

# Reporte Modelo Sacaromises boulardii

Federico J. Zertuche

19 de Febrero 2019

## 1. Introducción

**Objetivo:** El objetivo de esta parte del proyecto es hacer un modelo matemático de la red metabólica de Sacaromises boulardii para probar diferentes alternativas de producción de butirato con el fin de informar los experimentos posteriores en-vivo.

**Herramientas y Recursos:** Todos los modelos, gráficos y cálculos en el reporte fueron realizados usando software libre Python [1] y COBRApy [2]. Los recursos están disponibles en la página:

<https://github.com/notblank/Sacaromises-B-and-C>.

**Resultados** En esta parte del proyecto se construyeron y analizaron 4 alternativas de producción de butirato. Dos alternativas fueron seleccionadas para ser sintetizadas y probadas en-vivo.

## 2. Redes Metabólicas

El metabolismo de una bacteria es una serie de genes asociados a reacciones que transforman, transportan y consumen metabolitos.

Estas reacciones pueden ser representadas como un grafo en el que los nodos son metabolitos y las reacciones son flechas que unen los nodos. Por ejemplo, las siguientes reacciones  $R_1, R_2, R_3$ :



con tres metabolitos  $A, B, C$ , forman el grafo circular:

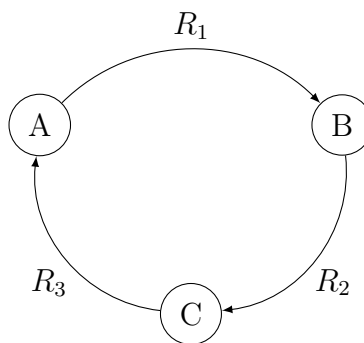


Figura 1: Grafo Circular.

Este grafo a su vez tiene una representación en forma de matriz en la que cada columna representa una de las reacciones y cada fila un metabolito:

$$\begin{array}{ccccc}
 & R_1 & R_2 & R_3 & \\
 A & -1 & 0 & +1 & \\
 B & +1 & -1 & 0 & \\
 C & 0 & +1 & -1 & 
 \end{array}
 \tag{2}$$

que se escribe:

$$C = \begin{bmatrix} -1 & 0 & +1 \\ +1 & -1 & 0 \\ 0 & +1 & -1 \end{bmatrix}
 \tag{3}$$

## 2.1. Flujos

En la representación matricial descrita antes no mencionamos los flujos. Consideren la siguiente multiplicación:

$$Cf = \begin{bmatrix} -1 & 0 & +1 \\ +1 & -1 & 0 \\ 0 & +1 & -1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} f_1 \\ f_2 \\ f_3 \end{bmatrix} = f_1 \begin{bmatrix} -1 \\ +1 \\ 0 \end{bmatrix} + f_2 \begin{bmatrix} 0 \\ -1 \\ +1 \end{bmatrix} + f_3 \begin{bmatrix} +1 \\ 0 \\ -1 \end{bmatrix} \quad (4)$$

Es una combinación lineal de las reacciones. Si  $f_1 = 0$ , entonces la reacción  $R_1$  no se expresa. En ese sentido podemos pensar en  $f_1, f_2, f_3$  como flujos en  $R_1, R_2$  y  $R_3$  respectivamente.

El resultado de la multiplicación (4) tienen una interpretación interesante. Si asociamos  $A, B$  y  $C$  a las filas 1, 2, 3 entonces podemos escribir:

$$Cf = \begin{bmatrix} -f_1 + f_3 \\ f_1 - f_2 \\ f_2 - f_3 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \Delta A \\ \Delta B \\ \Delta C \end{bmatrix}$$

La multiplicación  $Cf$  es cuanto cambió cada metabolito durante el flujo que atravesó el grafo.

El objetivo es especificar el vector de flujos para controlar el metabolismo. La única condición es que el vector de flujos seleccionado conserve la cantidad de metabolitos.

En términos matriciales buscamos los flujos que cumplen con la condición  $SF = 0$ . En el caso de la red circular 1 los flujos permitidos son constantes como por ejemplo:

$$\begin{bmatrix} f_1 \\ f_2 \\ f_3 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 2 \\ 2 \\ 2 \end{bmatrix}$$

## 3. Modelo Base y Vías Alternativas

No existe una descripción del metabolismo de *Saccharomyces boulardii*. La mayoría de los estudios usan el metabolismo de *Saccharomyces cerevisiae* como una aproximación o como un modelo de base al que le añaden o le quitan raciones usando métodos computacionales para simular el metabolismo de *S. boulardii*. En este adoptamos la primera estrategia.

El modelo de base es *Saccharomyces cerevisiae* S288C que pueden encontrar en el siguiente enlace:

<http://bigg.ucsd.edu/models/iMM904>

El modelo consta de aproximadamente 1200 metabolitos que intervienen en mas de 1500 reacciones reguladas por un poco mas de 900 genes. Describen un red difícil de representar gráficamente.

La producción de butirato no hace parte de este metabolismo. El primer objetivo es estudiar 4 vías alternativas de producción de butirato:

genes	reacciones
phaA	2 acetyl-CoA CoA + acetoacetyl-CoA
phaB	(R)-3-hydroxybutanoyl-CoA + NADP+ 3-acetoacetyl-CoA + NADPH + H+
phaJ	(3R)-3-hydroxybutanoyl-CoA crotonoyl-CoA + H2O
Ter	crotonoyl-CoA + NADH + H+ butyryl-CoA + NAD+
TesB	butyryl-CoA + H2O butyrate + CoA + H+

Cuadro 1: Modelo 1.

genes	reacciones
phaA	2 acetyl-CoA CoA + acetoacetyl-CoA
phaBAv	(S)-3-hydroxybutanoyl-CoA + NAD+ 3-acetoacetyl-CoA + NADH + H+
phaJ	(3R)-3-hydroxybutanoyl-CoA crotonoyl-CoA + H2O
Ter	crotonoyl-CoA + NADH + H+ butyryl-CoA + NAD+
TesB	butyryl-CoA + H2O butyrate + CoA + H+

Cuadro 2: Modelo 1a.

genes	reacciones
phaA	2 acetyl-CoA CoA + acetoacetyl-CoA
phaBAv	(S)-3-hydroxybutanoyl-CoA + NAD+ 3-acetoacetyl-CoA + NADH + H+
phaJ	(3S)-3-hydroxybutanoyl-CoA (E)-but-2-enoyl-CoA + H2O
Ter	butanoyl-CoA + NAD+ (E)-but-2-enoyl-CoA + NADH + H+
lvaE	ATP + Butanoate + CoA AMP + diphosphate + butanoyl-CoA

Cuadro 3: Modelo 2.

El modelo de base de Sacaromises cerevisiae con las reacciones del cuadro:

genes	reaction
phaA	2 acetyl-CoA → CoA + acetoacetyl-CoA
phaBAv	(S)-3-hydroxybutanoyl-CoA + NAD <sup>+</sup> → 3-acetoacetyl-CoA + NADH + H <sup>+</sup>
phaJ	(3S)-3-hydroxybutanoyl-CoA → (E)-but-2-enoyl-CoA + H <sub>2</sub> O
Ter	butanoyl-CoA + NAD <sup>+</sup> → (E)-but-2-enoyl-CoA + NADH + H <sup>+</sup>
ptb	butanoyl-CoA + phosphate → CoA + butanoyl phosphate
buk	ATP + butanoate → ADP + butanoyl phosphate

Cuadro 4: Modelo 3.

- 1 es el modelo 1,
- 2 es el modelo 1a,
- 3 es el modelo 2,
- 4 es el modelo 3.

### 3.1. Producción Butirato y Biomasa

El metabolismo de cada uno de los modelos tiene un flujo que representa la biomasa en unidades  $[1/h]$  y otro que representa la producción de butirato en unidades  $[mmol/gdcw/h]$  que vamos a notar  $f_{biomass}$  y  $f_{but}$  respectivamente.

El primer objetivo es describir la producción teórica de butirato y biomasa para cada modelo. Con este fin resolvemos:

$$\begin{aligned}
& \underset{f}{\text{maximize}} && f_{biomass} + \lambda f_{but} \\
& \text{subject to} && Sf = 0 \\
& && l_i \leq f_i \leq u_i, \quad i = 1, \dots, m.
\end{aligned}$$

La función objetivo  $f_{biomass} + \lambda f_{but}$  es una combinación lineal de la biomasa y la producción de butirato. El número  $\lambda$  es un parámetro que controla si el modelo produce mas biomasa o butirato. Por jemplo, cuando  $\lambda = 0$ , el metabolismo maximiza la producción de biomasa y cuando  $\lambda = \infty$ , el modelo maximiza la producción de butirato.

Resolviendo el problema (3.1) para  $\lambda$  en  $[0, 0.07]$  obtenemos las curvas de la figura (3.1). En una curva cada punto representa un par  $(f_{biomass}(\lambda), f_{but}(\lambda))$ .

Primero se puede notar que para cualquier producción de biomasa fija, los modelos 2 y 3 tienen una mayor producción de butirato.

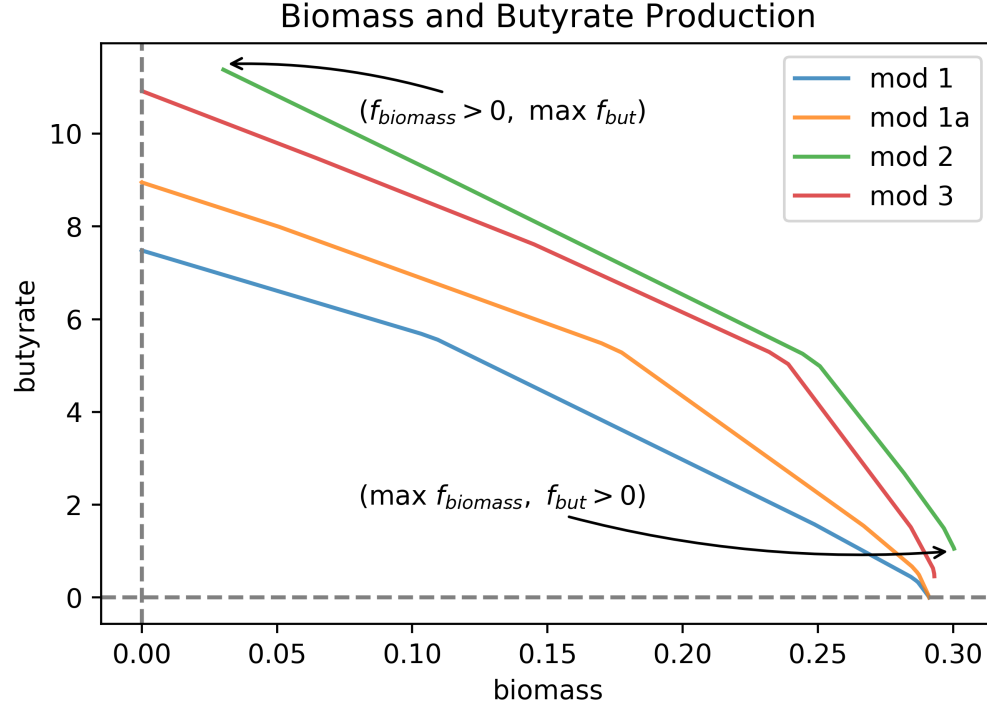


Figura 2: Soluciones de (3.1) para  $\lambda \in [0, 0.07]$ .

Ademas si vemos los extremos de la curva correspondiente al modelo 2, podemos notar que es capaz de producir la mayor cantidad de biomasa mientras sigue produciendo butirato y también produce la mayor cantidad de butirato sin dejar de producir biomasa.

## Referencias

- [1] Python Software Foundation. Python Language Reference, version 3.6 Available at <http://www.python.org>.
- [2] COBRApy: COntstraints-Based Reconstruction and Analysis for Python, Ali Ebrahim, Joshua A. Lerman, Bernhard O. Palsson, and Daniel R. Hyde, BMC Systems Biology, 2013, 7:74.