di tali quantità, ad es.

$$\star (-0.1 \quad -0.1 \quad 0.2), \quad (-0.2 \quad -0.2 \quad 0.4), \quad (-5 \quad -5 \quad 10)$$

- Qual è il legame tra l'evoluzione temporale (la dinamica) delle concentrazioni e i coefficienti stechiometrici?
- E' necessario definire anche la velocità della reazione (cinetica),  $v$



$$\frac{ds_1(t)}{dt} = -v(t)$$

$$\frac{ds_2(t)}{dt} = -v(t)$$

$$\frac{dp(t)}{dt} = +2v(t)$$

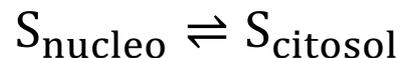
N.B. Con  $v$  denotiamo la velocità netta della reazione, ossia

$$v = v_{\text{forward}} - v_{\text{reverse}}$$

- Con le lettere in minuscolo corsivo denotiamo la concentrazione della specie corrispondente, ad es.  $p := [P]$
- Si noti che queste sono quantità variabili nel tempo, quindi funzioni della variabile  $t$  (spesso, per brevità, ometteremo tale dipendenza)



- ✦ Stiamo assumendo che le concentrazioni cambino solo a causa delle reazioni, ossia che non ci siano fenomeni di trasporto tra diversi compartimenti
- ✦ Sistema con più compartimenti  $\Rightarrow$  per descrivere i fenomeni di trasporto, lo stesso composto in due compartimenti sarà associato a due diverse variabili del modello
- ✦ Esempio: per una stessa specie  $S$ , presente sia nel nucleo che nel citosol, il trasporto sarà descritto dalla reazione

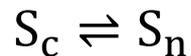


- ✦ In questo modo il trasporto può essere modellato come se fosse una reazione come le altre

✦ Se usiamo le concentrazioni come variabili e i volumi dei due compartimenti sono diversi, bisogna scalare le velocità

✦ Supponiamo che  $V_c \neq V_n$

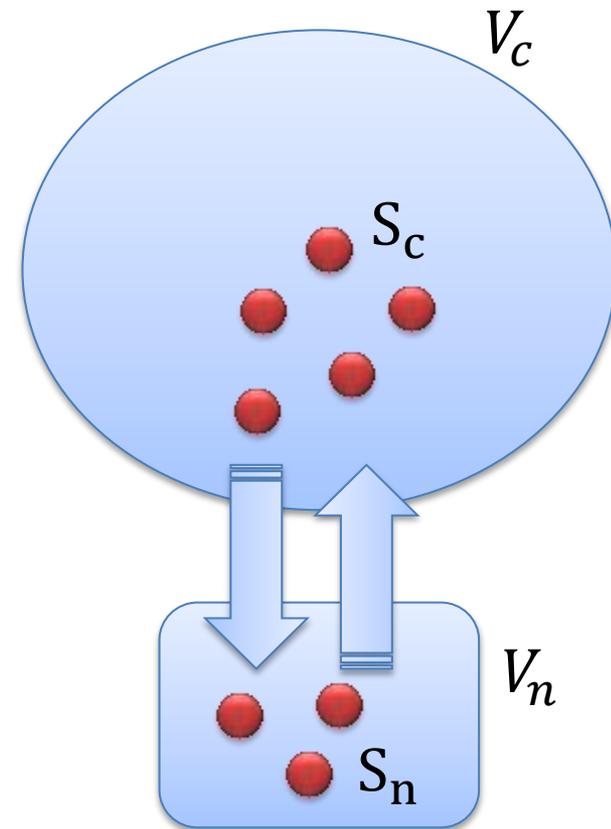
✦ La «reazione» di trasporto sarà



✦ Le dinamiche delle concentrazioni delle due specie saranno

$$\frac{ds_c}{dt} = -v \frac{V_n}{V_c}$$

$$\frac{ds_n}{dt} = v \frac{V_c}{V_n}$$



- ✦ Per una generica rete di reazioni avremo  $m$  composti ed  $r$  reazioni
- ✦ Possiamo descrivere la dinamica complessiva con il sistema di equazioni

$$\frac{ds_i}{dt} = \sum_{j=1}^r n_{ij} v_j, \quad i = 1, \dots, m$$

- ✦ I parametri  $n_{ij}$  sono i coefficienti stechiometrici relativi al composto  $i$ -esimo ed alla reazione  $j$ -esima

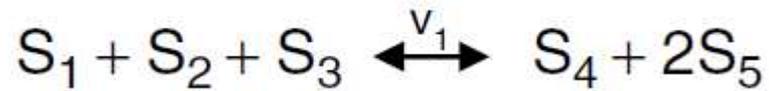


- ✦ Per descrivere le reti di reazione in maniera compatta, definiamo la **matrice stechiometrica** a partire dai coefficienti

$$\mathbf{N} = \begin{pmatrix} n_{11} & \cdots & n_{1r} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ n_{m1} & \cdots & n_{mr} \end{pmatrix}$$

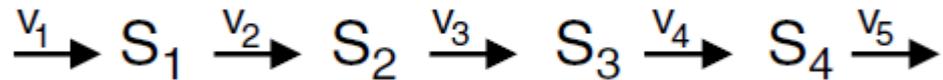
- ✦ Ogni colonna corrisponde ad una reazione  $\Rightarrow r$  colonne
- ✦ Ogni riga corrisponde ad un composto  $\Rightarrow m$  righe

⤴ Esempio 1

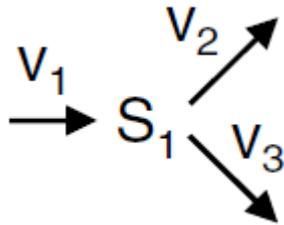


$$N = \begin{pmatrix} -1 \\ -1 \\ -1 \\ 1 \\ 2 \end{pmatrix}$$

⤴ Esempio 2

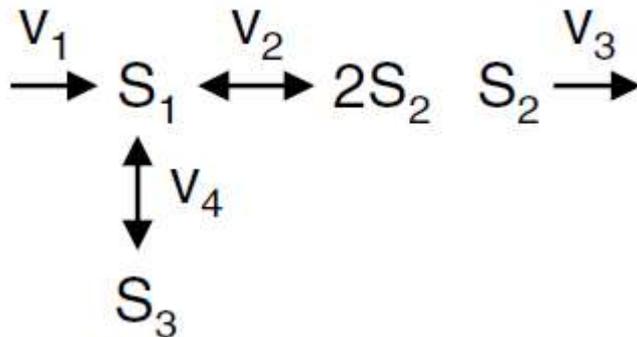


## ⤴ Esempio 3

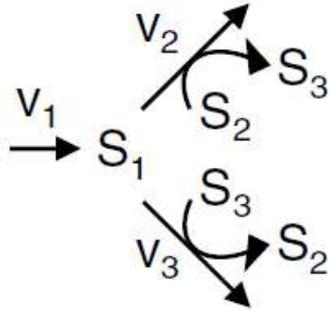


$$N = (1 \quad -1 \quad -1)$$

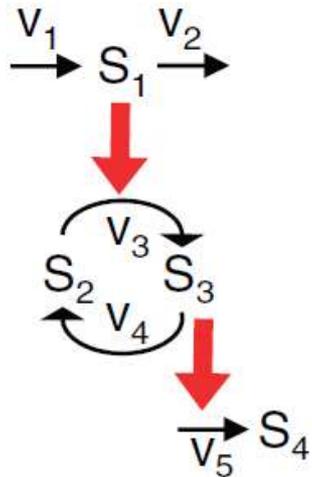
## ⤴ Esempio 4



## ⤴ Esempio 5



## ⤴ Esempio 6



Le frecce rosse indicano un meccanismo di catalisi della reazione



- ✧ Avendo la matrice stechiometrica, possiamo definire anche il vettore delle concentrazioni  $\mathbf{s}$  e quello delle reazioni  $\mathbf{r}$

$$\mathbf{s} = \begin{pmatrix} s_1 \\ \vdots \\ s_m \end{pmatrix} \quad \mathbf{v} = \begin{pmatrix} v_1 \\ \vdots \\ v_r \end{pmatrix}$$

- ✧ A questo punto possiamo descrivere la rete in maniera compatta con il modello

$$\frac{d\mathbf{s}}{dt} = \mathbf{N}\mathbf{v}$$

- ✧ Da questa descrizione possiamo ricavare diverse informazioni utili sul comportamento del nostro sistema di reazioni

# Modelli basati su flussi: analisi dei flussi all'equilibrio



- ✦ Il sistema si dice in condizioni di **equilibrio** se le concentrazioni di tutti i composti rimangono costanti nel tempo
- ✦ Si noti che, per ciascun composto si avrà

$$s_i = \text{costante} \Rightarrow \frac{ds_i}{dt} = 0$$

- ✦ Per calcolare il valore delle velocità di reazione all'equilibrio, quindi, imponiamo che le derivate di tutte le  $s_i$  siano nulle

$$\frac{ds}{dt} = Nv = \mathbf{0}$$



- ✦ L'equazione  $N\mathbf{v} = \mathbf{0}$  definisce un sistema di  $m$  equazioni in  $r$  incognite
- ✦ La soluzione banale di questo sistema corrisponde a  $\mathbf{v} = \mathbf{0}$ , ossia impone che le velocità (o *flussi*) di tutte le reazioni siano nulle
- ✦ In generale, possono esistere altre soluzioni non nulle; questo avviene quando

$$\text{rank}(\mathbf{N}) < r$$

ossia quando la matrice  $\mathbf{N}$  ha meno di  $r$  colonne indipendenti; si considerino i due esempi seguenti

$$\begin{pmatrix} 1 & 1 & 0 & 1 \\ 0 & 2 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & -1 \end{pmatrix} \quad \begin{pmatrix} 1 & 0 & 1 \\ 0 & 1 & -2 \\ -1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}$$

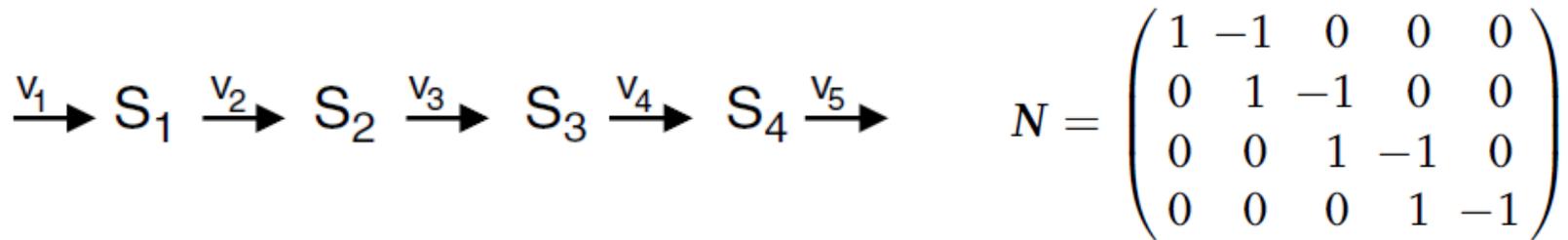


- ✦ Ricordiamo che
  - ✦ Il rango di riga (colonna) è sempre minore o uguale del numero di righe (colonne)
  - ✦ Il rango di riga e quello di colonna sono sempre uguali
- ✦ Pertanto, una matrice stechiometrica con  $m < r$  (ossia rettangolare bassa) avrà sempre rango inferiore ad  $r$

- ✦ Identifichiamo tutte le soluzioni calcolando la matrice kernel,  $\mathbf{K}$

$$\mathbf{NK} = \mathbf{0}$$

- ✦ La matrice  $\mathbf{K}$  avrà  $r - \text{rank}(\mathbf{N})$  colonne, che denoteremo con  $\mathbf{k}_i$
- ✦ Qualsiasi condizione di equilibrio può essere scritta come combinazione lineare delle colonne di  $\mathbf{K}$

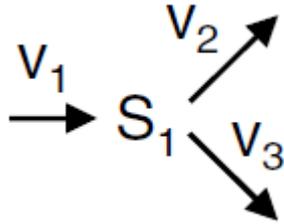


✦  $N$  ha rango 4, per cui il kernel è costituito da  $5 - 4 = 1$  colonna

$$\mathbf{k} = \begin{pmatrix} 1 \\ 1 \\ 1 \\ 1 \\ 1 \end{pmatrix} \Rightarrow \text{All'equilibrio i flussi } v_1, \dots, v_5 \text{ sono identici}$$

✦ Qualsiasi equilibrio di questo sistema può essere scritto come  $\mathbf{J} = \alpha \mathbf{k}$ , dove  $\mathbf{J}$  è il vettore dei flussi all'equilibrio e  $\alpha$  è un parametro scalare

✦ **N.B. Anche conoscendo il vettore dei flussi all'eq. non possiamo dire niente sul valore di eq. delle concentrazioni (perché?)**



$$N = (1 \quad -1 \quad -1)$$

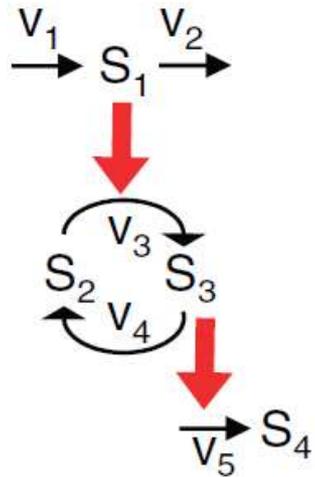
- Il rango è pari a 1, quindi il kernel è costituito da  $3 - 1 = 2$  colonne

$$K = (\mathbf{k}_1 \quad \mathbf{k}_2) = \begin{pmatrix} 1 & 1 \\ 1 & 0 \\ 0 & 1 \end{pmatrix}$$

- $\mathbf{k}_1 \Leftrightarrow v_1 = v_2$ ,  $\mathbf{k}_2 \Leftrightarrow v_1 = v_3$

- I flussi all'equilibrio sono tutti e soli quelli calcolabili come

$$J = \alpha_1 \mathbf{k}_1 + \alpha_2 \mathbf{k}_2$$

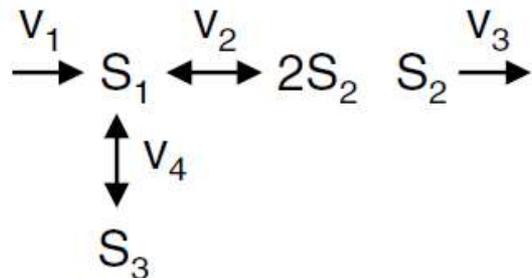


$$N = \begin{pmatrix} 1 & -1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & -1 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & -1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}$$

⤴ Rank( $N$ ) = 3  $\Rightarrow$   $K$  ha 5-3=2 colonne

$$\mathbf{k}_1 = \begin{pmatrix} 1 \\ 1 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \end{pmatrix} \Rightarrow v_1 = v_2, \quad \mathbf{k}_2 = \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ 1 \\ 1 \\ 0 \end{pmatrix} \Rightarrow v_3 = v_4, \quad J = \alpha_1 \mathbf{k}_1 + \alpha_2 \mathbf{k}_2$$

- ✦ Se una riga della matrice  $K$  contiene tutti zero, essa corrisponde ad una reazione all'equilibrio
- ✦ Se il sistema si trova all'equilibrio, questa reazione dovrà per forza avere velocità netta nulla



$$N = \begin{pmatrix} 1 & -1 & 0 & -1 \\ 0 & 2 & -1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}$$

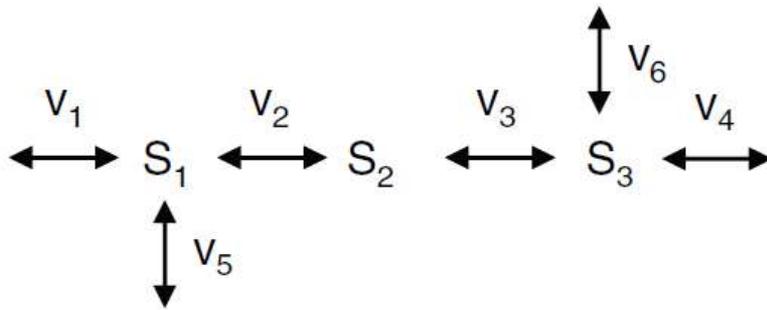
- ✦  $\text{Rank}(N) = 3 \Rightarrow K$  ha 1 colonna

- ✦  $\mathbf{k} = \begin{pmatrix} 1 \\ 1 \\ 2 \\ 0 \end{pmatrix} \Rightarrow$  All'equilibrio la reazione 4 deve avere velocità netta pari a zero (le reazioni  $S_1 \rightarrow S_3$  e  $S_3 \rightarrow S_1$  devono avvenire alla stessa velocità)



✦ Se  $\mathbf{K}$  contiene 2 o più righe identiche, queste corrispondono ad un percorso di reazioni non ramificato (*unbranched path*)

✦ Esempio



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

✦  $\text{Rank}(\mathbf{N}) = 3 \Rightarrow \mathbf{K}$  ha 3 colonne

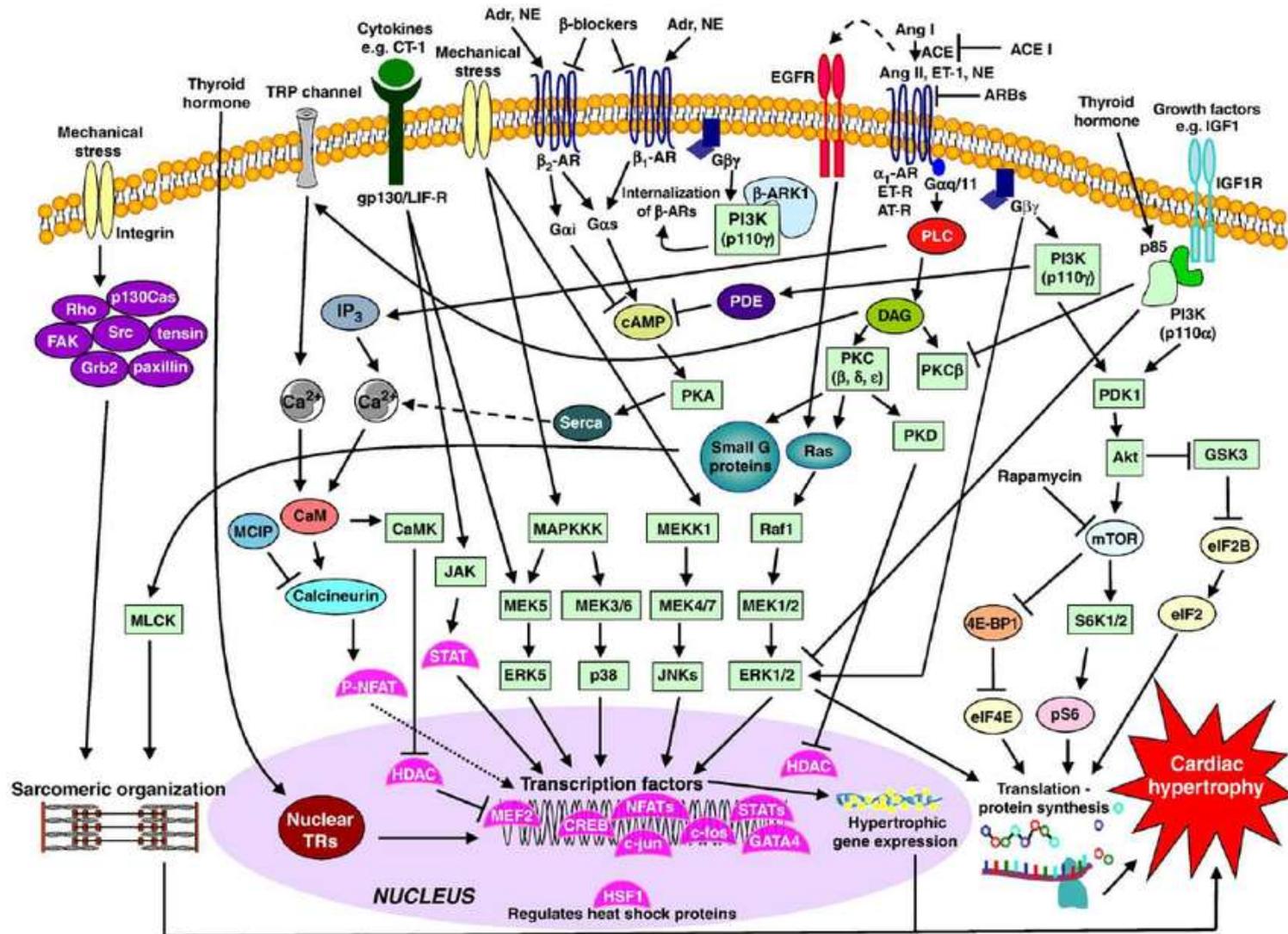
$$\mathbf{K} = \begin{pmatrix} 1 & 1 & 1 \\ 1 & 0 & 1 \\ 1 & 0 & 1 \\ 0 & 0 & 1 \\ 0 & 1 & 0 \\ -1 & 0 & 0 \end{pmatrix} \Rightarrow \text{Le reazioni 2 e 3 formano un percorso non ramificato}$$



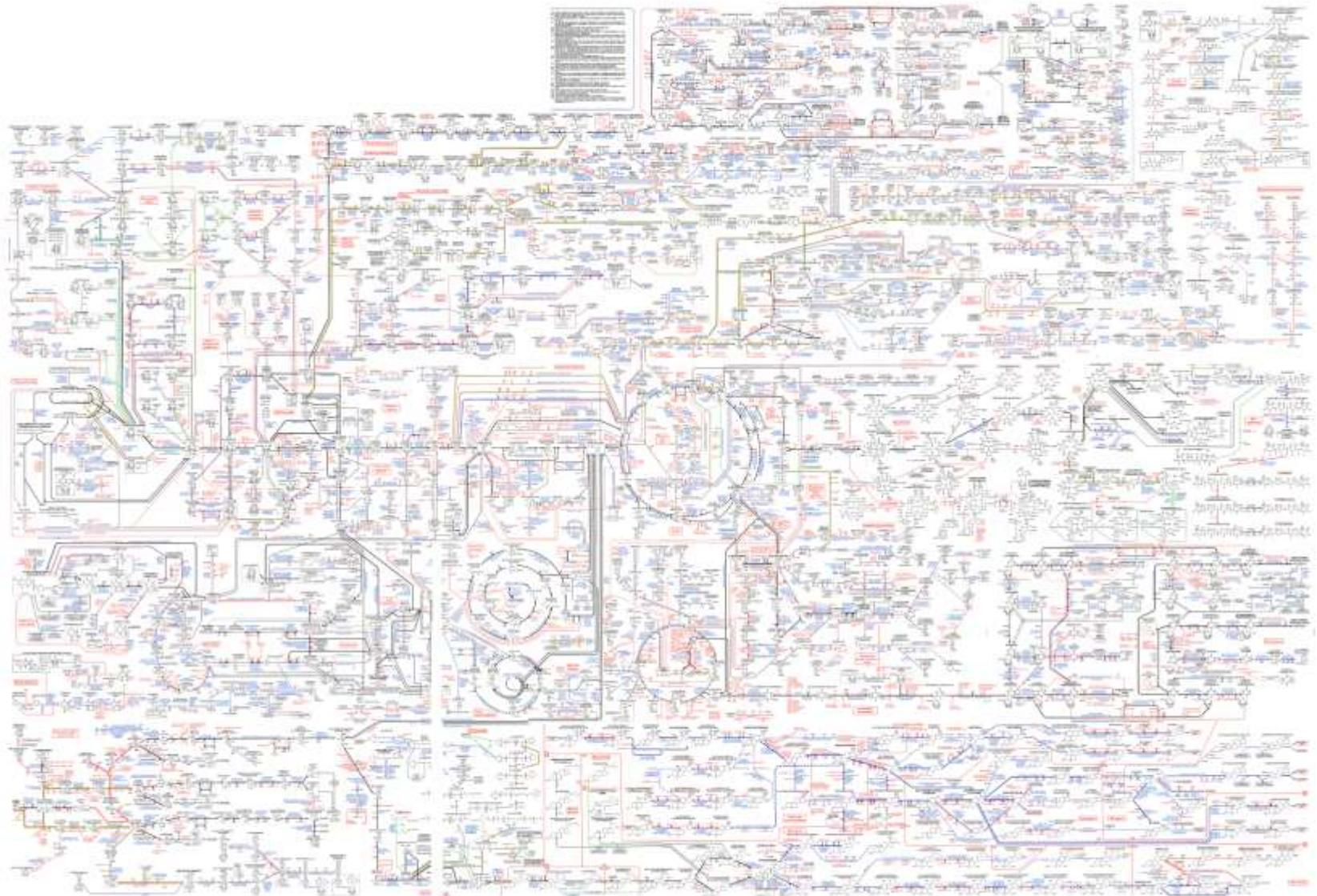
- ✧ Finora abbiamo considerato tutte le reazioni reversibili
- ✧ Pertanto, ad ogni reazione abbiamo associato un flusso netto, dato dalla differenza tra la velocità di reazione diretta e quella inversa
- ✧ Nel caso in cui alcune reazioni siano irreversibili, la matrice  $\mathbf{N}$  rimane identica, mentre abbiamo dei vincoli di segno sulle colonne di  $\mathbf{K}$



- ✦ La definizione di un pathway non è banale
- ✦ Potremmo definirlo come una sequenza di reazioni che coinvolgono composti comuni
- ✦ Tipici esempi in ambito metabolico includono la glicolisi o la sintesi degli amminoacidi
- ✦ Tuttavia, i pathway sono altamente interconnessi... (crosstalking)



Principali pathway di segnalazione coinvolti nell'ipertrofia cardiaca





- ✧ Un problema di particolare interesse in ambito metabolico consiste nell'identificare gli *elementary flux modes (EFM)*

- ✧ Sequenze di reazioni che portano da un certo metabolita esterno ad un altro

- ✧ **Flux mode  $M$**

- ✧ insieme di vettori di flusso che rappresenta uno di questi percorsi all'interno della rete metabolica

$$M = \{v \in R^r \mid v = \lambda v^*, \lambda > 0\}$$

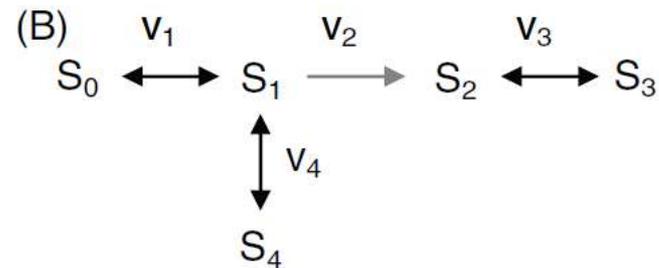
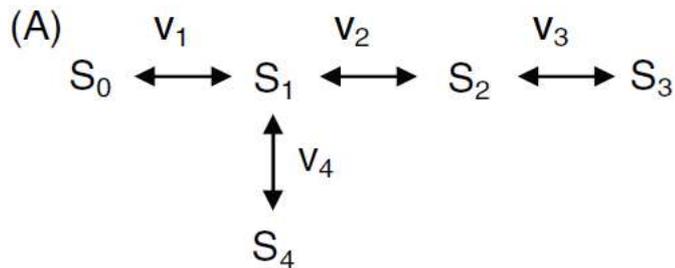
- ✧  $v^*$  è un vettore non nullo di dimensione  $r$  che soddisfa le condizioni

- ★ Equilibrio:  $Nv^* = \mathbf{0}$

- ★ Vincoli di segno derivanti da reazioni irreversibili



- ✦ Un flux mode  $\mathbf{M}$  è reversibile se, dato un vettore  $\mathbf{v} \in \mathbf{M}$ , esiste un flux mode  $\mathbf{M}'$  che contiene il vettore  $-\mathbf{v}$
- ✦ Un elementary flux mode è un flux mode che usa un numero minimo di reazioni
- ✦ Il numero di reazioni è dato dal numero di elementi non nulli di  $\mathbf{v}$
- ✦ Il numero di EFM è almeno pari al numero di colonne di  $\mathbf{K}$



- Le due reti differiscono solo per la reversibilità della reazione 2, quindi le matrici stechiometriche sono identiche

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

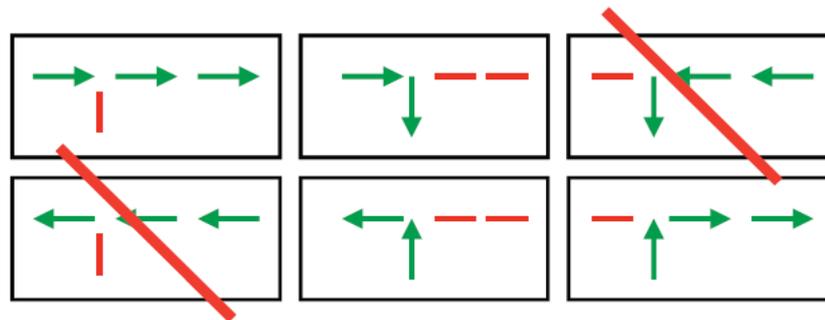
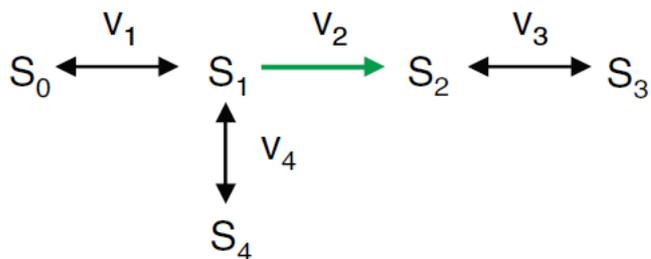
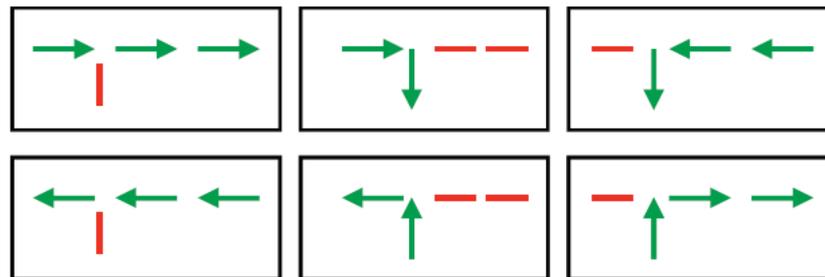
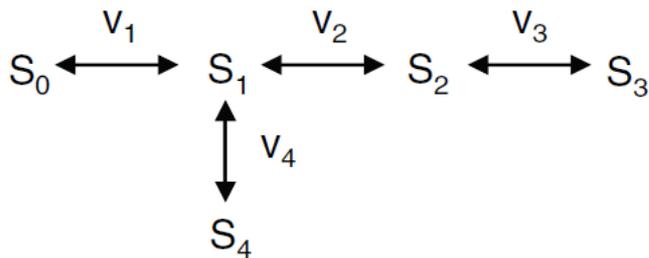
- Abbiamo selezionato le righe corrispondenti ai metaboliti interni alla rete, ossia  $S_1$  e  $S_2$



$$N' = \begin{pmatrix} 1 & -1 & 0 & -1 \\ 0 & 1 & -1 & 0 \end{pmatrix}$$

$$v^A = \left( \begin{pmatrix} 1 \\ 1 \\ 1 \\ 0 \end{pmatrix}, \begin{pmatrix} 1 \\ 0 \\ 0 \\ 1 \end{pmatrix}, \begin{pmatrix} 0 \\ -1 \\ -1 \\ 1 \end{pmatrix}, \begin{pmatrix} -1 \\ -1 \\ -1 \\ 0 \end{pmatrix}, \begin{pmatrix} -1 \\ 0 \\ 0 \\ -1 \end{pmatrix}, \begin{pmatrix} 0 \\ 1 \\ 1 \\ -1 \end{pmatrix} \right)$$

$$v^B = \left( \begin{pmatrix} 1 \\ 1 \\ 1 \\ 0 \end{pmatrix}, \begin{pmatrix} 1 \\ 0 \\ 0 \\ 1 \end{pmatrix}, \begin{pmatrix} -1 \\ 0 \\ 0 \\ -1 \end{pmatrix}, \begin{pmatrix} 0 \\ 1 \\ 1 \\ -1 \end{pmatrix} \right)$$





- ✦ E' possibile esprimere ogni reazione reversibile come due reazioni separate, una diretta e una inversa
- ✦ In questo modo, si ottengono degli elementary flux modes fatti tutti di reazioni irreversibili
- ✦ Questi ultimi vengono chiamati *extreme pathways*



- ✦ EFM ed extreme pathways possono essere utilizzati per
  - ✦ Capire quali sono i pathway presenti in una rete di reazioni complessa
  - ✦ Identificare un set di reazioni/enzimi per la produzione di un composto desiderato
  - ✦ Identificare qual è il pathway minimo (più economico) per la produzione di un certo composto
  - ✦ Ricostruire il metabolismo da sequenze geniche annotate
  - ✦ Analizzare gli effetti della carenza di uno o più enzimi
  - ✦ Ridurre/modificare gli effetti di un farmaco
  - ✦ Identificare i target di un farmaco

# Modelli basati su flussi: relazioni di conservazione



- ✦ Se una specie non viene aggiunta né rimossa dal sistema, la sua concentrazione totale rimane costante
- ✦ Questa invarianza può non essere evidente quando la specie in questione forma complessi con altri composti
- ✦ La matrice stechiometrica ci permette di derivare facilmente le relazioni di conservazione, risolvendo l'equazione

$$\mathbf{GN} = \mathbf{0}$$

- ✦ Questa eq. implica

$$\mathbf{GS} = \mathbf{GN}\mathbf{v} = \mathbf{0} \Rightarrow \mathbf{GS} = \text{costante}$$

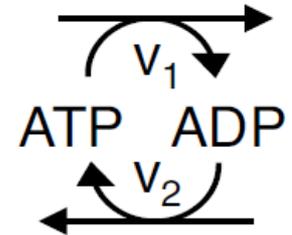
- ✦ Ogni riga della matrice  $\mathbf{G}$  indica una combinazione di composti che rimane costante nel tempo



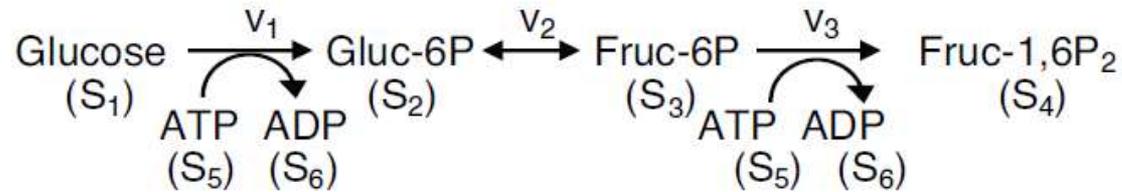
- ✦ Il numero di righe indipendenti di  $\mathbf{G}$  è pari a  $n - \text{rank}(\mathbf{N})$ , dove  $n$  è il numero di composti
- ✦ Si noti che  $\mathbf{G}^T$  è la matrice kernel di  $\mathbf{N}^T$ , per cui ha proprietà simili a quelle della matrice  $\mathbf{K}$
- ✦ E' anche possibile riscrivere  $\mathbf{G}$  come

$$\mathbf{G} = (\mathbf{G}_0 \quad \mathbf{I}_{n-\text{rank}(\mathbf{N})})$$

- ✦ Si consideri una coppia di reazioni chinasi/fosfatasi
- ✦ Il vettore dei composti è  $\mathbf{S} = \begin{pmatrix} ATP \\ ADP \end{pmatrix}$
- ✦ La matrice stechiometrica è  $\mathbf{N} = \begin{pmatrix} -1 & 1 \\ 1 & -1 \end{pmatrix}$
- ✦ La matrice  $\mathbf{G} = (1 \quad 1)$ , quindi  $\mathbf{GS} = ATP + ADP = \text{costante}$
- ✦ Si noti che il valore della costante non è noto a priori, ma dipende dalle condizioni iniziali



✧ Inizio del pathway della glicolisi



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

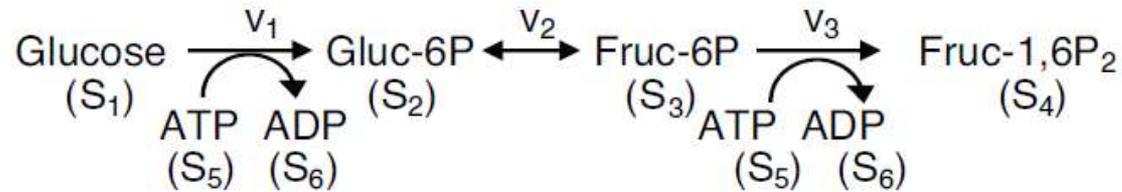
$$G = \begin{pmatrix} 2 & 1 & 1 & 0 & 0 & 1 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 1 \\ 1 & 1 & 1 & 1 & 0 & 0 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} g_1 \\ g_2 \\ g_3 \end{pmatrix}$$

ATP → (col 5)      (col 6) ← ADP

✧ La seconda riga implica la conservazione degli adenin-nucleotidi

✧ La terza riga implica la conservazione degli zuccheri

✧ E la prima riga?



- La prima riga serve per esprimere la conservazione dei gruppi fosfati, che può essere espressa mediante la combinazione lineare

$$g_4 = 3g_2 + 2g_3 - g_1 = (0 \quad 1 \quad 1 \quad 2 \quad 3 \quad 2)$$

$$g_4 S = \text{Gluc-6P} + \text{Fruc-6P} + 2 \text{ Fruc-1,6P}_2 + 3 \text{ ATP} + 2 \text{ ADP} = \text{costante}$$



- Le relazioni di conservazione possono essere utilizzate per semplificare il sistema di equazioni differenziali

$$\dot{\mathbf{S}} = \mathbf{N}\mathbf{v}$$

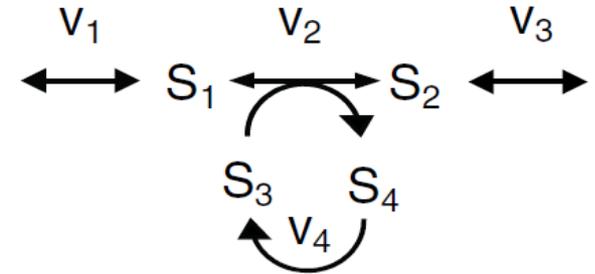
- Ogni riga fornisce una equazione algebrica e ci permette di eliminare una equazione differenziale
- Riordinando il vettore di concentrazioni  $\mathbf{S}$  possiamo separare il sistema, raggruppando le equazioni indipendenti e quelle dipendenti

$$\mathbf{N} = \begin{pmatrix} \mathbf{N}_R \\ \mathbf{N}' \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \mathbf{I} \\ \mathbf{L}' \end{pmatrix} \mathbf{N}_R \quad \mathbf{L} := \begin{pmatrix} \mathbf{I}_{n_r} \\ \mathbf{L}' \end{pmatrix} \Rightarrow \textit{Link Matrix}$$

- Il sistema si riduce a

$$\begin{aligned} \dot{\mathbf{S}}_{\text{indip}} &= \mathbf{N}_R \mathbf{v} \\ \mathbf{S}_{\text{dip}} &= \mathbf{L}' \mathbf{S}_{\text{indip}} + \text{costante} \end{aligned}$$

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



$$G = (0 \ 0 \ 1 \ 1) \Rightarrow s_3 + s_4 = \text{costante}$$

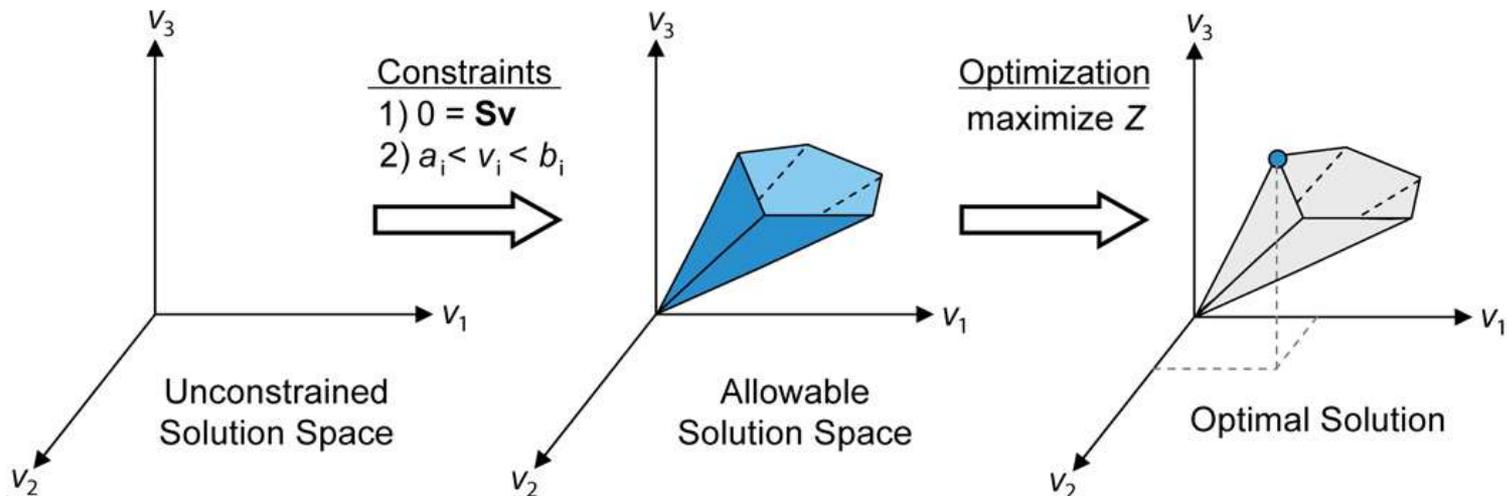
$$L = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 1 \\ 0 & 0 & -1 \end{pmatrix}, \quad L' = (0 \ 0 \ -1)$$

♣ Possiamo semplificare il sistema eliminando una equazione differenziale

$$\begin{cases} \dot{s}_1 = v_1 - v_2 \\ \dot{s}_2 = v_2 - v_3 \\ \dot{s}_3 = v_4 - v_2 \\ \dot{s}_4 = v_2 - v_4 \end{cases} \Rightarrow \begin{cases} \dot{s}_1 = v_1 - v_2 \\ \dot{s}_2 = v_2 - v_3 \\ \dot{s}_3 = v_4 - v_2 \\ s_4 = \text{costante} - s_3 \end{cases}$$

# Flux Balance Analysis

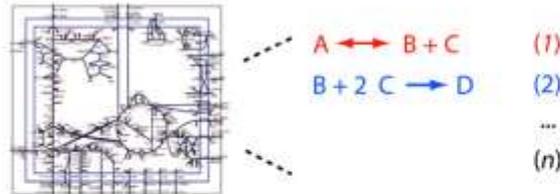
- ✦ La Flux Balance Analysis (FBA) è un metodo per il calcolo dei flussi di metaboliti attraverso una rete complessa di reazioni
- ✦ Si impongono dei vincoli sia mediante la matrice stechiometrica, sia definendo dei valori max e min per i flussi
- ✦ Su questo sottospazio si calcola la soluzione ottima, dopo aver definito cosa si vuole ottimizzare (*funzione obiettivo*)



La funzione obiettivo definisce cosa stiamo calcolando, ad es.

- Predire la crescita: la f. obiettivo include tutti i flussi che producono i costituenti della biomassa (proteine, lipidi, acidi nucleici)
- Massimizzare la produzione di un metabolita: la f. obiettivo è costituita dal solo flusso della reazione che produce quel metabolita

## a Curate metabolic reactions



## b Formulate S matrix

		Reactions			
		1	2	...	n
Metabolites	A	-1			
	B	1	-1		
	C	1	-2		
	D		1		
	...				
		<b>S</b>			
		m			

## c Apply mass balance constraints

$S$  ( $m \times n$ ) \*  $v$  ( $n \times 1$ ) = 0 →  $m$  mass balance equations

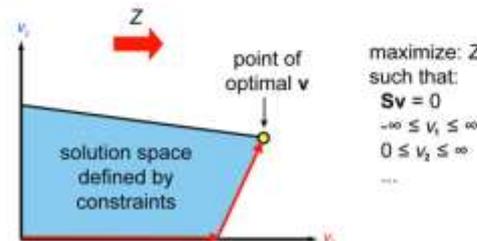
$-v_1 + \dots = 0$   
 $v_1 - v_2 + \dots = 0$   
 $v_1 - 2 v_2 + \dots = 0$   
 $v_2 + \dots = 0$   
 ...

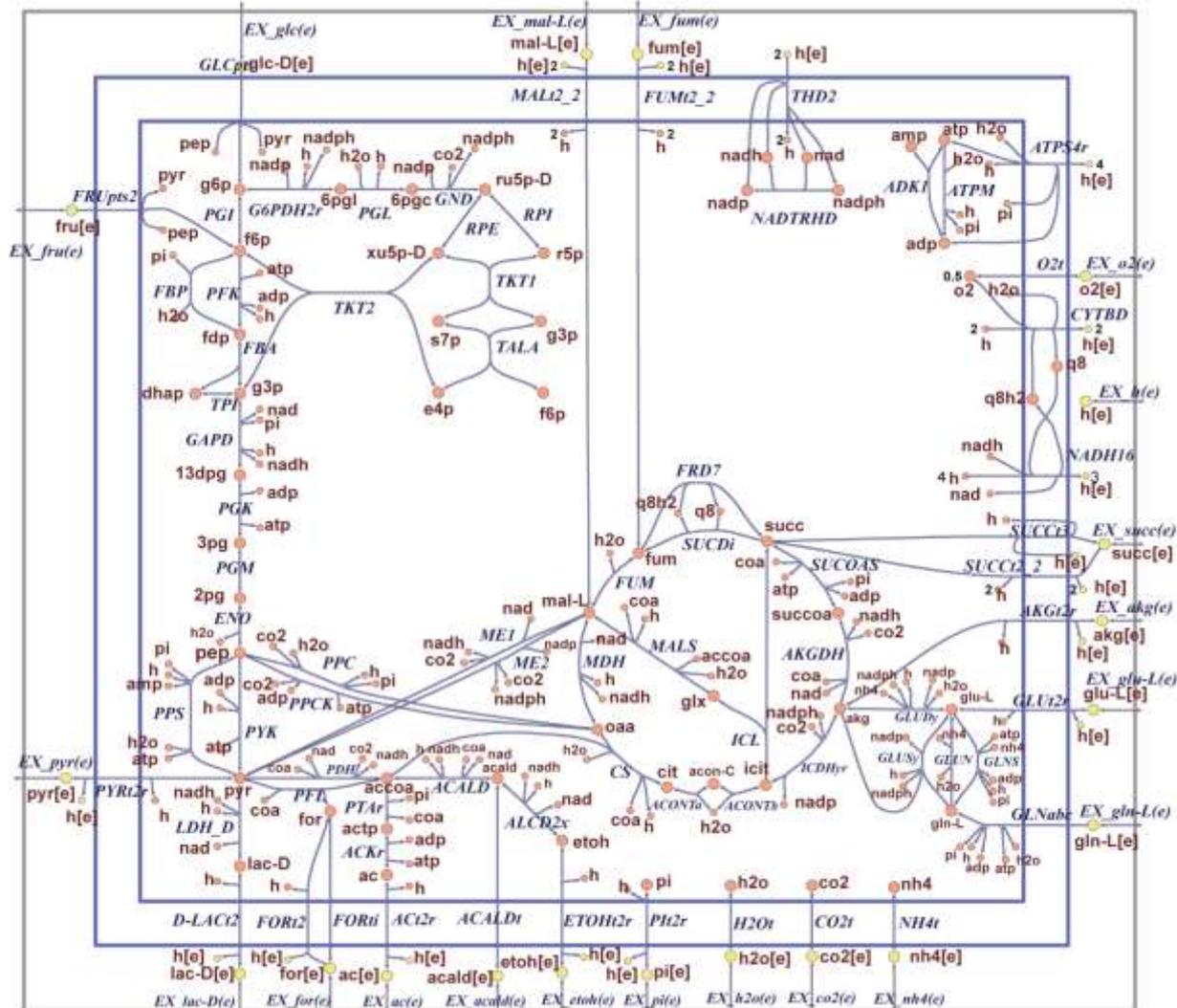
## d Define objective function Z

$Z = c^T (1 \times n) * v (n \times 1)$

sets reaction 1 as the objective

## e Optimize Z using linear programming

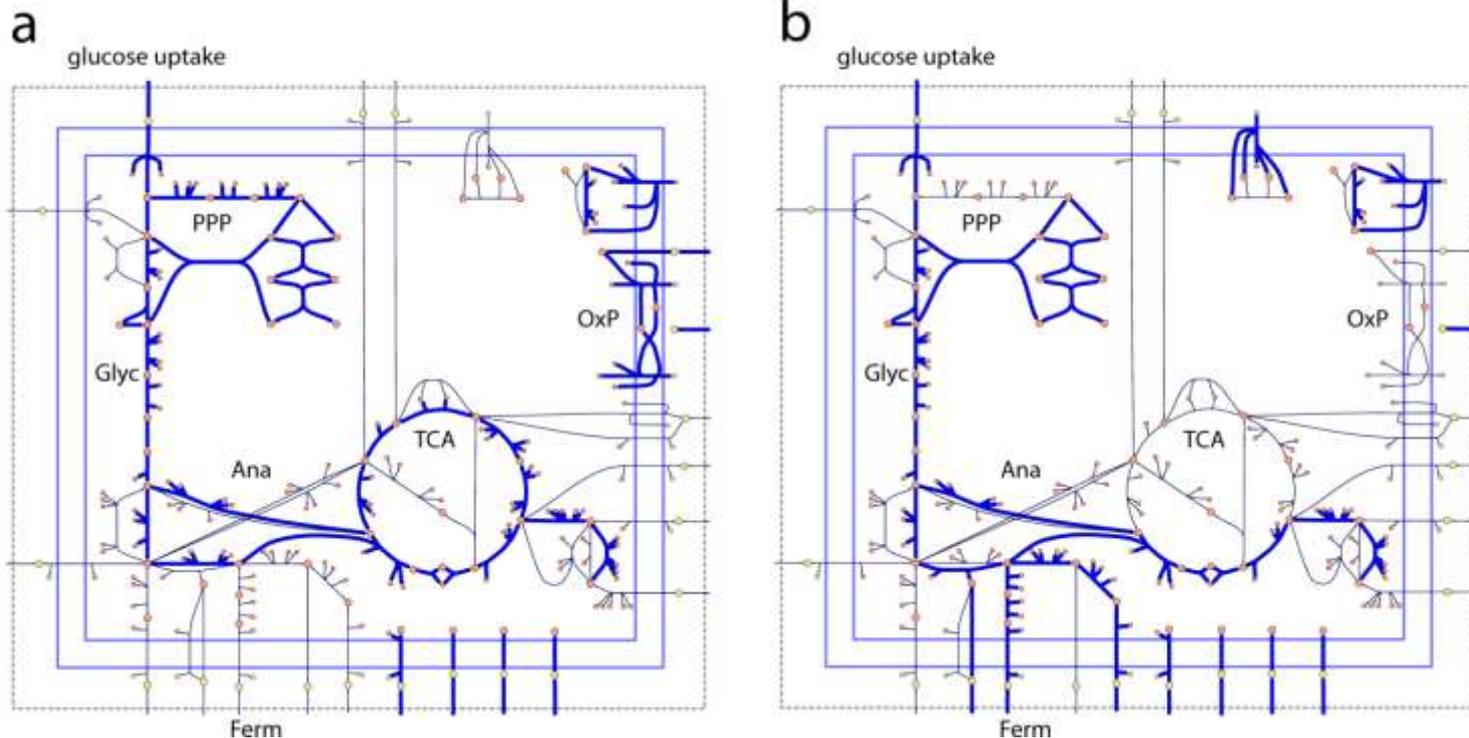




✧ Calcolo del growth rate, mediante FBA, in condizioni

✧ aerobiche (a): uptake di glucosio  $EX\_glc(e) < 18.5 \text{ mmol } gDW^{-1}hr^{-1}$  (mmol per gram dry cell weight per hour), uptake di  $O_2$  non vincolato  $\Rightarrow$  growth rate =  $1.65 \text{ hr}^{-1}$

✧ anaerobiche (b): uptake di  $O_2$   $EX\_o2(e) = 0 \Rightarrow$  growth rate =  $0.47 \text{ hr}^{-1}$



**Pathways:**

- Pentose phosphate
- TCA cycle
- Oxidative Phosphorylation
- Anaplerotic reactions
- Fermentation



- ✦ Giocando con i vincoli sui flussi è possibile
  - ✦ simulare la crescita su diversi mezzi
  - ✦ studiare l'effetto del knock-out di uno o più geni
  - ✦ identificare i diversi pathway che producono la stessa sostanza
  - ✦ identificare quali sono i geni su cui effettuare il knock-out per ottimizzare la produzione di un determinato composto
- ✦ Per la FBA è stato sviluppato un pacchetto software, il COBRA toolbox, che può essere utilizzato in ambiente MATLAB



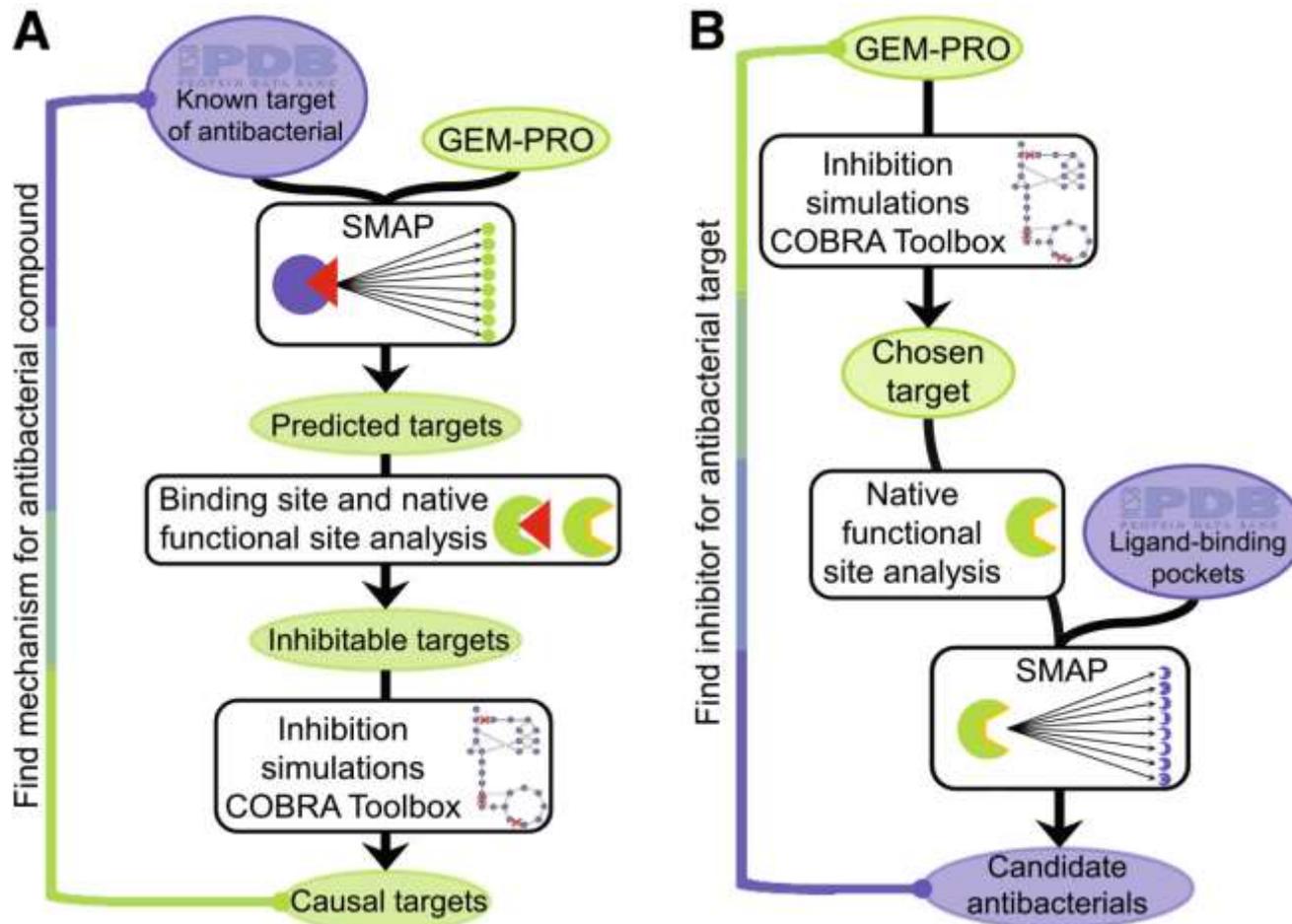
- ✦ La FBA si basa sull'assunto che l'evoluzione abbia portato ad una sorta di ottimizzazione naturale dei pathways metabolici
  - ✦ Questo non è sempre vero, alcuni sistemi metabolici lavorano in condizioni sub-ottimali
  
- ✦ Inoltre, la validità della soluzione dipende strettamente da
  - ✦ Accuratezza della descrizione della rete di reazioni
  - ✦ Scelta dei vincoli imposti sui flussi

- ✦ [Resendis-Antonio et al. Modeling core metabolism in cancer cells: surveying the topology underlying the Warburg effect. PLoS ONE, 5\(8\), e12383, 2010.](#)
- ✦ [Shlomi et al. Genome-Scale Metabolic Modeling Elucidates the Role of Proliferative Adaptation in Causing the Warburg Effect. PLoS Computational Biology 7\(3\), e10022018, 2011.](#)



- ✦ [Chang et al. Antibacterial mechanisms identified through structural systems pharmacology. BMC Systems Biology 7:102, 2013.](#)
- ✦ Scopo: predizione dell'attività antibatterica (*E. coli*) di composti chimici
- ✦ Lo studio sfrutta in maniera combinata
  - ✦ un approccio basato su omologia di struttura locale (SMAP) per la predizione di siti di legame
  - ✦ un modello metabolico su scala genomica del metabolismo di un ceppo di *E.coli*, accoppiato a informazioni sulla struttura delle proteine coinvolte
- ✦ Il Genome Scale Model of Metabolism integrated with Protein Structures (GEM-PRO) è presentato in
  - ✦ [Chang et al. Structural systems biology evaluation of metabolic thermotolerance in Escherichia coli. Science. 2013, 340: 1220-1223. 10.1126/science.1234012.](#)

⤴ Mediante il modello sono state effettuate due tipologie di screening



Chang et al. Antibacterial mechanisms identified through structural systems pharmacology. BMC Systems Biology 7:102, 2013

- ✦ [Bakker et al. Compartmentation Protects Trypanosomes from the Dangerous Design of Glycolysis. PNAS \(2000\) vol. 97, 2087-2092.](#)
- ✦ Studio della funzione del glicosoma nel parassita *T. brucei*
- ✦ Inizialmente si pensava che la compartimentalizzazione aumentasse la concentrazione degli enzimi e quindi i flussi metabolici
- ✦ Il modello computazionale, invece, mostra che il glicosoma serve per evitare l'accumulo di composti fosfati a livelli dannosi
- ✦ Studiamo la conservazione della massa in Copasi/SimBiology

