

BMM5729 – Análise Sistêmica e Engenharia do Metabolismo

Método do annealing metabólico

Parte 2: Exemplo *Pseudomonas* sp. LFM046

Rafael Nahat
2018

Annealing metabólico – exemplo

Este exemplo contém somente EFMA. Sequência:

- 1) Pergunta teórica: por onde começar?
- 2) Iteração 6: colocar ATP para dentro
- 3) Iteração 14: expandir reação de biomassa
- 4) Iteração 14.3: expandir reação de proteína
- 5) Iteração 15.3: 1 ciclo de annealing completo
- 6) Iteração 17.2: validação com quimiostato #1302

Annealing metabólico – exemplo

1) Você está construindo uma rede metabólica completamente do zero. Nos seguintes casos, por qual metabólito e reação você começa e por quê?

a) Há formação de biomassa

b) Não há formação de biomassa

c) Há formação de um bioproduto de interesse

d) Não há formação de um bioproduto de interesse

Annealing metabólico – exemplo

2) A diferença entre as redes 05.txt e 06.txt é que os metabólitos ATP e ADP eram externos e foram trocados para internos. O número de modos elementares foi de 172 para 250.

- a) Explique porquê o número deveria ter diminuído
- b) Os 250 representam a mesma rede que os 172?
- c) A rede esquentou ou esfriou? Explique

Annealing metabólico – exemplo

2) A diferença entre as redes 05.txt e 06.txt é que os metabólitos ATP e ADP eram externos e foram trocados para internos. O número de modos elementares foi de 172 para 250.

a) Explique porquê o número deveria ter diminuído

Metabólitos externos não precisam fechar o balanço de massa, então ao passá-los para internos adicionou-se mais restrições

Annealing metabólico – exemplo

2) A diferença entre as redes 05.txt e 06.txt é que os metabólitos ATP e ADP eram externos e foram trocados para internos. O número de modos elementares foi de 172 para 250.

b) Os 250 representam a mesma rede que os 172?

Na planilha ex2.xlsx, há uma aba com os EM da 05 e outra com os da 06. E uma aba 5_x_6 comparando-os.

Annealing metabólico – exemplo

2) A diferença entre as redes 05.txt e 06.txt é que os metabólitos ATP e ADP eram externos e foram trocados para internos. O número de modos elementares foi de 172 para 250.

b) Os 250 representam a mesma rede que os 172?

Primeiro todos os vetores foram normalizados. Na aba 5_x_6, foi criada uma matriz 172 x 250 com as distâncias 2 a 2 de todos os vetores normalizados:

	B1	B2	B3 ...
A1	$d(A1,B1)$	$d(A1,B2)$	$d(A1,B3)$
A2	$d(A2,B1)$	$d(A2,B2)$	$d(A2,B3)$

...

Annealing metabólico – exemplo

2) A diferença entre as redes 05.txt e 06.txt é que os metabólitos ATP e ADP eram externos e foram trocados para internos. O número de modos elementares foi de 172 para 250.

b) Os 250 representam a mesma rede que os 172?

$d(u,v) = 0 \rightarrow u$ e v têm a exata mesma direção

$d(u,v) \leq \varepsilon \rightarrow u$ e v têm direções similares

$d(u,v) > \varepsilon \rightarrow u$ e v têm direções distintas

Annealing metabólico – exemplo

2) A diferença entre as redes 05.txt e 06.txt é que os metabólitos ATP e ADP eram externos e foram trocados para internos. O número de modos elementares foi de 172 para 250.

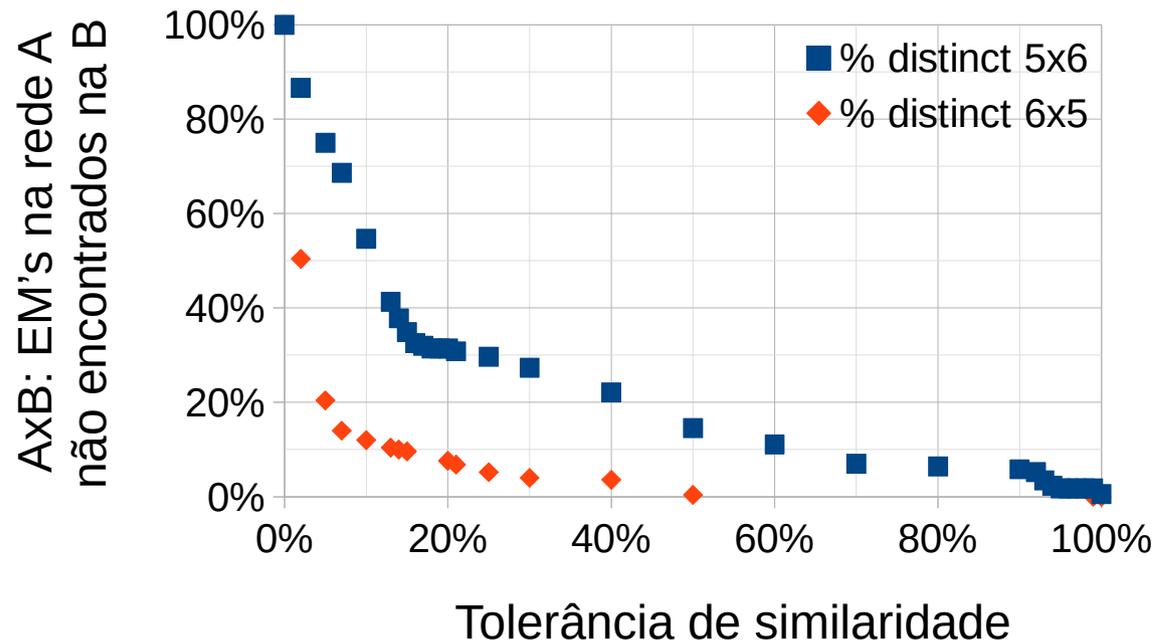
b) Os 250 representam a mesma rede que os 172?

ϵ foi variado de 0 a 100% e para cada 1 dos 172 vetores da rede 05, foram contados quantos eram distintos dos 250 da rede 06. Quando todos os 250 eram distintos, foi contado 1 modo elementar independente na rede 05. O mesmo foi feito para a rede 06 em relação à 05.

Annealing metabólico – exemplo

2) A diferença entre as redes 05.txt e 06.txt é que os metabólitos ATP e ADP eram externos e foram trocados para internos. O número de modos elementares foi de 172 para 250.

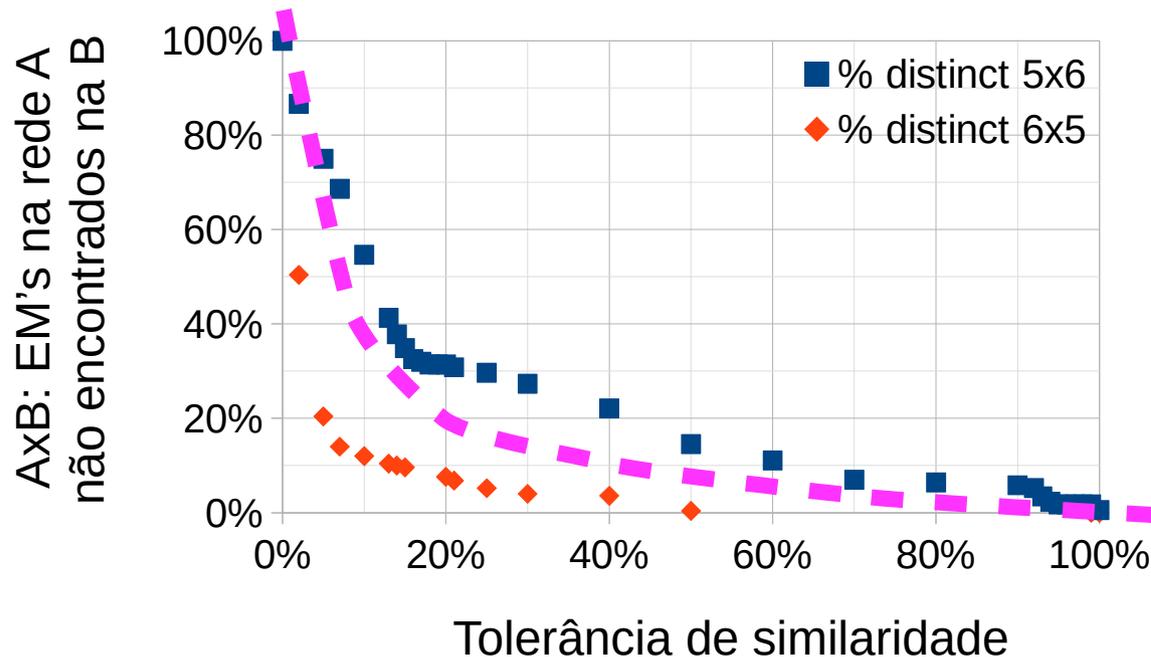
b) Os 250 representam a mesma rede que os 172?



Annealing metabólico – exemplo

2) A diferença entre as redes 05.txt e 06.txt é que os metabólitos ATP e ADP eram externos e foram trocados para internos. O número de modos elementares foi de 172 para 250.

b) Os 250 representam a mesma rede que os 172?



Curva de Pareto:
o que seria esperado
se fosse a mesma
rede reorganizada

As curvas 5x6 e 6x5
seriam muito
parecidas

Annealing metabólico – exemplo

2) A diferença entre as redes 05.txt e 06.txt é que os metabólitos ATP e ADP eram externos e foram trocados para internos. O número de modos elementares foi de 172 para 250.

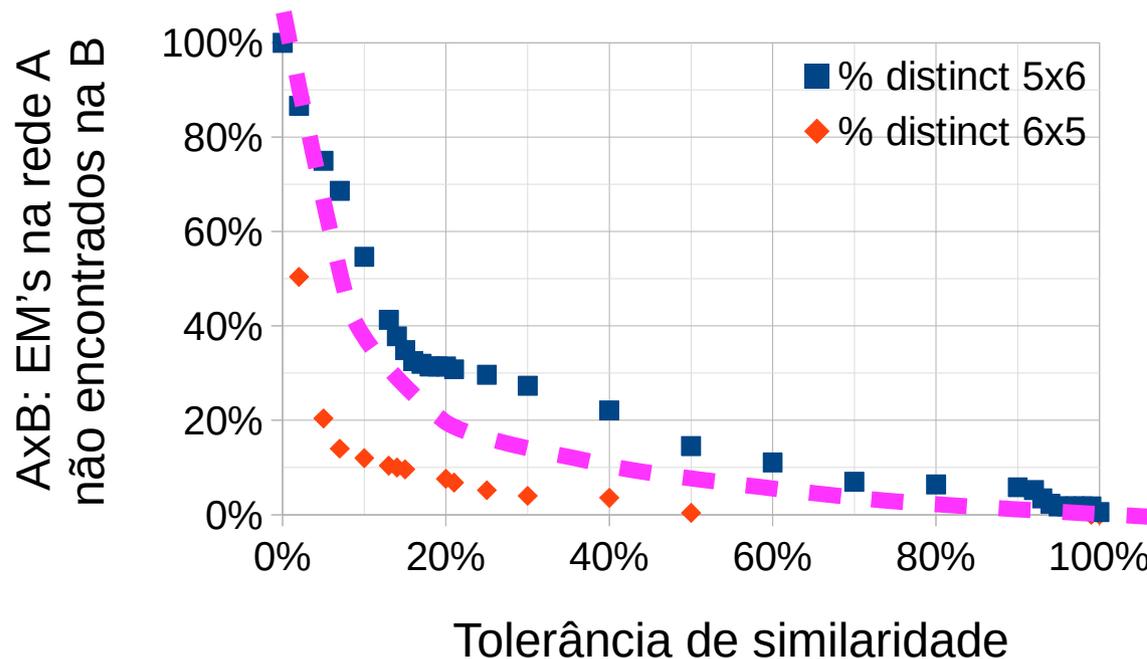
b) Os 250 representam a mesma rede que os 172?

Podemos afirmar que não porque as curvas de porcentagem de vetores considerados distintos em função da porcentagem de dissimilaridade usada não formam uma curva de Pareto

Annealing metabólico – exemplo

2) A diferença entre as redes 05.txt e 06.txt é que os metabólitos ATP e ADP eram externos e foram trocados para internos. O número de modos elementares foi de 172 para 250.

c) A rede esquentou ou esfriou? Explique

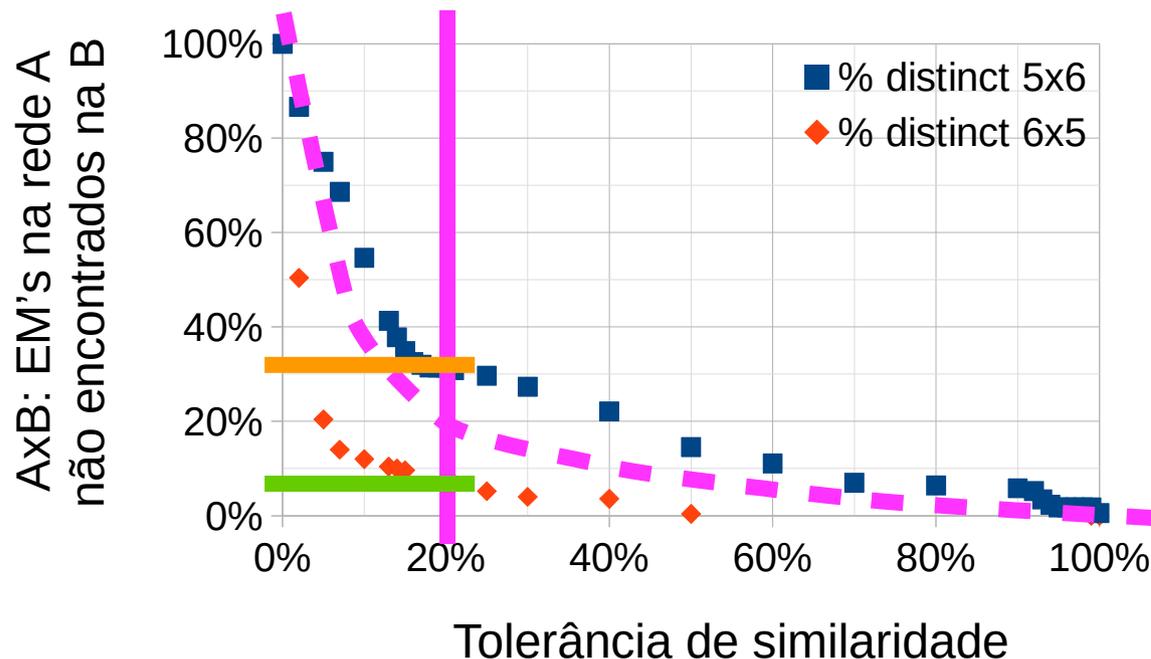


A curva 5x6 está acima do Pareto e a 6x5 está abaixo

Annealing metabólico – exemplo

2) A diferença entre as redes 05.txt e 06.txt é que os metabólitos ATP e ADP eram externos e foram trocados para internos. O número de modos elementares foi de 172 para 250.

c) A rede esquentou ou esfriou? Explique



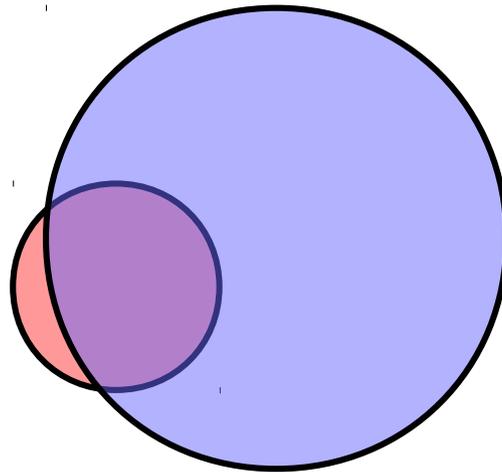
Fixando 20% de tolerância, há menos EM's comuns quando a referência é a rede 5

Então, a rede 5 contém mais da 6 do que a 6 contém da 5

Annealing metabólico – exemplo

2) A diferença entre as redes 05.txt e 06.txt é que os metabólitos ATP e ADP eram externos e foram trocados para internos. O número de modos elementares foi de 172 para 250.

c) A rede esquentou ou esfriou? Explique



$(\text{Área rosa}) / (\text{área vermelha}) > (\text{área rosa}) / (\text{área azul}),$
Para qualquer tolerância ϵ

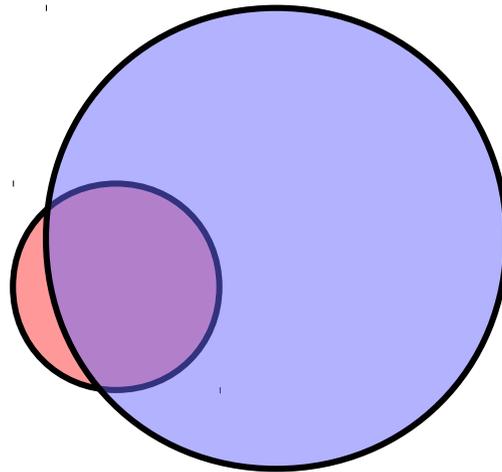
Fixando 20% de tolerância, há menos EM's comuns quando a referência é a rede 5

Então, a rede 5 contém mais da 6 do que a 6 contém da 5

Annealing metabólico – exemplo

2) A diferença entre as redes 05.txt e 06.txt é que os metabólitos ATP e ADP eram externos e foram trocados para internos. O número de modos elementares foi de 172 para 250.

c) A rede esquentou ou esfriou? Explique



$$(5 \cap 6) / (6) > (5 \cap 6) / (5),$$

Para qualquer tolerância ε

Fixando qualquer tolerância, há menos EM's comuns quando a referência é a rede 5

Então, a rede 5 contém mais da 6 do que a 6 contém da 5

Annealing metabólico – exemplo

2) A diferença entre as redes 05.txt e 06.txt é que os metabólitos ATP e ADP eram externos e foram trocados para internos. O número de modos elementares foi de 172 para 250.

c) A rede esquentou ou esfriou? Explique

As direções dos vetores de distribuições de fluxos possíveis da rede 6 são encontradas com mais frequência na rede 5 do que o oposto. Então a rede ESFRIOU, como era esperado no item a.

Annealing metabólico – exemplo

2) A diferença entre as redes 05.txt e 06.txt é que os metabólitos ATP e ADP eram externos e foram trocados para internos. O número de modos elementares foi de 172 para 250.

c) A rede esquentou ou esfriou? Explique

O número de modos elementares nos ENGANOU porque ATP e ADP são uma “conserved moiety”, então os fluxos por eles sempre terão uma relação constante. Ou seja, eles são internos e colocá-los como externos muda artificialmente a rede já que os externos não alteram os modos elementares.

Annealing metabólico – exemplo

3) As principais diferenças entre as redes 06.txt e 14.txt são:

- Redução do nível de abstração da biomassa: em vez de consumir precursores como eritrose-4-fosfato, consome aminoácidos e lipídeos formados com esses precursores
- Síntese *de novo* de ATP
- Reações Sink para: CTP, PROT, GLU, GLN, GLY, SER, ASP, ATP_IN, FAT e LPS

Annealing metabólico – exemplo

3) Diferenças entre as redes 06.txt e 14.txt:

- Redução do nível de abstração da biomassa
- Síntese *de novo* de ATP
- Reações Sink para: CTP, PROT, GLU, GLN, GLY, SER, ASP, ATP_IN, FAT e LPS

a) O que é uma reação Sink? Dica: pense em FBA

b) Compare as reações de biomassa da 6 e da 14.

c) Por que há sinks de aminoácidos e proteínas?

d) Por que a síntese *de novo* de ATP foi incluída?

e) Por que há um metabólito ATP_IN separado do resto do ATP?

Annealing metabólico – exemplo

4) A rede 14.3.txt possui:

i) Reação PPROT com todos os aminoácidos

ii) Reações de síntese de glutamato, glutamina e aspartato, sinks para todos os outros aminoácidos

iii) Reações de fosfolipídeos truncadas, sem os aminoácidos e o CTP

a) Quais sinks da 14.txt foram removidas e por quê?

b) Por que os modos elementares da 14.3 têm valores tão altos? Dica: olhe o metabólito FMET

c) Explique o motivo dos itens i, ii e iii acima

Annealing metabólico – exemplo

5) A rede 15.3.txt possui:

i) Reações de degradação de aminoácidos

ii) Reação artificial GASEX que impõe um RQ

a) Remova o ii, adapte o que for necessário e rode EFMA. O que acontece? Explique.

b) Na rede do item a, remova todas as reações de degradação de aminoácidos menos a de glicina. Rode EFMA. O que acontece? Explique.

c) Na rede do item c, remova a degradação de glicina. O que acontece? Explique.

Annealing metabólico – exemplo

6) A rede 17.2.txt possui:

i) Reações artificiais GASEX, NINTAKE, CINTAKE e BIOTOT

ii) Metabólito artificial m_ox

a) Para que serve o m_ox?

b) Para que servem as reações do item i)?

c) Por que a NINTAKE produz tão pouco NH_3 ?

d) Rode EFMA. Qual é o menor erro obtido em relação aos dados experimentais?