

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
INSTITUTO DE MATEMÁTICA E ESTATÍSTICA  
BACHARELADO EM CIÊNCIA DA COMPUTAÇÃO

**Caracterização de Caminhos Biológicos na  
Dinâmica de Redes Booleanas  
Limiarizadas**

Miguel Pereira Ostrowski

MONOGRAFIA FINAL

MAC 499 — TRABALHO DE  
FORMATURA SUPERVISIONADO

Supervisor: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ronaldo Fumio Rashimoto  
Cossupervisor: Dr<sup>a</sup>. Shantanu Gupta

Durante o desenvolvimento deste trabalho o autor recebeu auxílio financeiro da CNPq

São Paulo  
2023

*O conteúdo deste trabalho é publicado sob a licença CC BY 4.0  
(Creative Commons Attribution 4.0 International License)*





# Resumo

Miguel Pereira Ostrowski. **Caracterização de Caminhos Biológicos na Dinâmica de Redes Booleanas Limiarizadas**. Monografia (Bacharelado). Instituto de Matemática e Estatística, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2023.

As interações entre genes são as responsáveis pela coordenação da execução de funções biológicas, como a divisão celular. Tais interações produzem uma dinâmica que pode ser representada por um diagrama de estados. Nesse diagrama, cada estado possui um único arco para outro estado. Quando um estado faz parte de um ciclo, chama-se esse estado de atrator. Dessa forma, tal diagrama contém muitos caminho de um estado até um atrator, onde cada caminho pode conter propriedades a depender do grafo de regulação. Assim, este trabalho tem o intuito de estudar características no grafo de regulação que induzem a existência de certas propriedades no diagrama de estado.

**Palavras-chave:** Redes Booleanas. Genes.



# Abstract

Miguel Pereira Ostrowski. **Characterization of Biological Paths in the Dynamics of Thresholded Boolean Networks**. Capstone Project Report (Bachelor). Institute of Mathematics and Statistics, University of São Paulo, São Paulo, 2023.

The interactions between genes are responsible for coordinating the execution of biological functions, such as cell division. These interactions generate a dynamics that can be represented by a state diagram. In this diagram, each state has a single arc to another state. When a state is part of a cycle, it is called an attractor state. Thus, this diagram contains many paths from a state to an attractor, where each path may have properties depending on the regulation graph. Therefore, this work aims to study characteristics in the regulation graph that induce the existence of certain properties in the state diagram.

**Keywords:** Boolean Networks. Genes.





## Lista de abreviaturas

CFT	Transformada contínua de Fourier ( <i>Continuous Fourier Transform</i> )
DFT	Transformada discreta de Fourier ( <i>Discrete Fourier Transform</i> )
EIIP	Potencial de interação elétron-íon ( <i>Electron-Ion Interaction Potentials</i> )
STFT	Transformada de Fourier de tempo reduzido ( <i>Short-Time Fourier Transform</i> )
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
URL	Localizador Uniforme de Recursos ( <i>Uniform Resource Locator</i> )
IME	Instituto de Matemática e Estatística
USP	Universidade de São Paulo
I	Iniciais
A1	Ativadores1
A2	Ativadores2
D	Desativadores
F	Finais
C1	Camada1
C2	Camada2

## Lista de símbolos

$\omega$	Frequência angular
$\psi$	Função de análise <i>wavelet</i>
$\Psi$	Transformada de Fourier de $\psi$

## Lista de figuras

1.1	a) Grafo da interação gênica; b) Matriz de interação gênica; c) Diagrama de estados gerado. . . . .	2
1.2	Rede de interações proposta por <a href="#">Li et al., 2004</a> . . . . .	4
1.3	Tamanho de cada bacia de atração (primeira coluna) com seu respectivo atrator. . . . .	4
1.4	Estados do caminho biológico com sua respectiva fase da divisão celular.	5
1.5	As trajetórias dos 1.764 estados (nós verdes) fluindo para o ponto fixo (nó azul). Os arcos entre os estados indicam a direção de um estado para outro. A sequência indicada pelos arcos em azul é o caminho biológico. O tamanho de um nó e a espessura de um arco são proporcionais ao logaritmo do número de trajetórias que passa por eles. Figura extraída de <a href="#">Li et al., 2004</a> .	6
3.1	a) Representação de um gene Inicial. Esse gene possui auto degradação e não contém arcos entrando. b) Representação de um gene Final. Esse gene não possui auto degradação e não contém arcos positivos saindo. . . . .	9
3.2	Grafo de regulação da <i>fission yeast</i> . Os arcos amarelos são os arcos de auto degradação, os verdes são de ativação e os vermelhos de degradação. Figura retirada de <a href="#">DAVIDICH e BORNHOLDT, 2013</a> . . . . .	10
3.3	Caminho biológico da <i>fission yeast</i> . Figura retirada de <a href="#">DAVIDICH e BORNHOLDT, 2013</a> . . . . .	10

3.4	Estrutura que tenta generalizar o comportamento de geração de cascata da <i>budding yeast</i> , de forma que genes Iniciais e Finais serão os únicos nós ligados no primeiro estado do caminho biológico e os genes Finais ligados serão os únicos nós ligados no atrator. Nós com a cor vermelha são nós que possuem auto degradação. Arcos indo de um conjunto de nós A para outro conjunto de nós B, significa que há arcos que saem de nós de A e vão para nós de B. Círculos pretos em um arco que vai de um conjunto de nós para outros, possui o significado que todos os nós daquele conjunto recebe ou manda (a depender da posição que está o círculo) arcos daquele tipo. De forma análoga, um círculo com o meio branco significa que ao menos um nó daquele conjunto recebe ou manda (a depender da posição que está o círculo) arcos do tipo em que o círculo se encontra (arcos de ativação ou de inibição).	11
3.5	Nós Iniciais.	12
3.6	Nós Ativadores1.	12
3.7	Nós Desativadores.	13
3.8	Nós Ativadores2.	13
3.9	Nós da Camada1.	14
3.10	Nós da Camada2.	14
3.11	Nós Finais.	15
4.1	Histograma da razão entre o tamanho da bacia de atração que se encontra o caminho da Propriedade 3.3 e a quantidade total de estados do diagrama de estados.	19

## Lista de tabelas

A.1	Tabela dos estados do caminho biológico e a respectiva fase que cada estado se encontra. Tabela retirada de LEE e HUANG, 2009.	23
A.2	Tabela A.1 que foi ordenada seguindo o algoritmo A.1.	24

# Lista de programas

A.1	Facilita visualização de cascata. . . . .	24
-----	---	----

# Sumário

<b>1</b>	<b>Introdução</b>	<b>1</b>
1.1	Redes Biológicas modeladas por Redes Booleanas . . . . .	3
1.2	Caminho Biológico . . . . .	5
<b>2</b>	<b>Objetivos</b>	<b>7</b>
<b>3</b>	<b>Metodologia</b>	<b>9</b>
3.1	Generalização do comportamento do caminho biológico de duas leveduras conhecidas . . . . .	10
3.2.1	Restrições dos nós Iniciais . . . . .	12
3.2.2	Restrições dos nós Ativadores1 . . . . .	12
3.2.3	Restrições dos nós Desativadores . . . . .	13
3.2.4	Restrições dos nós Ativadores2 . . . . .	13
3.2.5	Restrições dos nós Camada1 . . . . .	13
3.2.6	Restrições dos nós Camada2 . . . . .	14
3.2.7	Restrições dos nós Finais . . . . .	15
3.2.8	Restrições adicionais . . . . .	15
3.4	Ideia de prova de que a estrutura gera o comportamento esperado . . . .	15
3.5	Simulações com grafos de regulação . . . . .	17
<b>4</b>	<b>Resultados</b>	<b>19</b>
<b>5</b>	<b>Conclusão</b>	<b>21</b>

## Apêndices

<b>A</b>	<b>Algoritmo que facilita visualização de cascata gerada pelo caminho biológico</b>	<b>23</b>
----------	---	-----------

## **Anexos**

<b>A Estudos Futuros</b>	<b>25</b>
--------------------------	-----------

<b>Referências</b>	<b>27</b>
--------------------	-----------

<b>Índice remissivo</b>	<b>29</b>
-------------------------	-----------

# Capítulo 1

## Introdução

Dentro da área de Biologia de Sistemas, muitos modelos matemáticos e computacionais estão sendo desenvolvidos para explicar interações entre seus componentes e existe um número considerável de tentativas para modelar redes biológicas. Um modelo que tem chamado muita atenção é o modelo de redes *Booleanas*, ou *BNs* (*Boolean Networks*), onde utiliza-se grafos direcionados como modelagem a fim de representar uma interação entre genes. Neste grafo, chamado de grafo de interação gênica, cada vértice (ou nó) representa um gene; e um arco liga dois nós se, e somente se, existir uma interação (de ativação ou inibição) do primeiro gene sobre o segundo (ou, analogamente, o segundo gene sofre uma interação do primeiro). Tal grafo, com  $n$  genes, pode ser representado por uma matriz de interação gênica  $A_{n \times n}$ , tal que:

$$a_{i,j} = \begin{cases} 1, & \text{se } x_i \text{ é ativado por } x_j \\ -1, & \text{se } x_i \text{ é inibido por } x_j \\ 0, & \text{se não há interação entre } x_i \text{ e } x_j \end{cases} \quad (1.1)$$

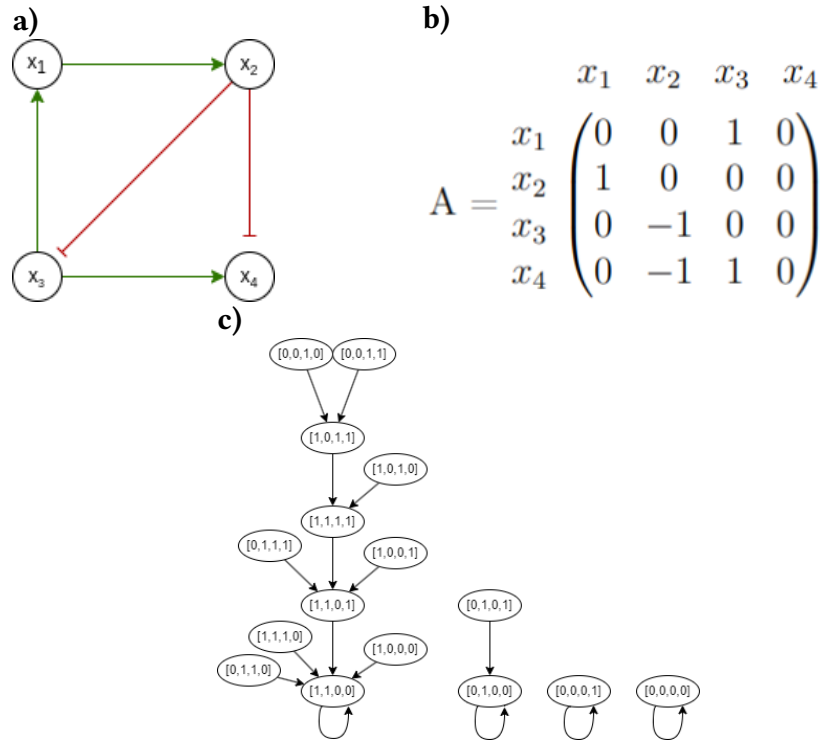
Um exemplo de um grafo de interações e sua matriz correspondente podem ser vistos na Figura 1.1a e 1.1b, respectivamente.

Considerando que cada gene  $x_j(t)$  em um determinado tempo  $t$  pode assumir valor 1 ou 0 (indicando se está ativado ou desativado, respectivamente), podemos, juntamente com a rede *Booleana*, definir a função  $\phi_j(t)$ , chamada de sinal de entrada no gene  $x_i$  no tempo  $t$ , a seguir:

$$\phi_i(t) = \sum_{j=1}^n a_{i,j} \cdot x_j(t) \quad (1.2)$$

Com base na equação podemos calcular no tempo seguinte se um gene é ativado, desativado ou mantém seu estado atual, por meio da seguinte equação:

$$x_{ji}(t+1) = \begin{cases} 1, & \text{se } \phi_i(t) > 0 \\ 0, & \text{se } \phi_i(t) < 0 \\ x_i(t), & \text{se } \phi_i(t) = 0 \end{cases} \quad (1.3)$$



**Figura 1.1:** a) Grafo da interação gênica; b) Matriz de interação gênica; c) Diagrama de estados gerado.

Como cada gene  $x_i(t)$  no tempo  $t$  pode assumir somente 2 valores, o vetor  $\mathbf{s}(t) = (x_1(t), \dots, x_n(t))$  formado pelos valores binários das  $n$  variáveis da BN forma uma  $n$ -upla pertencente ao conjunto  $\{0, 1\}^n$ . Definimos, dessa forma, o estado de uma BN com  $n$  variáveis no tempo  $t$  como sendo um vetor binário  $\mathbf{s}(t) \in \{0, 1\}^n$ . É fácil de ver que uma BN com  $n$  genes possui  $2^n$  estados possíveis. Dado um estado no tempo  $t$ , a atualização de todos os genes no tempo  $t + 1$  leva a rede para o próximo estado  $\mathbf{s}(t + 1)$ . Podemos representar estas transições de estado através de um diagrama de transição de estados. Veja um exemplo na Figura 1.1c.

Uma vez que o número de estados de uma BN é finito e que a rede sempre transita de um estado para outro, é fácil ver que depois do sistema iterar por um determinado tempo, certos estados serão revisitados de uma maneira cíclica. Tais estados formam o que chamamos de atratores. Um atrator é um ciclo dirigido (ou um ponto fixo) no diagrama de transição estados da BN. Dado um atrator, o conjunto de todos os estados que conduzem a este atrator (inclusive os próprios estados dentro do atrator) é chamado de bacia de atração. A dinâmica de uma BN pode ser caracterizada pela quantidade de atratores, pelo tamanho médio dos ciclos atratores, pelo tamanho das bacias de atração, entre outras medidas do diagrama de estados.



## 1.1 Redes Biológicas modeladas por Redes Booleanas

O ciclo celular da levedura é composto por quatro fases distintas:  $G_1$  (crescimento da célula),  $S$  (replicação de DNA),  $G_2$  (preparação para mitose) e  $M$  (divisão celular). Neste relatório, nós vamos considerar que o sinal para o início do ciclo celular é o tamanho da célula, indicada pela variável  $T$ . As três primeiras fases são conhecidas como intérfase e a última é a mitose. Este ciclo é altamente regulado no sentido de que uma fase não pode ser iniciada sem que a fase anterior tenha sido concluída. Este mecanismo propõe um certo nível de robustez pois as fases devem ser realizadas em sequência para que o ciclo seja bem sucedido. Uma vantagem de se trabalhar com o ciclo celular da levedura é que este processo é relativamente conhecido e bem estudado devido a simplicidade do organismo.

Após uma exaustiva investigação na literatura sobre redes de regulação gênica da levedura, [Li et al., 2004](#) modelaram o sistema de controle do seu ciclo celular sob o modelo de redes Booleanas e estudaram suas propriedades dinâmicas e estruturais. A rede de regulação gênica proposta por [Li et al., 2004](#) é composta de 11 genes/proteínas representados por  $x_1, x_2, \dots, x_{11}$  de forma que  $x_i = 1$  e  $x_i = 0$  representam o estado ativo e inativo do gene/proteína  $i$ , respectivamente. Assim, um estado da rede de [Li et al., 2004](#) é uma configuração do espaço  $S = \{0, 1\}^{11}$ . Temos então  $2^{11}$  estados, rotulados por inteiros do conjunto  $\{0, 1, \dots, 2047\}$ .

A rede de interação proposta por [Li et al., 2004](#) é mostrada na Figura 1.2. A partir desta figura, é possível construir uma matriz de regulação  $A_{11 \times 11}$  da forma descrita na Eq. 1.1: (i) uma flecha de um gene  $i$  para um gene  $j$  representa que o do gene  $j$  é ativado pelo gene  $i$ , e neste caso,  $a_{ji} = 1$ ; (ii) um arco com uma barra na ponta de um gene  $i$  para um gene  $j$  representa que o do gene  $j$  é reprimido pelo gene  $i$ , e neste caso  $a_{ji} = -1$ ; (iii) laços pontilhados representam auto-degradação, e neste caso,  $a_{ii} = -1$ ; (iv) para os casos restantes,  $a_{ji} = 0$ .



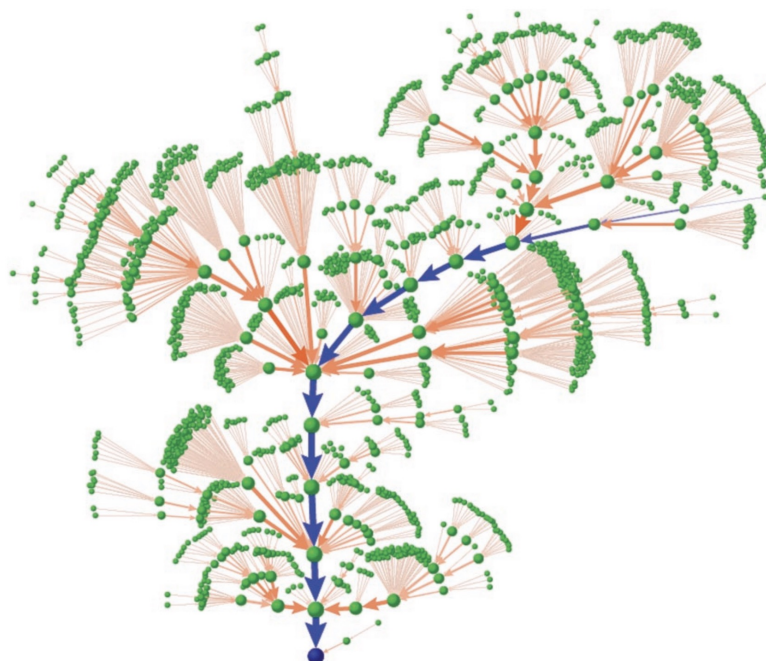
State	Cln3	MBF	SBF	Cln2	Cdh1	Swi5	Cdc20	Clb5	Sic1	Clb2	Mcm1	Phase
$s_1$	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	Excited $G_1$
$s_2$	0	1	1	0	1	0	0	0	1	0	0	$G_1$
$s_3$	0	1	1	1	1	0	0	0	1	0	0	$G_1$
$s_4$	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	$G_1$
$s_5$	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	$S$
$s_6$	0	1	1	1	0	0	0	1	0	1	1	$G_2$
$s_7$	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1	1	$M$
$s_8$	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	$M$
$s_9$	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1	$M$
$s_{10}$	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	1	$M$
$s_{11}$	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	$M$
$s_{12}$	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	$G_1$
$s_{13}$	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	Stationary $G_1$

**Figura 1.4:** Estados do caminho biológico com sua respectiva fase da divisão celular.

Observe que cada estado na trajetória corresponde a uma fase da divisão celular da levedura.

## 1.2 Caminho Biológico

Com as fórmulas descritas na primeira seção, e com um grafo de regulação, podemos calcular a transição de estado de todos os estados, obtendo o diagrama de estados, onde a maior bacia de atração desse diagrama está representado Figura 1.5. É possível verificar que existem muitos caminhos possíveis, de um estado até o atrator, porém o caminho em azul se destaca. Esse caminho em azul é o caminho biológico, que modela o ciclo celular da levedura. A definição de caminho biológico é uma sequência de estados onde cada estado desempenha uma etapa de uma função biológica, como pode ser observado na Figura 1.4.



**Figura 1.5:** As trajetórias dos 1.764 estados (nós verdes) fluindo para o ponto fixo (nó azul). Os arcos entre os estados indicam a direção de um estado para outro. A sequência indicada pelos arcos em azul é o caminho biológico. O tamanho de um nó e a espessura de um arco são proporcionais ao logaritmo do número de trajetórias que passa por eles. Figura extraída de *Li et al., 2004*.

## Capítulo 2

### Objetivos

Como visto anteriormente, o caminho biológico possui uma definição que depende da etapa da função que cada estado desempenha. Porém essa é uma definição biológica desse caminho. Por isso, este trabalho tem o intuito de verificar caracterizações matemáticas para esse fenômeno. Assim sendo, este trabalho possui o objetivo de procurar e estudar possíveis caracterizações para o caminho biológico para um conjunto definido de grafos de regulação. Por isso, com o intuito de definir o conjunto de grafos de regulação que a caracterização será feita, é proposto uma estrutura que deve ser seguida por grafos de regulação para que haja uma propriedade que possa ser usada para a caracterização do caminho biológico.

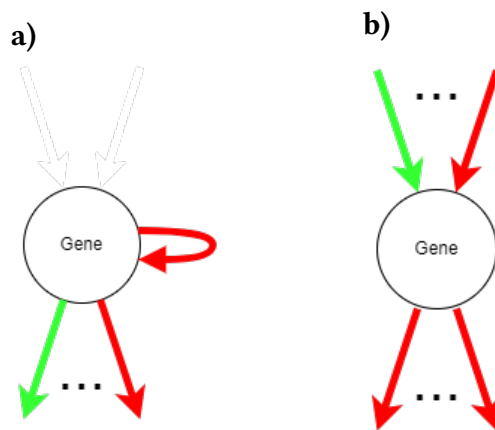
Por isso, este trabalho tem o objetivo de propor uma estrutura do grafo de regulação que gere um comportamento similar ao caminho biológico dos grafos de regulação da *budding yeast* e da *fission yeast*, com a intenção de no futuro utilizá-la para uma caracterização matemática para esse fenômeno.



## Capítulo 3

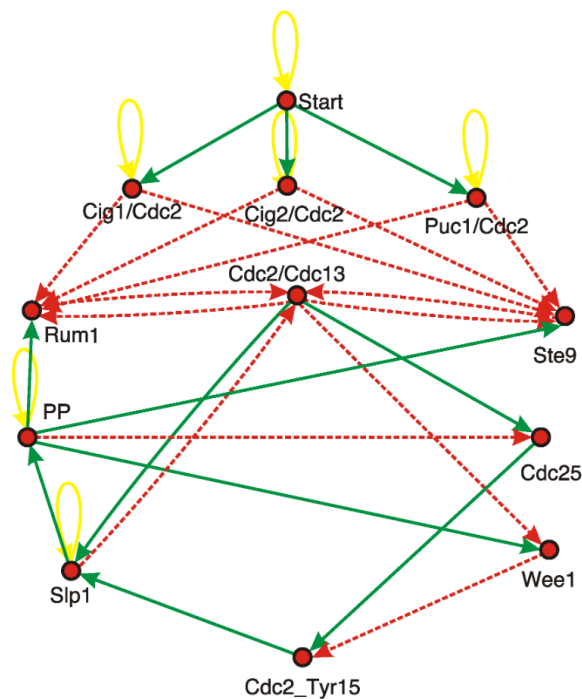
### Metodologia

Com o propósito de encontrar semelhanças entre as leveduras, foi observado que os caminhos biológicos da *budding yeast* e da *fission yeast* possuem um comportamento em comum, de modo que no primeiro estado do caminho biológico, apenas genes Iniciais (onde genes Iniciais são aqueles que possuem auto degradação e não contém arcos entrando, exemplificado na Figura 3.1 a)) e genes Finais (onde os genes Finais são os genes que não possuem auto degradação e não contém arcos positivos saindo, assim como mostrado na Figura 3.1 b)) estão ligados, e no ultimo estado do caminho biológico, apenas genes Finais estão ligados. Esse comportamento pode ser verificado para a *budding yeast* no grafo



**Figura 3.1:** a) Representação de um gene Inicial. Esse gene possui auto degradação e não contém arcos entrando. b) Representação de um gene Final. Esse gene não possui auto degradação e não contém arcos positivos saindo.

de regulação mostrado na Figura 1.2 juntamente com o caminho biológico na Figura 1.4, de modo que o gene Inicial é o Cln3 e os genes Finais são o Cdh1 e o Sic1. De forma análogo, podemos verificar esse comportamento para a *fission yeast* no grafo de regulação da Figura 3.2 em conjunto com seu caminho biológico da Figura 3.3, onde o gene Inicial é o gene Start e os genes Finais são o Ste9, o Rum1 e o Wee1.



**Figura 3.2:** Grafo de regulação da fission yeast. Os arcs amarelos são os arcs de auto degradação, os verdes são de ativação e os vermelhos de degradação. Figura retirada de DAVIDICH e BORNHOLDT, 2013.

Time Step	Start	SK	Cdc2/Cdc13	Ste9	Rum1	Slp1	Cdc2/Cdc13*	Wee1 Mik1	Cdc25	PP	Phase	comments
1	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	START	Cdc2/Cdc13 dimers are inhibited, antagonists are active.
2	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	G1	SK are becoming active
3	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	G1/S	When Cdc2/Cdc13 and SK dimers switch off Rum1 and Ste9/APC, the cell passes 'Start' and DNA replication takes place, Cdc2/Cdc13 starts to accumulate
4	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	G2	Activity of Cdc2/Cdc13 achieves moderate level, which is enough for entering G2 phase but not mitosis, since Wee1/Mik1 inhibits the activity of residue Tyr-15 of Cdc2 (Cdc2/Cdc13* is not active)
5	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	G2	Moderate activity Cdc2/Cdc13 activates Cdc25
6	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	G2/M	Cdc25 reverses phosphorylation, removing the inhibiting phosphate group and activating Cdc2/Cdc13*
7	0	0	1	0	0	1	1	0	1	0	G2/M	Cdc2/Cdc13* reaches high activity level sufficient to activate Slp1/APC mitosis
8	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	M	Slp1 degrades Cdc13, that is inhibits complex Cdc2/Cdc13 and Cdc2/Cdc13*.
9	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	M	Antagonists of Cdc2/Cdc13 are reset.
10	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	G1	Cell reaches G1 stationary state (PP is inactive)

doi:10.1371/journal.pone.0001672.t002

**Figura 3.3:** Caminho biológico da fission yeast. Figura retirada de DAVIDICH e BORNHOLDT, 2013.

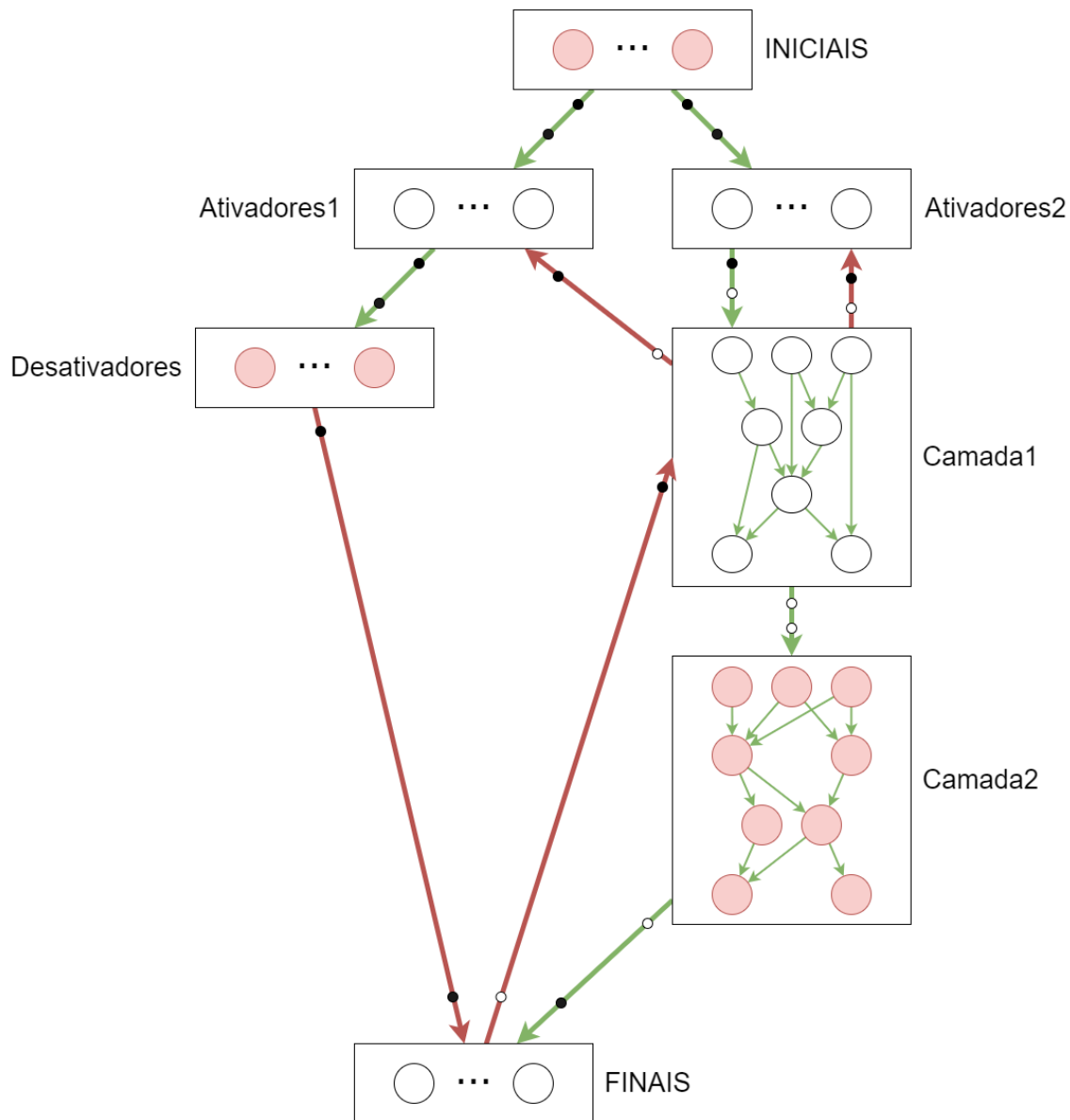
Entretanto, esse comportamento não pode ser esperado para qualquer grafo de regulação, uma vez que depende da estrutura do grafo. Dado isso, é proposto uma estrutura que produza esse comportamento dessas duas leveduras, onde os detalhes são discutidos a seguir.

### 3.1 Generalização do comportamento do caminho biológico de duas leveduras conhecidas

Com o intuito de criar uma estrutura que generalize esse comportamento do caminho biológico da budding yeast e da fission yeast é criado uma estrutura inspirada nessas duas leveduras.



Esse comportamento além possuir as características descritas anteriormente ele também tem a característica onde todos os outros genes são ligados e desligados entre o primeiro e o último estado do caminho biológico. Assim sendo, tal estrutura é exemplificada na Figura 3.4 e cada parte dessa estrutura é definida logo em seguida.



**Figura 3.4:** Estrutura que tenta generalizar o comportamento de geração de cascata da budding yeast, de forma que genes Iniciais e Finais serão os únicos nós ligados no primeiro estado do caminho biológico e os genes Finais ligados serão os únicos nós ligados no atrator. Nós com a cor vermelha são nós que possuem auto degradação. Arcos indo de um conjunto de nós A para outro conjunto de nós B, significa que há arcos que saem de nós de A e vão para nós de B. Círculos pretos em um arco que vai de um conjunto de nós para outros, possui o significado que todos os nós daquele conjunto recebe ou manda (a depender da posição que está o círculo) arcos daquele tipo. De forma análoga, um círculo com o meio branco significa que ao menos um nó daquele conjunto recebe ou manda (a depender da posição que está o círculo) arcos do tipo em que o círculo se encontra (arcos de ativação ou de inibição).

Agora, com o intuito de definir cada parte dessa estrutura, todas as restrições de cada parte da estrutura interna da Figura 3.4 são discutidas a seguir:

**Definição 3.2.** *Hierarquia:* Cada nó  $h$  em uma hierarquia  $H$ , possui uma altura  $A(h)$  onde o nó  $h$  só pode ter um arco positivo para outro nó  $h'$ ,  $h' \in H$ , se  $A(h) > A(h')$

### 3.2.1 Restrições dos nós Iniciais

Os nós contidos em I (Iniciais), que estão representados na Figura 3.5) contém as seguintes restrições:

1. Todos nós que estão em I possuem auto degradação.
2. Para cada nó contido em I, há ao menos um arco positivo que sai em direção a um nó contido em A1.
3. Para cada nó contido em I, há ao menos um arco positivo que sai em direção a um nó contido em A2.
4.  $\forall u, v, u \neq v \in I, a_{uv} = 0$ .

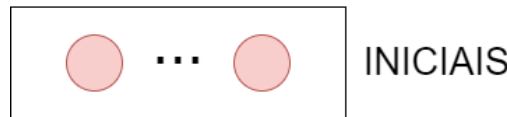


Figura 3.5: Nós Iniciais.

### 3.2.2 Restrições dos nós Ativadores1

Os nós contidos em A1 (Ativadores1), que estão representados na Figura 3.6) contém as seguintes restrições:

1. Nenhum nó que está em A1 possui auto degradação.
2. Para cada nó contido em A1, há ao menos um arco positivo que sai em direção a um nó contido em D.
3. Para cada nó contido em A1, há ao menos um arco positivo que entra nele, vindo de um nó contido em I.
4. Para cada nó contido em A1, há ao menos um arco negativo que entra nele, vindo de um nó contido na C1.
5.  $\forall u, v, u \neq v \in A1, a_{uv} = 0$ .

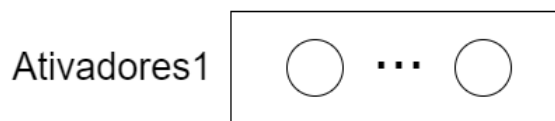


Figura 3.6: Nós Ativadores1.

### 3.2.3 Restrições dos nós Desativadores

Os nós contidos em D (Desativadores), que estão representados na Figura 3.7) contém as seguintes restrições:

1. Todos os nós que estão em D possuem auto degradação.
2. Para cada nó contido em D, há ao menos um arco negativo que sai em direção a um nó contido em F.
3. Para cada nó contido em D, há ao menos um arco positivo que entra nele, vindo de um nó contido em A1.
4.  $\forall u, v, u \neq v \in D, a_{uv} = 0$ .

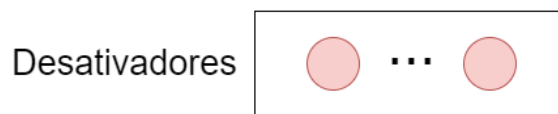


Figura 3.7: Nós Desativadores.

### 3.2.4 Restrições dos nós Ativadores2

Os nós contidos em A2 (Ativadores2), que estão representados na Figura 3.8) contém as seguintes restrições:

1. Nenhum nó que está no A2 possui auto degradação.
2. Para cada nó contido em A2, há ao menos um arco positivo que sai em direção a um nó contido em C1.
3. Para cada nó contido em A2, há ao menos um arco positivo que entra nele, vindo de um nó contido em I.
4. Para cada nó contido em A2, há ao menos um arco negativo que entra nele, vindo de um nó contido na C1.
5.  $\forall u, v, u \neq v \in A2, a_{uv} = 0$ .

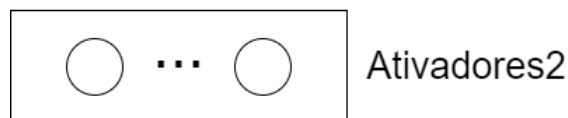


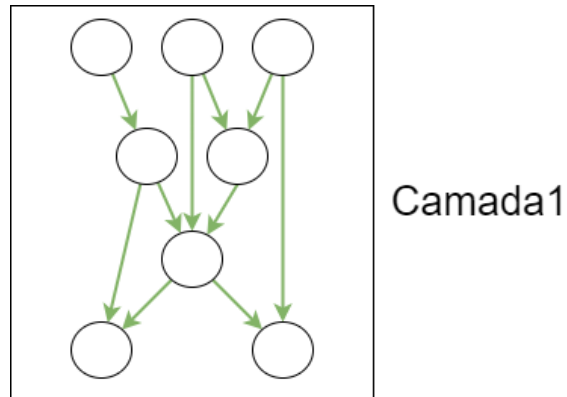
Figura 3.8: Nós Ativadores2.

### 3.2.5 Restrições dos nós Camada1

Os nós contidos em C1 (Camada1), que estão representados na Figura 3.9) contém as seguintes restrições:

1. Nenhum nó que está em C1 possui auto degradação.
2. Todo nó contido em C1 contém uma hierarquia como descrito em ??.

3. Para cada nó em C1 que está na maior hierarquia, há exatamente um arco positivo que entra nele vindo de um nó contido em A2.
4. Para cada nó em C1 que está na menor hierarquia, há ao menos um arco positivo que sai em direção a um nó contido em C2.
5. Para cada nó contido em C1, há ao menos um arco negativo que entra nele, vindo de um nó contido em F.

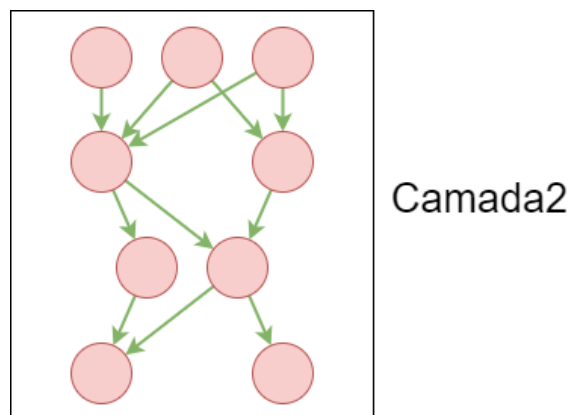


**Figura 3.9:** Nós da Camada1.

### 3.2.6 Restrições dos nós Camada2

Os nós contidos em C2 (Camada2), que estão representados na Figura 3.10) contém as seguintes restrições:

1. Todos os nós estão em C2 possuem auto degradação.
2. Todo nó contido em C2 contém uma hierarquia como descrito em ??.
3. Para cada nó em C2 que está na maior hierarquia, há ao menos um arco positivo que entra nele vindo de um nó contido em C1.
4. Para cada nó em C2 que está na menor hierarquia, há ao menos um arco positivo que sai em direção a um nó contido em F.



**Figura 3.10:** Nós da Camada2.

### 3.2.7 Restrições dos nós Finais

Os nós contidos em F (Finais), que estão representados na Figura 3.11) contém as seguintes restrições:

1. Nenhum nó que está em F possui auto degradação.
2. Existe ao menos um nó contido em F, que possui ao menos um arco positivo que sai em direção a um nó contido em C1.
3. Para cada nó contido em F, há ao menos um arco positivo que entra nele, vindo de um nó contido em C2.
4. Para cada nó contido em F, há ao menos um arco negativo que entra nele, vindo de um nó contido na D.
5.  $\forall u, v, u \neq v \in F, a_{uv} = 0$ .



Figura 3.11: Nós Finais.

### 3.2.8 Restrições adicionais

Além das características citadas nas secções anteriores, também há mais duas restrições que a estrutura requiere:

1.  $\forall$  nó  $a \in \text{Iniciais} \cup \text{Ativador1} \cup \text{Desativadores}$ , há um caminho dirigido positivo que parta de um nó dos Iniciais e termine em um dos nós Desativadores e que contenha  $a$ .
2.  $\forall$  nó  $b \in \text{Iniciais} \cup \text{Ativador2} \cup \text{Camada1} \cup \text{Camada2} \cup \text{Finais}$ , há um caminho dirigido positivo que parta de um nó dos Iniciais e termine em um nó dos Finais e que contenha  $b$ .

De modo que essa estrutura da Figura 3.4 possui a seguinte propriedade:

**Propriedades 3.3.** *Existe um caminho no diagrama de estados ao qual o primeiro estado desse caminho é composto por apenas os genes Iniciais e Finais ligados E o último estado desse mesmo caminho é um atrator e possuir apenas genes Finais ligados.*

## 3.4 Ideia de prova de que a estrutura gera o comportamento esperado

A seguir é exposto a ideia de prova de que a estrutura apresentada na Seção 3.1 possui a Propriedade 3.3.

1.  $t=0$ . Ativadores possuem  $\phi_a(t) > 0, \forall a \in \text{Ativadores}$ , uma vez que apenas nos Iniciais e Finais estão ligados E  $\phi_i(t) = -1 \forall i \in \text{Iniciais}$ , logo esses serão desligados

2.  $t=1 \forall i \in \text{Iniciais}$  estão desligados.  $\forall a \in \text{Ativadores1} \cup \text{Ativadores2}$  estão ligados, portanto  $\phi_d(t) > 0 \forall d \in \text{Desativadores}$  E  $\phi_{c1}(t) \leq 0 \forall c1 \in \text{Camada1}$ , já que Os genes de Finais estão ligados.
3.  $t=2$  Todos nós em Desativadores estão ligados, logo  $\phi_f(t) < 0 \forall f \in \text{Finais}$ .
4.  $t=3$  Nós Finais estão todos desligados, dessa maneira  $\phi_{c1}(t) \geq 0 \forall c1 \in \text{Camada1}$ .
5.  $t=4$  Nós da hierarquia mais alta da Camada1 são ligados e começam a ligar os outros nós das hierarquias mais baixas, podendo começar a desligar os nós dos Ativadores1 e Ativadores2.
6.  $t=4+\min(\text{Alt}(C1))$  Ao menos um nó da hierarquia mais baixa da Camada1 é ligado, de modo a começar a influenciar ao menos um nó da hierarquia mais alta da Camada2, logo  $\exists c2 \in \text{Camada2}$  tal que  $\phi_{c2}(t) > 0$  assim ele serão ligado no passo seguinte.
7.  $t = 4+\max(\text{Alt}(C1))$  Todos os nós da Camada1 estão ligados, logo até o passo seguinte é garantido que todos os nós de Ativador1 e Ativador2 estarão desligados E garantido que todos os nós da hierarquia mais alta da Camada2 estarão ligados no próximo passo, portanto os nós da hierarquia mais alta da Camada1 possuem  $\phi_{c1}(t+1) = 0$ .
8.  $t = 4+\max(\text{Alt}(C1)) + 1$  Todos os nós de Ativador1 e Ativador2 estão desligados, logo  $\phi_d(t) < 0 \forall d \in \text{Desativadores}$ .
9.  $t = 4+\max(\text{Alt}(C1)) + 2$  Todos os nós Desativadores estão desligados.
10.  $t = 4+\min(\text{Alt}(C1))+\min(\text{Alt}(C2))$  Ao menos 1 nó da hierarquia mais baixa da Camada2 esta ativo, logo  $\exists f \in \text{Finais}$  tal que  $\phi_f(t) > 0$ .
11.  $t = 4+\min(\text{Alt}(C1))+\min(\text{Alt}(C2))+1$  Ao menos um nó dos nós Finais está ligado, logo pode começar a ter  $c1 \in \text{Finais}$  tal que  $\phi_{c1}(t) < 0$ , mas não é garantido até aqui.
12. até  $t = 4+\max(\text{Alt}(C1))+\max(\text{Alt}(C2))$  Todos os nós da Camada2 estão ligados, logo  $\phi_f(t) > 0 \forall f \in \text{Finais}$ .
13. até  $t = 4+\max(\text{Alt}(C1))+\max(\text{Alt}(C2))+1$  Garantido que todos os nós Finais estão ligados, portanto  $\exists c1 \in \text{Camada1}$  tal que  $\phi_{c1}(t) < 0$ , logo é garantido que os nós da Camada1 começam a ser desligados.
14. até  $t = 4+2*\max(\text{Alt}(C1))+\max(\text{Alt}(C2))+1$  Garantido que todos os nós da Camada1 estão desligados, logo é certeza que  $\exists c2 \in \text{Camada2}$  tal que  $\phi_{c2}(t) < 0$ .
15. até  $t = 4+2*\max(\text{Alt}(C1))+2*\max(\text{Alt}(C2))+1$  Garantido que todos os nós da Camada2 estão desligados.

Dessa forma, todos os nós finais estão ligados além de que todos os outros nós estão desligados.

Entretanto, como a prova não está completa, são feitas simulações com o intuito de encontrar possíveis erros nessa estrutura, onde os detalhes são descritos na próxima seção.

## 3.5 Simulações com grafos de regulação

Com o objetivo de encontrar um grafo de regulação que seja um contra-exemplo para a Propriedade 3.3, são feitas 250 simulações com grafos de regulação aleatórios que respeitam as restrições da estrutura do grafo de regulação proposto na Seção 3.1. De modo que I tem o máximo de 2 nós, A1 tem um máximo de 2, A2 tem um máximo de 2 nós, D possui no máximo de 2 nós, C1 contém no máximo 7 nós, C2 contém no máximo 6 nós e F possui no máximo 3 nós. De maneira que é testado para cada grafo de regulação se a Propriedade 3.3 é verdadeira.

Contudo, não foi escolhido uma quantidade maior de simulações, uma vez que o tempo de verificação para cada grafo de regulação cresce exponencialmente com a quantidade de nós do grafo.



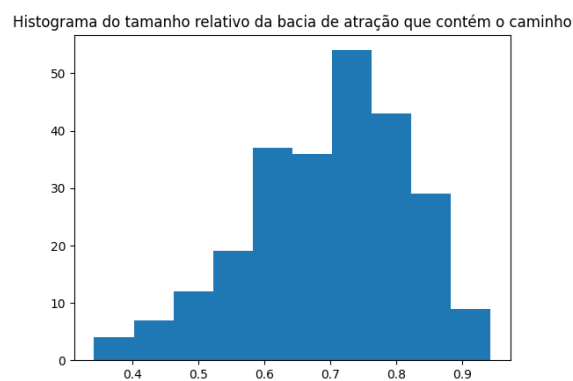


## Capítulo 4

### Resultados

De modo geral os resultados indicam que a estrutura definida na Seção 3.1 possui a Propriedade 3.3, como a prova nos dá uma ideia, mas principalmente a partir das 250 simulações feitas com grafos de regulação que respeitam as restrições impostas na Seção 3.1, uma vez que é observado que todos os grafos gerados respeitam a Propriedade 3.3, demonstrando que a princípio, não podemos descartar que a estrutura possui tal propriedade. Portanto, para tais grafos de regulação, podemos utilizar o caminho descrito na Propriedade 3.3 de modo que esse caminho pode ser candidato a caminho biológico.

Além disso, a estrutura definida na Seção 3.1 possui outras propriedades não mencionadas anteriormente, como fica evidente na etapa 1 da prova, o primeiro estado do caminho biológico será uma folha no diagrama de estados. De igual forma, a estrutura gerou outra característica interessante nos diagramas de estados dos grafos gerados, onde o caminho da Propriedade 3.3 sempre esteve em uma bacia de atração com tamanho considerável, como pode ser visto na Figura 4.1. Porém esse resultado não era esperado e foi obtido com base nos testes feitos.



**Figura 4.1:** Histograma da razão entre o tamanho da bacia de atração que se encontra o caminho da Propriedade 3.3 e a quantidade total de estados do diagrama de estados.

Porém, como é possível observar, o grafo de interação da *budding yeast* não se adequa a estrutura da imagem 3.4, ou seja, o grafo de interação da *budding yeast* não pertence ao conjunto de grafos que está contido nas restrições descritas pela Seção 3.1. Portanto é

necessário que haja maior trabalho na estrutura da Seção 3.1, a fim de generalizá-la ao ponto de que o grafo de interação da *budding yeast* esteja contido no conjunto de grafos que respeitam a estrutura.

## Capítulo 5

### Conclusão

A estrutura, sugerida na Seção 3.1, que generaliza o comportamento do caminho biológico se mostrou eficaz em possuir a Propriedade 3.3, de forma a conseguir prever a existência desse caminho no diagrama de estados, além de mostrar que o primeiro estado do caminho biológico é uma folha e o ultimo estado do caminho biológico é um atrator. Porém a *budding yeast* não está contida nessa estrutura, uma vez que a *budding yeast* possui mais arcos entre as componentes do que estrutura define. Portanto é necessário melhorar essa estrutura, a fim de generalizá-la para uma maior quantidade de grafos de regulação, de modo que a *budding yeast* possa ser um caso particular dela. Com o intuito de utilizar essa estrutura em outros grafos de regulação para encontrar um caminho biológico de forma mais simples.



## Apêndice A

# Algoritmo que facilita visualização de cascata gerada pelo caminho biológico

Uma característica interessante produzida pelo caminho biológico é a sequência de estados que são ligados e depois desligados, dando uma ideia de cascata, como pode ser visto na Tabela A.2. Entretanto, dependendo de como as colunas estão posicionadas, não é possível verificar tão facilmente essa cascata, como pode ser visto na Tabela A.1. Com esse objetivo foi feito um algoritmo que ordena as colunas de forma a facilitar essa visualização. O algoritmo utilizado simplifica o problema de forma que cada coluna é representada por uma tupla  $\langle a, b, c \rangle$ , onde  $c$  é o número da coluna;  $a$  é o número da linha que tem o primeiro valor não nulo na coluna  $c$ ; e  $b$  é o maior número da linha que podemos alcançar, partindo de  $a$ , passando somente por 1's na coluna  $c$ . De forma que, na ordenação, a ordem de maior prioridade para a menor prioridade é  $a, b, c$ .

Time	Cln3	MBF	SBF	Cln1,2	Cdh1	Swi5	Cdc20&14	Clb5,6	Sic1Cl	Clb1,2	Mcm1/SFF	Phase
1	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	START
2	0	1	1	0	1	0	0	0	1	0	0	G1
3	0	1	1	1	1	0	0	0	1	0	0	G1
4	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	G1
5	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	S
6	0	1	1	1	0	0	0	1	0	1	1	G2
7	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1	1	M
8	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	M
9	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1	M
10	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	1	M
11	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	M
12	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	G1
13	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	Stationary G1

**Tabela A.1:** Tabela dos estados do caminho biológico e a respectiva fase que cada estado se encontra. Tabela retirada de LEE e HUANG, 2009.

Contudo, esse algoritmo possui uma restrição uma vez que a ordenação é garantida somente para a primeira sequência de 1's de cada coluna, de modo que quando há empate entre duas tuplas, as demais possíveis sequências de 1's dessas colunas, não terão ordenação

Time	Cln3	Sic1Cl	Cdh1	MBF	SBF	Cln1,2	Clb5,6	Mcm1/SFF	Clb1,2	Cdc20&Cdc14	Swi5	Phase
1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	START
2	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	G1
3	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	G1
4	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	G1
5	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	S
6	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	G2
7	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	M
8	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	M
9	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	M
10	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	1	M
11	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	M
12	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	G1
13	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	Stationary G1

**Tabela A.2:** Tabela A.1 que foi ordenada seguindo o algoritmo A.1.

garantida. De todo modo, é suficiente para o problema, já que devido a estrutura de interação gênica, cada coluna deve possuir no máximo duas sequências de 1's, logo é bom o suficiente para este problema.

---

**Programa A.1** Facilita visualização de cascata.

---

```

1  FUNCAO OrdenaMatriz(Matriz, NumLinhas, NumColunas) ▷ Ordena as colunas da
    Matriz de forma a deixar a cascata mais aparente
2
3      MinHeap ← MinHeap()
4  para j = 1 até NumColunas
5      iniciou ← false
6      a ← NumLinhas
7      b ← NumLinhas
8      para i = 1 até NumLinhas
9          se iniciou E Matriz[i, j] = 0
10             b ← i-1
11             interrompe
12          senão se não iniciou E Matriz[i, j] = 1
13             a ← i
14             iniciou ← true
15      fim
16      c ← j
17      MinHeap.Add({a, b, c})
18  fim
19  MatrizOrdenada ← CriaMatriz(NumLinhas, NumColunas)
20  Para j = 1 até NumColunas
21      menorTupla ← MinHeap.Pop()
22      coluna ← tupla[3]
23      para i = 1 até NumLinhas
24          MatrizOrdenada[i, j] ← Matriz[i, coluna]
25      fim
26  fim
27  devolva MatrizOrdenada ▷ Matriz ordenada que facilita a visualização da cascata
28  fim

```

---

## Anexo A

### Estudos Futuros

Na literatura é estudada propriedades das interações gênicas que afetam a dinâmica da rede. Como em [BORNHOLDT, 2008](#) afirma, arcos de auto degradação são importantes, em modelos estocásticos, para evitar oscilações na dinâmica. Além disso, em [THIEFFRY, 2007](#) é verificado que, em modelos *Booleanos*, a quantidade de ciclos negativos possui uma correlação com a quantidade de pontos fixos. Adiante, segundo [LI \*et al.\*, 2004](#), a levedura estudada possui a propriedade de que o caminho biológico está na maior bacia de atração do diagrama de estados, e por isso pequenas perturbações nos estados do caminho biológico podem ter uma alta chance de voltar ao caminho biológico, assim continuando seu processo biológico normalmente.

Uma interessante característica observada durante as análises, foi a estrutura que tanto a *fission yeast* quanto a *budding yeast* possuem em suas regulações. Tais estruturas podem ter uma correlação com a estabilidade da rede, uma vez que perturbações na rede possuem maior chance ir para o mesmo atrator do caminho biológico.





## Referências

- [BORNHOLDT 2008] Stefan BORNHOLDT. “Boolean network models of cellular regulation: prospects and limitations”. *Journal of The Royal Society Interface* 5.suppl\_1 (2008), S85–S94. DOI: [10.1098/rsif.2008.0132.focus](https://doi.org/10.1098/rsif.2008.0132.focus). eprint: <https://royalsocietypublishing.org/doi/pdf/10.1098/rsif.2008.0132.focus>. URL: <https://royalsocietypublishing.org/doi/abs/10.1098/rsif.2008.0132.focus> (citado na pg. 25).
- [DAVIDICH e BORNHOLDT 2013] Maria I. DAVIDICH e Stefan BORNHOLDT. “Boolean network model predicts knockout mutant phenotypes of fission yeast”. *PLOS ONE* 8.9 (set. de 2013), pp. 1–9. DOI: [10.1371/journal.pone.0071786](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0071786). URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0071786> (citado na pg. 10).
- [LEE e HUANG 2009] Wen-Bin LEE e Jiun-Yan HUANG. “Robustness and topology of the yeast cell cycle boolean network”. *FEBS Letters* 583.5 (2009), pp. 927–932. ISSN: 0014-5793. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2009.02.010>. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014579309001082> (citado na pg. 23).
- [LI *et al.* 2004] Fangting LI, Tao LONG, Ying LU, Qi OUYANG e Chao TANG. “The yeast cell-cycle network is robustly designed”. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 101.14 (2004), pp. 4781–4786. DOI: [10.1073/pnas.0305937101](https://doi.org/10.1073/pnas.0305937101). eprint: <https://www.pnas.org/doi/pdf/10.1073/pnas.0305937101>. URL: <https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.0305937101> (citado nas pgs. 3, 4, 6, 25).
- [THIEFFRY 2007] Denis THIEFFRY. “Dynamical roles of biological regulatory circuits1”. *Briefings in Bioinformatics* 8.4 (jul. de 2007), pp. 220–225. ISSN: 1467-5463. DOI: [10.1093/bib/bbm028](https://doi.org/10.1093/bib/bbm028). eprint: <https://academic.oup.com/bib/article-pdf/8/4/220/591211/bbm028.pdf>. URL: <https://doi.org/10.1093/bib/bbm028> (citado na pg. 25).



# Índice remissivo

## C

Captions, *veja* Legendas

Código-fonte, *veja* Floats

## E

Equações, *veja* Modo matemático

## F

Figuras, *veja* Floats

Floats

Algoritmo, *veja* Floats, ordem

Fórmulas, *veja* Modo matemático

## I

Inglês, *veja* Língua estrangeira

## P

Palavras estrangeiras, *veja* Língua es-

trangeira

## R

Rodapé, notas, *veja* Notas de rodapé

## S

Subcaptions, *veja* Subfiguras

Sublegendas, *veja* Subfiguras

## T

Tabelas, *veja* Floats

## V

Versão corrigida, *veja* Tese/Dissertação,  
versões

Versão original, *veja* Tese/Dissertação,  
versões