

Refino de redes metabólicas

Escala genômica

Maio/2020



Sumário

O quê?

O que é rede em escala genômica?

Geração
Automática

Reconstrução automática

Refino
Manual

Refino manual: monoponto x *N*-casca

Exemplo

Exemplo refino manual *N*-casca



O que é rede em escala genômica?

O quê?

- É uma rede metabólica

Geração
Automática

- Em que cada reação **não-artificial** está associada a um conjunto mínimo de genes

Refino
Manual

→ normalmente tem +1000 reações

Exemplo



O que é rede em escala genômica?

O quê?

- É uma rede metabólica

Geração Automática

- Em que cada reação **não-artificial** está associada a um conjunto mínimo de genes

Refino Manual

→ normalmente tem +1000 reações

Exemplo

Reação artificial: aquela que não representa uma transformação que ocorre no metabolismo real e sim uma restrição puramente matemática. Ex: a composição da biomassa

Reconstrução automática

O quê?

Genoma: **ACGTAGTACTTAGCTAGCA**

Geração Automática

Genes: **G1** G2 **G3** G4 **G5**

Refino Manual

Proteínas: **P1** P2 **P3** P4 **P5**

Exemplo

Reações: **R1** R2 **R3** R4 **R5**

Reconstrução automática

Genoma: **ACGTAGTACTTAGCTAGCA**

O quê?

Geração Automática

Refino Manual

Exemplo

	G1	G2	G3	G4	G5
Database de associações	P1	P2	P3	P4	P5
GPR	R1	R2	R3	R4	R5

Rede: **R1** R2 **R3** R4 **R5**

Reconstrução automática

Genoma: **A?CTAG?ACTTAGCTAGCA**

Erros sequenciamento

	G1	G2	G3	G4	G5
Database de associações	P1	P2	P3	P4	P5
GPR	R1	R2	R3	R4	R5

Rede: R4 **R5** R6

O quê?

Geração Automática

Refino Manual

Exemplo

Reconstrução automática

Genoma: A?CTAG?ACTTAGCTAGCA

1) o genoma pode ter múltiplas cópias do mesmo gene

2) geramos muitas cópias de cada pedaço pequeno para poder montar o genoma probabilisticamente

G1	G2	G3	G4	G5
P1	P2	P3	P4	P5
R1	R2	R3	R4	R5

Rede: R4 R5 R6

O quê?

Geração Automática

Refino Manual

Exemplo

Reconstrução automática

Genoma: AGCTAGCACTTAGCTAGCA

	G1	G2	G3	G4	G5
Database de associações	P1	P2	P3	P4	P5
GPR	R1	R2	R3	R4	R5

Rede: R4 R5 R6

O quê?

Geração Automática

Refino Manual

Exemplo

Reconstrução automática

Genoma: AGCTA**GCA**CTTAGCTA**GCA**

As associações GPR das databases são de outros organismos sequenciados e modelados antes.

Nem sempre elas valem para o nosso organismo!

G1	G2	G3	G4	G5
P1	P2	P3	P4	P5
R1	R2	R3	R4	R5

Rede: R4 **R5** R6

O quê?

Geração Automática

Refino Manual

Exemplo

Reconstrução automática

Genoma: AGCTAGCACTTAGCTAGCA

	G1	G2	G3	G4	G5
Database de associações	P1	P2	P3	P7	P5
GPR	R1	R2	R3	R7	R5

Rede: R7 R5 R6

O quê?

Geração Automática

Refino Manual

Exemplo

Reconstrução automática

Genoma: AGCTA**GCA**CTTAGCTA**GCA**

3) nem todas as reações são enzimáticas

4) as associações GPR não são 1 para 1 para 1 (se fossem, poderiam ser associações GR)

Rede: R7 R5 R6

G1	G2	G3	G4	G5
P1	P2	P3	P7	P5
R1	R2	R3	R7	R5

O quê?

Geração Automática

Refino Manual

Exemplo

Reconstrução automática

O quê?

(G1 e G2) ou (G3, G4 ou G5)



(P1 e P2 e P3) e (P4 ou P5)



(R1)

Geração Automática

Refino Manual

(G2 e G4) ou (G3 ou G6)



(P4) e (P6)



(R2)

Exemplo

Reconstrução automática

O quê?

O processo inteiro de reconstrução automática de redes metabólicas a partir do genoma está sujeito a erros:

Geração Automática

- sequenciamento
- montagem do genoma
- anotação do genoma
- associações GPR

Refino Manual

Exemplo

Reconstrução automática



O quê?

O processo inteiro de reconstrução automática de redes metabólicas a partir do genoma está sujeito a erros

Geração Automática

Reconstrução automática gera um **rascunho**

Refino Manual

Sem refino manual, sem confiança!

Exemplo

Refino manual

- Processo

- No qual adicionamos e removemos reações da rede metabólica

- A fim de que: para cada condição experimental já observada, os fluxos calculados se aproximem dos medidos (em biorreatores, shakers, ensaios de atividade enzimática, etc)

O quê?

Gerção
Automática

Refino
Manual

Exemplo

Refino manual

- Processo de otimização: dentre todos os conjuntos possíveis de reações, vamos selecionar aquele que melhor explica o **conjunto inteiro** de dados experimentais de **velocidades específicas** que temos

O quê?

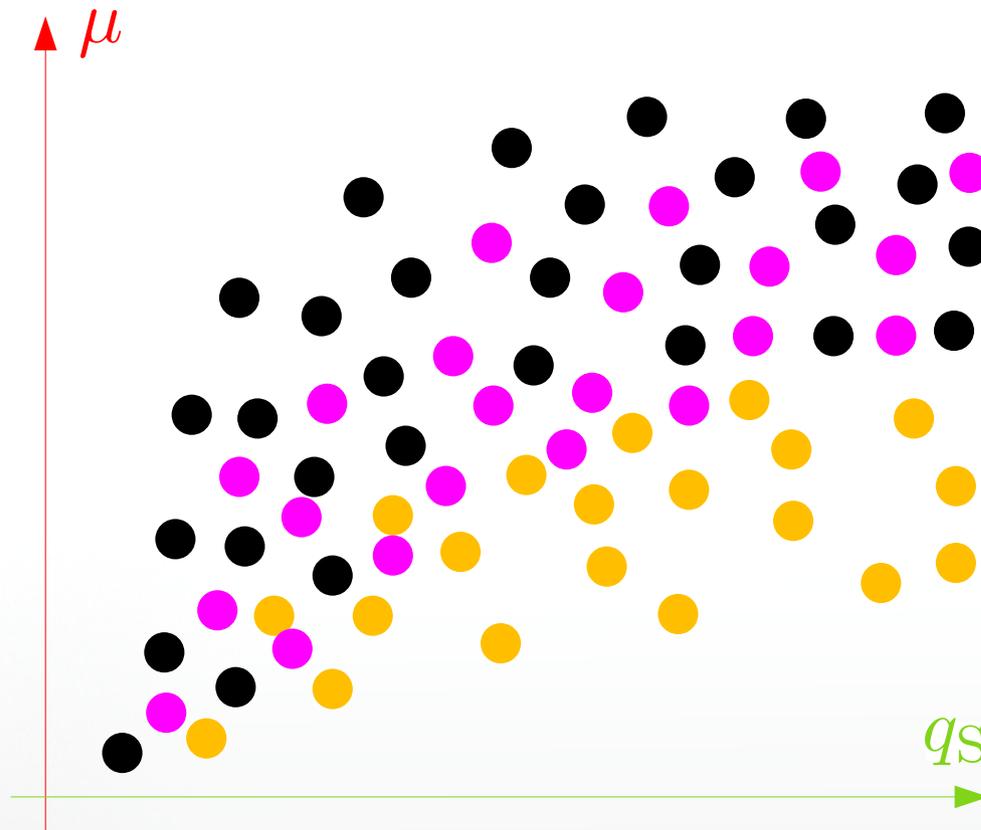
Gerção
Automática

Refino
Manual

Exemplo

Refino manual

Exemplo: plotamos fluxos calculados via duas redes metabólicas, $W1$ e $W2$, junto com os experimentais:



O quê?

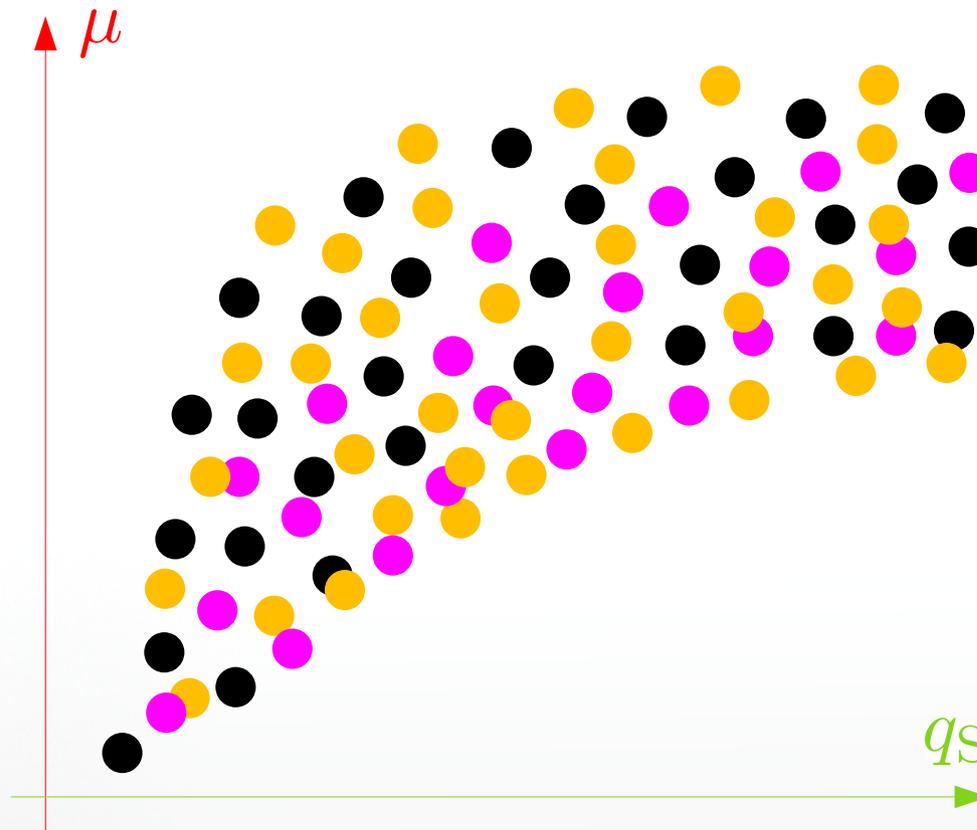
Geração Automática

Refino Manual

Exemplo

Refino manual

Exemplo: plotamos fluxos calculados via duas redes metabólicas, $W1$ e $W2$, junto com os experimentais:



O quê?

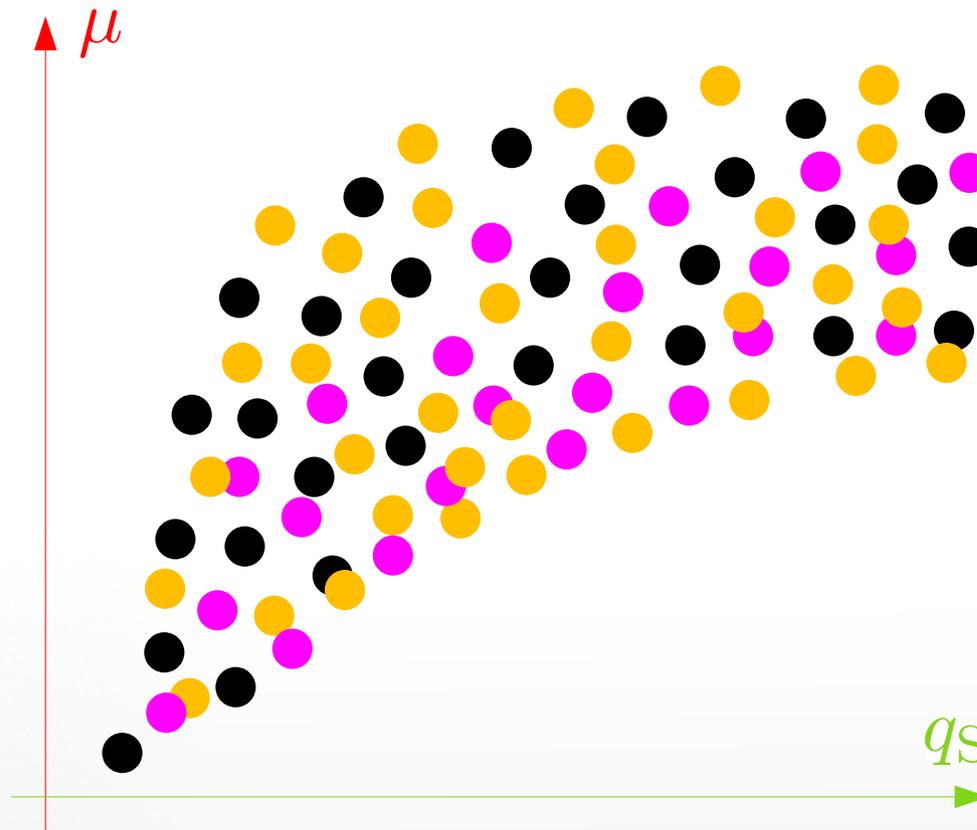
Gerção Automática

Refino Manual

Exemplo

Refino manual

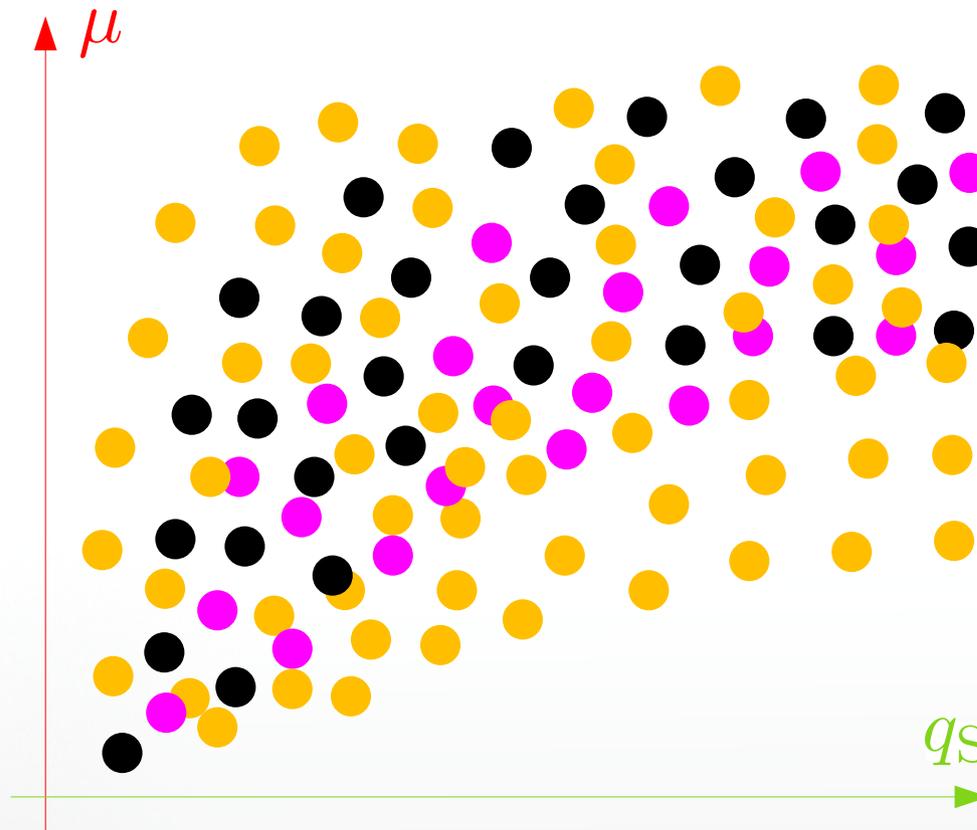
Exemplo: plotamos fluxos calculados via duas redes metabólicas, $W1$ e $W2$, junto com os experimentais:



$W1$ e $W2$ são as redes produzidas pelos processos de refino $Q1$ e $Q2$. Qual processo foi mais eficaz?

Refino manual

Exemplo: plotamos fluxos calculados via duas redes metabólicas, $W1$ e $W2$, junto com os experimentais:



Qual das duas redes melhor representa o metabolismo?

O quê?

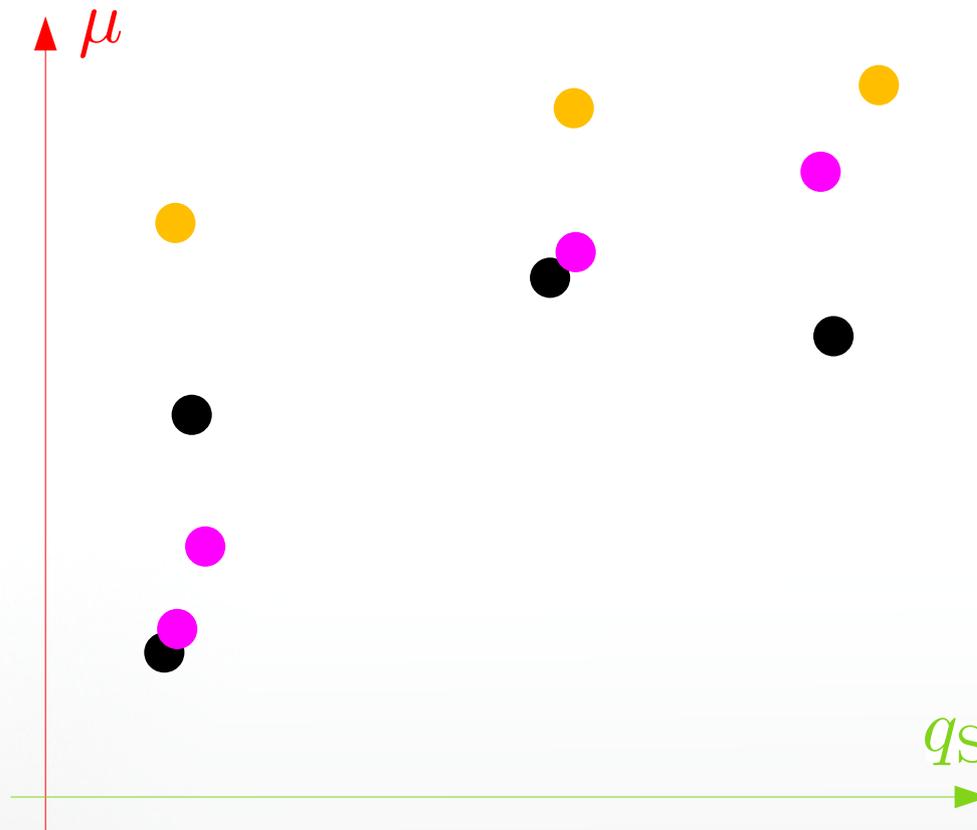
Geração Automática

Refino Manual

Exemplo

Refino manual

Exemplo: plotamos fluxos calculados via duas redes metabólicas, $W1$ e $W2$, junto com os experimentais:



Qual das duas redes melhor representa o metabolismo?

O quê?

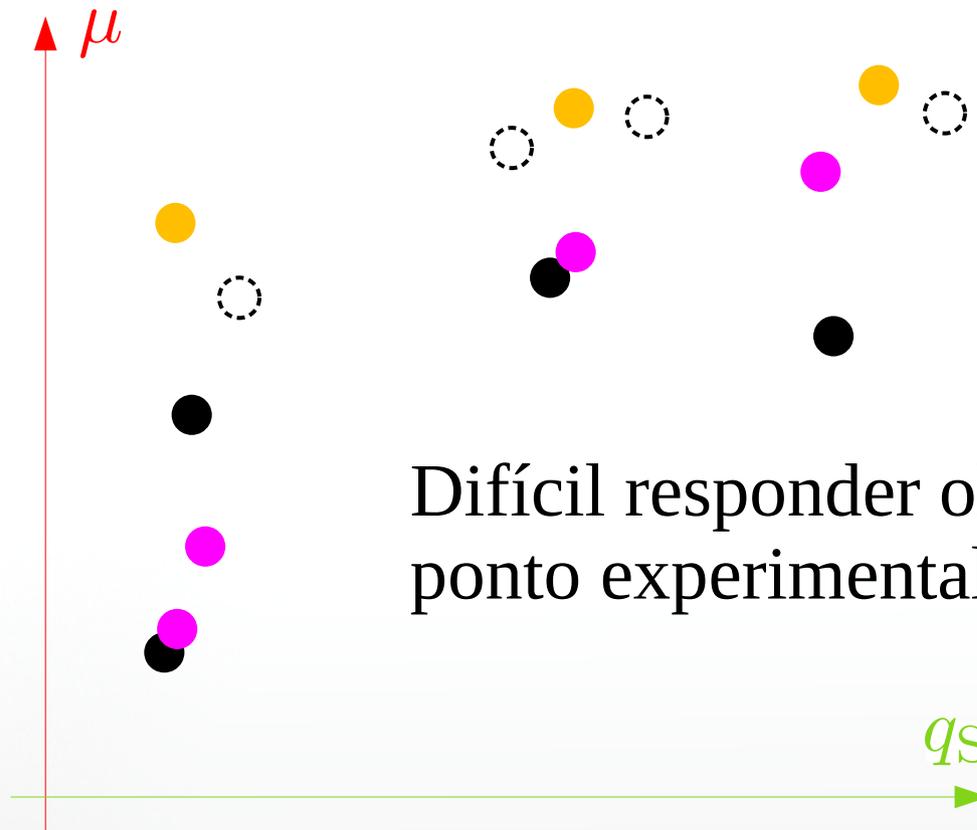
Geração Automática

Refino Manual

Exemplo

Refino manual

Exemplo: plotamos fluxos calculados via duas redes metabólicas, $W1$ e $W2$, junto com os experimentais:



Qual das duas redes melhor representa o metabolismo?

Difícil responder olhando para cada ponto experimental isoladamente

O quê?

Geração Automática

Refino Manual

Exemplo

Refino manual

O quê?

Refino monoponto: cada alteração na rede é baseada na comparação entre 1 ponto experimental e 1 distribuição de fluxos

Geração Automática

Refino Manual

Refino *N*-casca: cada alteração na rede é baseada na comparação entre uma região *N*-D que contém todos os pontos experimentais possíveis e uma região *N*-D que contém todas as previsões da rede

Exemplo

Refino manual

O quê?

Refino monoponto:

- tradicional
- pontos inerentemente discretos
- rede refinada pode ser muito mais ou muito menos flexível que o metabolismo

Geração Automática

Refino Manual

Refino *N*-casca:

- começamos a desenvolver em 2017
- superfícies contínuas
- limites teóricos para a flexibilidade

Exemplo

Refino manual monoponto

O quê?

Usualmente é feito com dados fenotípicos qualitativos: cresce em glicose, não cresce em xilose, etc (placas de petri, shaker, etc)

Geração Automática

São baseados nesse paradigma:

Refino Manual

- Protocolo BIOLOG
- Gapfilling automático de redes metabólicas em escala genômica
- Tecnologias high-throughput

Exemplo

Refino manual monoponto

O quê?

Usualmente é feito com dados fenotípicos qualitativos: cresce em glicose, não cresce em xilose, etc (placas de petri, shaker, etc)

Geração Automática

Refino Manual

Serve para:

- corrigir erros de anotação do genoma
- verificar presença de genes essenciais

Exemplo

Refino manual N -casca

Só pode ser feito com dados fenotípicos quantitativos:

$$\left(\frac{q_{S1}}{q_{SN}}, \frac{q_{S2}}{q_{SN}}, \dots, \frac{q_{SN-1}}{q_{SN}}, \mu \right)$$

Exemplo $N = 2$:

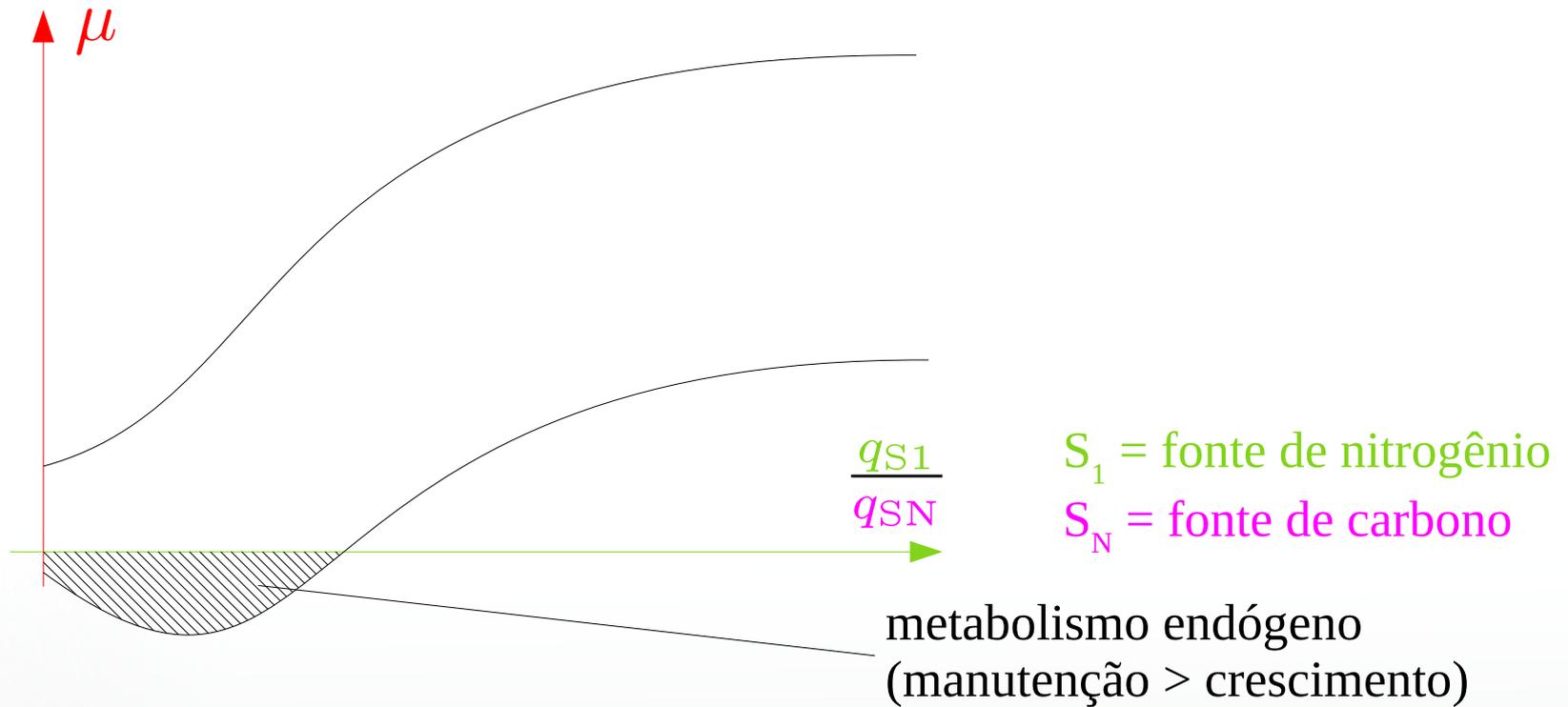


$S_1 \dots S_N$ substratos heterólogos

S_N = fonte de energia (ex: carbono)

Refino manual 2-casca

Exemplo N = 2:



O quê?

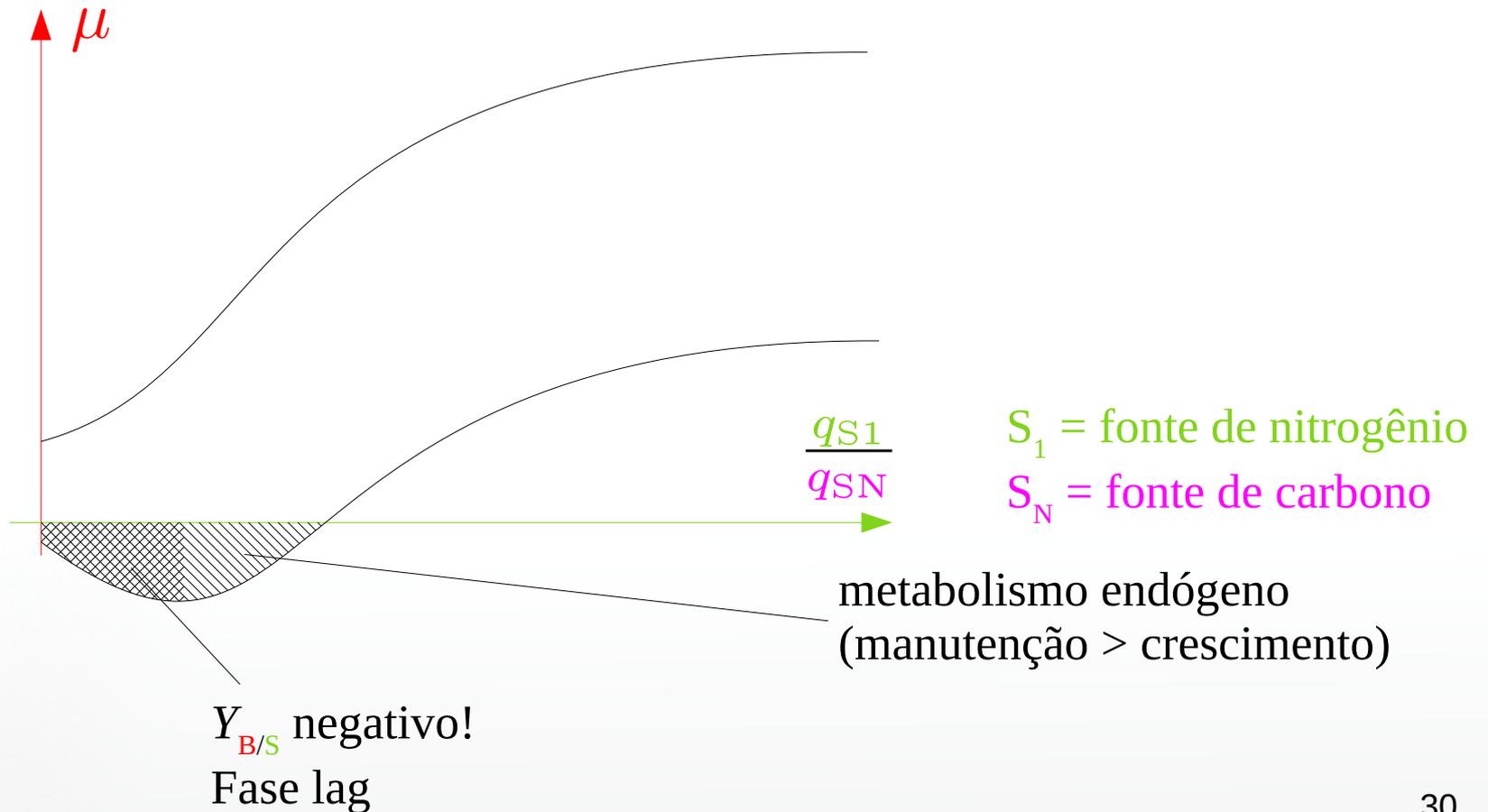
Gerção Automática

Refino Manual

Exemplo

Refino manual 2-casca

Exemplo N = 2:



O quê?

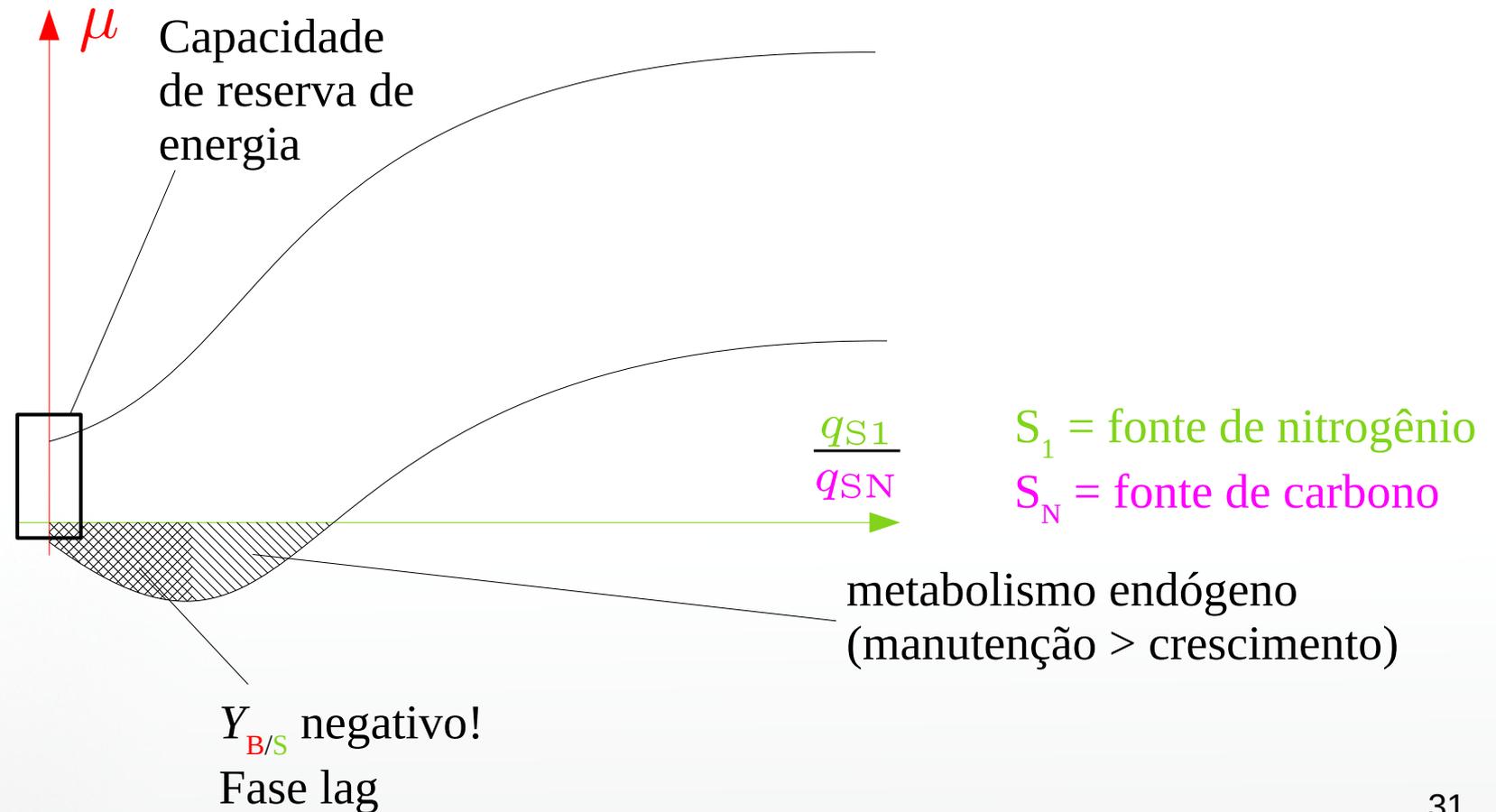
Geração Automática

Refino Manual

Exemplo

Refino manual 2-casca

Exemplo N = 2:



O quê?

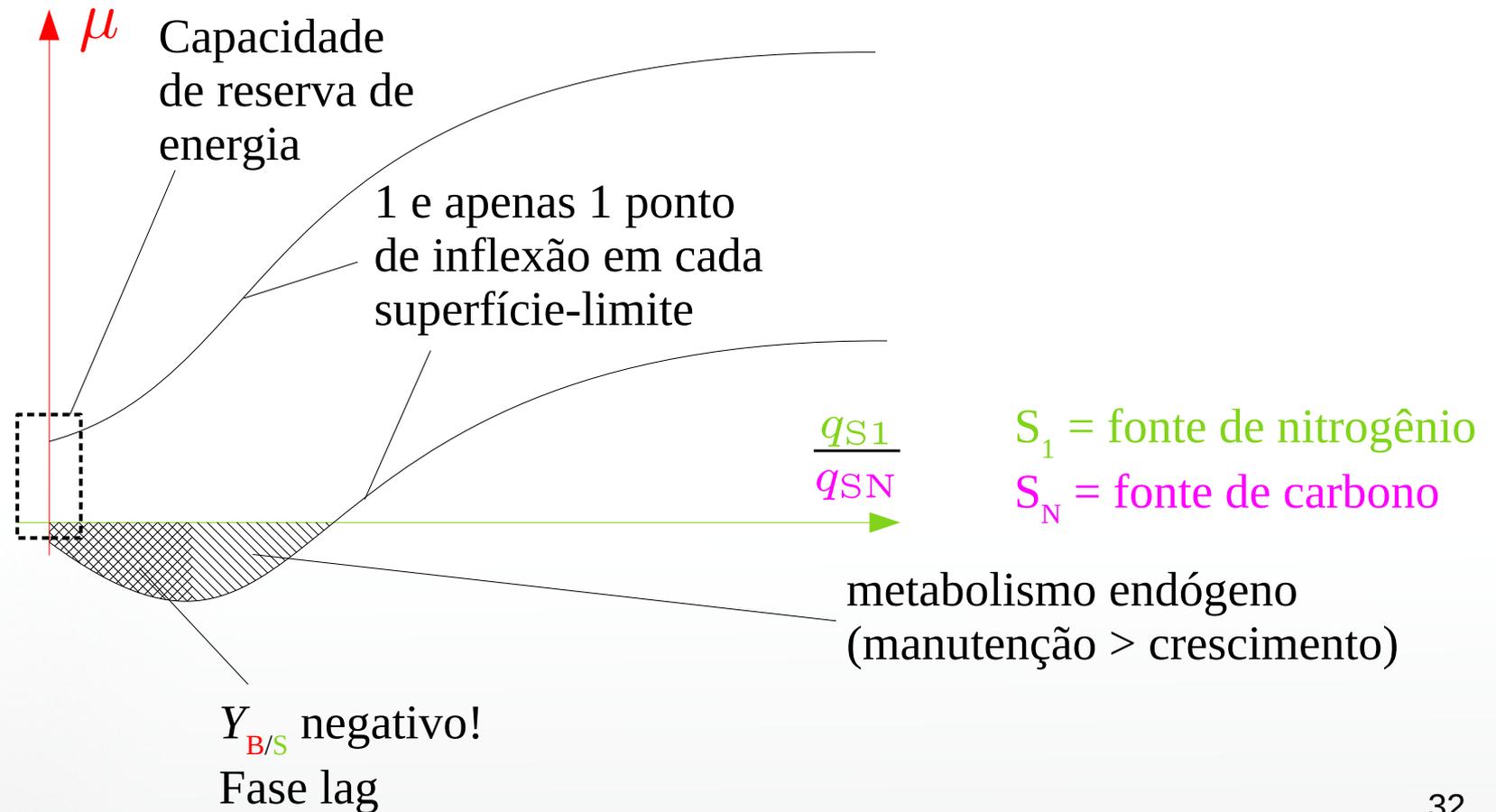
Gerção Automática

Refino Manual

Exemplo

Refino manual 2-casca

Exemplo N = 2:



O quê?

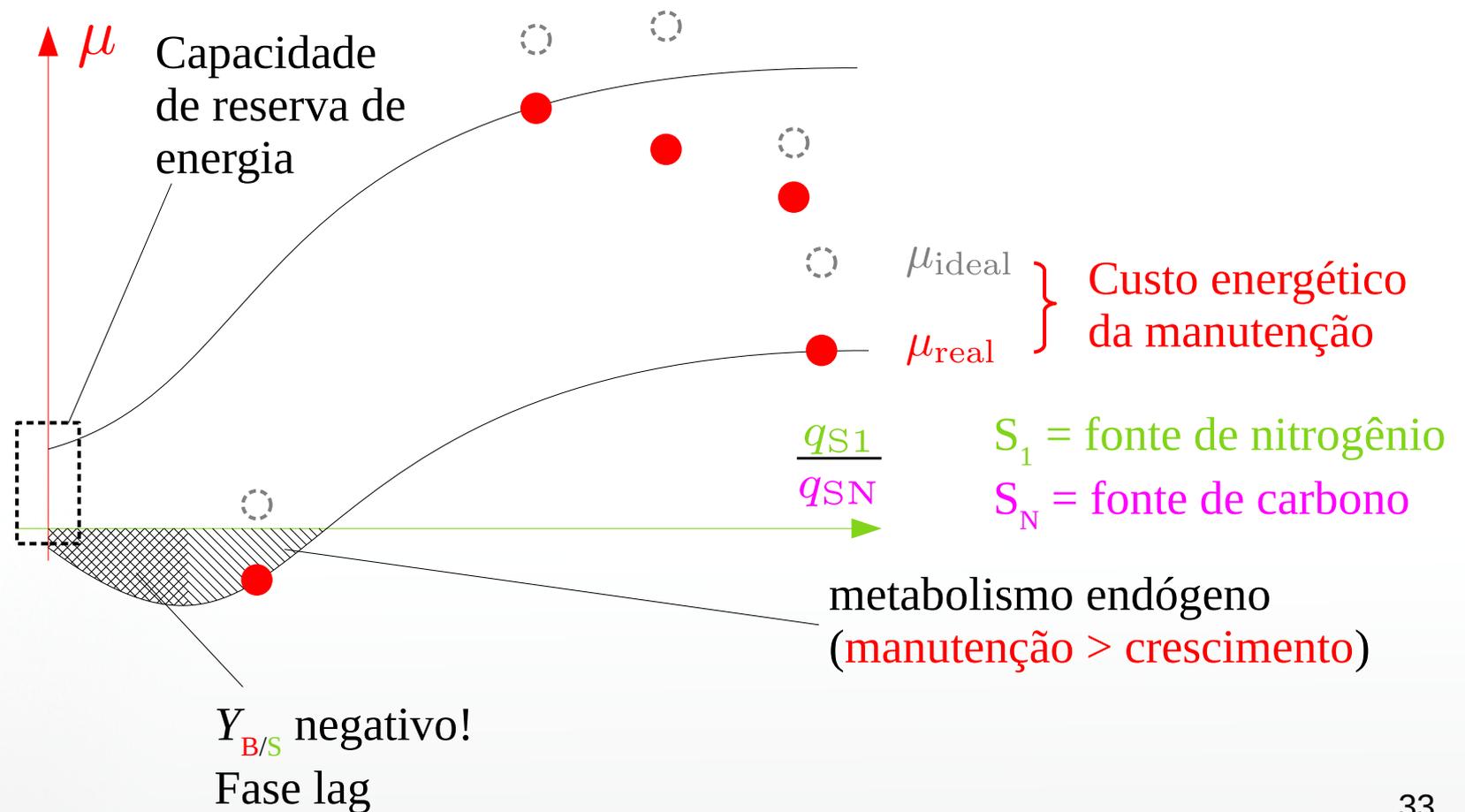
Gerção Automática

Refino Manual

Exemplo

Refino manual 2-casca

Exemplo N = 2:



O quê?

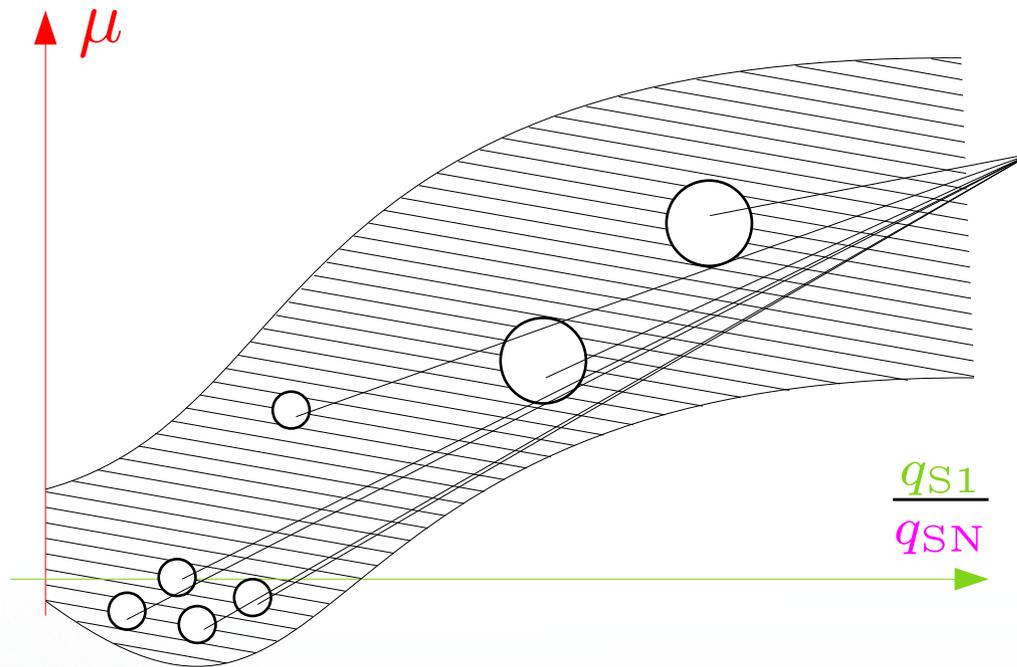
Gerção Automática

Refino Manual

Exemplo

Refino manual 2-casca

Exemplo N = 2:



Não existem “buracos”
dentro dessa região

S_1 = fonte de nitrogênio
 S_N = fonte de carbono

O quê?

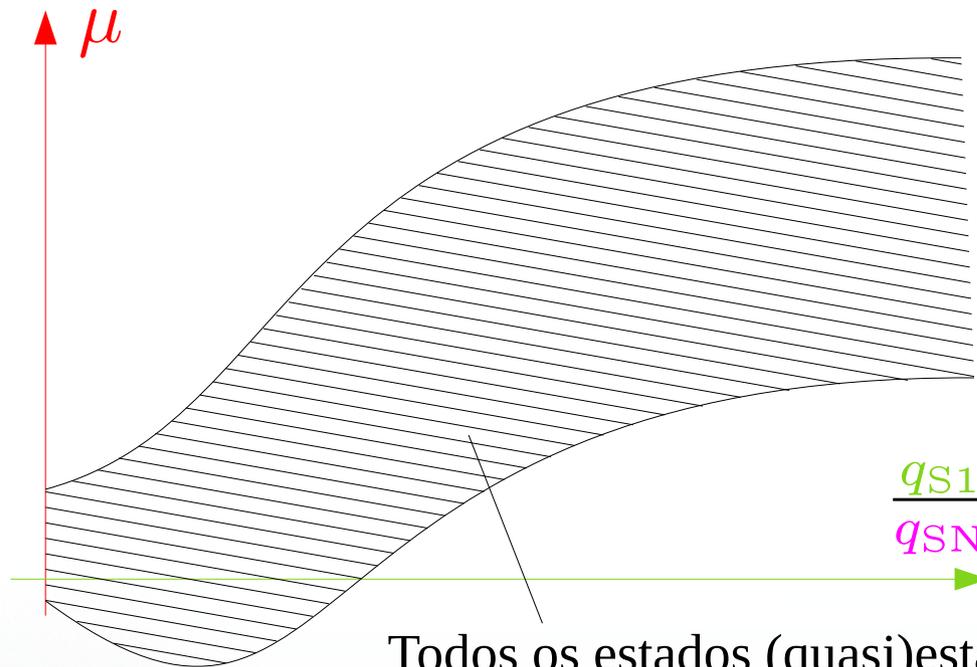
Gerção
Automática

Refino
Manual

Exemplo

Refino manual 2-casca

Exemplo N = 2:



S_1 = fonte de nitrogênio
 S_N = fonte de carbono

Todos os estados (quasi)estacionários possíveis do metabolismo são pontos dentro dessa região!

O quê?

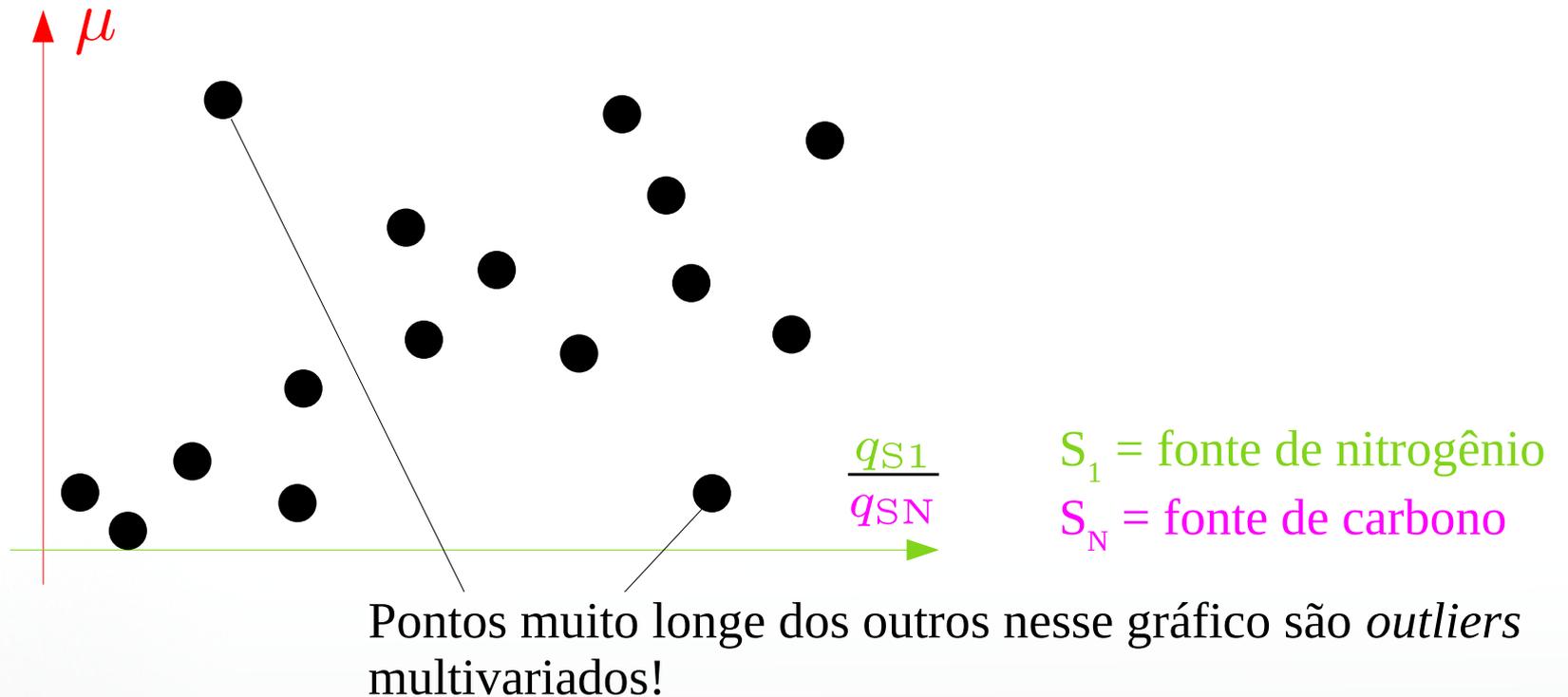
Gerção Automática

Refino Manual

Exemplo

Refino manual 2-casca

Exemplo N = 2:



O quê?

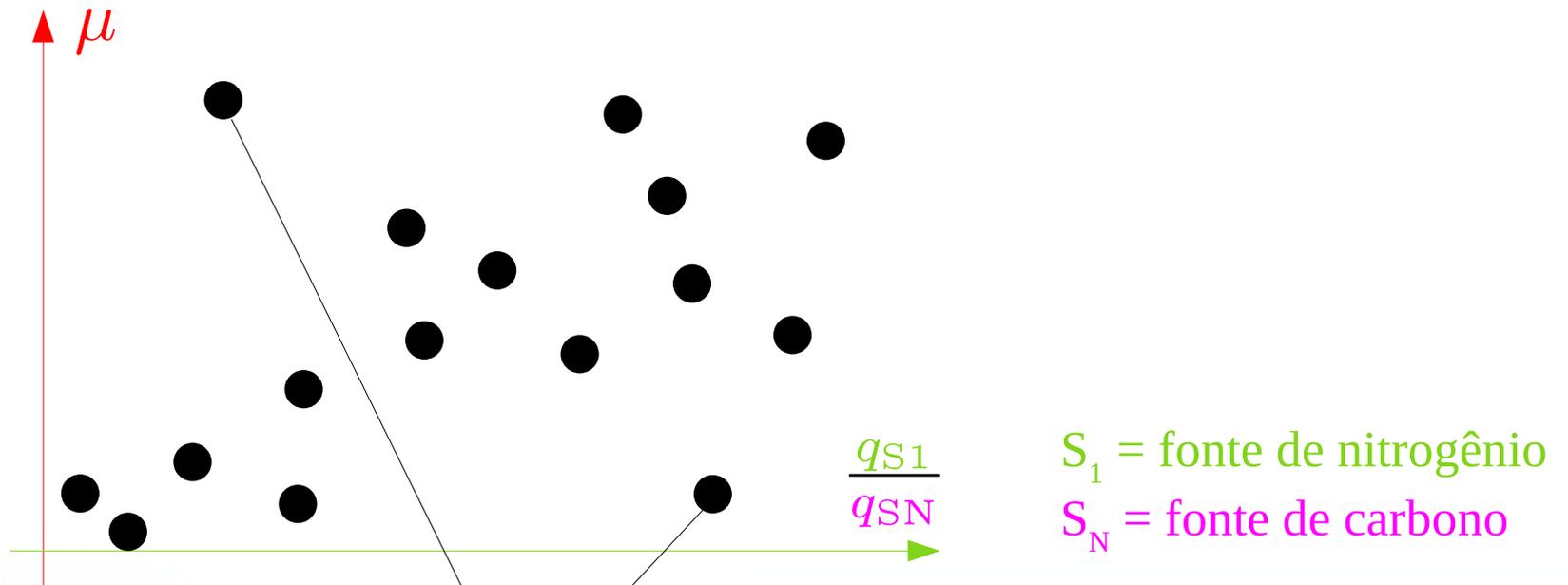
Gerção Automática

Refino Manual

Exemplo

Refino manual 2-casca

Exemplo $N = 2$:



A reconciliação de dados baseada no balanço de massa não deve gerar pontos como esses, então a N -casca serve como uma relação adicional para a reconciliação!

Refino manual N -casca

- 1) reconciliar os pontos de velocidades específicas usando balanço de massa + teoria da N -casca
- 2) ajustar as duas superfícies-limite (superior e inferior)
- 3) selecionar pontos das duas superfícies-limite para representá-las
- 4) para cada ponto, impor os q_s 's na rede metabólica e simulá-la maximizando o μ . Se 1 ponto cair fora da região, modificar a rede e repetir

O quê?

Gerção
Automática

Refino
Manual

Exemplo

Refino manual N -casca

O quê?

Geração
Automática

Refino
Manual

Exemplo

Resumindo: o refino manual via N -casca é um tipo de reconciliação, mas não de dados de biorreator e sim de uma rede metabólica. Esse método utiliza a mesma ideia da simulação de monte-carlo.

Refino manual *N*-casca

O quê?

Gerção
Automática

Refino
Manual

Exemplo

Se você escolher 1000 pontos representando as 2 superfícies-limite e refinar a rede metabólica até 950 caírem dentro da região entre as duas superfícies, então essa rede tem 95% de confiança.

Refino manual *N*-casca

O quê?

Geração Automática

Refino Manual

Exemplo

Se você escolher 1000 pontos representando as 2 superfícies-limite e refinar a rede metabólica até 950 caírem dentro da região entre as duas superfícies, então essa rede tem 95% de confiança.

a) E se as superfícies-limite foram ajustadas a pontos com 10% no erro de balanço de massa de carbono?

Refino manual N -casca

O quê?

Gerção
Automática

Refino
Manual

Exemplo

Se você escolher 1000 pontos representando as 2 superfícies-limite e refinar a rede metabólica até 950 caírem dentro da região entre as duas superfícies, então essa rede tem 95% de confiança.

b) Se N for 2 a confiança será igual àquela caso N seja 3?

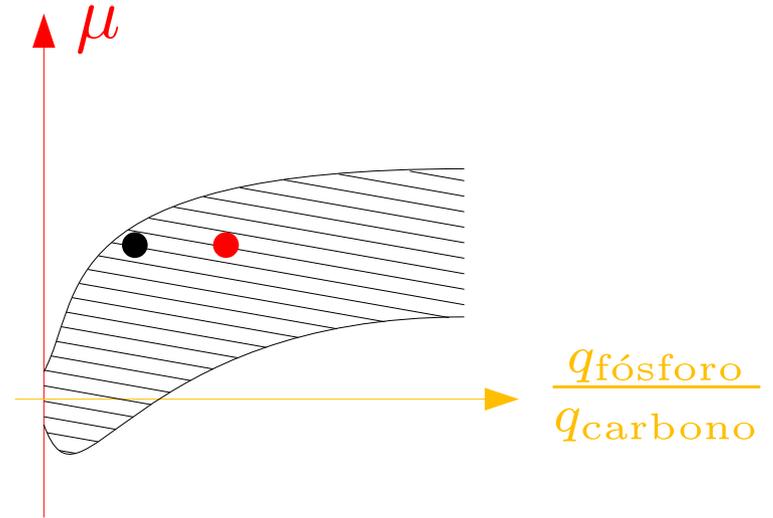
Refino manual N -casca

O quê?

Geração Automática

Refino Manual

Exemplo



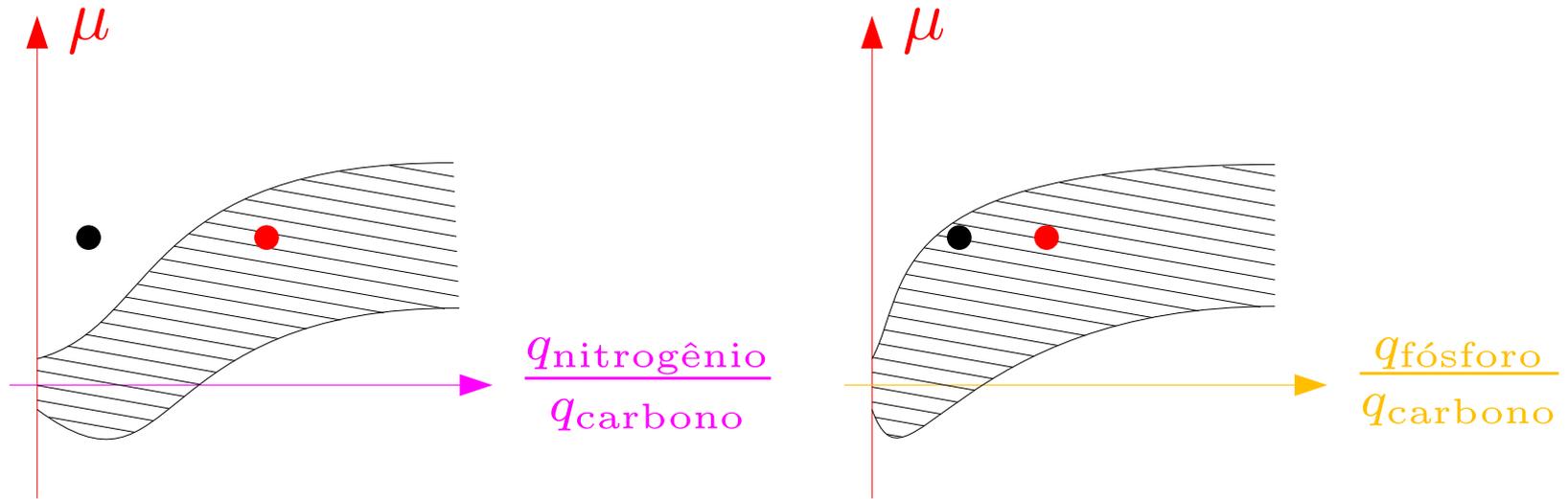
Refino manual *N*-casca

O quê?

Gerção
Automática

Refino
Manual

Exemplo



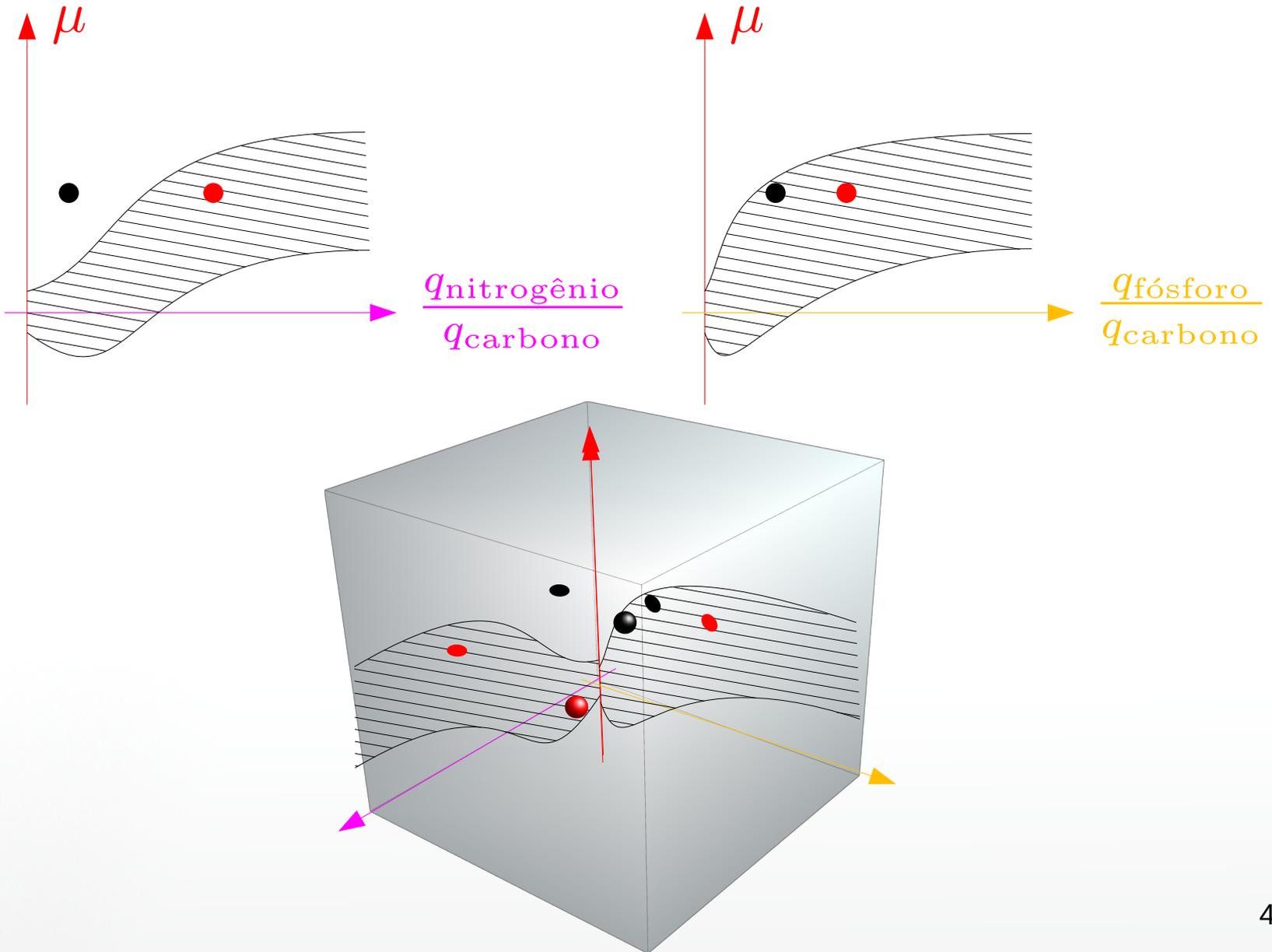
Refino manual *N*-casca

O quê?

Gerção Automática

Refino Manual

Exemplo



Refino manual N -casca

O quê?

Gerção
Automática

Refino
Manual

Exemplo

Se você escolher 1000 pontos representando as 2 superfícies-limite e refinar a rede metabólica até 950 caírem dentro da região entre as duas superfícies, então essa rede tem 95% de confiança, **no caso ideal de:**

- **0% de incerteza nos dados experimentais originais**
- **$N = 92$ (todos os elementos químicos naturais)**

Exemplo

O quê?

Arquivo SBML: principal informação é a matriz estequiométrica

Geração Automática

Jupyter notebook com plot 3D de uma 3-casca experimental junto com 3 redes metabólicas: draft, v12e e v20

Refino Manual

Exemplo

OBS: v20 tem 4 reações de biomassa diferentes

Exemplo

Energia de manutenção em cada ponto:
resolver todos os EGC's da rede e simular
de novo maximizando μ , com q_{NH_4} e q_{PO_4}
livres mas a composição da biomassa fixa.
A diferença entre os μ será o custo de
oportunidade da manutenção.

EGC: Energy-Generating Cycle:



