

Projeto de modelagem computacional da rede regulatória da *P. aeruginosa* CCBH4851.

Marcelo Trindade dos Santos
LNCC/MCTIC
msantos@lncc.br

Rio de Janeiro, 13 de Agosto de 2019.



Laboratório
Nacional de
Computação
Científica



Laboratório
Nacional de
Computação
Científica

Tópicos abordados:

- O que é modelagem?
- Organizações.
- Modelagem qualitativa com regras booleanas.
- Ciclos e motifs como partes organizacionais.
- Exemplos.

Um modelo é uma **representação** de um fenômeno ou objeto, feita com um determinado **propósito**.

Se o modelo não é adequado ao propósito eu posso tentar melhorá-lo:

No nosso caso,

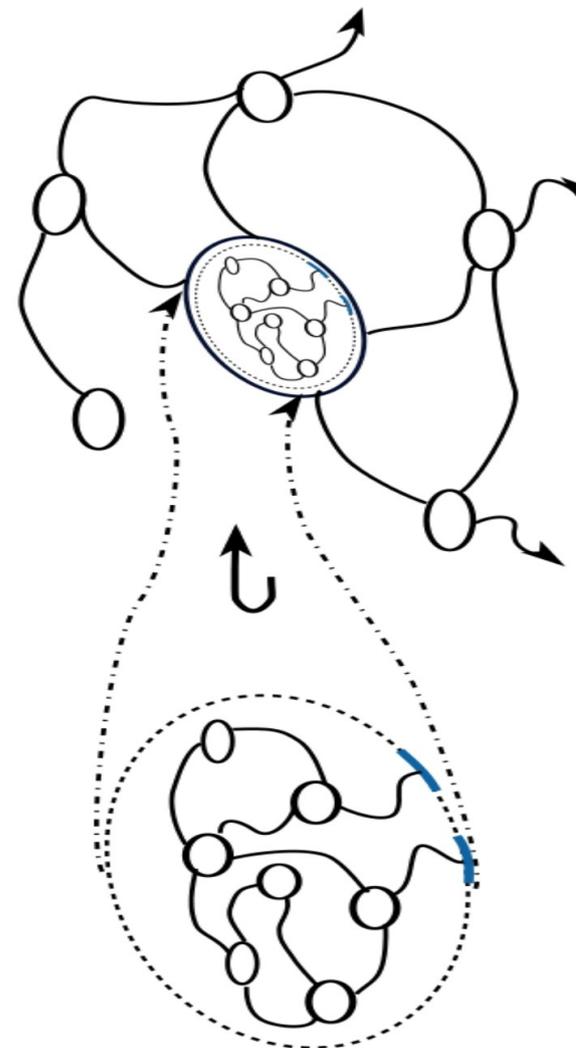
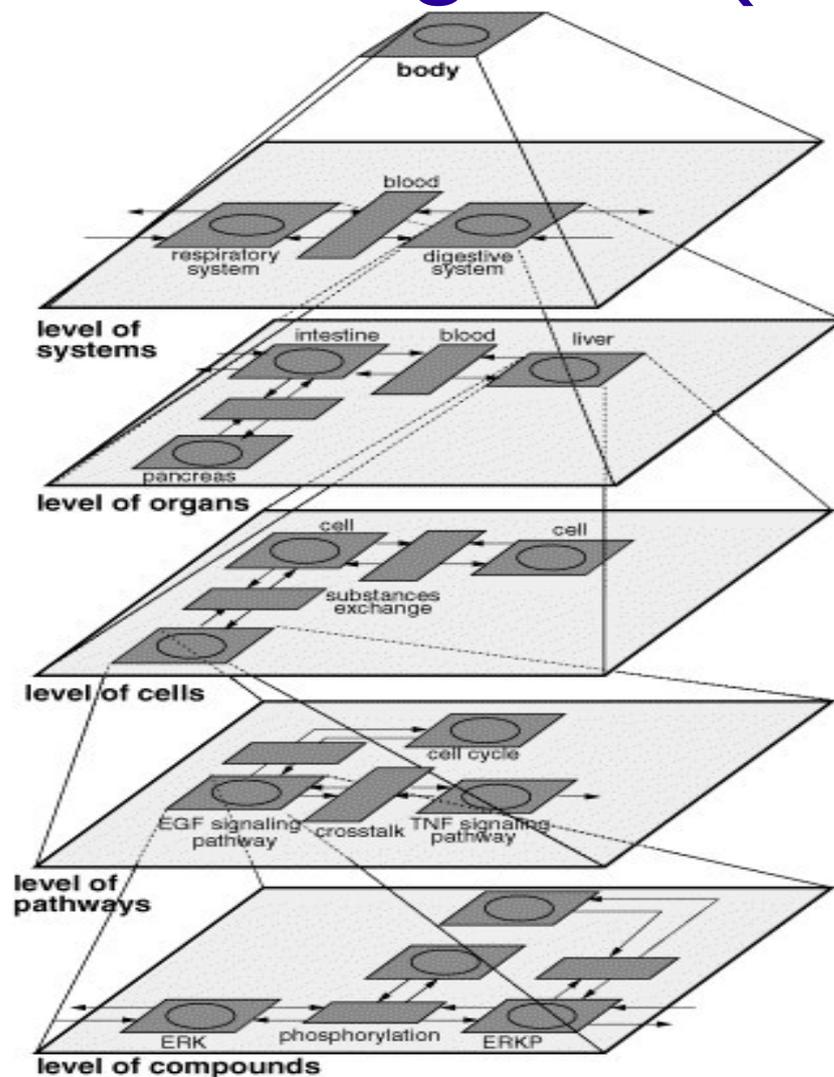
- Completando as partes faltantes e seus detalhes.
- Implementando a representação de volume e perspectiva.
- Implementando a representação de luz e sombra.
- Implementando a representação de vestimentas e adereços.

Por que fazer modelagem?

Quando conseguimos construir um bom modelo, este pode nos servir de **objeto** de estudo simplificado para conhecermos o problema modelado.

No caso do **propósito** ser **científico**, estudando um modelo podemos melhorar a formulação e teste de hipóteses.

Um modelo para organizações biológicas (*WP-graphs*):



Computers & Chemical Engineering ,Volume 29, Issue 3, 15 February 2005,p. 619–629

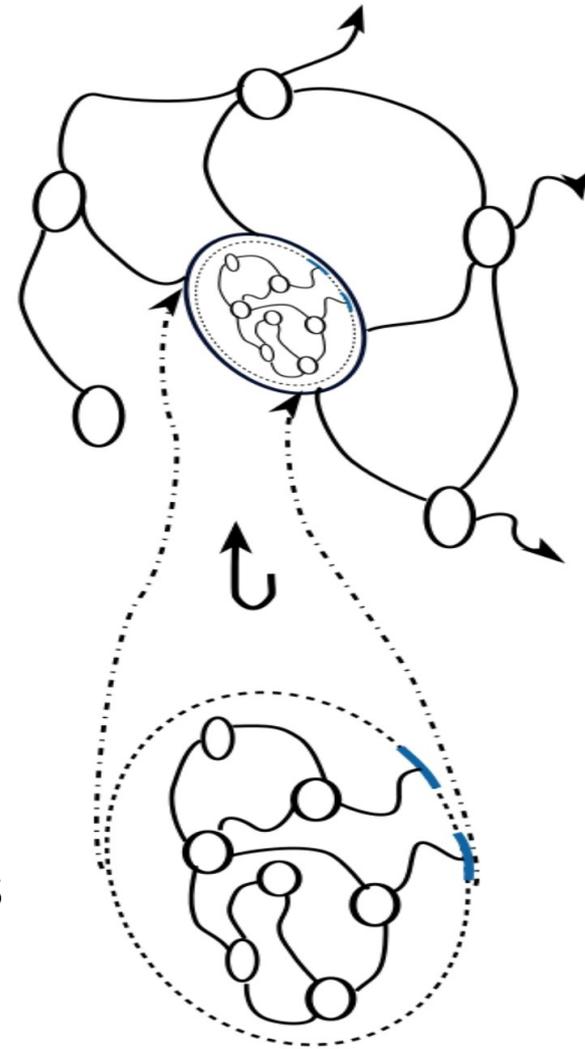
M.V. Kritz, From Systems to Organisations, Systems, 5, 23, 2017.

Um modelo para organizações biológicas (*WP-graphs*):

O conceito de organização é fundamental para uma abordagem sistêmica. Se faz necessário descrever tanto as partes quanto as interações presentes no objeto estudado.

Ambas têm o mesmo “**peso**”, ou “**importância**”.

Os *Wp-graphs* são hipergrafos estendidos



Exemplos de modelagem.

Santos Dumont,
Deslizador aquático N18, 1904.
Modelo para estudos
hidrodinâmicos

Modelos biológicos:
E.coli, camundongo, levedura,
etc...



Para construir um modelo, precisamos:

- Definir quais são os “objetos” observáveis considerados no sistema e quais ficarão fora dele.
- Definir para cada “objeto”, quais são seus aspectos observáveis (forma, cor, posição, peso, Ph, etc.).
- Definir quais são as interações entre os objetos e as características destas interações.
- Definir os contornos do sistema: “bordas” e condições de fronteira.
- Caracterizar as interações entre o sistema e o ambiente.
- Escolha do método de representação.

Resultados do Grupo de Modelagem de Bactérias Multirresistentes:

- Rede metabólica da *P. aeruginosa* CCBH 4851 produtora de Biomassa (Prof. Márcio Argolo).
- Rede regulatória da *P. aeruginosa* CCBH 4851.
- Um grande objetivo agora é modelar a dinâmica do acoplamento destes dois modelos.

ORIGINAL ARTICLE

Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 114: e190105, 2019 1 | 11

Gene regulatory network inference and analysis of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*

Fernando Medeiros Filho¹, Ana Paula Barbosa do Nascimento^{1/+}, Marcelo Trindade dos Santos², Ana Paula D'Alincourt Carvalho-Assef³, Fabricio Alves Barbosa da Silva¹

¹Fundação Oswaldo Cruz, Programa de Computação Científica, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

²Laboratório Nacional de Computação Científica, Petrópolis, RJ, Brasil

³Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Oswaldo Cruz, Laboratório de Pesquisa em Infecção Hospitalar, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Métodos de modelagem:

Podem ser quantitativos, qualitativos ou mistos.

- Utilizaremos métodos qualitativos por permitirem uma representação global das redes sem o conhecimento detalhado de inúmeros parâmetros:

Regras Lógicas

$$X(t+1) = T \cdot X(t)$$

Métodos de modelagem:

As regras de transição podem ser obtidas por uma análise caso a caso envolvendo a literatura ou de maneira genérica*:

Na ausência de inibidores ativos e presença de um ativador ativo o gene está ativo. Estará inativo de outra maneira.

*ISAAC CRESPO A NTONIO DEL SOL, A General Strategy for Cellular Reprogramming: The Importance of Transcription Factor Cross-Repression, STEM CELLS 2013;31:2127–2135

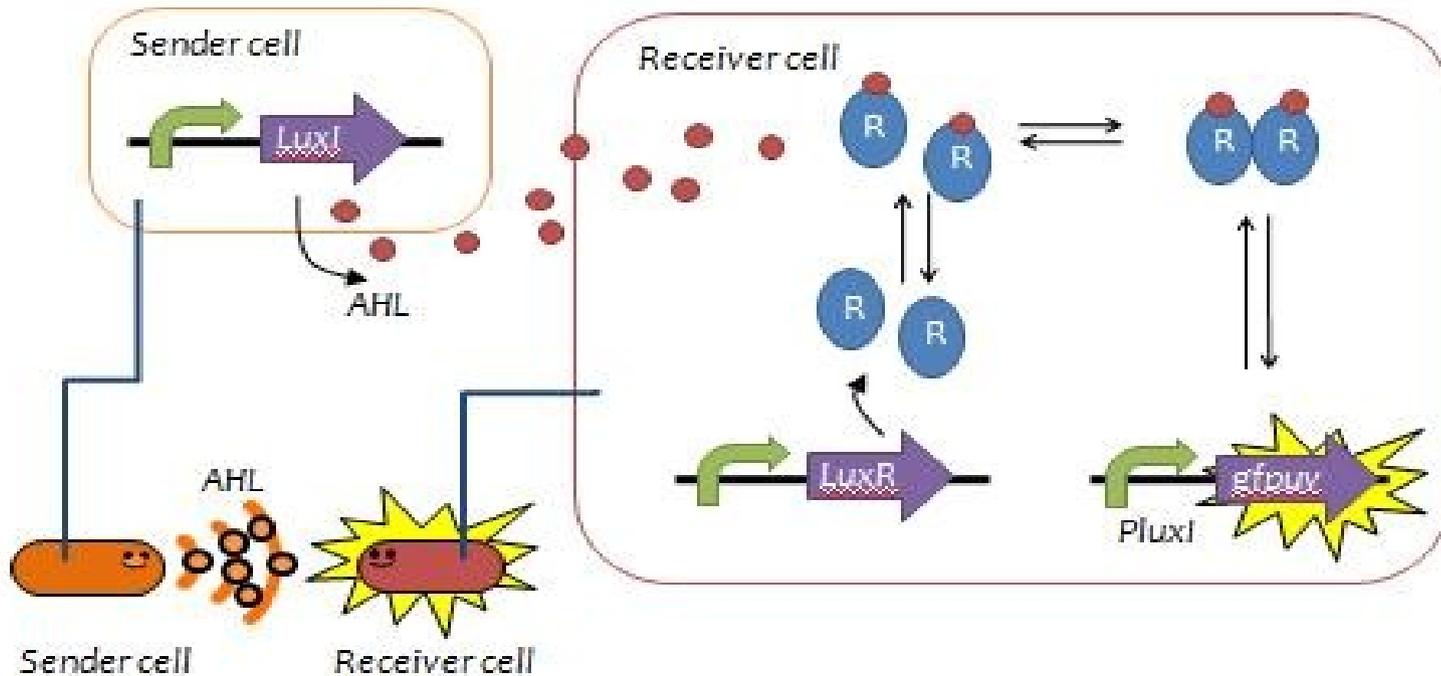
- Há **MUITAS** maneiras de se modelar computacional e/ou matematicamente o processo de regulação da transcrição. A abordagem via álgebras booleanas é uma delas.

Definição

Uma álgebra booleana é uma 6-upla $(X, \vee, \wedge, \neg, 0, 1)$ consistindo de um conjunto X munido de duas operações binárias \vee (também denotado por $+$, é geralmente chamado de "ou") e \wedge (também denotado por $*$ ou por \cdot , é geralmente chamado de "e"), uma operação unária \neg (também denotada por \sim ou por uma barra superior, é geralmente chamado de "não"), e duas constantes 0 (também denotada por \perp ou por F , geralmente chamado de "zero" ou de "falso") e 1 (também denotada por \top ou por V , geralmente chamado de "um" ou de "verdadeiro"), e satisfazendo os seguintes axiomas, para quaisquer $a, b, c \in X$:

Propriedades Associativas	$(a \vee b) \vee c = a \vee (b \vee c)$	$(a \wedge b) \wedge c = a \wedge (b \wedge c)$
Propriedades Comutativas	$a \vee b = b \vee a$	$a \wedge b = b \wedge a$
Propriedades Absortivas	$a \wedge (a \vee b) = a$	$a \vee (a \wedge b) = a$
Propriedades Distributivas	$a \vee (b \wedge c) = (a \vee b) \wedge (a \vee c)$	$a \wedge (b \vee c) = (a \wedge b) \vee (a \wedge c)$
Elementos Neutros	$a \vee 0 = a$	$a \wedge 1 = a$
Elementos Complementares	$a \vee \neg a = 1$	$a \wedge \neg a = 0$

Regulação da transcrição: O exemplo do Quorum Sensing.



O sistema de Quorum Sensing pode ser utilizado para :

- Controle populacional.
- Produção de biofilmes.
- Produção de Bioluminescência.

Regulação da transcrição: O exemplo do Quorum Sensing.

O estado sistema **pode** ser representado por:

$$X(t) = (I_low, I_high, R, R_I, Ctrl)$$

E sua evolução temporal no espaço de estados pode ser determinada pelo seguinte conjunto de regras booleanas com atualização síncrona (ou não):

$$\begin{aligned} I_high &= I_low \text{ AND NOT Ctrl} \\ R_I &= I_high \text{ AND R} \\ Ctrl &= R_I \end{aligned}$$

Observamos a presença de um

Ciclo (organização)

nesta pequena rede

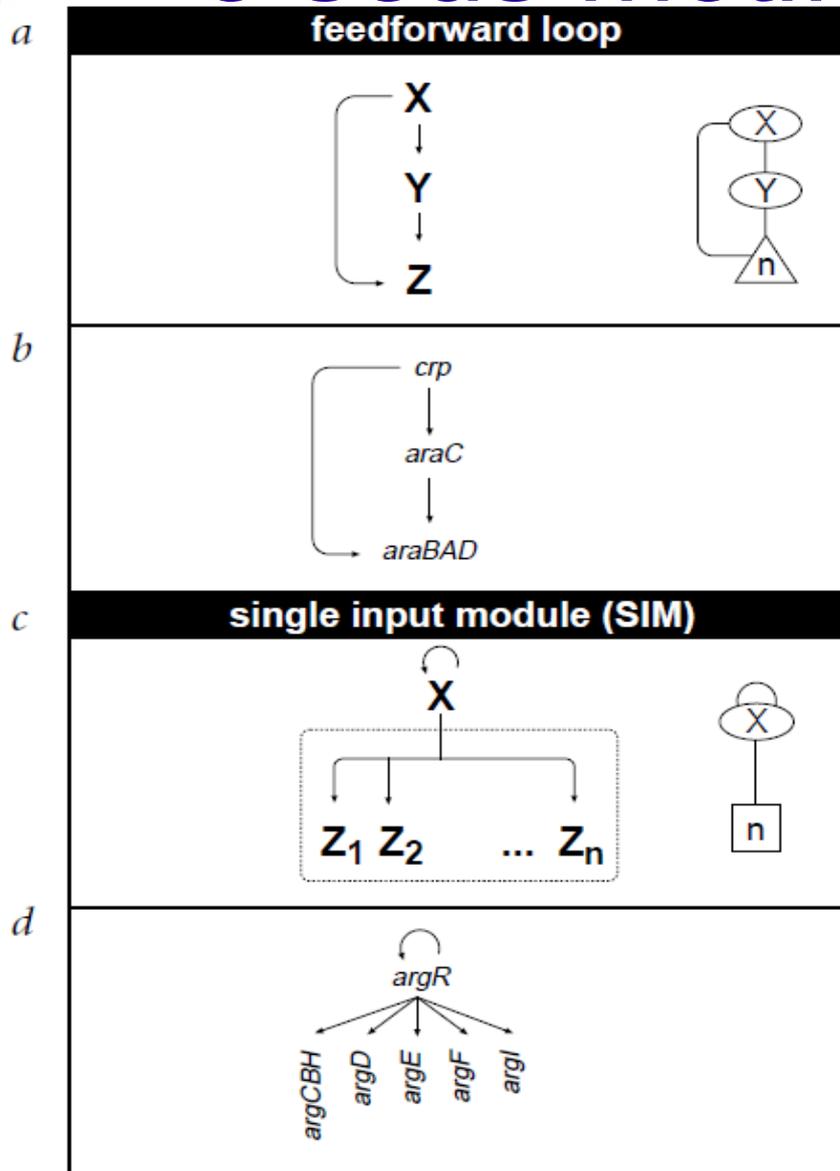
Prova-se matematicamente que*:

A presença de um **ciclo** em uma rede regulatória é uma condição **necessária** e **suficiente** para a ocorrência de um atrator em sua dinâmica (homeostase), e sua multiestabilidade (diferenciação).

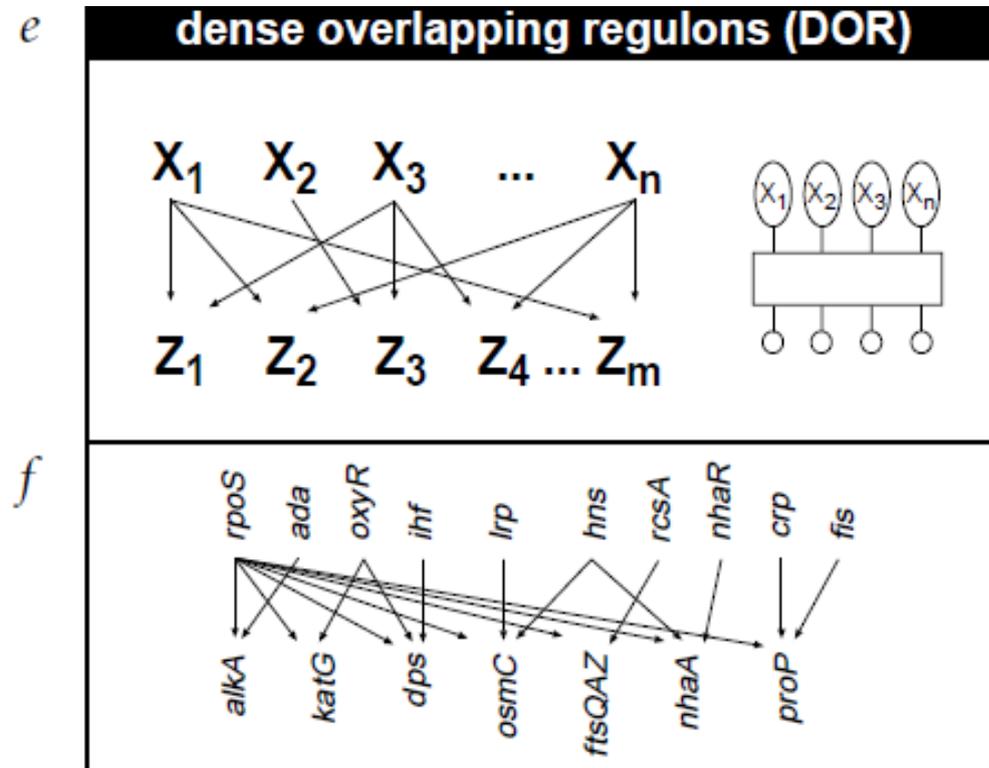
•
*Remy E, Ruet P. From minimal signed circuits to the dynamics of Boolean regulatory networks. Bioinformatics 2008;24(16):i220--i6.

- Um algoritmo bastante eficiente para enumeração de ciclos em grafos direcionados foi desenvolvido por Robert Tarjan: Tarjan, R., Enumeration of elementary circuits of a directed graph, TR 72-145, Dept. of Computer Science, Cornell University, Ithaca, N.Y., 14850, September 1972

A rede regulatória de *P. aeruginosa* e seus motifs (organizações)*.



Motifs são sub-grafos super-representados na rede.



A rede regulatória de *P. aeruginosa* e seus motivos.

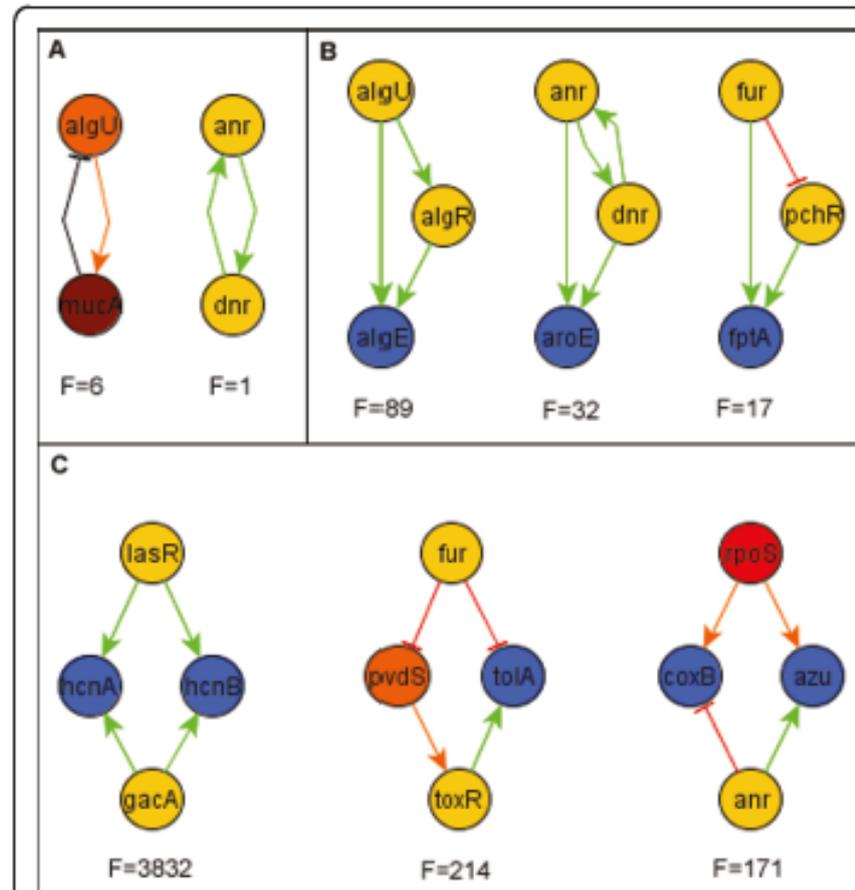


Figure 6 Cycles and network motifs in the TRN of *P. aeruginosa*. A) The most abundant two-node motifs are the negative feedback with a frequency (F) of six in the network. The three most abundant motifs of three and four nodes are shown, B) the most abundant motif of three nodes is the coherent feed forward loop with a frequency of 89, C) the most abundant four-node motif is the bi-fan with a frequency of 3832. The frequency of each cycle and motif was compared with the average of those found in 1000 random networks.



Regulation of Gene Expression in Flux Balance Models of Metabolism

MARKUS W. COVERT*, CHRISTOPHE H. SCHILLING‡ AND BERNHARD PALSSON*†

**Department of Bioengineering, University of California, San Diego, La Jolla, CA 92093-0412, U.S.A.*
and ‡*Genomatica, Inc., 5405 Morehouse, Suite 210, San Diego, CA 92121, U.S.A.*

(Received on 6 March 2001, Accepted in revised form on 19 July 2001)

Neste trabalho se propõe o acoplamento da rede regulatória à dinâmica do metabolismo, via um conjunto de expressões booleanas estabelecidas previamente a partir do conhecimento biológico.

Um conjunto de proteínas regulatórias vai chavear a transcrição dos genes cujos produtos têm ação enzimática.

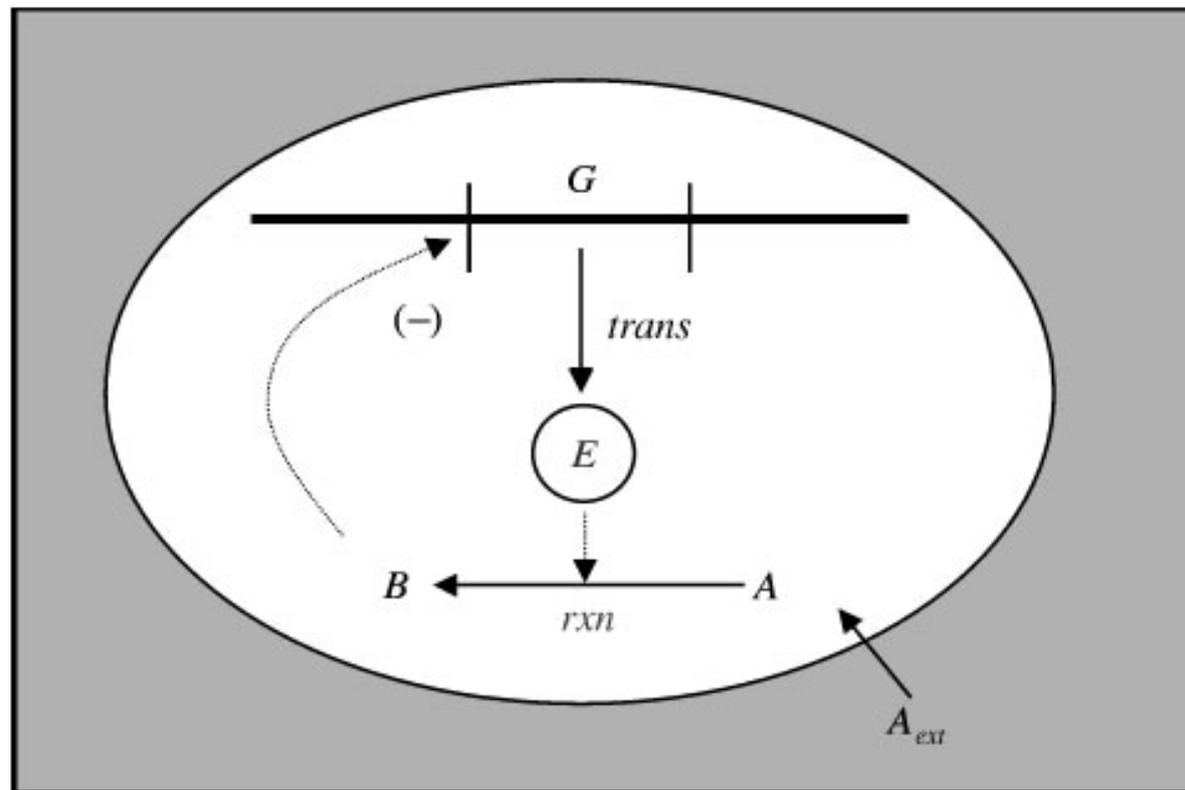


FIG. 3. A simple regulatory circuit. Here, gene G is transcribed by a process $trans$ to produce an enzyme E . This enzyme then catalyses a reaction rxn which converts substrate A into product B . Product B then represses transcription of G , leading to depletion of E .

$$trans = IF (G) \text{ AND NOT } (B).$$

$$rxn = IF (A) \text{ AND } (E).$$

Análise do Balanço de Fluxo* (FBA):

a Genome-scale metabolic reconstruction



b Mathematically represent metabolic reactions and constraints



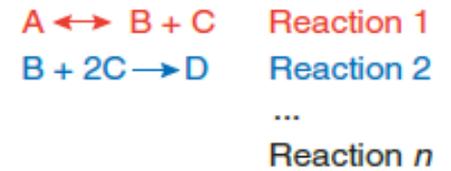
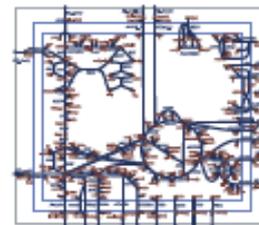
c Mass balance defines a system of linear equations



d Define objective function ($Z = c_1 \cdot v_1 + c_2 \cdot v_2 \dots$)



e Calculate fluxes that maximize Z



Metabolites	Reactions				Biomass	Glucose	Oxygen
	1	2	...	n			
A	-1						
B	1	-1					
C	1	-2					
D		1					
...							
m					-1		-1

Stoichiometric matrix, S

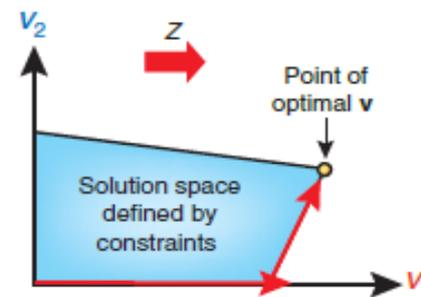
Fluxes, v

v_1
 v_2
...
 v_n
 $v_{biomass}$
 $v_{glucose}$
 v_{oxygen}

$S \cdot v = 0$

$$\begin{aligned}
 -v_1 + \dots &= 0 \\
 v_1 - v_2 + \dots &= 0 \\
 v_1 - 2v_2 + \dots &= 0 \\
 v_2 + \dots &= 0 \\
 \text{etc.}
 \end{aligned}$$

To predict growth, $Z = v_{biomass}$



Modelo para o Metabolismo Central de *E. Coli*:

REGULATED FLUX BALANCE MODELS

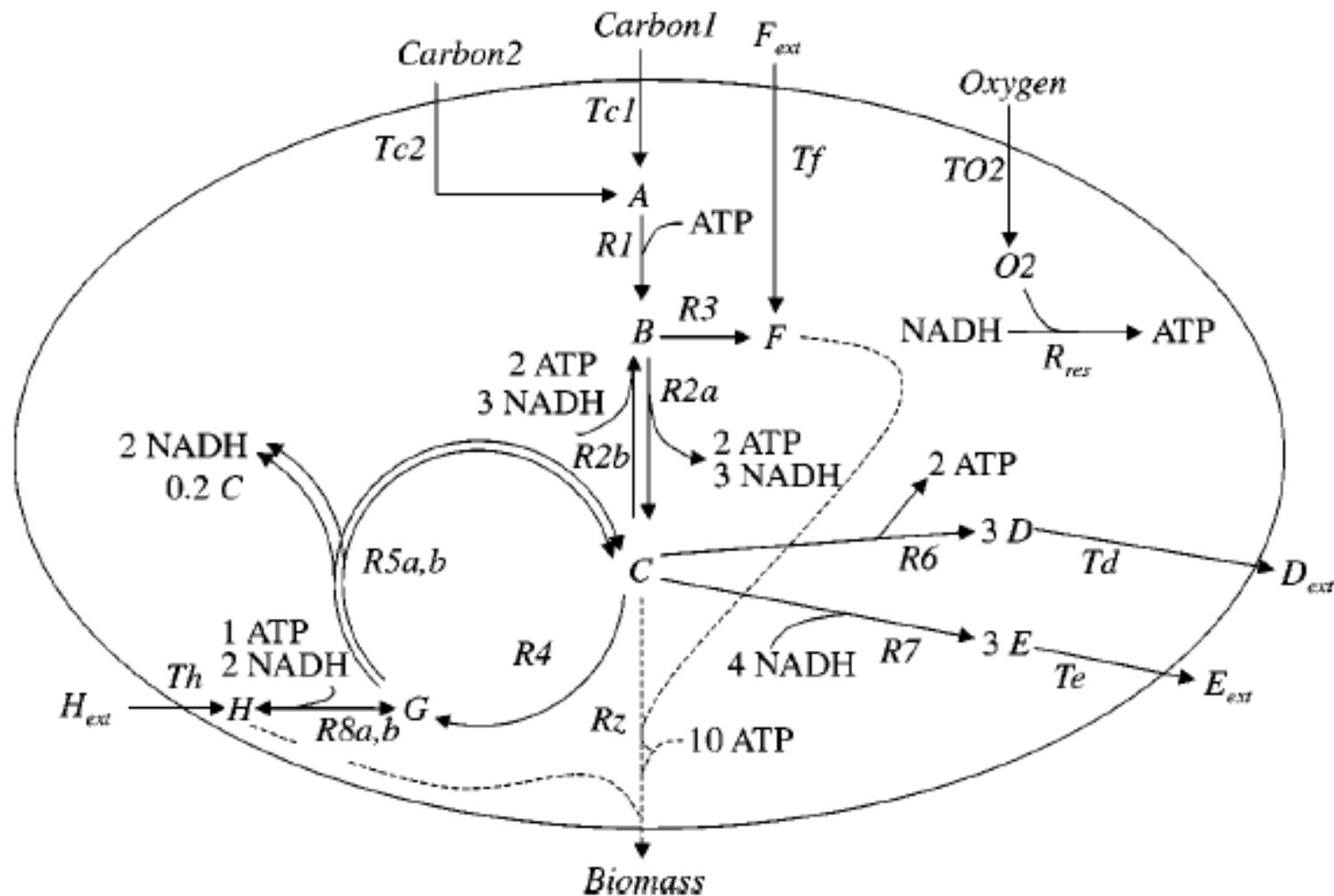


TABLE 1

Reactions and regulatory rules for the simplified metabolic network shown in Fig. 4. The network contains 20 reactions, seven of which are regulated by four regulatory proteins

Reaction	Name	Regulation
<i>Metabolic reactions</i>		
$-1 A - 1 \text{ ATP} + 1 B$	<i>R1</i>	
$-1 B + 2 \text{ ATP} + 2 \text{ NADH} + 1 C$	<i>R2a</i>	<i>IF NOT(RPb)</i>
$-1 C - 2 \text{ ATP} - 2 \text{ NADH} + 1 B$	<i>R2b</i>	
$-1 B + 1 F$	<i>R3</i>	
$-1 C + 1 G$	<i>R4</i>	
$-1 G + 0.8 C + 2 \text{ NADH}$	<i>R5a</i>	<i>IF NOT (RPO2)</i>
$-1 G + 0.8 C + 2 \text{ NADH}$	<i>R5b</i>	<i>IF RPO2</i>
$-1 C + 2 \text{ ATP} + 3 D$	<i>R6</i>	
$-1 C - 4 \text{ NADH} + 3 E$	<i>R7</i>	<i>IF NOT (RPb)</i>
$-1 G - 1 \text{ ATP} - 2 \text{ NADH} + 1 H$	<i>R8a</i>	<i>IF NOT (RPh)</i>
$+1 G + 1 \text{ ATP} + 2 \text{ NADH} - 1 H$	<i>R8b</i>	
$-1 \text{ NADH} - 1 \text{ O}_2 + 1 \text{ ATP}$	<i>Rres</i>	<i>IF NOT (RPO2)</i>
<i>Transport processes</i>		
$-1 \text{ Carbon1} + 1 A$	<i>Tc1</i>	
$-1 \text{ Carbon2} + 1 A$	<i>Tc2</i>	<i>IF NOT(RPc1)</i>
$-1 F_{ext} + 1 F$	<i>Tf</i>	
$-1 D + 1 D_{ext}$	<i>Td</i>	
$-1 E + 1 E_{ext}$	<i>Te</i>	
$-1 H_{ext} + 1 H$	<i>Th</i>	
$-1 \text{ Oxygen} + 1 \text{ O}_2$	<i>To2</i>	
<i>Maintenance and growth processes</i>		
$-1 C - 1 F - 1 H - 10 \text{ ATP} + 1 \text{ Biomass}$	<i>Growth</i>	
<i>Regulatory proteins</i>		
	<i>RPO2</i>	<i>IF NOT(Oxygen)</i>
	<i>RPc1</i>	<i>IF Carbon1</i>
	<i>RPh</i>	<i>IF (v_{Th} > 0)</i>
	<i>RPb</i>	<i>IF (v_{R2b} > 0)</i>

Trabalharemos com alguns exemplos:

- Exemplo 1: Crescimento na presença de duas fontes de carbono sendo uma a preferencial:

$$RPc1 = IF (Carbon1),$$

$$tTc2 = IF NOT (RPc1),$$

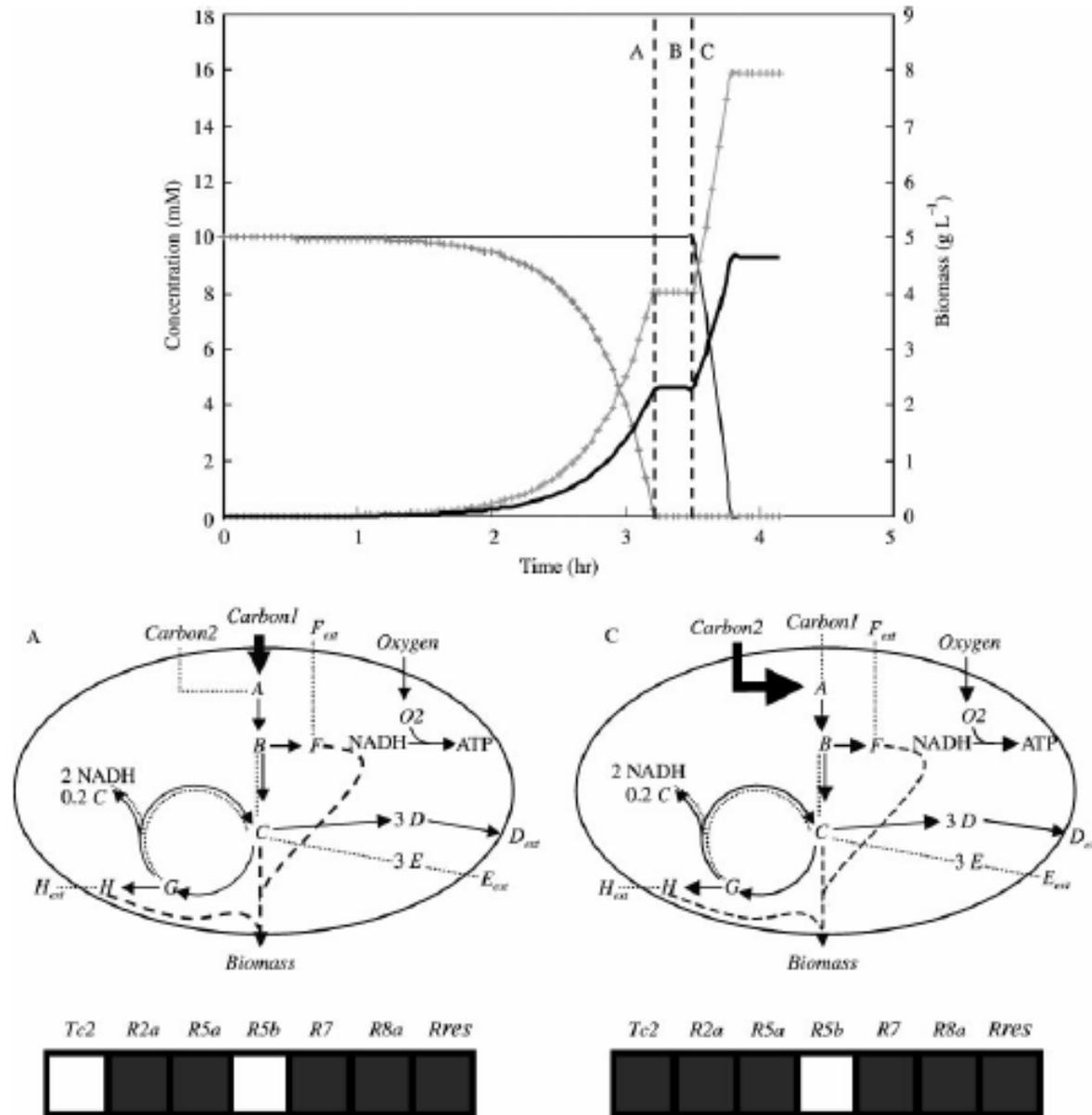
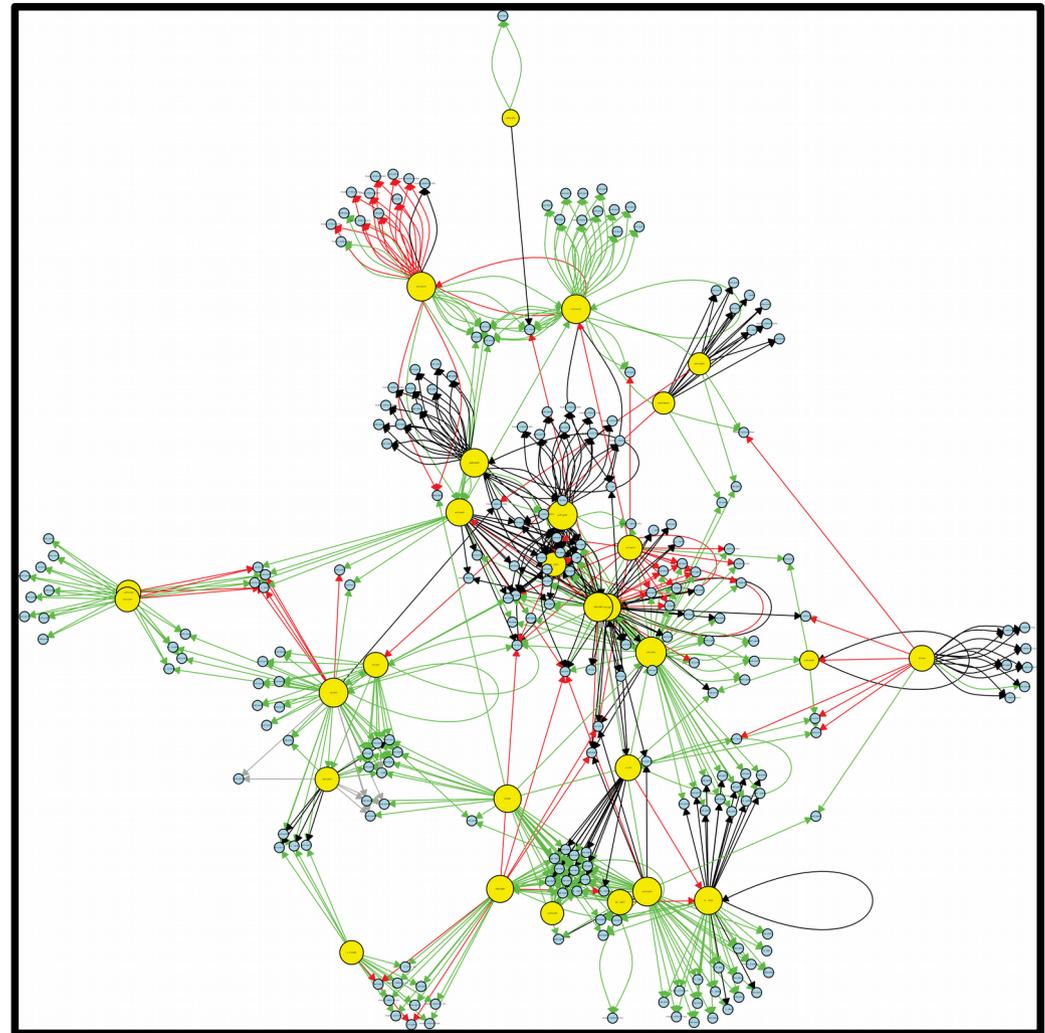
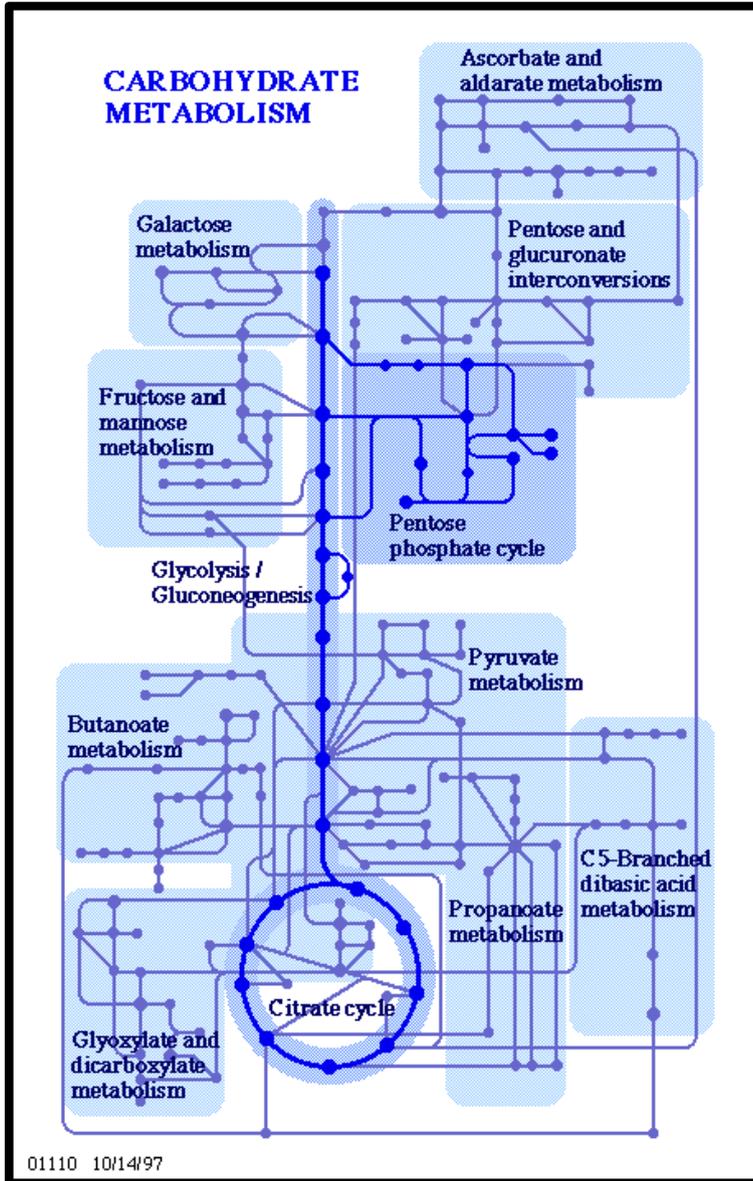


FIG. 5. Catabolite repression in the simplified network. A time profile of calculated growth and metabolism is shown (top), divided into three regions with dotted lines. For regions A and C, the network maps are shown (bottom) with the inactive fluxes denoted by thin dotted lines and the active fluxes shown as solid, or in the case of the biomass flux dashed, black lines. Certain fluxes are emphasized with a thick arrow to indicate the change in flux distributions due to regulation. Underneath each network map is an *in silico* array which shows whether a particular reaction is activated (dark gray) or inactivated (white). Labels correspond to metabolites shown in Table 1, with three additions: C1 = Carbon1, C2 = Carbon2, X = Biomass. (---) C1; (—) C2; (---) D; (—) X.

Objetivo: Metabolismo X Regulação



Conclusões:

- A análise da dinâmica será muito facilitada pela organização da rede regulatória.
- Identificação das partes (ciclos e motivos) e suas interações.
- Identificação de módulos funcionais.
- Determinação das regras de transição para evolução temporal.

Colaboradores:

- Fabricio Alves Barbosa da Silva (Fiocruz)
- Ana Paula D'Alincourt Carvalho-Assef (Fiocruz)
- Fernando Medeiros Filho (Fiocruz)
- Ana Paula Barbosa do Nascimento (Fiocruz)
- Vitor Oliveira (LNCC)

Fim!