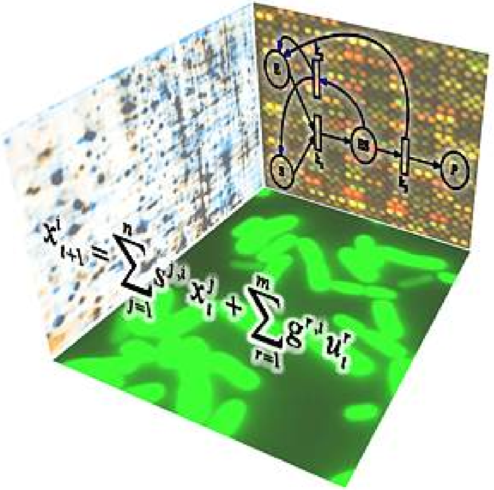


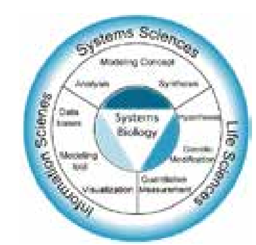
Optativa 4rt curs de Biotecnologia

Modelització i simulació de biosistemes

Sistemes en estat estacionari. MPA

Joan Albiol

Departament d'Enginyeria Química
Escola d'Enginyeria
Universitat Autònoma de Barcelona



Anàlisi de l'estructura de les vies metabòliques (**Metabolic Pathway Analysis**)

Sense calcular una distribució de fluxos a partir de dades experimentals
Quines solucions son possibles per a l'estat estacionari?
Si ens fixem només en els metabòlits interns llavors recordem que:

El sistema: $0 = \mathbf{N} \cdot \mathbf{v}$ Es un sistema lineal homogeni

- **Solucions no trivials** al sistema homogeni només existeixen si hi ha 'dependència lineal' entre les columnes de la matriu N (**subdeterminat**).

- Recordem que el nombre de relacions (files o columnes) linealment independents d'una matriu es caracteritza amb el 'rang' de la matriu

El sistema lineal homogeni només te solució (no trivial) si: $rang(\mathbf{N}) < r$

On **r** és el nombre de columnes (fluxos) de la matriu N

El conjunt de solucions possibles al sistema homogeni es coneix com 'espai nul' (null space) o Kernel (nucli)

Per tant l'espai nul engloba totes les possibles solucions (distribucions de fluxos) d'estat estacionari

- L'espai nul limita el conjunt de fluxos metabòlics que es poden establir en un estat estacionari
- El nombre de possibles solucions és '*a priori*' infinita
- Si ens imaginem l'espai nul com un espai vectorial on cada vector representa un conjunt de fluxos que al multiplicar per N donen zero, una base d'aquest espai tindria tants 'eixos' o 'dimensions' o vectors 'base' (nul·litat) com:

$$nul\cdot litat = r - rang(\mathbf{N}) \equiv \text{graus de llibertat}$$

On **r** és el nombre de columnes (fluxos) de la matriu **N**

- A l'exemple de la peroxidasa: r-rang(N) =4-3= 1 (4 incògnites, 3 equacions)
- Per tant la base de l'espai nul té 1 vector que pot ser:

Qualsevol possible solució ha de conservar aquestes proporcions

$$\mathbf{K} = \begin{bmatrix} 1 \\ 2 \\ 2 \\ 1 \end{bmatrix}$$

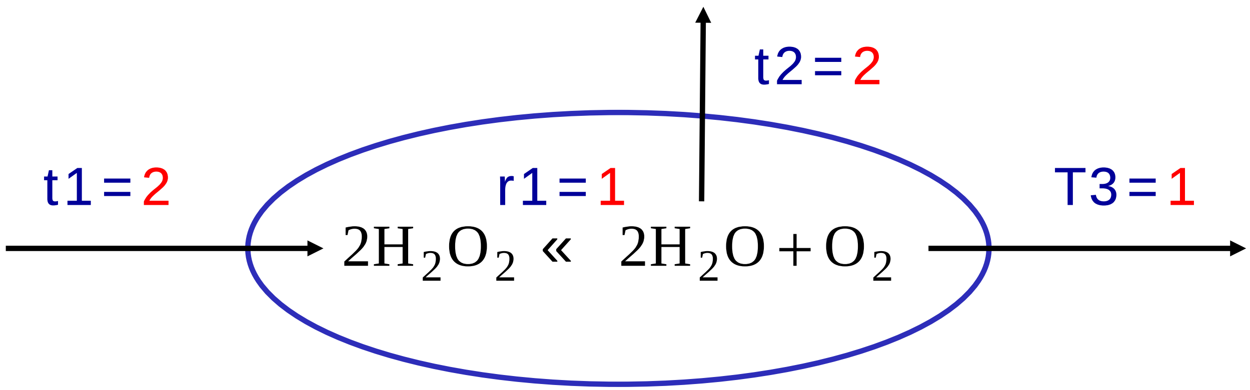
Es comprova fàcilment que: $0 = \mathbf{N} \cdot \mathbf{K}$

Si es multiplica K per qualsevol número s'obté una nova solució del sistema que és linealment dependent de K

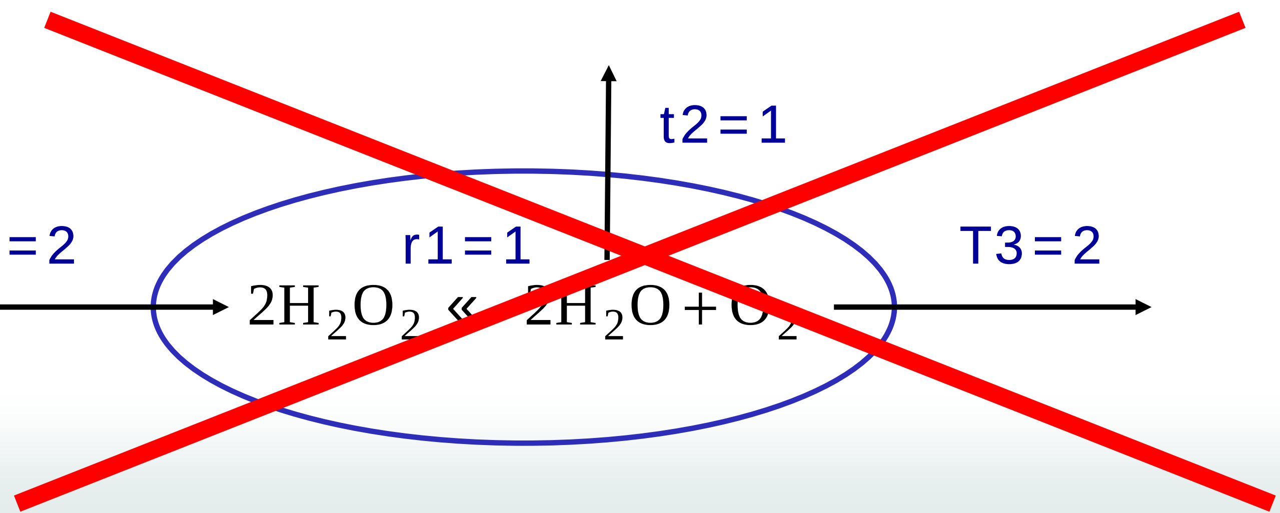
La matriu Kernel

Posant els valors de K com a fluxos a l'exemple tenim:

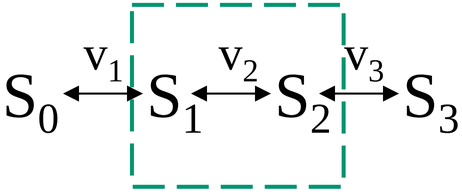
$$\mathbf{K} = \begin{bmatrix} 1 \\ 2 \\ 2 \\ 1 \end{bmatrix}$$



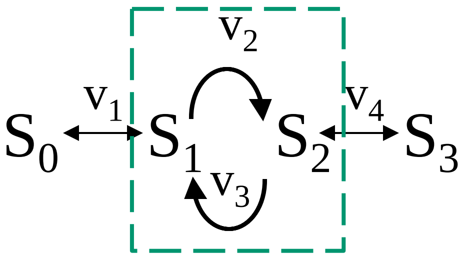
- Interpretació: En estat estacionari, per cada 2 mols de H_2O_2 consumits es produeixen 2 mols H_2O i un d'O_2. (o múltiples proporcionals d'aquests)
- Altres combinacions són impossibles :



Exemples senzills on les concentracions externes son constants

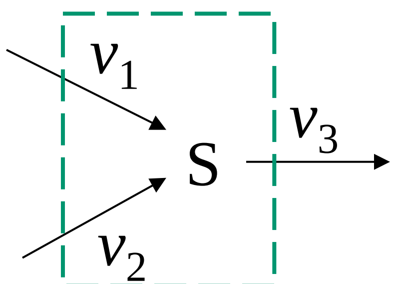


$$\mathbf{N}=\begin{pmatrix}1 & -1 & 0\\ 0 & 1 & -1\end{pmatrix} \qquad \mathbf{k}_1=\begin{pmatrix}1\\1\\1\end{pmatrix} \qquad \mathbf{K}=(\mathbf{k}_1)$$



$$\mathbf{N}=\begin{pmatrix}1 & -1 & 1 & 0\\ 0 & 1 & -1 & -1\end{pmatrix} \qquad \mathbf{k}_1=\begin{pmatrix}0\\1\\1\\0\end{pmatrix} \quad \mathbf{k}_2=\begin{pmatrix}1\\1\\0\\1\end{pmatrix}$$

$$\mathbf{K}=(\mathbf{k}_1 \quad \mathbf{k}_2)$$



$$\mathbf{N}=(1 \quad 1 \quad -1) \qquad \mathbf{k}_1=\begin{pmatrix}1\\-1\\0\end{pmatrix} \quad \mathbf{k}_2=\begin{pmatrix}1\\0\\1\end{pmatrix}$$

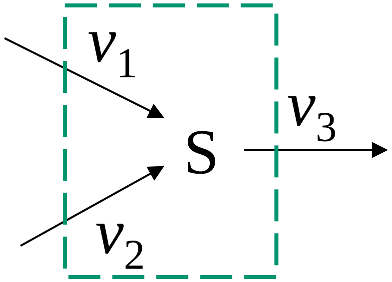
$$\mathbf{K}=(\mathbf{k}_1 \quad \mathbf{k}_2)$$

Informació que podem obtenir **de la matriu kernel**:

- Quins fluxos son possibles en estat estacionari
- Reaccions en equilibri o vies mortes
- Seqüències d'enzims sense bifurcacions
- Modes de flux elementals
- Vies extremes
- A partir d'això es pot deduir: rendiments, relacions possibles entre fluxos, connexió amb cinètica i termodinàmica,...

Quins fluxos son possibles en estat estacionari

- Donat un determinat sistema qualsevol distribució de fluxos possible (al SS) és combinació lineal del kernel



$$\mathbf{k}_1 = \begin{pmatrix} 1 \\ -1 \\ 0 \end{pmatrix} \quad \mathbf{k}_2 = \begin{pmatrix} 1 \\ 0 \\ 1 \end{pmatrix}$$

- Aquest sistema té 2 vectors base al kernel.
- Una solució particular es pot calcular donant valors als coeficients a_1 i a_2 (unitats habituals dels fluxos: $mol \cdot s^{-1}$, $mol \cdot l^{-1} \cdot s^{-1}$, $mol \cdot gDW^{-1} \cdot s^{-1}$)
- 3 fluxos. 2 graus de llibertat.
- Equivalent a dir que mesurats 2 fluxos el tercer queda fixat

$$\mathrm{v} = \begin{pmatrix} v_1 \\ v_2 \\ v_3 \end{pmatrix} = a_1 \begin{pmatrix} 1 \\ -1 \\ 0 \end{pmatrix} + a_2 \begin{pmatrix} 1 \\ 0 \\ 1 \end{pmatrix}$$

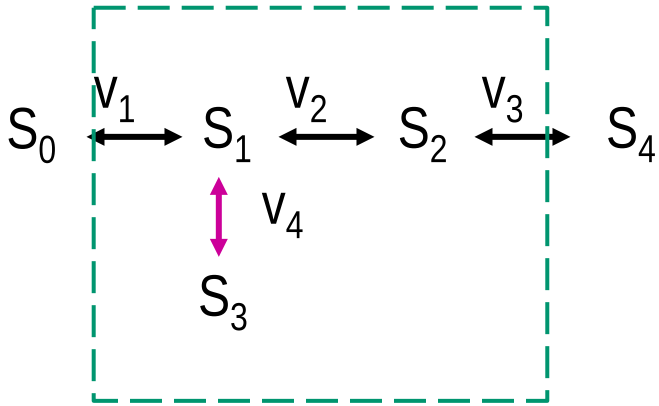
O també

$$\mathrm{v} = \begin{pmatrix} v_1 \\ v_2 \\ v_3 \end{pmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & 1 \\ -1 & 0 \\ 0 & 1 \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} a_1 \\ a_2 \end{bmatrix}$$

$$\mathbf{v} = \mathbf{K} \cdot a$$

Flux net =0 -> equilibri o via morta

Si una fila de la matriu estequiomètrica té un sol numero el flux net a l'estat estacionari ha de ser zero: v4=0



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

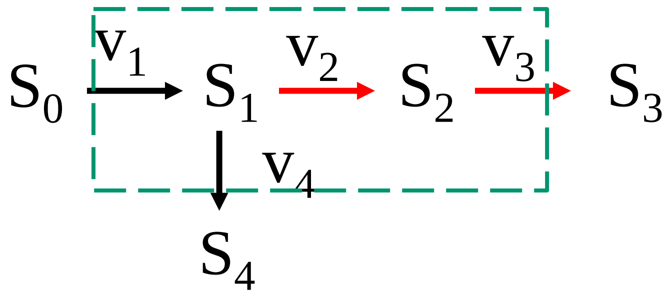
Conseqüència: A la matriu kernel una determinada fila tindrà nomes zeros

$$\mathbf{K} = \begin{bmatrix} 1 \\ 1 \\ 1 \\ 0 \end{bmatrix}$$

Pot ser:

- que la reacció sigui reversible i estigui a l'equilibri
- que no intervingui a l'estat estacionari
- que la descripció del sistema tingui un error
- Si és correcte no cal tenir-la en compte per a l'estat estacionari

Reaccions que sempre tenen el mateix flux:



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

$$\boldsymbol{v} = \begin{pmatrix} v_1 \\ v_2 \\ v_3 \\ v_4 \end{pmatrix} = a_1 \cdot \begin{pmatrix} 1 \\ 1 \\ 1 \\ 0 \end{pmatrix} + a_2 \cdot \begin{pmatrix} 1 \\ 0 \\ 0 \\ 1 \end{pmatrix}$$

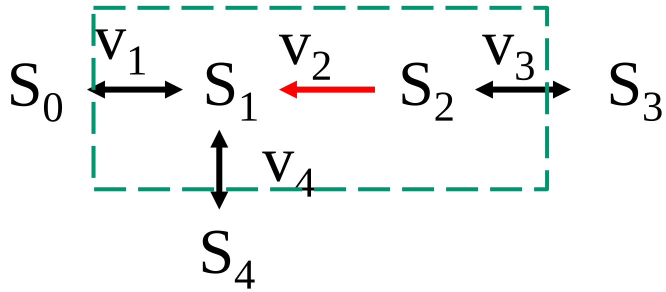
Si en tots els vectors k dos o més reaccions sempre tenen el mateix valor (dins un vector).

Passa en reaccions consecutives.

Aquí v_2 i v_3 sempre tindran igual flux

Aquestes reaccions es poden agrupar en una sola

Si podem considerar una reacció **irreversible**:



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

$$\boldsymbol{v} = a_1 \cdot k_1 + a_2 \cdot k_2$$

Interessa considerar un kernel on la reacció irreversible vagi en la direcció correcta

Es pot obtenir un nou kernel multiplicant per una matriu adequada (quadrada i per la dreta) el kernel antic

$$\hat{\mathbf{K}} = \mathbf{KQ}$$

p.ex.: $\begin{bmatrix} -1 & 0 \\ -1 & -1 \\ -1 & -1 \\ 0 & 1 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & 1 \\ 1 & 0 \\ 1 & 0 \\ 0 & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} -1 & -1 \\ 0 & 1 \end{bmatrix}$

Ambdues matrius K són correctes

Només una és coherent amb la termodinàmica

$$k_1 = \begin{pmatrix} 1 \\ 1 \\ 1 \\ 0 \end{pmatrix}, \quad k_2 = \begin{pmatrix} 1 \\ 0 \\ 0 \\ 1 \end{pmatrix} \qquad\qquad k_1 = \begin{pmatrix} 1 \\ -1 \\ -1 \\ 0 \end{pmatrix}, \quad k_2 = \begin{pmatrix} 0 \\ -1 \\ 1 \\ 1 \end{pmatrix}$$

$v_2 > 0$

El conjunt de possibles solucions (i matrius k alternatives) s'ha reduït

Relacions de conservació

Si en un sistema concret hi ha components que no s'afegeixen ni s'eliminen, trobarem llavors relacions de conservació. Exemples:

- En una reacció enzimàtica la quantitat d'enzim es manté constant.

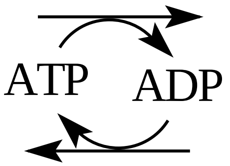
$$\frac{d\left(ES+E\right)}{dt}=0 \qquad ES+E=const.$$

- Si considerem una sola reacció aïllada. (P.ex en un tub)

$$2A \Leftrightarrow 3B \qquad A/2+B/3=const.$$

$$3A+2B=const.$$

- En un sistema metabòlic, ho trobarem en els components que aporten un element clau però es considera que una part seva no intervé (P.ex: ATP, NADH, NADPH, CoA,....) i per tant es conserva.



$$ADP+ATP=const.$$

- De manera general es detecten al haver-hi relacions de **dependència lineal entre les files** de la matriu estequiomètrica.
- Equivalent al concepte d'espai nul però per l'esquerra (**left-Nullspace**)

Per tant en aquest casos hi ha una matriu G que al multiplicar per l'esquerra a la matriu estequiomètrica dona zero.

$$\mathbf{GN} = 0$$

Implica que també es dona al sistema diferencial inicial.

Per tant al sistema: $\dfrac{\mathrm{d}\,\mathrm{S}}{\mathrm{d}\,t} = \mathbf{N}\,\mathrm{v}$

Multipliquem a banda i banda per G $\mathbf{G}\dfrac{\mathrm{d}\,\mathrm{S}}{\mathrm{d}\,t} = \mathbf{GN}\,\mathrm{v} = 0$

Resulta un nou sistema d'equacions que es fa zero.

També implica que la combinació de les derivades és fa zero.

Si una derivada és zero, la seva primitiva és una constant.

Per tant: $\mathbf{G}\,\boldsymbol{S} = const.$

(generalment el valor/s de les constants s'obtenen de la condició inicial)

El nombre de relacions de conservació serà:

$$\text{relacions de conservació} = n - \mathit{rang}(\mathbf{N})$$

On n és el nombre de files (metabòlits) de la matriu N

Es pot trobar idènticament al kernel. Donat que:

$$\mathbf{GN} = 0 \quad \Rightarrow \quad 0 = \mathbf{N}^T \mathbf{G}^T$$

Igual que amb el kernel la matriu G no és única

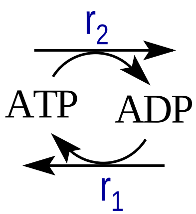
Es pot trobar un altre d'equivalent multiplicant per una matriu (quadrada i per l'esquerra) per ex. :

$$\hat{\mathrm{G}} = \mathrm{PG}$$

La nova matriu G és combinació lineal de l'anterior i també dona zero al multiplicar N per l'esquerra.

Exemple: ATP i ADP en un sistema tancat

- Si en gastar un ATP sempre generem un ADP.
- Si en generar un ATP sempre gastem un ADP.
- Com sabem la 'utilitat' de la seva intervenció es aportar o emmagatzemar energia i de vegades grups fosfat.
- Podem considerar l'ADP com un grup que es manté conservat.



$$\mathbf{N} = \begin{array}{c} \\ \end{array}\begin{pmatrix} 1 & 1 \\ 1 & -1 \end{pmatrix}\begin{array}{l} ADP \\ ATP \end{array} \qquad \mathbf{S} = \begin{pmatrix} ADP \\ ATP \end{pmatrix} \qquad \frac{d\mathbf{S}}{dt} = \mathbf{N}\,\mathrm{v}$$

Matriu de conservació: $\mathbf{G} = \begin{pmatrix} 1 & 1 \end{pmatrix}$

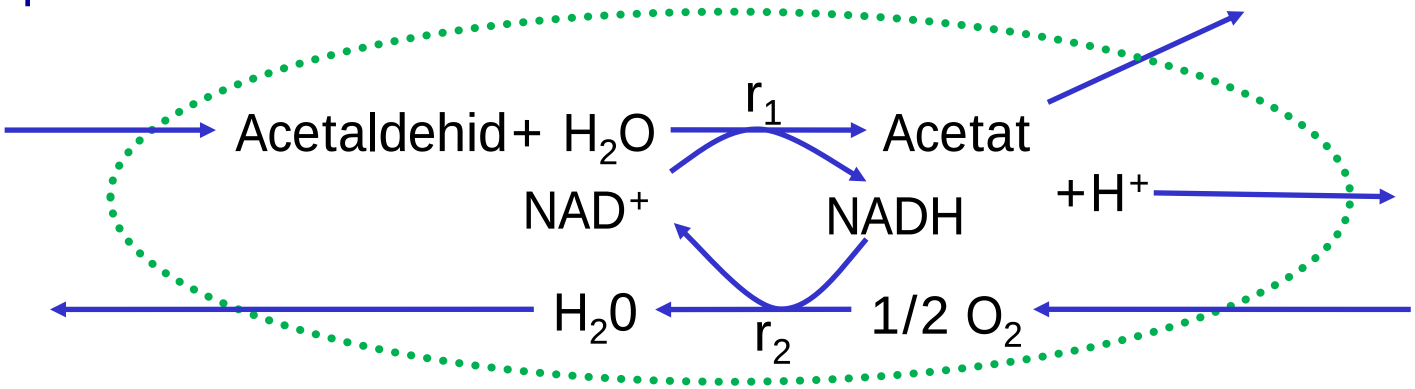
$$\mathbf{GN} = 0 \quad \text{i} \quad \mathbf{G}\frac{d\mathbf{S}}{dt} = \frac{d(\mathbf{GS})}{dt} = 0$$

Implica: $\mathbf{G}\,\boldsymbol{S} = const.$ ⇨ $ADP + ATP = const.$

Per tant, una relació de conservació indica que la quantitat total dels components implicats (o una relació entre ells) no varia amb el temps. Es constant. Per tant **cada relació permet prescindir d'una equació** a descriure.

Universitat Autònoma de Barcelona

Exemple acetaldehid-acetat en un sistema tancat



r1: Acetaldehid+ H_2O + NAD^+ = Acetat+NADH+ H^+

r2: 1/2 O_2 + NADH + H^+ = H_2O+ NAD^+

$$\mathbf{K}^{\mathrm{T}} = \begin{pmatrix} 2 & 2 & 2 & 2 & 1 & 0 & 0 \end{pmatrix}$$

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

$$NADH + NAD = const.$$

$$\begin{array}{l} \text{Acetaldehid} \\ \text{Acetat} \\ O_2 \\ H_20 \\ H^+ \\ \text{NADH} \\ NAD^+ \end{array} \begin{bmatrix} -1 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 0 & -1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & -1/2 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 \\ -1 & 1 & 0 & 0 & 0 & -1 & 0 \\ 1 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & -1 \\ 1 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ -1 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix}$$

$$\frac{d}{dt}\begin{pmatrix} \text{Acetaldehid} \\ \text{Acetat} \\ O_2 \\ H_20 \\ H^+ \\ \text{NADH} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 0 & -1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & -1/2 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 \\ -1 & 1 & 0 & 0 & 0 & -1 & 0 \\ 1 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & -1 \\ 1 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \end{pmatrix}\mathbf{v}$$

$$\frac{d}{dt}NAD = -\frac{d}{dt}NADH \Rightarrow NAD = -NADH + const.$$

Relacions de conservació

Altres exemples conservació es poden trobar també dins l'equació d'una reacció enzimàtica: Pyruvat decarboxylasa (EC 4.1.1.1)

$$CH_3COCOO^- + H^+ \rightarrow CH_3CHO + CO_2$$

Matriu estequiomètrica 'Espai nul esquerra' 'Producte'

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

Altres matrius de conservació es podrien derivar de fonaments físics

Matriu composició elemental: conservació d'elements químics

$$\begin{array}{cl} \boldsymbol{G} = \begin{pmatrix} 3 & 0 & 2 & 1 \\ 3 & 0 & 1 & 2 \\ 3 & 1 & 4 & 0 \end{pmatrix} & \begin{array}{l} \text{Carboni} \\ \text{Oxigen} \\ \text{Hidrogen} \end{array} \end{array}$$

També es pot considerar que es conserven agrupacions d'àtoms:

$$\begin{array}{cl} G = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 1 & 0 \\ 1 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix} & \begin{array}{l} \text{Grup } CH_3O \\ \text{Grup COO} \end{array} \end{array}$$

Igual que passa amb el Kernel, la matriu G no és única i es poden trobar combinacions diferents

Relacions de conservació

Les relacions de conservació son molt útils per simplificar els sistemes d'equacions diferencials.

Si hi ha relacions de conservació algunes equacions són linealment dependents.

El sistema es pot dividir en dues parts.

- Una part amb equacions diferencials
- Una part amb equacions algebraiques derivades de les relacions de conservació amb les anteriors.

Com es faria:

Reordenar les equacions deixant a la part superior les corresponents a files independents

$$\mathbf{N} = \begin{pmatrix} \mathbf{N}^0 \\ \mathbf{N}' \end{pmatrix}$$

A partir de la Matriu reduïda N^0 , la matriu N es pot obtenir amb la matriu d'enllaç L: (link matrix)

$$\mathbf{N} = \mathbf{L}\,\mathbf{N}^0 = \begin{pmatrix} \mathbf{I} \\ \mathbf{L}' \end{pmatrix} \mathbf{N}^0$$

Relacions de conservació

Per simplificar el sistema d'equacions diferencials s'ha de reordenar la matriu S
En dos blocs idènticament a com s'ha fet amb la matriu N:

$$\frac{\mathrm{d}}{\mathrm{d}t}\mathrm{S} = \frac{\mathrm{d}}{\mathrm{d}t}\begin{pmatrix} S_{\mathrm{a}} \\ \mathrm{S}_{\mathrm{b}} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \mathbf{I} \\ \mathbf{L}' \end{pmatrix} \mathbf{N}^{0}\ \mathrm{v}$$

Ara només cal resoldre el sistema d'equacions diferencials del sistema reduït:

$$\frac{\mathrm{d}S_{\mathrm{a}}}{\mathrm{d}t} = \mathrm{N}^{0}\ \mathbf{v}$$

L'evolució de la resta de variables és pot calcular a partir de les anteriors a partir de:

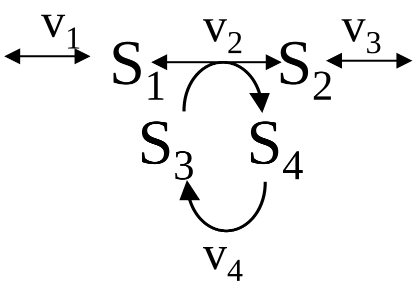
$$\frac{\mathrm{d}\mathbf{S}_{\mathrm{b}}}{\mathrm{d}t} = \mathrm{L}'\frac{\mathrm{d}\mathbf{S}_{\mathrm{a}}}{\mathrm{d}t}$$ (Si volem la derivada)

O també fent la integral:

$$\mathbf{S}_{\mathrm{b}} = \mathrm{L}'\mathbf{S}_{\mathrm{a}} + \mathbf{const.}$$ (Si volem la concentració)

Relacions de conservació

Exemple:



$$\mathbf{N}=\begin{pmatrix}1 & -1 & 0 & 0\\ 0 & 1 & -1 & 0\\ 0 & -1 & 0 & 1\\ 0 & 1 & 0 & -1\end{pmatrix} \qquad \mathbf{G}^{T}=\begin{pmatrix}0\\ 0\\ 1\\ 1\end{pmatrix} \qquad \mathbf{N}^{0}=\begin{pmatrix}1 & -1 & 0 & 0\\ 0 & 1 & -1 & 0\\ 0 & -1 & 0 & 1\end{pmatrix}$$

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

$$\mathbf{N}\cdot\frac{1}{\mathbf{N^0}}=\mathbf{L}=\begin{pmatrix}\boxed{\begin{matrix}1 & 0 & 0\\ 0 & 1 & 0\\ 0 & 0 & 1\end{matrix}}\\ \boxed{\begin{matrix}0 & 0 & -1\end{matrix}}\end{pmatrix}; \qquad \mathbf{L}'=\begin{pmatrix}0 & 0 & -1\end{pmatrix} \qquad \mathbf{N}=\begin{pmatrix}\mathbf{N}^{0}\\ \mathbf{N}'\end{pmatrix}$$

El sistema d'equacions diferencials inicial:

$$\dot{S}_1=v_1-v_2$$
$$\dot{S}_2=v_2-v_3$$
$$\dot{S}_3=v_4-v_2$$
$$\dot{S}_4=v_2-v_4$$

Queda reduït a un sistema de 3 equacions diferencials i una algebraica

$$\dot{S}_1=v_1-v_2$$
$$\dot{S}_2=v_2-v_3$$
$$\dot{S}_3=v_4-v_2$$
$$S_3+S_4=cte \qquad S_4=cte-S_3$$

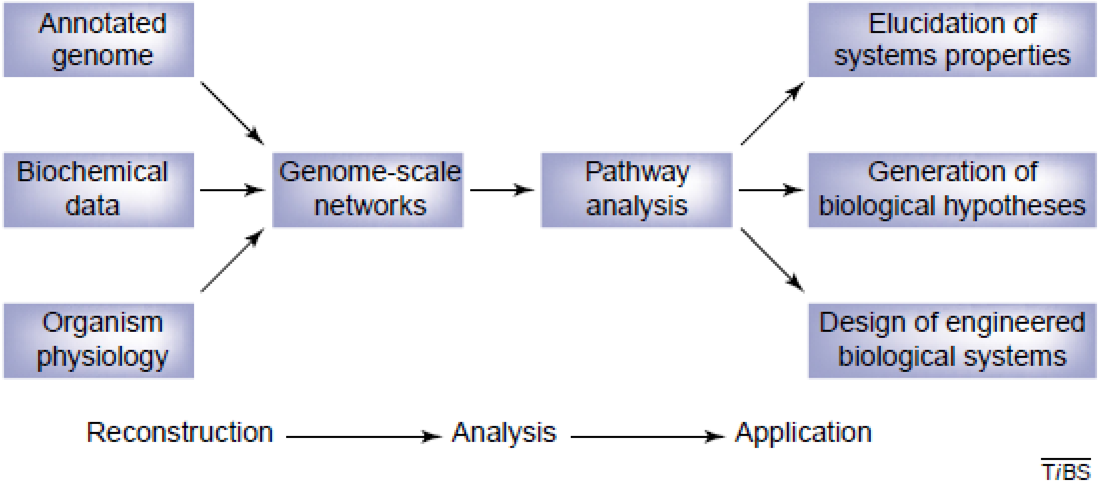
Alternativament també es podria haver expressat de la forma:

$$\frac{\mathrm{d}}{\mathrm{d}t}\mathrm{S}=\frac{\mathrm{d}}{\mathrm{d}t}\begin{pmatrix}\mathrm{S}_{\mathrm{a}}\\ \mathrm{S}_{\mathrm{b}}\end{pmatrix}=\begin{pmatrix}\mathbf{I}\\ \mathbf{L}'\end{pmatrix}\mathbf{N}^{0}\,\mathrm{v}$$

L'anàlisi de vies metabòliques (Metabolic Pathway Analysis) identifica unitats funcionals i estructurals dins les xarxes metabòliques.
Hi ha dues aproximacions principals

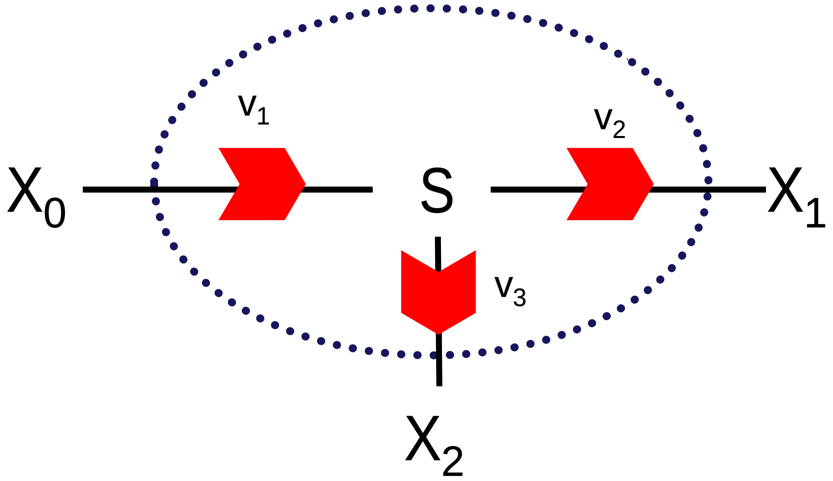
- Modes de flux elementals (Elementary flux modes)
- Vies extremes (Extreme Pathways)

Ambdós conjunts són generadors de l'espai de distribució de fluxos a l'estat estacionari, fent servir vies no descomposables i autònomes.



Modes de flux

D'acord amb els vist fins aquí, un sistema senzill com:



$$\begin{array}{cccc} & v_1 & v_2 & v_3 \\ N = & [1 & -1 & -1] \end{array}$$

Graus de llibertat = nombre de flux - rank(N)

Graus de llibertat = 3 -1 = 2

Una base del 'Null-Space' (kernel) està format per 2 vectors o modes de flux (flux modes)

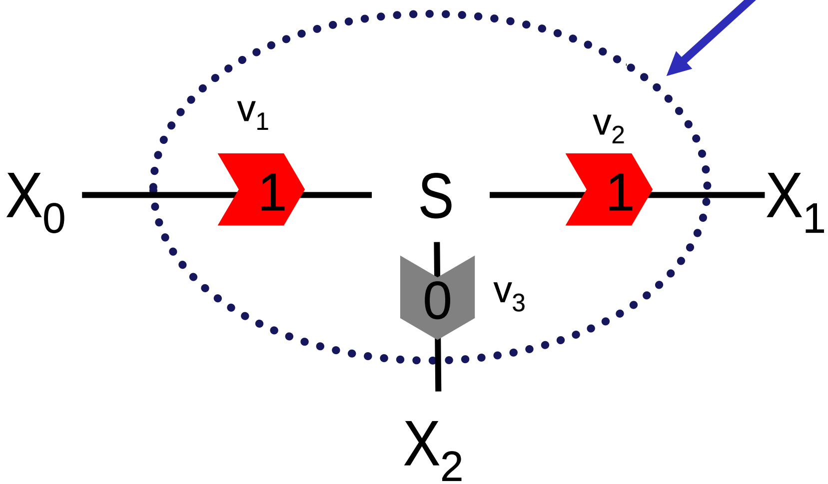
Una possible selecció de modes al kernel:

a) Vectors de Flux del kernel de N $\mathbf{N} = \begin{bmatrix} 1 & -1 & -1 \end{bmatrix}$

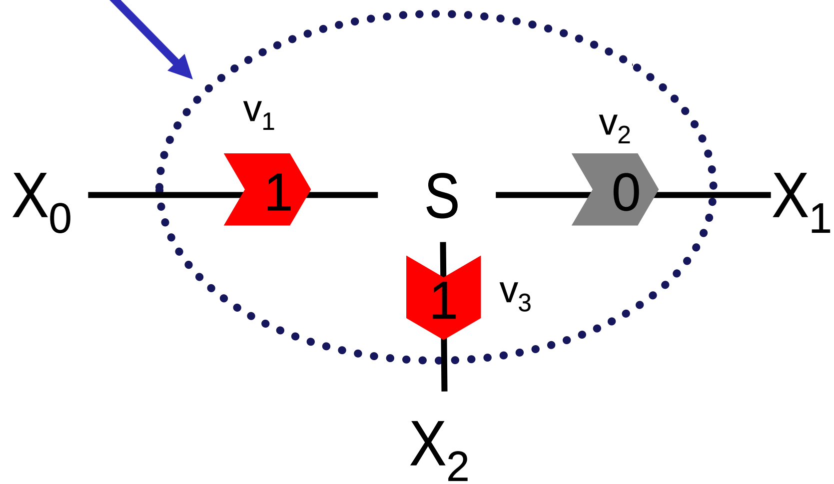
Cadascun es pot veure com **un conjunt de reaccions que, si operen en aquelles proporcions de flux, poden mantenir l'estat estacionari**

$$\mathbf{K}_a = \begin{bmatrix} 1 & 1 \\ 1 & 0 \\ 0 & 1 \end{bmatrix}$$

Modus Flux 1 a)



Modus Flux 2 a)



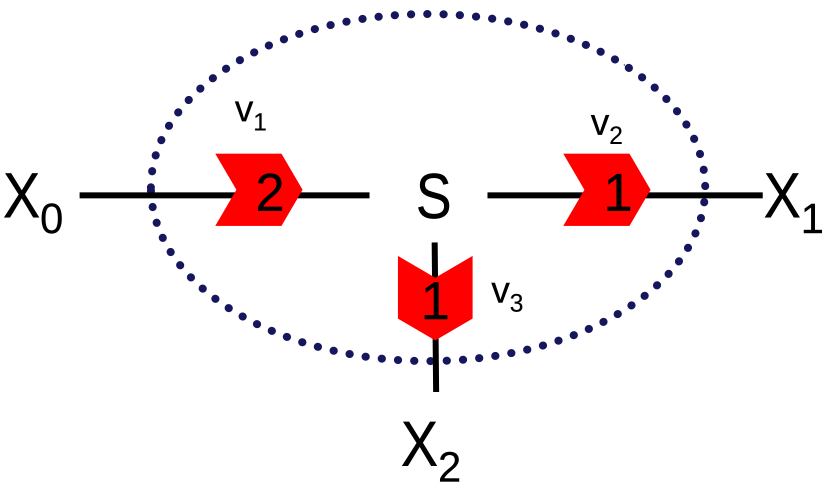
Recordem que qualsevol distribució de fluxos d'aquest sistema es pot posar com a combinació lineal del kernel $\boldsymbol{v} = a_1 \cdot k_1 + a_2 \cdot k_2$

Com que la base del kernel NO és única es podria haver triat un altra:

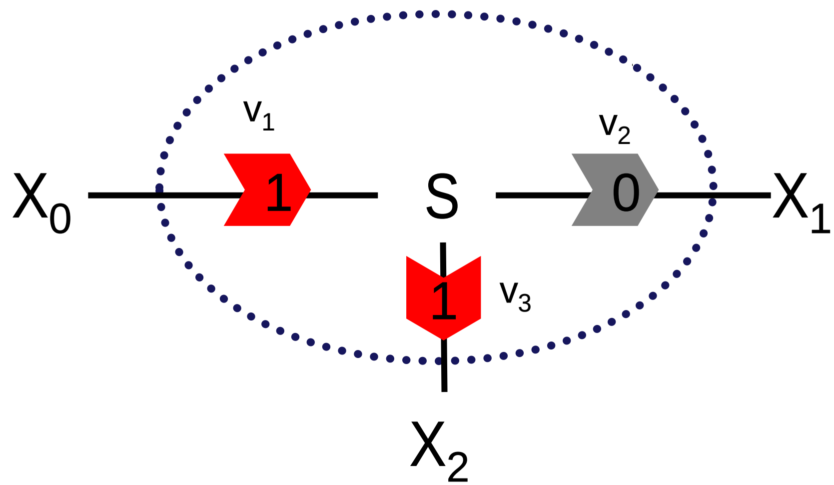
$$\mathbf{N} = \begin{bmatrix} 1 & -1 & -1 \end{bmatrix}$$

$$\mathbf{K}_b = \begin{bmatrix} 2 & 1 \\ 1 & 0 \\ 1 & 1 \end{bmatrix} = \mathbf{K}_a = \begin{bmatrix} 1 & 1 \\ 1 & 0 \\ 0 & 1 \end{bmatrix} \times \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ 1 & 1 \end{bmatrix}$$

Modus Flux 1 b)



Modus Flux 2 b)

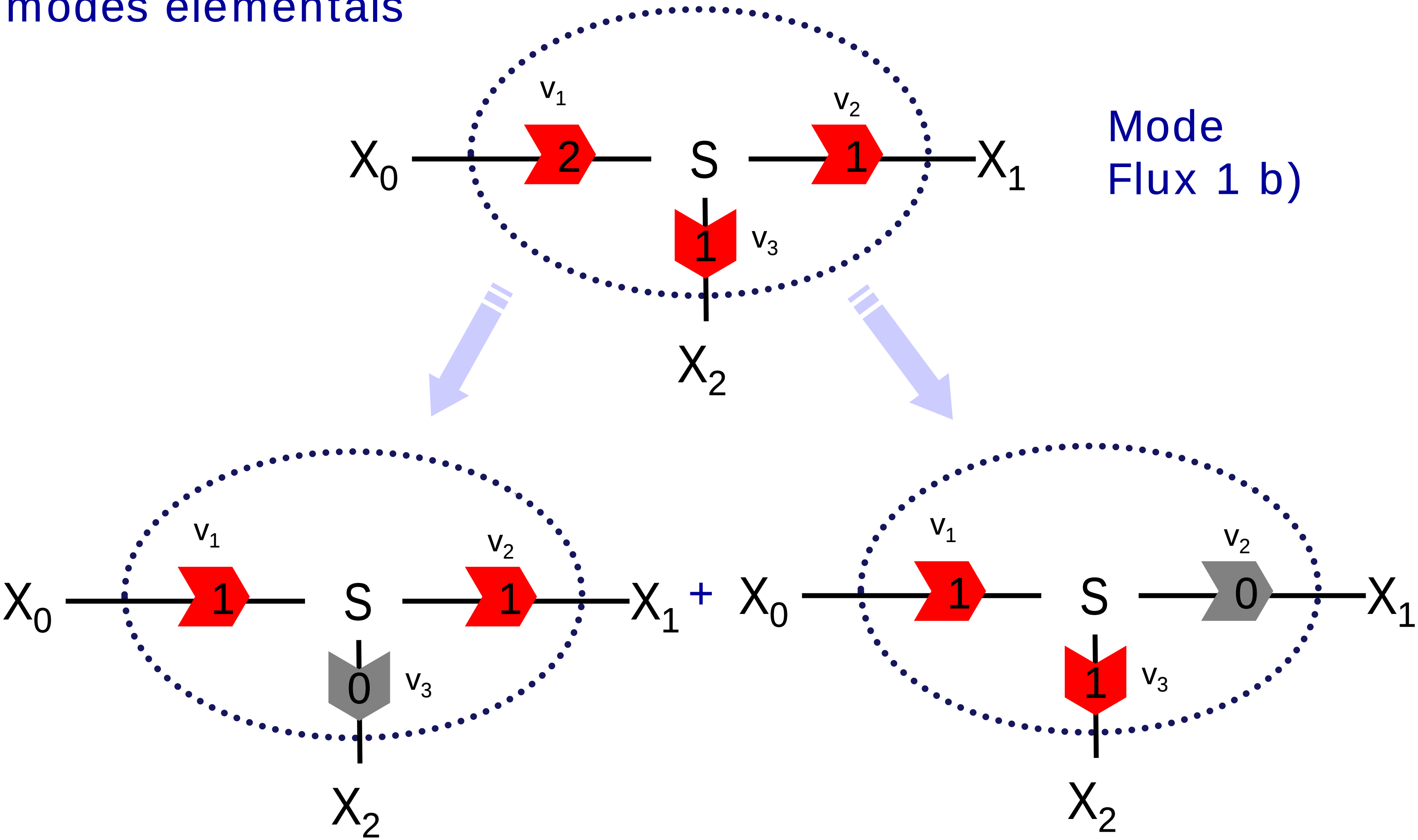


Definim: Modes de Flux **Elementals**

- Compleixen condicions d'estat estacionari
- Compleixen propietats de reversibilitat
- NO es poden descompondre (combinació lineal) en modes mes senzills (i.e. modes equivalents que impliquin menys enzims. Si n'eliminem una reacció no s'obté un estat estacionari).

- El conjunt de modes de flux elementals és únic
- El conjunt de vectors de l'espai vectorial format per els modes de flux elementals és **més gran o igual** que les dimensions del kernel

Un mode de flux es pot representar com combinació lineal dels modes elementals



Mode Flux 1 b)

Mode Flux Elemental 1

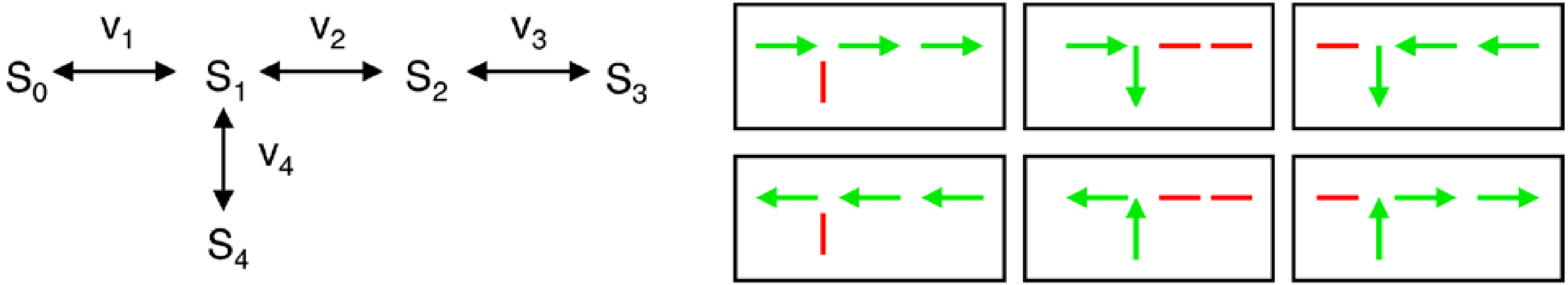
Mode Flux Elemental 2

Exemples de Modes de Flux Elementals

El cas A i el B es diferencien en la irreversibilitat de la reacció v_2.

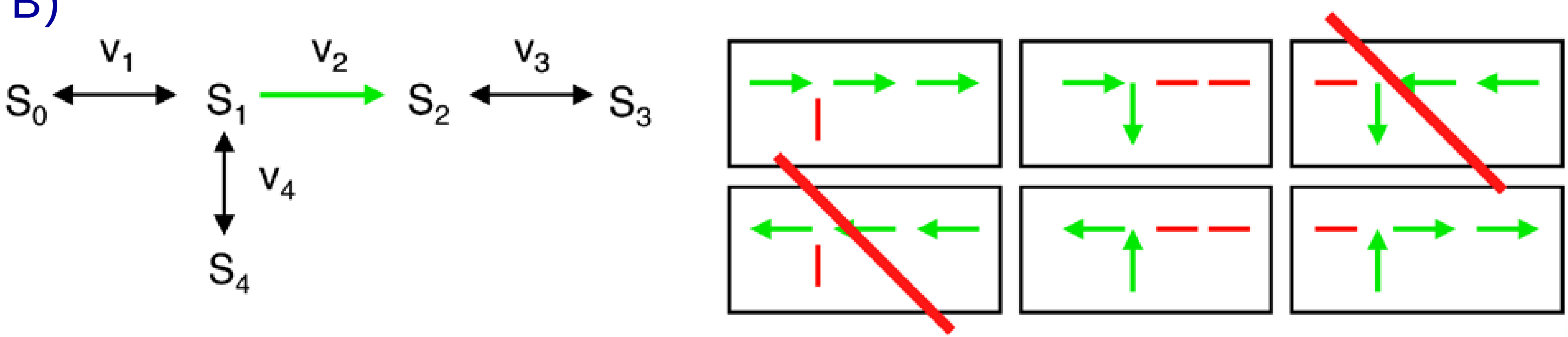
$$\mathbf{N} = \begin{bmatrix} 1 & -1 & 0 & -1 \\ 0 & 1 & -1 & 0 \end{bmatrix} \qquad \mathbf{K}_a = \begin{bmatrix} 1 & 1 & 0 & -1 & -1 & 0 \\ 1 & 0 & -1 & -1 & 0 & 1 \\ 1 & 0 & -1 & -1 & 0 & 1 \\ 0 & 1 & 1 & 0 & -1 & -1 \end{bmatrix} \qquad \mathbf{K}_b = \begin{bmatrix} 1 & 1 & -1 & 0 \\ 1 & 0 & 0 & 1 \\ 1 & 0 & 0 & 1 \\ 0 & 1 & -1 & -1 \end{bmatrix}$$

A)



El cas B té un nombre menor de modes

B)

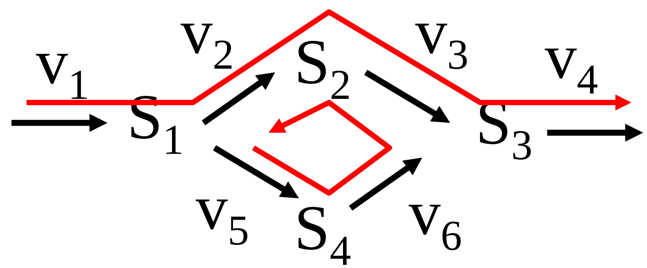


Klipp - Systems Biology
ISBN: 978-3-527-31874-2 fig-02-06

Exemple amb dues vies paral·leles

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

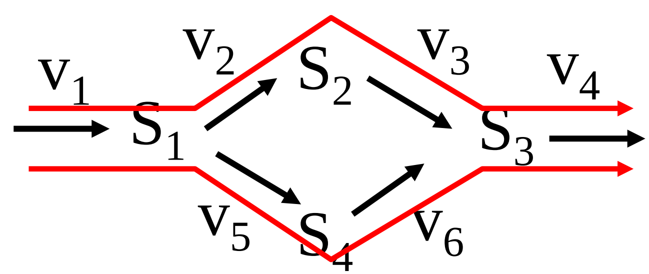
Si considerem el kernel inicial algunes reaccions van al revés:



$$K = \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ 1 & -1 \\ 1 & -1 \\ 1 & 0 \\ 0 & 1 \\ 0 & 1 \end{bmatrix}$$

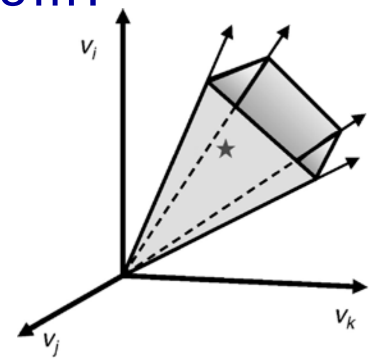
Obtenim una nova matriu com a combinació lineal de les columnes de la primera de manera que no hi hagi reaccions en la direcció contraria a la termodinàmicament favorable

$$K = \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ 1 & -1 \\ 1 & -1 \\ 1 & 0 \\ 0 & 1 \\ 0 & 1 \end{bmatrix} \times \begin{bmatrix} 1 & 1 \\ 0 & 1 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & 1 \\ 1 & 0 \\ 1 & 0 \\ 1 & 1 \\ 0 & 1 \\ 0 & 1 \end{bmatrix}$$



Possible representació gràfica dels fluxos metabòlics

Posar a cada eix el valor del flux d'una de les reaccions. Per a sistemes petits de 3 reaccions tindríem una representació espacial tal com:

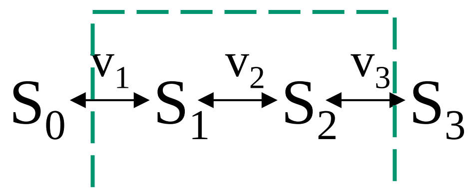


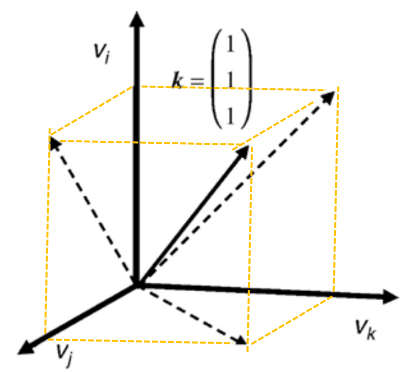
(a)

Klipp - Systems Biology
ISBN: 978-3-527-31874-2 fig-02-07

El conjunt de possibles solucions (fluxos possibles) es troba delimitada dins del con. L'estrella indica una solució concreta

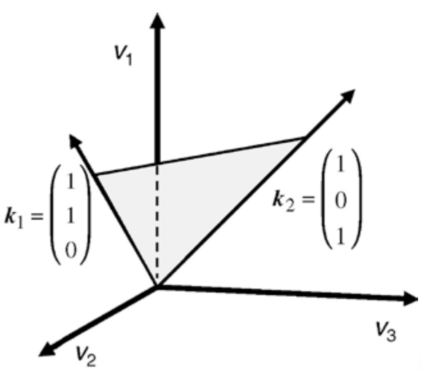
Un sistema molt senzill amb **un** sol **vector base** al kernel té les solucions limitades a un vector



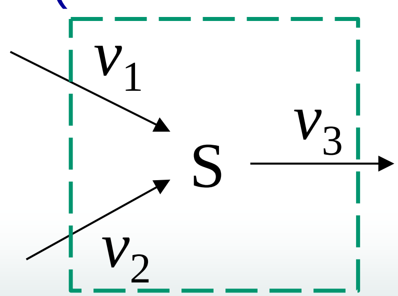


(b)

Un sistema de 3 reaccions amb dos vectors base té les solucions (d'estat estacionari) limitades a **un pla**



(c)



- Cada distribució de fluxos es pot representar de manera única a partir de la combinació lineal dels vectors base del kernel.
- Però els vectors base no són una elecció única
- Caldria trobar també un conjunt de vectors base únics per representar de manera única una distribució de fluxos
- El conjunt de modes de flux elementals és un conjunt únic però de vegades té dimensions més grans que una base.
- Això vol dir que pot haver-hi més d'una combinació lineal de modes de flux que doni la mateixa distribució de fluxos

- Convé trobar un conjunt de vectors únic a partir del qual es pugui calcular, per combinació lineal, qualsevol distribució de fluxos de manera única.

Si a les condicions imposades prèviament per a definir els modes de flux que eren:

- Compleixen condicions d'estat estacionari
- Compleixen propietats de reversibilitat
- NO es poden convertir modes mes senzills (i.e. modes equivalents que impliquin menys enzims)

Hi afegim com a noves:

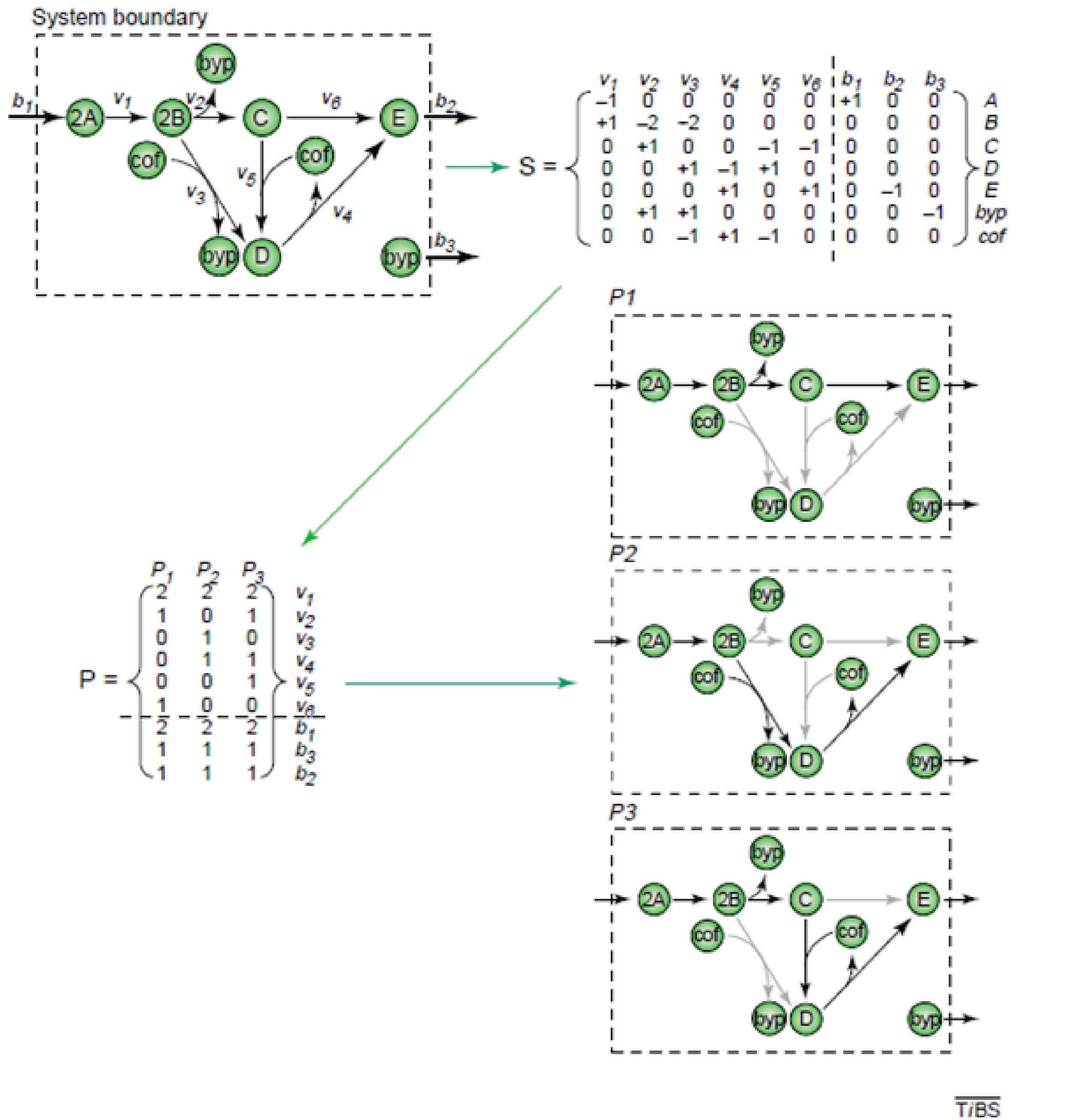
- Cada reacció s'ha de diferenciar entre flux d'intercanvi o reacció interna.
- Les reaccions internes reversibles es divideixen en dues de diferent sentit i cadascuna irreversible. (no hi ha flux interns negatius).
- Els metabòlits només poden participar en una sola reacció d'intercanvi.
- S'escull el conjunt mínim dels EFM que pot representar per combinació a qualsevol flux possible. (Base Convexa).

Arribem a definir les

vies extremes (extreme pathways)

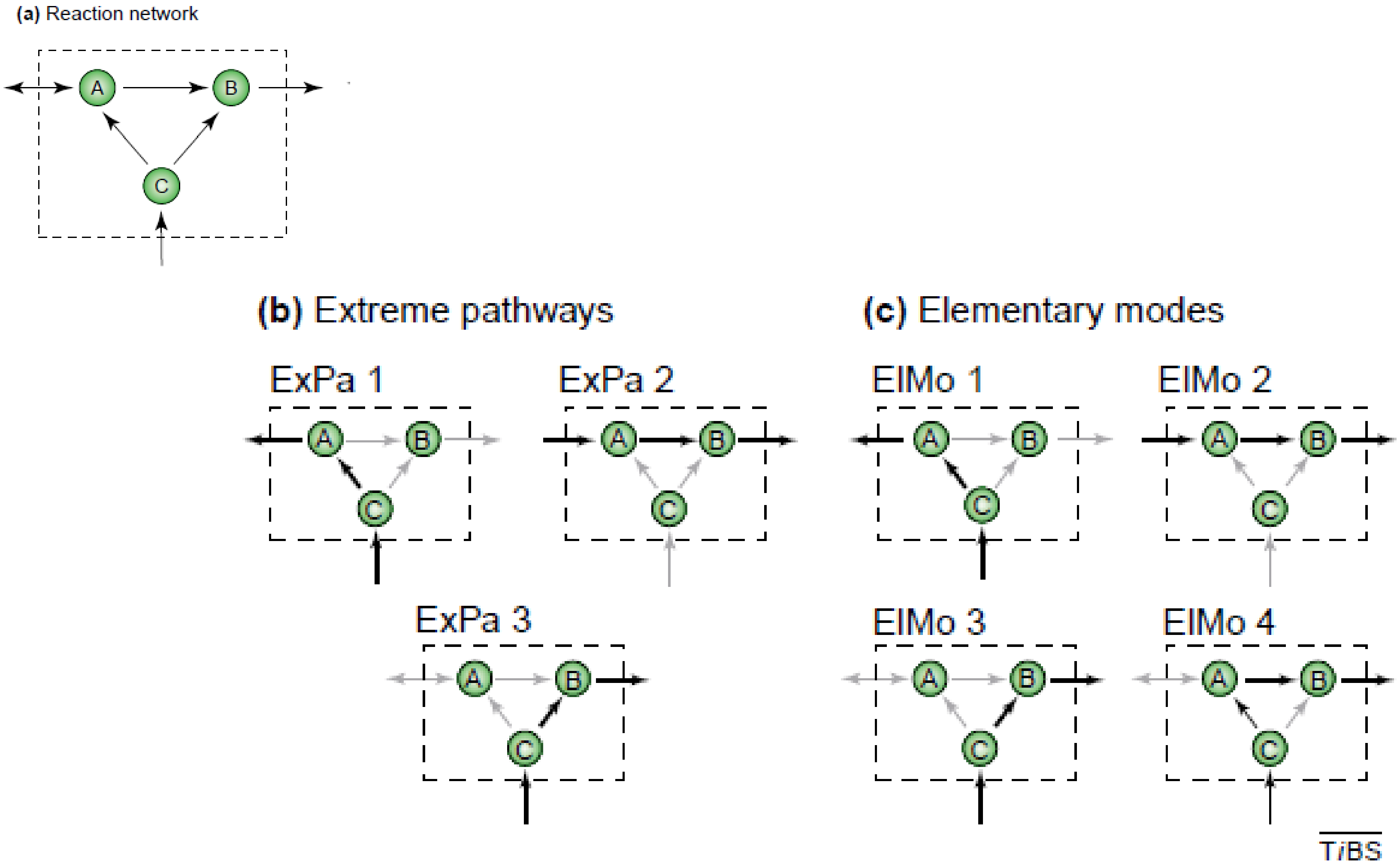
Exemple de vies extremes:

Universitat Autònoma
de Barcelona



Papin TRENDS in BS (2003)

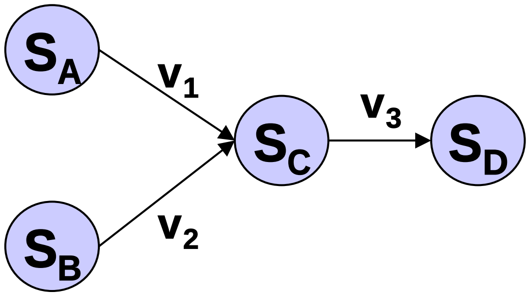
Comparació de modes elementals i vies extremes en el mateix sistema senzill:



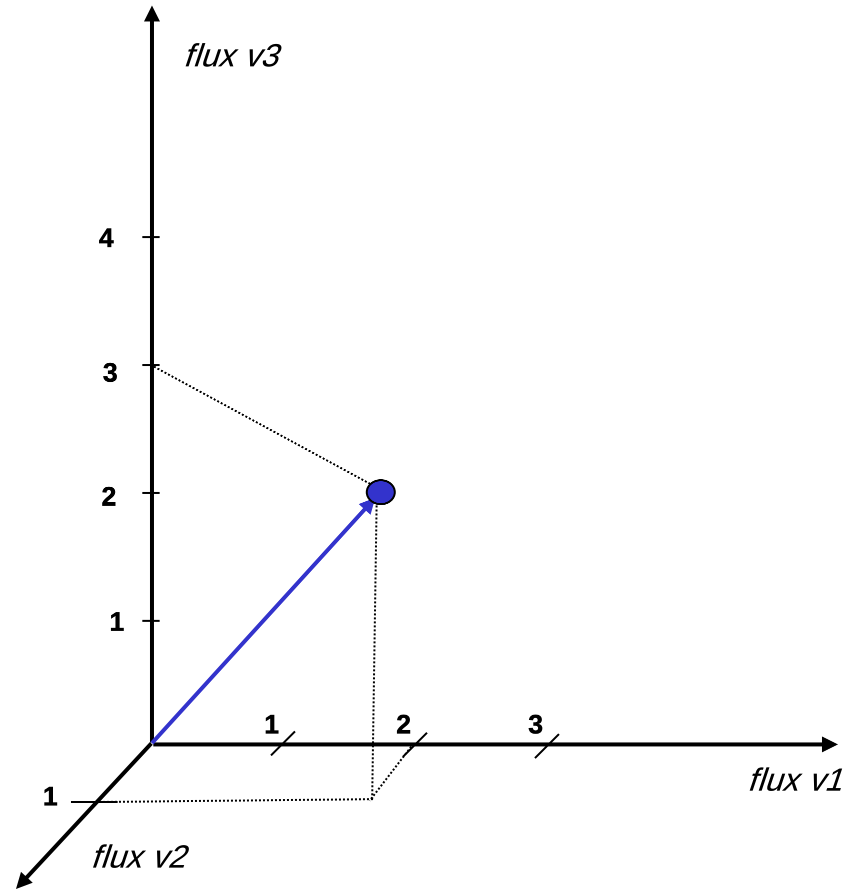
Papin TRENDS in BS (2003)

Universitat Autònoma de Barcelona

Visió resultant de la nova representació
Per un sistema senzill com el vist abans:



Qualsevol distribució de fluxos queda restringida al primer quadrant
(les reaccions reversibles s'hauran descompost en 2 de irreversibles)

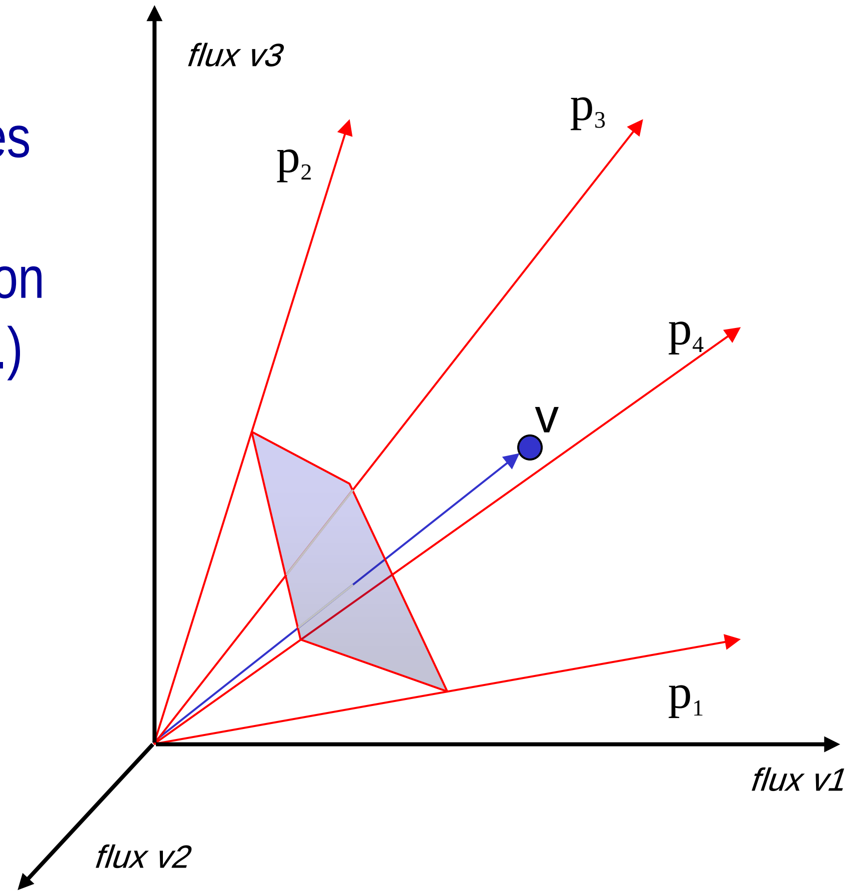


vies extremes (extreme pathways)

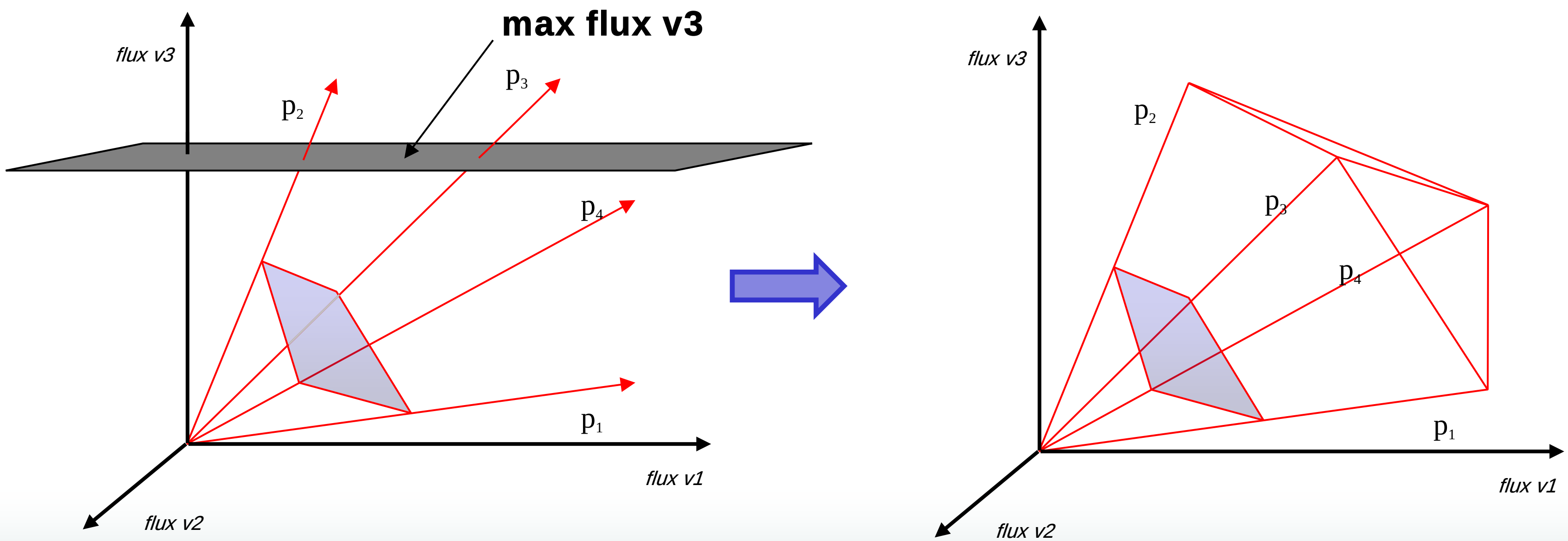
- Qualsevol distribució de fluxos a l'estat estacionari es troba dins d'un con de flux
- Les arestes del con de flux són les vies extremes
- Per algunes xarxes metabòliques les vies extremes coincideixen amb els modes elementals (p.ex. Si els flux d'intercanvi son irreversibles o si contenen reaccions irrev.)
- Qualsevol distribució de fluxos és combinació lineal no negativa de les vies extremes

$$V = \sum_i \alpha_i p_i \qquad \alpha_i \geq 0$$

- Les vies extremes representen modes fonamentals d'una xarxa metabòlica



- A la pràctica el con de flux no és infinit.
- Hi ha factors que limiten el flux màxim assolible.
- Per exemple:
  - Un determinat component com l'oxigen té una velocitat de difusió màxima que limitarà el consum
  - Cada enzim té una velocitat màxima i hi ha una quantitat màxima de proteïnes que poden ser al citoplasma
  - Cada organisme té una velocitat de creixement màxima....



Universitat Autònoma
de Barcelona

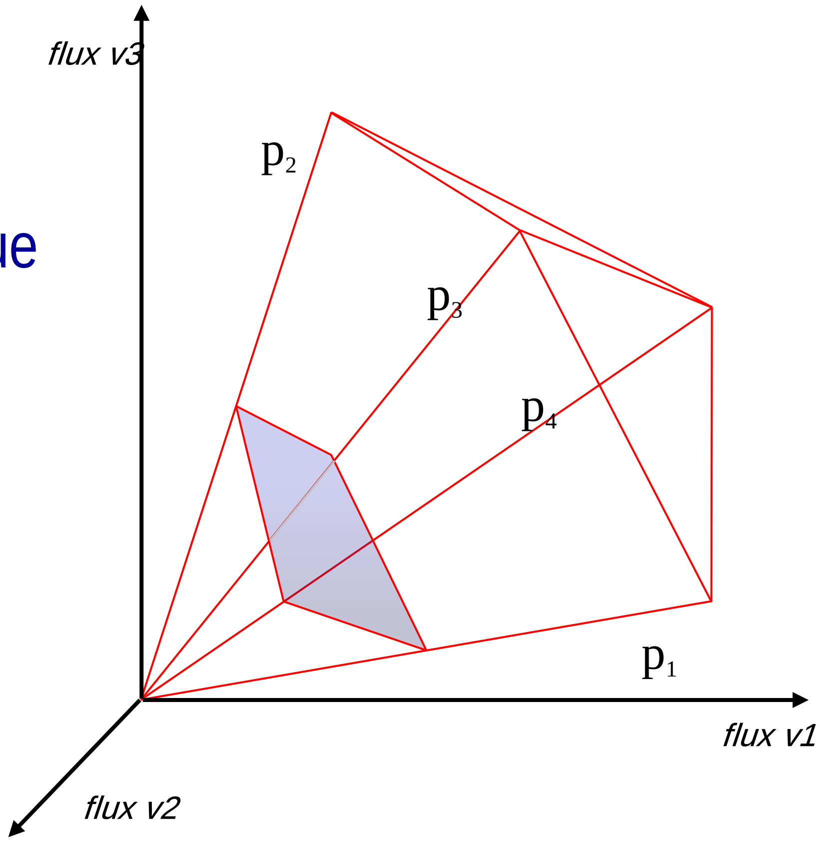
Tot això vol dir que:

A partir de:

- la informació obtinguda de l'anotació del genoma
- L'estequiometria coneguda
- D'un nombre de restriccions menor que el nombre de fluxos

Es pot estudiar:

- Les capacitats del metabolisme
- L'efecte de modificacions al metabolisme original



Aplicacions de l'Anàlisi de vies metabòliques

En general son d'utilitat per estudis metabòlics i com a eines de modelització

- Determinació de rendiments òptims i sub-òptims de diferents camins.
- Identificació d'enzims prescindibles (bypass)
- Optimització de Medis
- Anàlisi de redundància i flexibilitat de la xarxa
- Funcionalitat de components
- Útils per estudiar la calculabilitat de fluxos metabòlics
- Identificació completa del flux de materials
- Identificació de parts de la xarxa sense cap funció (dead subnets)
- Identificació de cicles fútils
- …