

Travaux dirigés
Modélisation du réseau métabolique

Février 2014
Ludovic Cottret
M1 MABS Toulouse

1. Modèle jouet 1

Soit le réseau suivant :

Id reaction	Formule	Vitesse (flux)
R_ex_A :	$A_{ex} \rightarrow A$	$0 \leq V_{exA} \leq 10$
R1 :	$A \rightarrow B$	$0 \leq V1 \leq 9$
R2 :	$B \rightarrow C$	$0 \leq V2 \leq 8$
R3 :	$B \rightarrow D$	$0 \leq V3 \leq 6$
R4 :	$C \rightarrow OBJ$	$0 \leq V4 \leq 10$
R5 :	$D \rightarrow OBJ$	$0 \leq V5 \leq 100$
R_OBJ :	$OBJ \rightarrow OBJ_{ex}$	$0 \leq V_{OBJ} \leq 1000$

- Dessiner le réseau
- Ecrire la matrice stoechiométrique
- Ecrire les équations permettant de décrire l'état d'équilibre
- On veut maximiser V_{OBJ} . Ecrire le problème dans le format LP CPLEX

(<http://lpsolve.sourceforge.net/5.0/CPLEX-format.htm>)

- Quelle est la valeur maximale de V_{OBJ} ?
- Quelle est la valeur maximale de V_{OBJ} si on met $V5 = 0$?

2. Modèle jouet 2

Téléchargez le réseau sous forme texte <https://sites.google.com/site/lcottret/teaching/reseau.txt>.
La première colonne contient l'id des réactions, la seconde la formule de la réaction et les deux dernières les bornes inférieures et supérieures de chaque flux.

- Ajouter les réactions d'échange pour que l'état d'équilibre puisse être vérifié
- Ecrire la matrice stoechiométrique
- Ecrire les équations permettant de décrire l'état d'équilibre
- Parmi ces 4 modes (distributions de flux), quels sont ceux qui vérifient l'état d'équilibre ? Pour ceux qui ne le vérifient pas, comment les transformer ? Pour ceux qui le vérifient, ces modes sont ils élémentaires ?
(Ici, les réactions d'échange sont implicitement utilisées)

M1 : [R1 = 1 ; R6 = 1 ; R8 = 1 ; R13 = 2 ; R9 = 1]

M2 : [R1 = 1 ; R6 = 2 ; R7 = 2 ; R8 = 2]

M3 : [R1 = 1 ; R14 = 2 ; R5 = 1 ; R4 = 1]

M4 : [R4 =3 ; R5 = 1; R13 = 4 ; R9 = 1]

Télécharger le réseau en format sbml

<https://sites.google.com/site/lcottret/teaching/reseauWithExch.sbml>

- e) Le charger sous MetExplore → Computational analysis → Flux Balance Analysis
- f) Calculer la valeur maximale de R7
 - La définir en tant que fonction objective en lui mettant comme coefficient 1 dans la colonne "Participation to objective function"
 - Lancer la fonction "Optimal objective function"
- g) Faire une analyse de variabilité des flux avec comme fonction objective R7.
 - Utiliser la fonction "Flux Variability Analysis"
- e) Dessiner le réseau avec le style "flux"
 - Lancer Cytoscape à partir du résultat de la FVA sous MetExplore
 - Sélectionner "flux" dans VizMapper
 - Changer le layout du dessin pour qu'il soit plus clair
- f) Quelle est la ou les réactions dont la valeur de flux est la plus contrainte ?
 - Utiliser le résultat de la FVA pour voir les réactions pour lesquelles les flux varient très peu
 - On peut utiliser la table obtenue ou le réseau de Cytoscape
- g) Quelle est la ou les réactions qui sont réversibles dans ces conditions ?
 - Une réaction réversible dans une FVA est une réaction pour laquelle les flux minimum et maximum sont respectivement inférieur et supérieur à 0

2. Modèle métabolique d'*Escherichia coli*

Dans cet exercice, nous considérerons le modèle Ec_iAF1260 (strain : flux2) décrivant *E. coli*. Ce réseau est présent dans la liste des réseaux MetExplore.

2.1 Flux Balance Analysis

- a) Le charger dans MetExplore → Computational analysis → Flux Balance Analysis
- b) Combien de réactions d'échange permettent d'entrer dans le système ?
 - Utiliser la colonne "Type of reactions" de la table générée par MetExplore
- c) Combien de réactions ne peuvent porter aucun flux, quelque soient les contraintes ?
 - Utiliser la fonction "Dead and Live reactions"
- d) Combien le réseau contient-il de métabolites "impasses" (dead-end metabolites) ?
 - Utiliser la fonction "Orphan metabolites"

- e) Calculez le taux de croissance optimal (production de biomasse) avec les valeurs par défaut.
- Trouver la réaction qui correspond à la production de biomasse et la définir en tant que fonction objective
 - Utiliser la fonction "Optimal objective function"
- f) En gardant les contraintes par défaut, dites si la souche est capable de pousser sans oxygène.
- Définir la réaction qui correspond à la production de biomasse en tant que fonction objective
 - Repérer l'identifiant de la réaction d'échange qui correspond à l'entrée d'oxygène
 - Coller l'identifiant dans la zone texte de "Knock out analysis" et lancer la fonction (ne pas oublier de bien sélectionner la fonction avant de lancer "Submit")
 - Regarder le résultat et répondre à la question
- g) Quel est l'effet d'une augmentation de l'oxygène sur la croissance ? Représentez le sous la forme d'un graphique. (Utiliser la fonction "Variation of the optimal objective function value depending on a reaction flux" en faisant varier le flux entrant d'oxygène de -20 à 0).
- h) Avec les valeurs par défaut, représentez une analyse de variabilité des flux en ne sélectionnant que les réactions de la glycolyse et de la voie des pentose phosphate.
- Sélectionner les réactions des deux voies grâce à la fonction search du tableau des réactions
 - Coller les identifiants dans la zone texte de la fonction "Flux Variability Analysis"
 - Sélectionner la fonction et lancer l'analyse
- i) Même opération, cette fois-ci en désactivant l'entrée de glucose et en activant l'entrée de fructose avec la même valeur (-11).
- Changer les lower et upper bounds dans la table des réactions
- j) En utilisant la fonction "Comparative flux variability analysis", dites quelles sont les
- réactions désactivées lors du changement de substrat (glucose → fructose)
 - réactions activées
 - réactions dont la valeur de flux devient contrainte (min = max)

2.1 Visualisation et analyse de graphe

Le type de dessins effectués dans les exercices suivant viennent souvent illustrer une publication. Jouez avec les layouts pour que les dessins soient les plus présentables possible.

- a) Dessinez le réseau entier sans filtre puis en retirant les 10 métabolites les plus connectés.
- Utiliser la fonction "Download & Visualise" de MetExplore
- b) Combien le réseau contient-il de réactions ? de métabolites ?
- Utiliser la fonction "Enhance Search" de Cytoscape en utilisant les types des objets (species (metabolite) et reaction)
- c) Dessinez le réseau formé par la glycolyse et la voie des pentose phosphates en retirant les 10 métabolites les plus connectés.
- Utiliser le filtre des voies métaboliques sous MetExplore ou dans Cytoscape

e) Exportez le réseau en graphe des réactions après avoir retiré les 10 métabolites les plus connectés (fonction "Download & Visualise de MetExplore). Grâce au plugin "Network analysis" de Cytoscape, représentez la taille des réactions en fonction de leur degré (in-degree et out-degree), puis dans un troisième dessin de leur centralité (betweenness centrality). Quelles sont les 10 réactions les plus connectées ? les plus centrales ?

f) En utilisant le fichier attributs calculé par la fonction "Choke point reactions" de MetExplore, trouvez dans le réseau complet les six réactions les plus centrales qui sont aussi des choke points. Si cette souche est pathogène, quelle peut être l'importance de ces réactions dans le cas d'un ciblage thérapeutique ?

A quelle fonction correspondent ces six réactions ?