



# ***Aproximaciones sistémicas para afrentar la Complejidad Biología***

Luis Acerenza

Laboratorio de Biología de Sistemas  
Facultad de Ciencias  
Universidad de la República  
Montevideo, Uruguay

aceren@fcien.edu.uy



*Seminario de Probabilidad y Estadística  
Facultad de Ciencias (2016)*



## Contenidos

- 1900-2000: Un siglo de reduccionismo en la Bioquímica
- 2000: En la cima del reduccionismo (Proyecto Genoma Humano)
- Algunos aspectos de la Complejidad Celular
- Aproximaciones sistémicas a la Complejidad Celular
- Un ejemplo de estrategia modular
- Reflexiones finales

1900-2000

Un siglo de reduccionismo  
en la Bioquímica

# El método reduccionista

El método reduccionista en la Bioquímica nació con:

Descubrimiento de la fermentación libre de células por Eduard Buchner (1897)

(para transformar azúcares en etanol no se necesitan células)



La mayor parte del conocimiento actual de Bioquímica y Biología es el fruto de un siglo de reduccionismo

# Método Reduccionista:

Presentación de E. Buchner  
Premio Nobel de Química (1907)

“For the chemical investigation of the cell contents, **it was necessary** to remove the membrane and the plasma envelope by **crushing them to pieces.**”

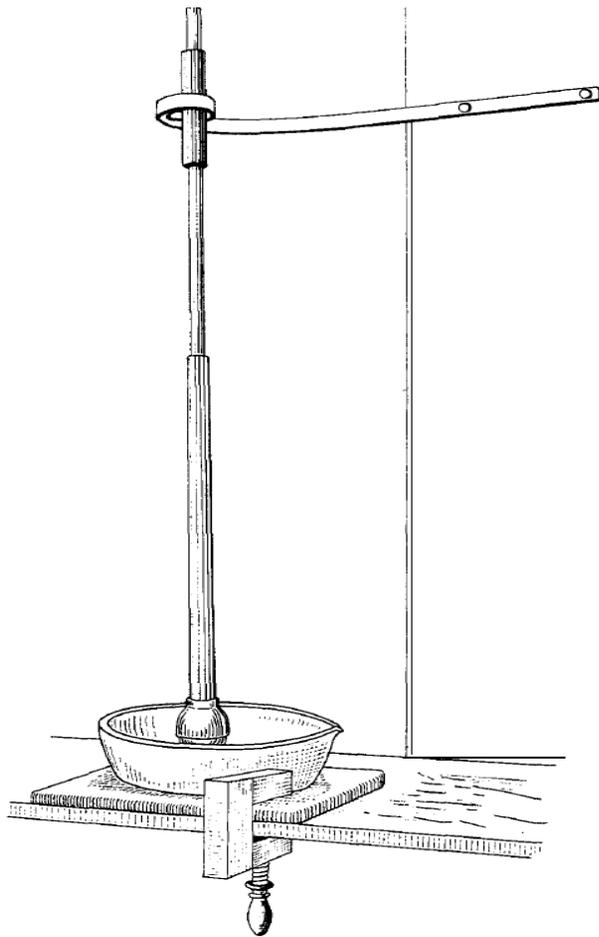


Fig.2. Device for crushing yeast<sup>13</sup>.

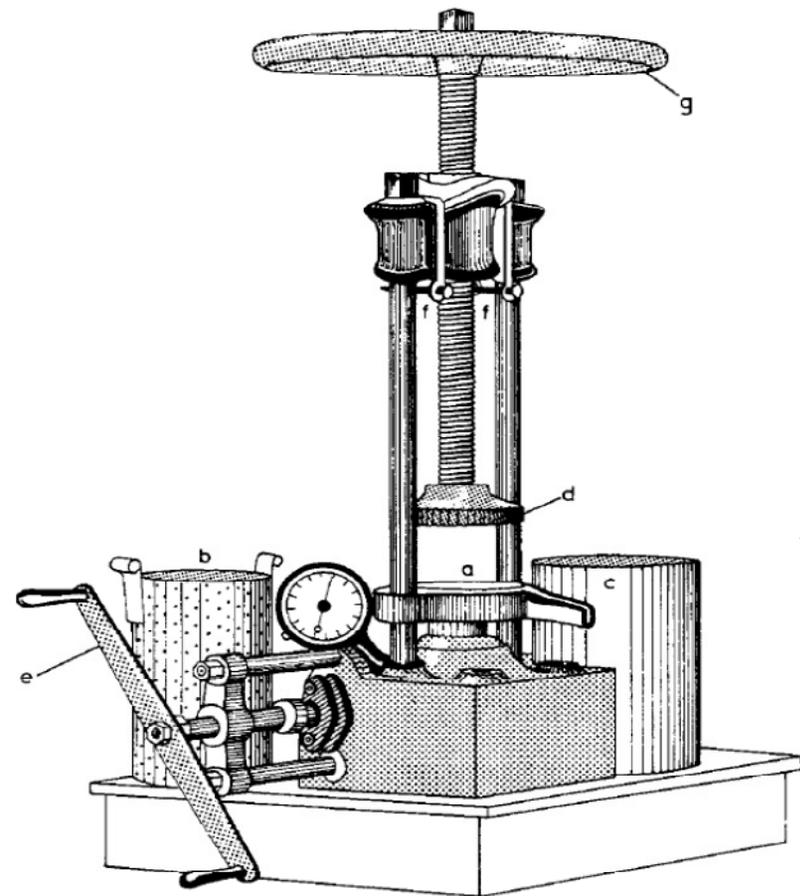


Fig. 4. Hydraulic press, supplied by Brinck and Hübner, machine manufacturers, Mannheim<sup>15</sup>.

2000

En la cima del reduccionismo  
(Proyecto Genoma Humano)

# 2000

“Con este nuevo conocimiento profundo, la humanidad está a punto de conseguir un inmenso nuevo poder para curar. Revolucionará el diagnóstico, la prevención y el tratamiento de la mayor parte, si no todas, las enfermedades humanas”

*Bill Clinton, Casa Blanca*

*Celebración de la culminación del primer borrador de la secuencia del genoma humano*

1er Congreso Internacional de Biología de Sistemas

Tokio, Japón

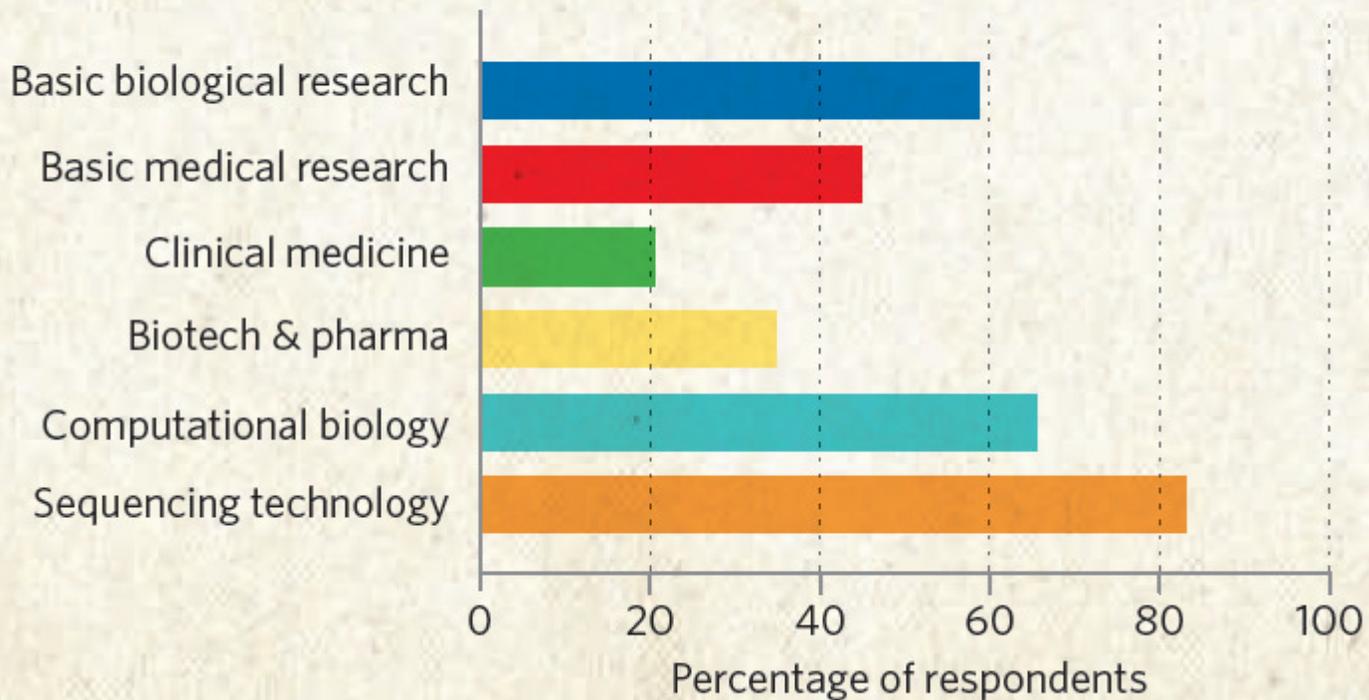
(Chairman: Hiroaki Kitano)

2010

Proyecto Genoma Humano:  
evaluación del impacto

## NATURE|GENOME SURVEY 2010

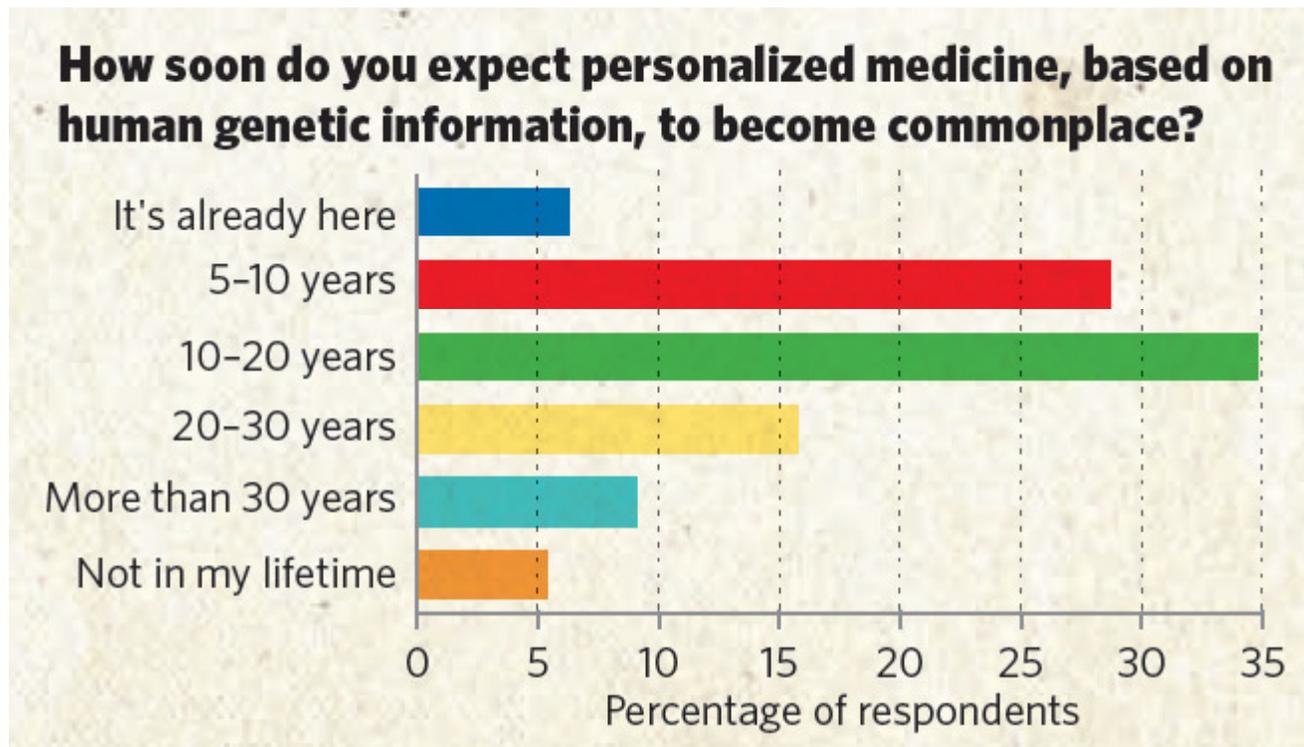
**Which areas have benefited significantly from the sequencing of human genomes?**



Se encuestaron unos 1000 científicos de las Ciencias de la Vida

**'Science after the sequence' (Nature 465, 1000-1001; 2010).**

## NATURE|GENOME SURVEY 2010



**'Science after the sequence' (*Nature* 465, 1000-1001; 2010).**

*¿Por qué el  
Proyecto Genoma Humano  
no colmó las expectativas  
que había generado?*

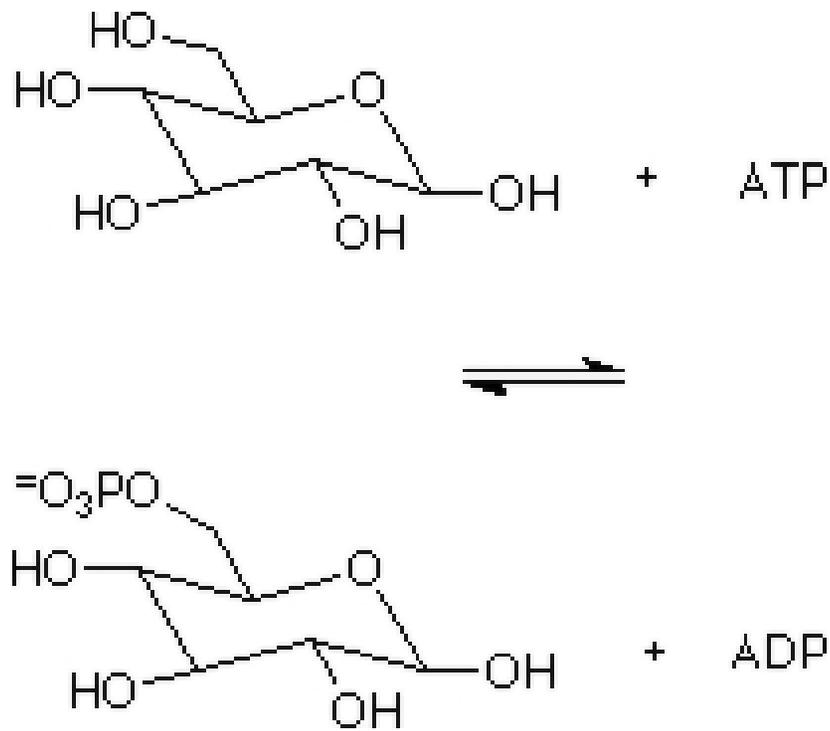
*Seres vivos, inclusive los más  
simples, son complejos!*

# Algunos aspectos de la Complejidad Celular

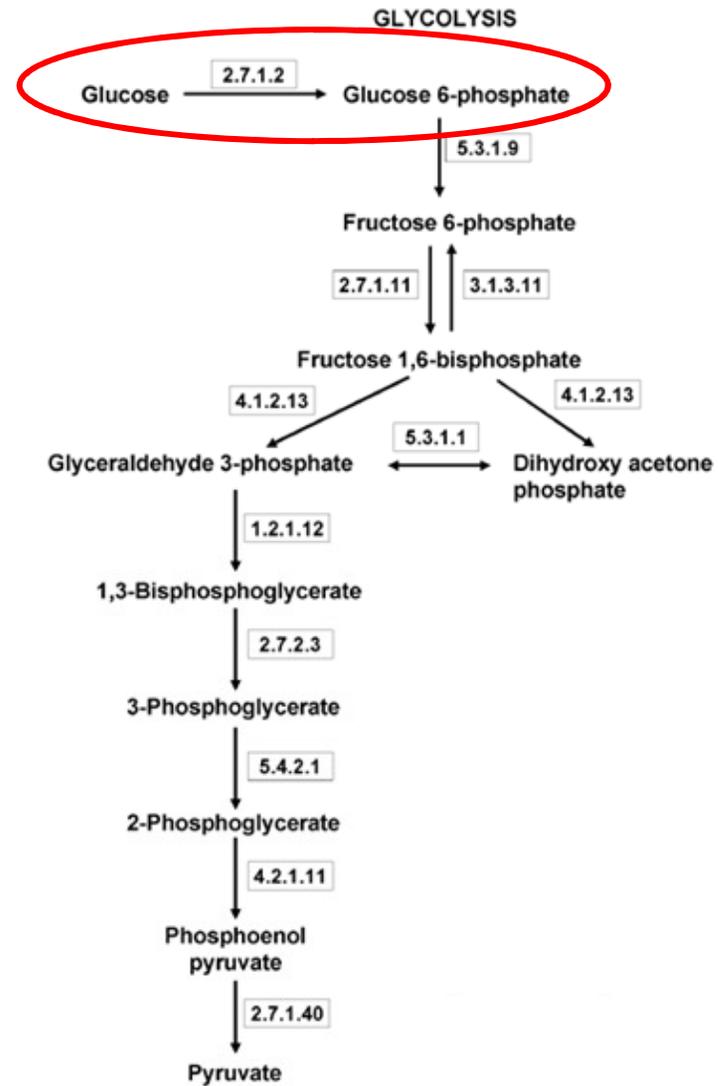
# Complejidad Estructural

# Moléculas se transforman mediante reacciones

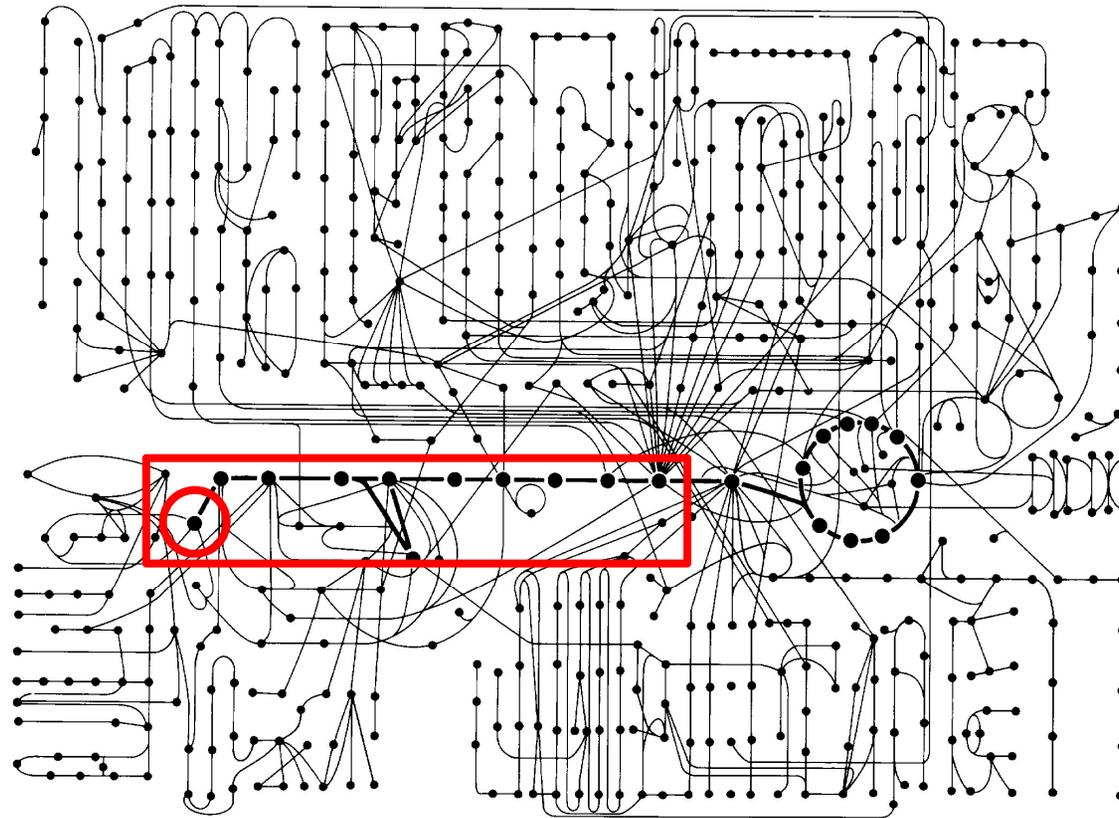
*(fosforilación de la glucosa)*



Reacciones forman  
cadenas  
*(vía glicolítica)*

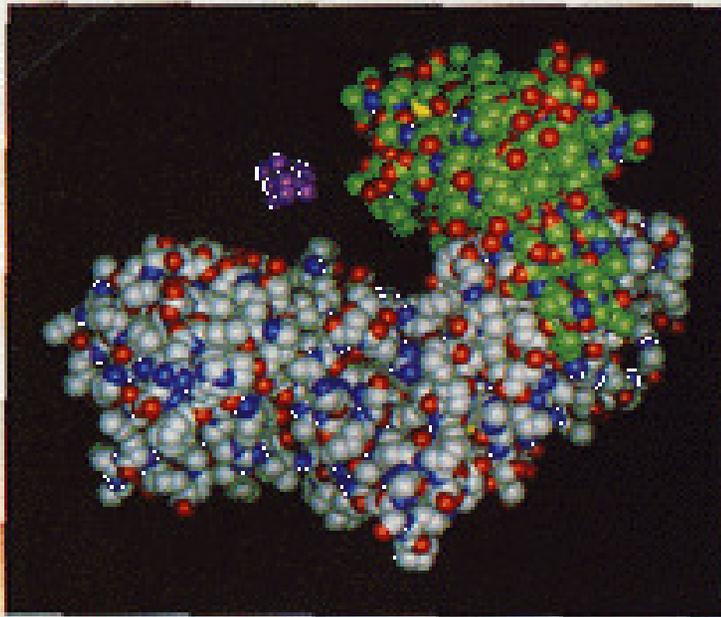


# Cadenas de reacciones forman redes *(el metabolismo)*



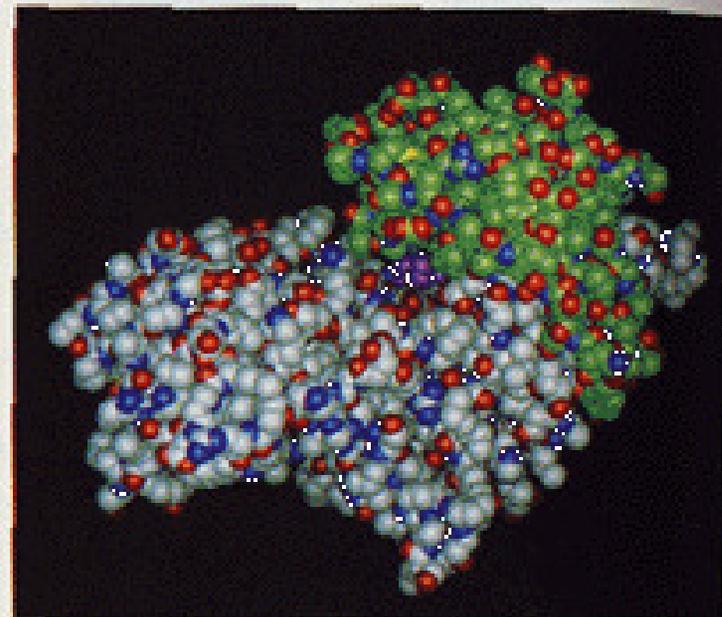
*A la red, ingresan nutrientes que se emplean para mantenimiento, crecimiento y adaptación*

# Reacciones son catalizadas por enzimas (proteína: *hexoquinasa*)



(a)

FIGURE 16-5. A space-filling model of a subunit of (a) yeast hexokinase and (b) its complex with glucose (purple). Note the prominent bilobal appearance of the free enzyme (the C atoms in the small lobe are shaded green, whereas those in the large

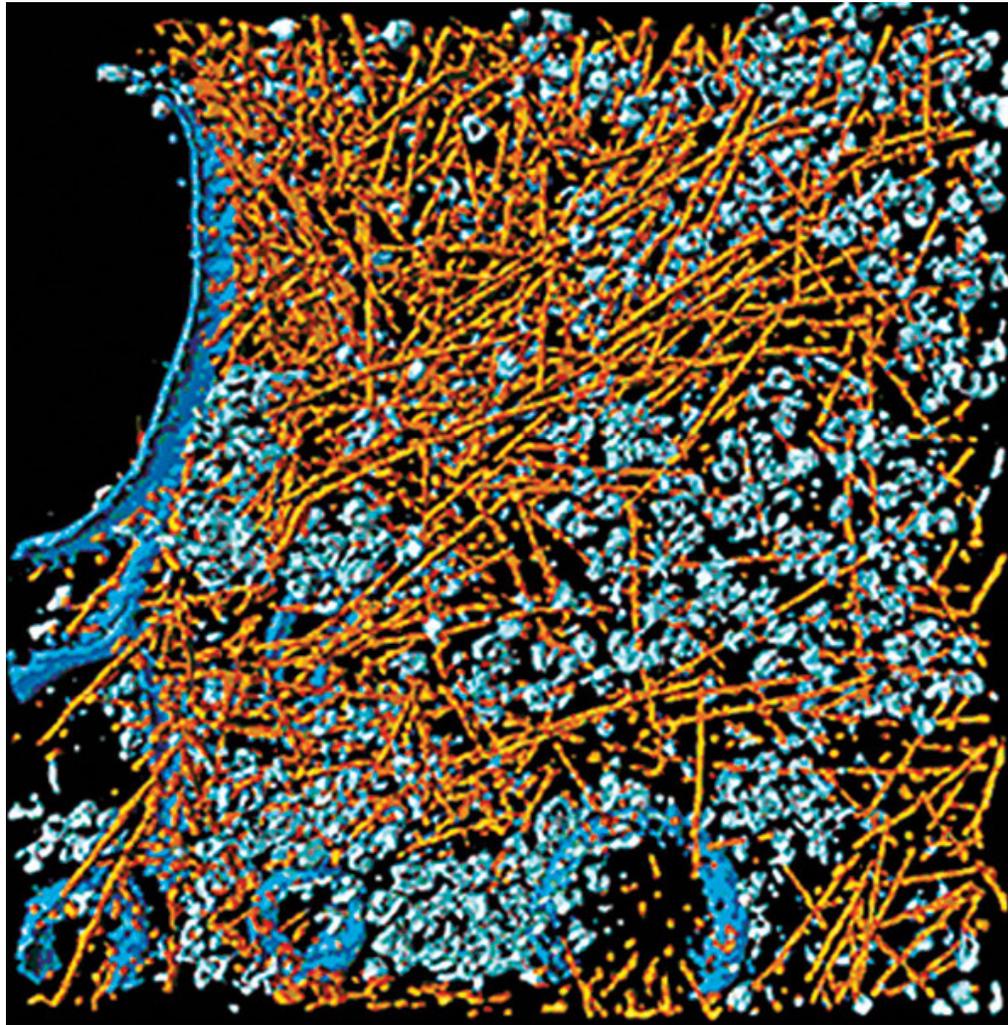


(b)

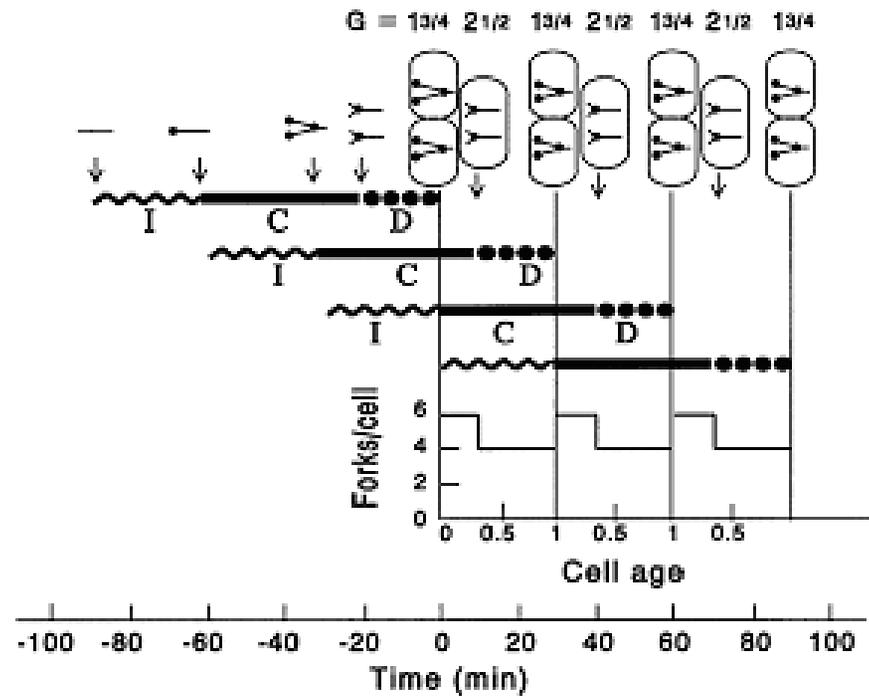
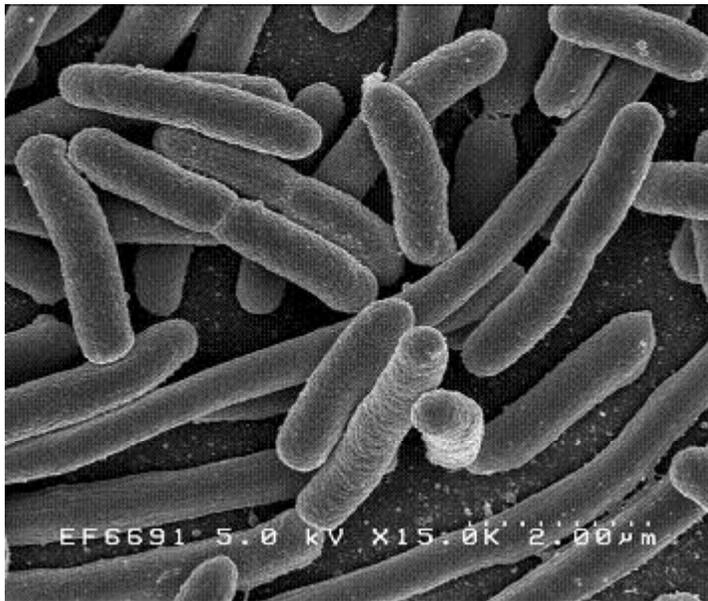
lobe are light gray; the N and O atoms are blue and red). In the enzyme-substrate complex these lobes have swung together so as to engulf the substrate. [Based on an X-ray structure by Thomas Steitz, Yale University.]



Existe organización espacial



# Existe organización temporal



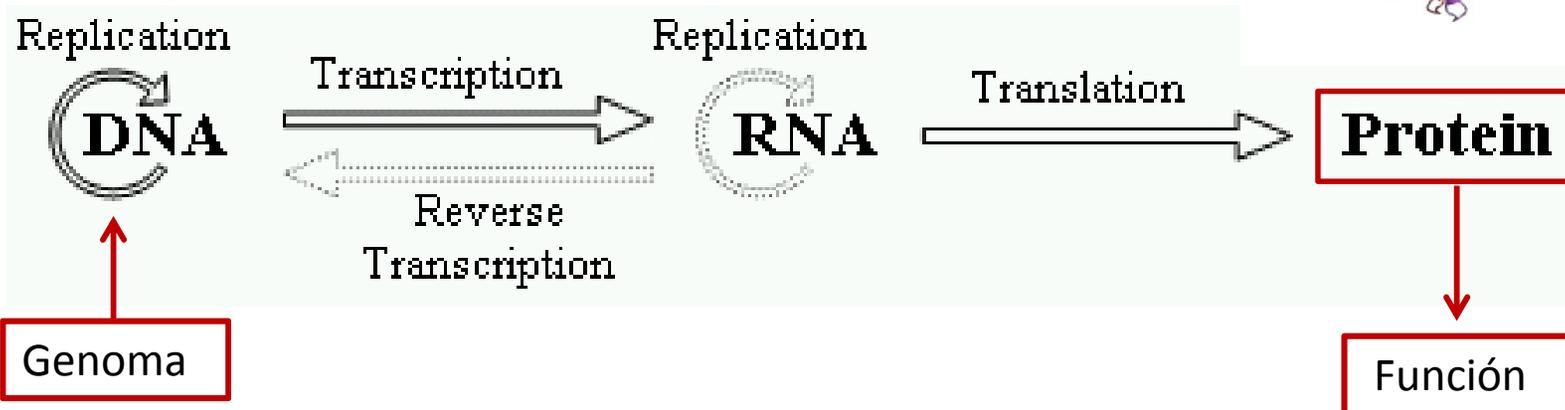
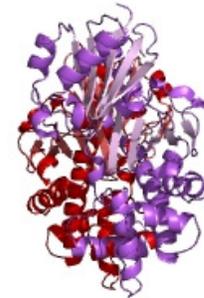
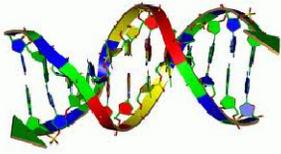
# En la célula existen componentes de un amplio rango de tamaños

Biomolecule	Length (long dimension, nm)	Mass	
		Daltons	Picograms
Water	0.3	18	
Alanine	0.5	89	←
Glucose	0.7	180	
Phospholipid	3.5	750	
Ribonuclease (a small protein)	4	12,600	
Immunoglobulin G (IgG)	14	150,000	
Myosin (a large muscle protein)	160	470,000	
Ribosome (bacteria)	18	2,520,000	
Bacteriophage fX174 (a very small bacterial virus)	25	4,700,000	
Pyruvate dehydrogenase complex (a multienzyme complex)	60	7,000,000	
Tobacco mosaic virus (a plant virus)	300	40,000,000	6.68 × 10 <sup>-6</sup>
Mitochondrion (liver)	1,500		1.5
Escherichia coli cell	2,000		2 ←
Chloroplast (spinach leaf)	8,000		60
Liver cell	20,000		8,000

*Factor entre la masa de una bacteria y la masa de las moléculas orgánicas que la componen es aproximadamente  $10^{10}$ .*

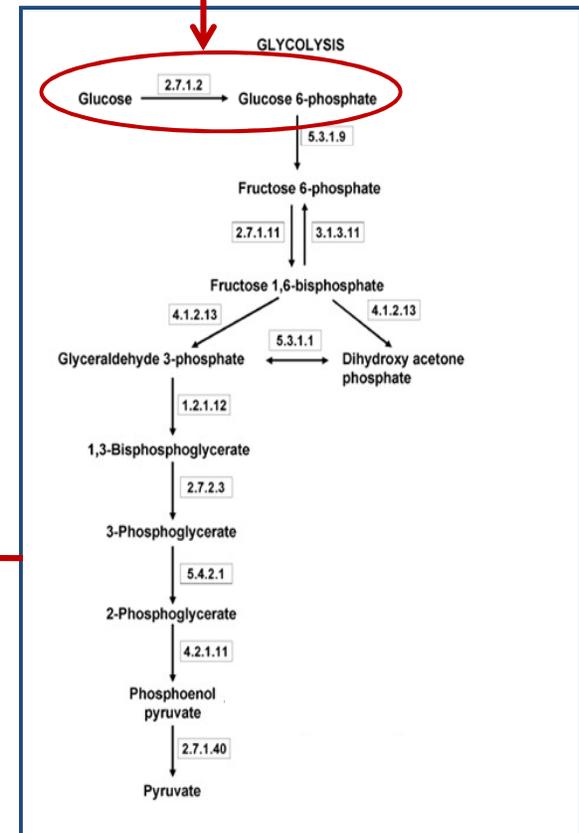
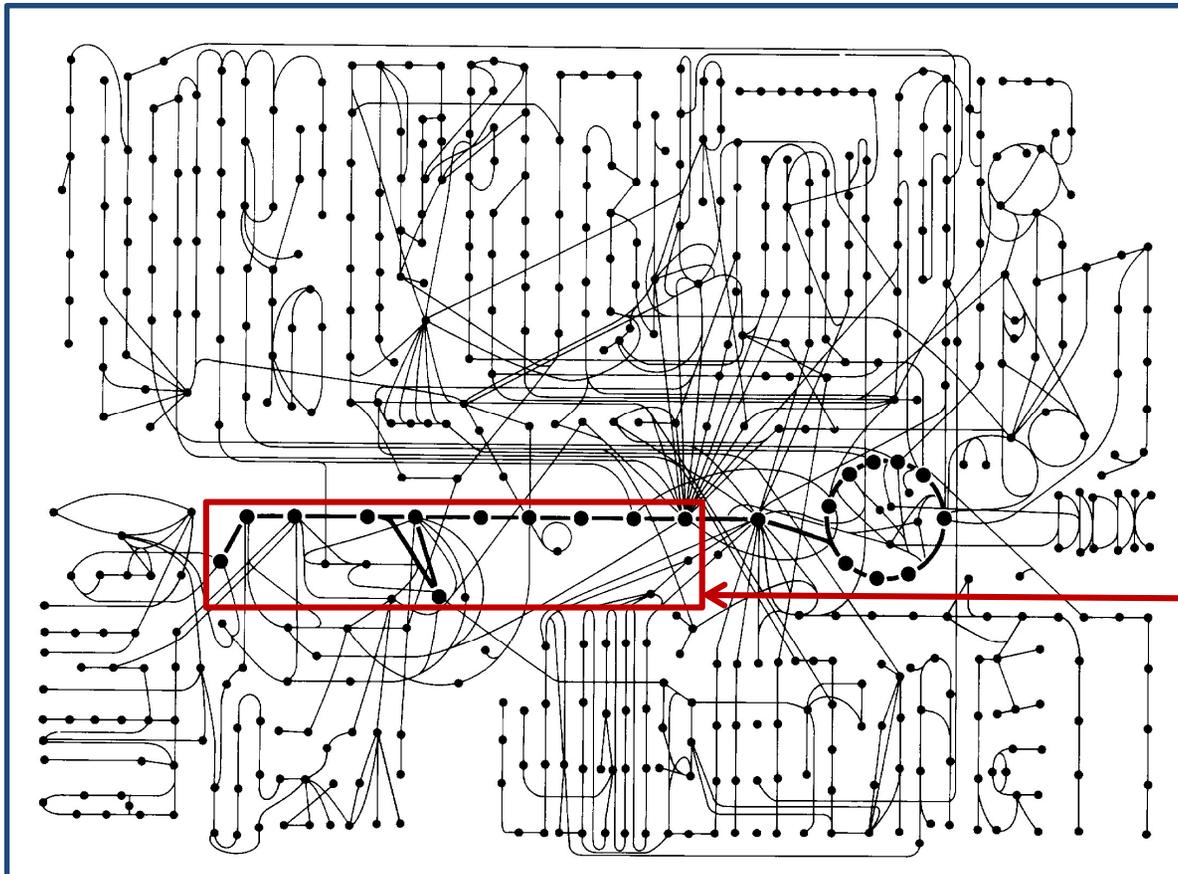
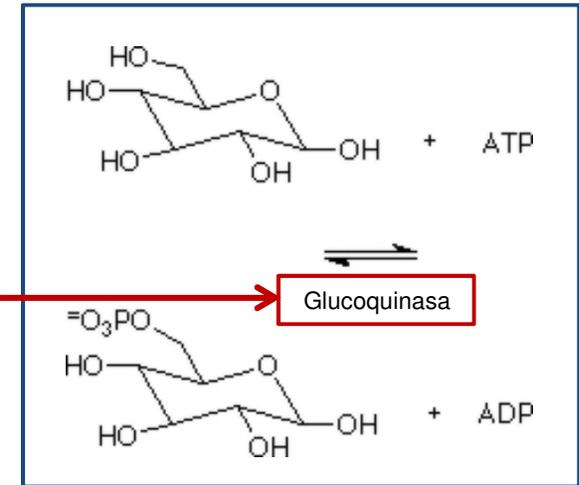
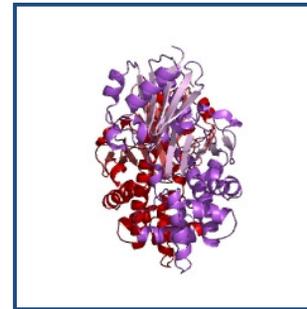
# Complejidad Funcional

# Funcionamiento celular está organizado de forma jerárquica

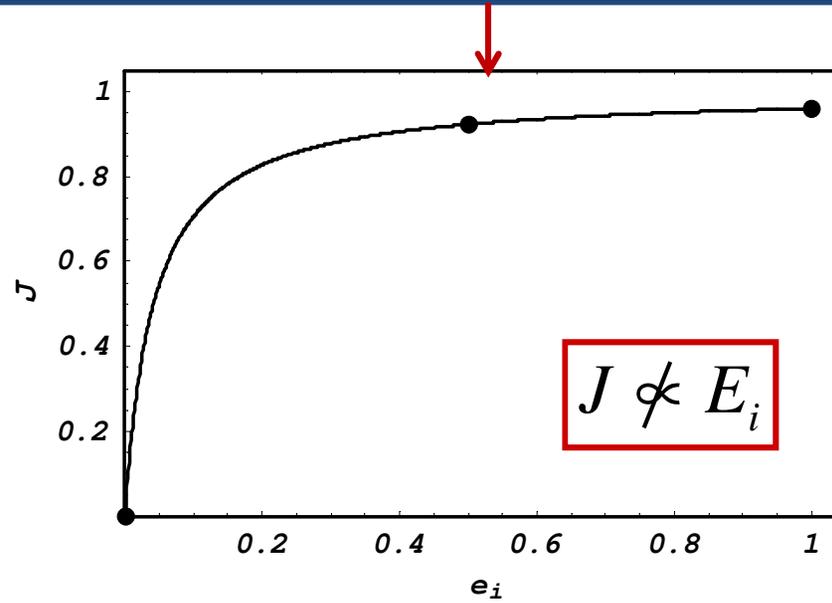
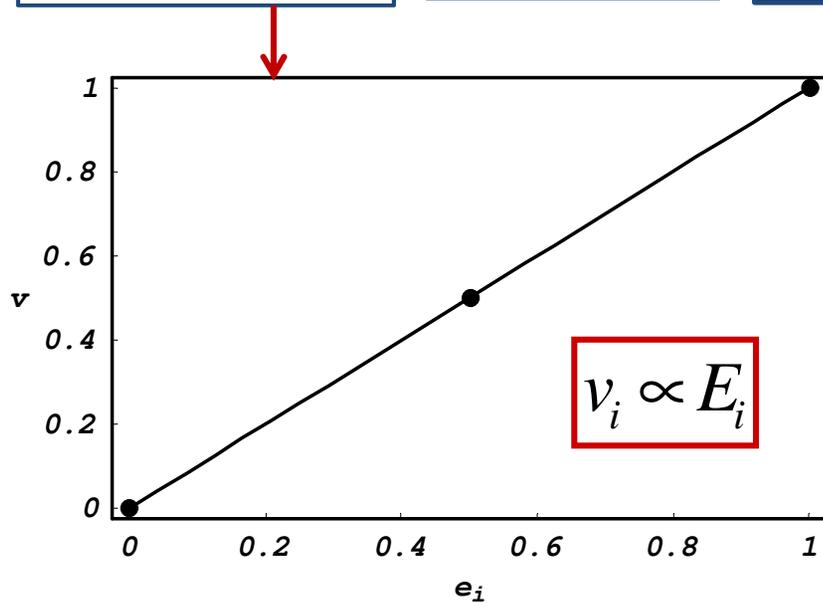
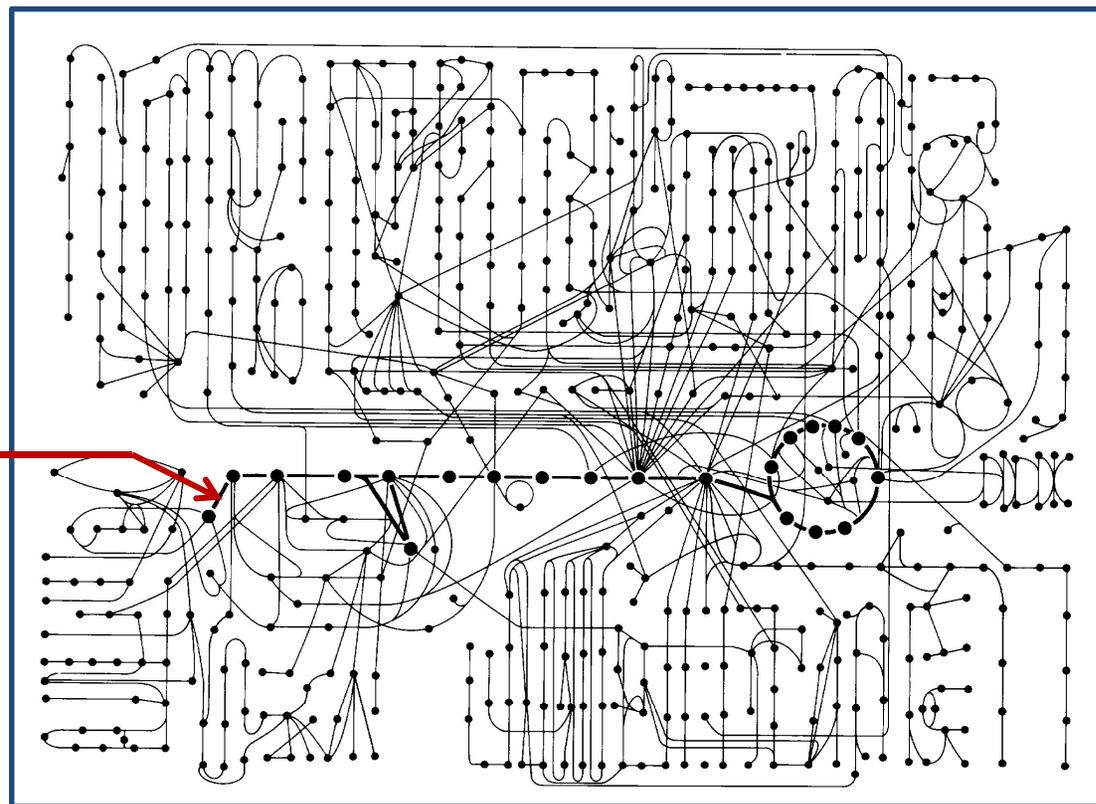
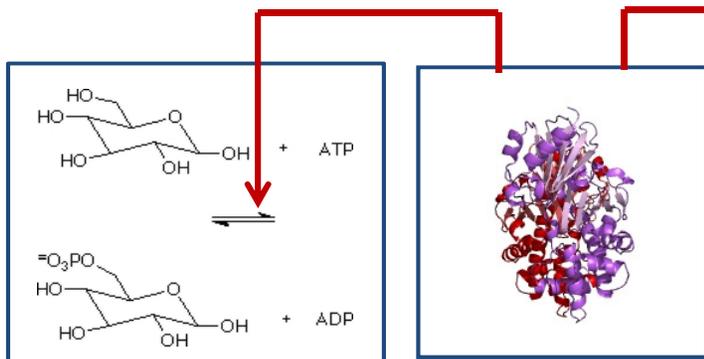


Las funciones celulares son ejecutadas, principalmente, por las proteínas

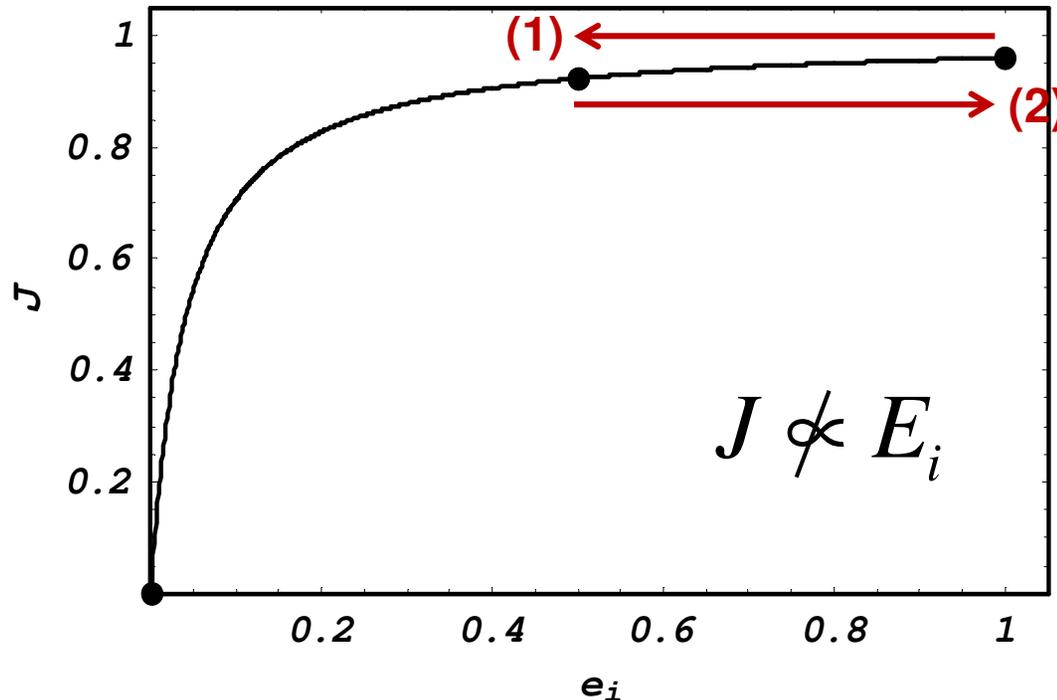
¡La relación entre las propiedades de las enzimas y las funciones que ejecuta la red metabólica es compleja!



Ejemplo: respuesta de la velocidad aislada y del flujo metabólico al cambio en la [enzima]



## Dos caras de la relación entre flujo y [enzima]



**(1) Medicina:** célula con 50% de la [enzima] puede funcionar normalmente

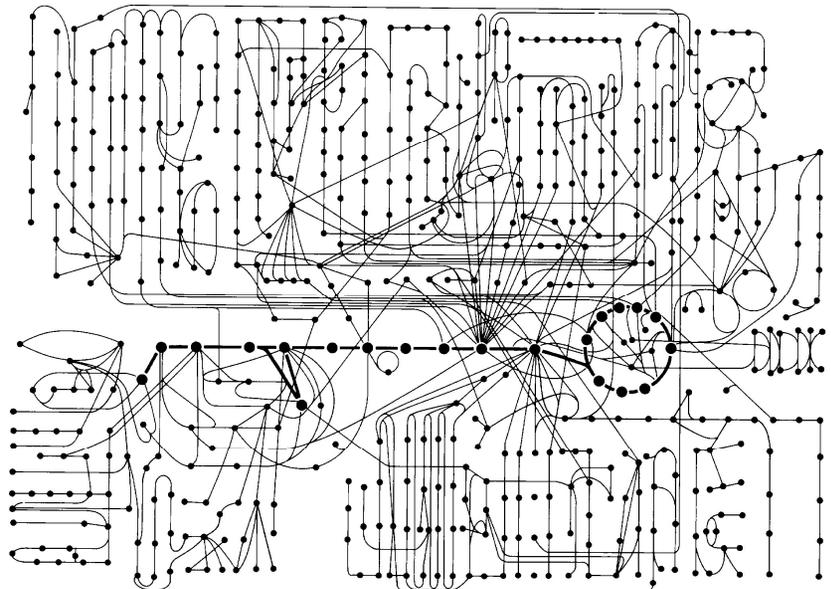
**(2) Biotecnología:** aumentar la [enzima], para incrementar la producción de una molécula de interés, puede no tener efecto significativo sobre el flujo

# Aproximaciones sistémicas a la complejidad celular

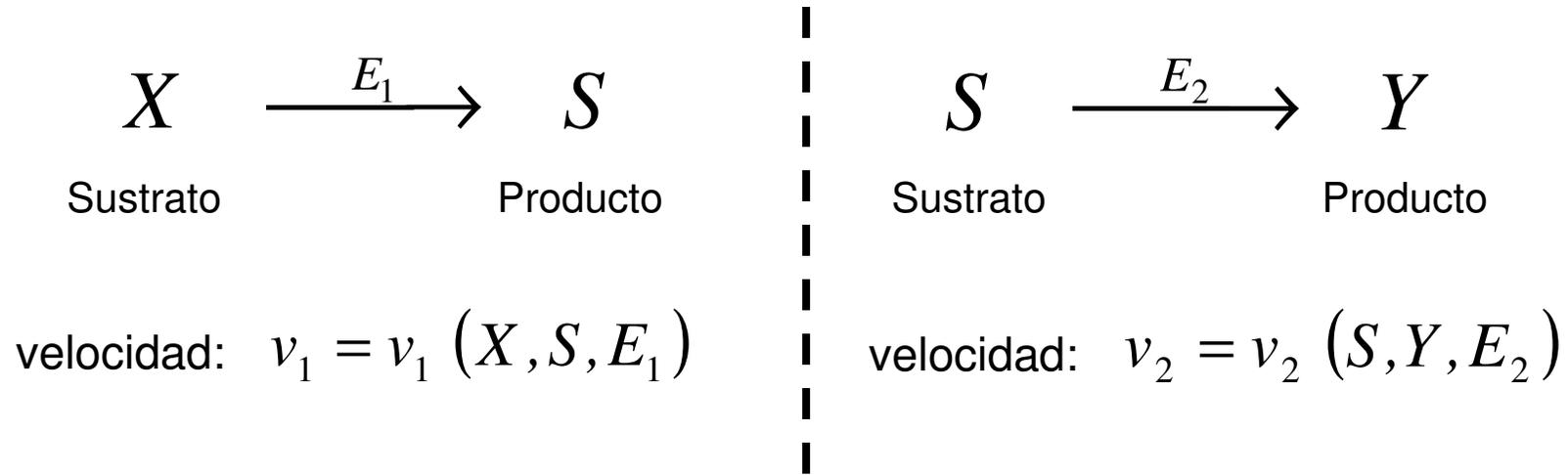
## ***Desafío de la Biología de Sistemas:***

hacer modelos que permitan **predecir** cuales serán las respuestas de un organismo como consecuencia de cambios en su ambiente o de la manipulación experimental

¿Cómo afrontamos  
la complejidad  
al construir los modelos?



# Representación por ecuaciones diferenciales: Sistema Bi-enzimático



$$\frac{dS}{dt} = v_1(X, S, E_1) - v_2(S, Y, E_2)$$

$$\frac{dS}{dt} = [1 \quad -1] \begin{bmatrix} v_1 \\ v_2 \end{bmatrix}$$

$$\frac{d\vec{S}}{dt} = \mathbf{N} \vec{v}(\vec{S}, \vec{p})$$

# Representación por ecuaciones diferenciales: Sistemas reales

$$\frac{d\vec{S}}{dt} = \mathbf{N} \vec{v}(\vec{S}, \vec{p})$$

Los sistemas reales tienen miles de metabolitos y reacciones enzimáticas

## Tipos de propiedades

$$\frac{d\vec{S}}{dt} = \mathbf{N} \vec{v}(\vec{S}, \vec{p})$$

- Propiedades estructurales

$$\frac{d\vec{S}}{dt} = \mathbf{N} \vec{v}(\vec{S}, \vec{p})$$

- Propiedades dinámicas

$$\frac{d\vec{S}}{dt} = \mathbf{N} \vec{v}(\vec{S}, \vec{p})$$

- Propiedades de control

¡Las funciones  $v_i(S, p)$  no son conocidas *in vivo*!

# Tipos de estrategias para estudiar las propiedades

## 1) Estrategias modulares

*Empaquetan la complejidad*

*Resisten la ignorancia*

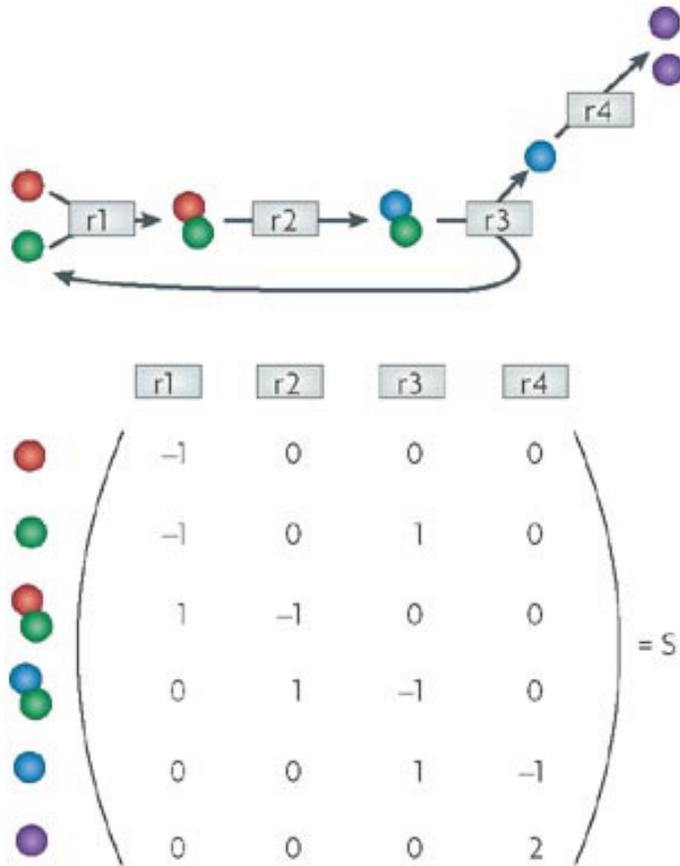
## 2) Estrategias a escala genómica

*Explicitan la complejidad*

*Minimizan la ignorancia*

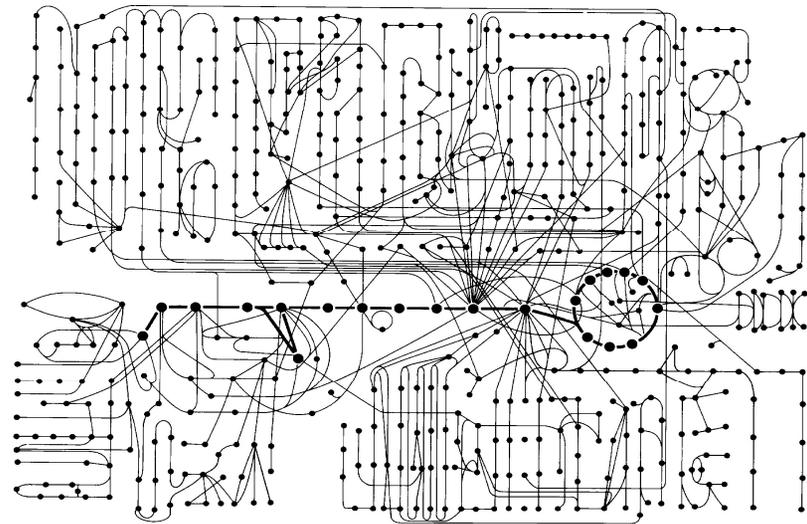
## 2) Estrategias a escala genómica

# Estrategias a escala genómica



Matriz de Estequiometría

Metabolismos reconstruidos a escala genómica



$$N = [n_{ij}]_{m \times r}$$

$$m \approx 1000 \quad \& \quad r \approx 2000$$

$m$  = metabolites

$r$  = reactions

## Ejemplo: *Análisis de Balance de Flujos*

¿Si eliminamos un gen de una bacteria seguirá siendo viable?

$N v = 0$  Balance de masa

$\alpha_i \leq v_i \leq \beta_i$  reversibilidad/irreversibilidad & flujos máximos de transporte

Optimización

*maximize*  $v_{growth}$

(*Programación Lineal*)

Predicciones de mutantes

86% (68 de 79) de las predicciones *in silico* son consistentes con los datos de mutantes

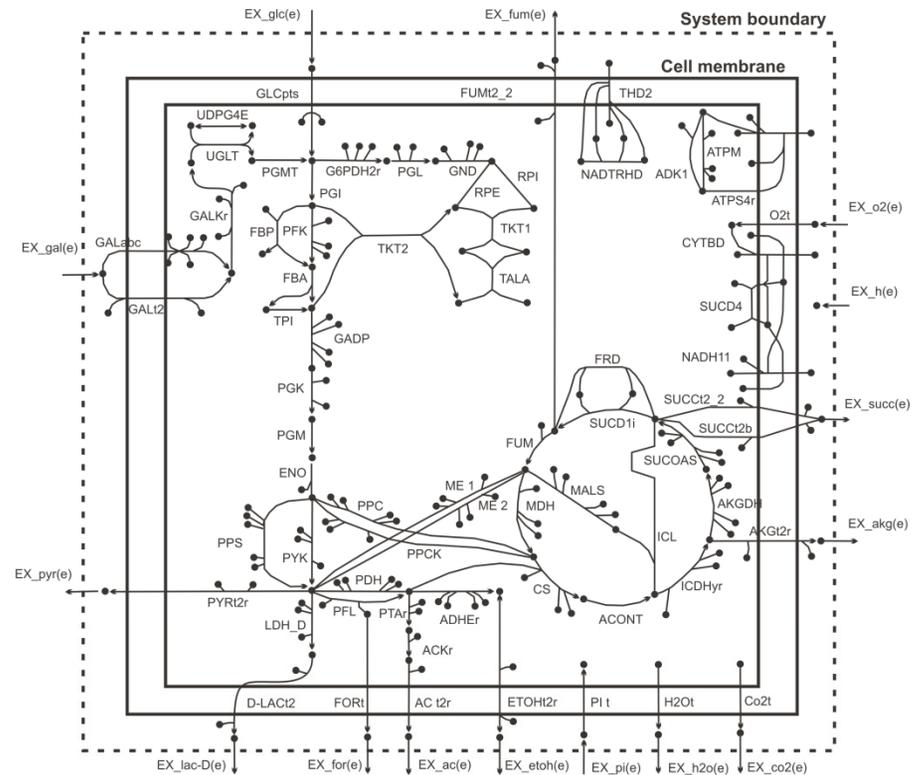
The *E. coli* MG1655 *in silico* metabolic genotype: its definition, characteristics and capabilities (*Edwards & Palsson (2000) PNAS*)

## A Strategy to Calculate the Patterns of Nutrient Consumption by Microorganisms Applying a Two-Level Optimisation Principle to Reconstructed Metabolic Networks

Miguel Ponce de León · Héctor Cancela · Luis Aceroza

Received: 30 October 2007 / Accepted: 19 March 2008 /  
Published online: 14 May 2008  
© Springer Science + Business Media B.V. 2008

**Abstract** Bacterial responses to environmental changes rely on a complex network of biochemical reactions. The properties of the metabolic network determining these responses can be divided into two groups: the stoichiometric properties, given by the stoichiometry matrix, and the kinetic/thermodynamic properties, given by the rate equations of the reaction steps. The stoichiometry matrix represents the maximal metabolic capabilities of the organism, and the regulatory mechanisms based on the rate laws could be considered as being responsible for the administration of these capabilities. Post-genomic reconstruction of metabolic networks provides us with the stoichiometry matrix of particular strains of microorganisms, but the kinetic aspects of *in vivo* rate laws are still largely unknown. Therefore, the validity of predictions of cellular responses requiring detailed knowledge of the rate equations is difficult to assert. In this paper, we show that by applying optimisation criteria to the core stoichiometric network of the metabolism of *Escherichia coli*, and including information about reversibility/irreversibility only of the reaction steps, it is possible to calculate bacterial responses to growth media with different amounts of glucose and galactose. The target was the minimisation of the number of active reactions (subject to attaining a growth rate higher than a lower limit) and subsequent maximisation of the growth rate (subject to the number of active reactions being equal to the minimum previously calculated). Using this two-level target, we were able to obtain by calculation four fundamental behaviours found experimentally: inhibition of respiration at high glucose concentrations in aerobic conditions, turning on of respiration when glucose decreases, induction of galactose utilisation when the system is depleted of glucose and simultaneous use of glucose and galactose as carbon sources when both sugars are present in low concentrations. Preliminary results of the coarse pattern of sugar utilisation were also obtained with a genome-scale *E. coli* reconstructed network, yielding similar qualitative results.



Tipo de problema de optimización:  
**Programación Lineal Entera**  
**Mixta Bi-nivel**

# Definición del problema de optimización

**Master optimization problem:**

$$\text{Objective function: } Z = \text{Max } v_{\text{growth}}$$

$$\text{Subject to: } N \cdot v = 0$$

$$y_j \cdot v_j^l \leq v_j \leq y_j \cdot v_j^u \quad \forall j \in J_{\text{int}} \quad v_j^l \leq v_j \leq v_j^u \quad \forall j \in J_{\text{ext}}$$

$$y_j \in \{0,1\} \quad v_j \in \mathfrak{R}$$

$$\sum_{j \in J_{\text{int}}} y_j = Z^*$$

where  $Z^*$  is given by the **lower level optimization problem:**

$$\text{Objective function: } Z^* = \text{Min } \sum_{j \in J_{\text{int}}} y_j$$

$$\text{Subject to: } N \cdot v = 0$$

$$y_j \cdot v_j^l \leq v_j \leq y_j \cdot v_j^u \quad \forall j \in J_{\text{int}} \quad v_j^l \leq v_j \leq v_j^u \quad \forall j \in J_{\text{ext}}$$

$$y_j \in \{0,1\} \quad v_j \in \mathfrak{R}$$

$$v_{\text{growth}}^l \leq v_{\text{growth}}$$

RESEARCH ARTICLE

Open Access

# Source and regulation of flux variability in *Escherichia coli*

Magdalena San Román<sup>1</sup>, Héctor Cancela<sup>2</sup> and Luis Acerenza<sup>1\*</sup>

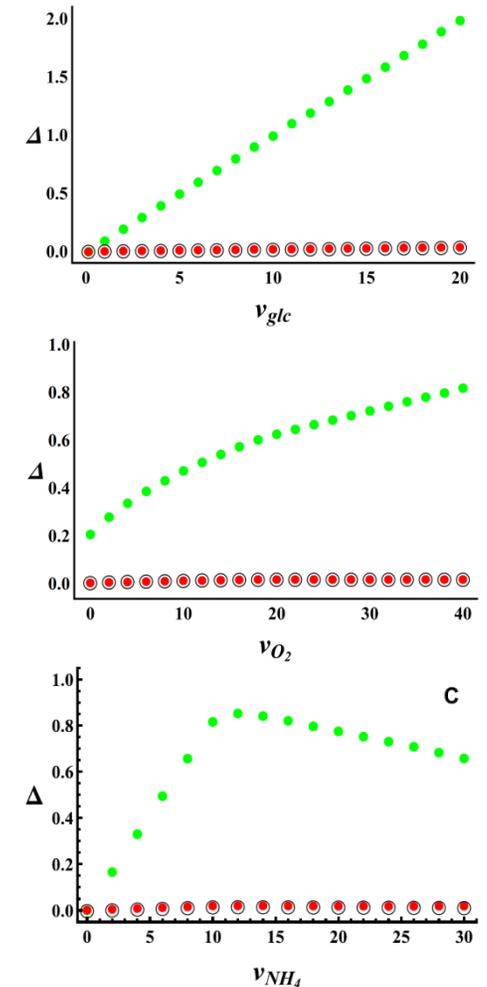
## Abstract

**Background:** Metabolic responses are essential for the adaptation of microorganisms to changing environmental conditions. The repertoire of flux responses that the metabolic network can display in different external conditions may be quantified applying flux variability analysis to genome-scale metabolic reconstructions.

**Results:** A procedure is developed to classify and quantify the sources of flux variability. We apply the procedure to the latest *Escherichia coli* metabolic reconstruction, in glucose minimal medium, with an additional constraint to account for the mechanism coordinating carbon and nitrogen utilization mediated by  $\alpha$ -ketoglutarate. Flux variability can be decomposed into three components: internal, external and growth variability. Unexpectedly, growth variability is the only significant component of flux variability in the physiological ranges of glucose, oxygen and ammonia uptake rates. To obtain substantial increases in metabolic flexibility, *E. coli* must decrease growth rate to suboptimal values. This growth-flexibility trade-off gives a straightforward interpretation to recent work showing that most overall cell-to-cell flux variability in a population of *E. coli* can be attained sampling a small number of enzymes most likely to constrain cell growth. Importantly, it provides an explanation for the global reorganization occurring in metabolic networks during adaptations to environmental challenges. The calculations were repeated with a pathogenic strain and an old reconstruction of the commensal strain, having less than 50% of the reactions of the latest reconstruction, obtaining the same general conclusions.

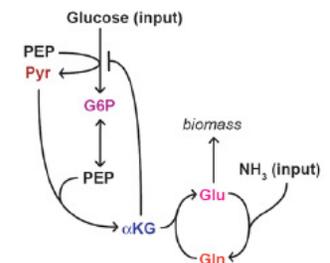
**Conclusions:** In *E. coli* growing on glucose, growth variability is the only significant component of flux variability for all physiological conditions explored. Increasing flux variability requires reducing growth to suboptimal values. The growth-flexibility trade-off operates in physiological and evolutionary adaptations, and provides an explanation for the global reorganization occurring during adaptations to environmental challenges. The results obtained do not rely on the knowledge of kinetic and regulatory details of the system and are highly robust to incomplete or incorrect knowledge of the reaction network.

**Keywords:** Metabolic network, Flux variability, Metabolic flexibility, Physiological adaptation, Evolutionary adaptation, Systems biology



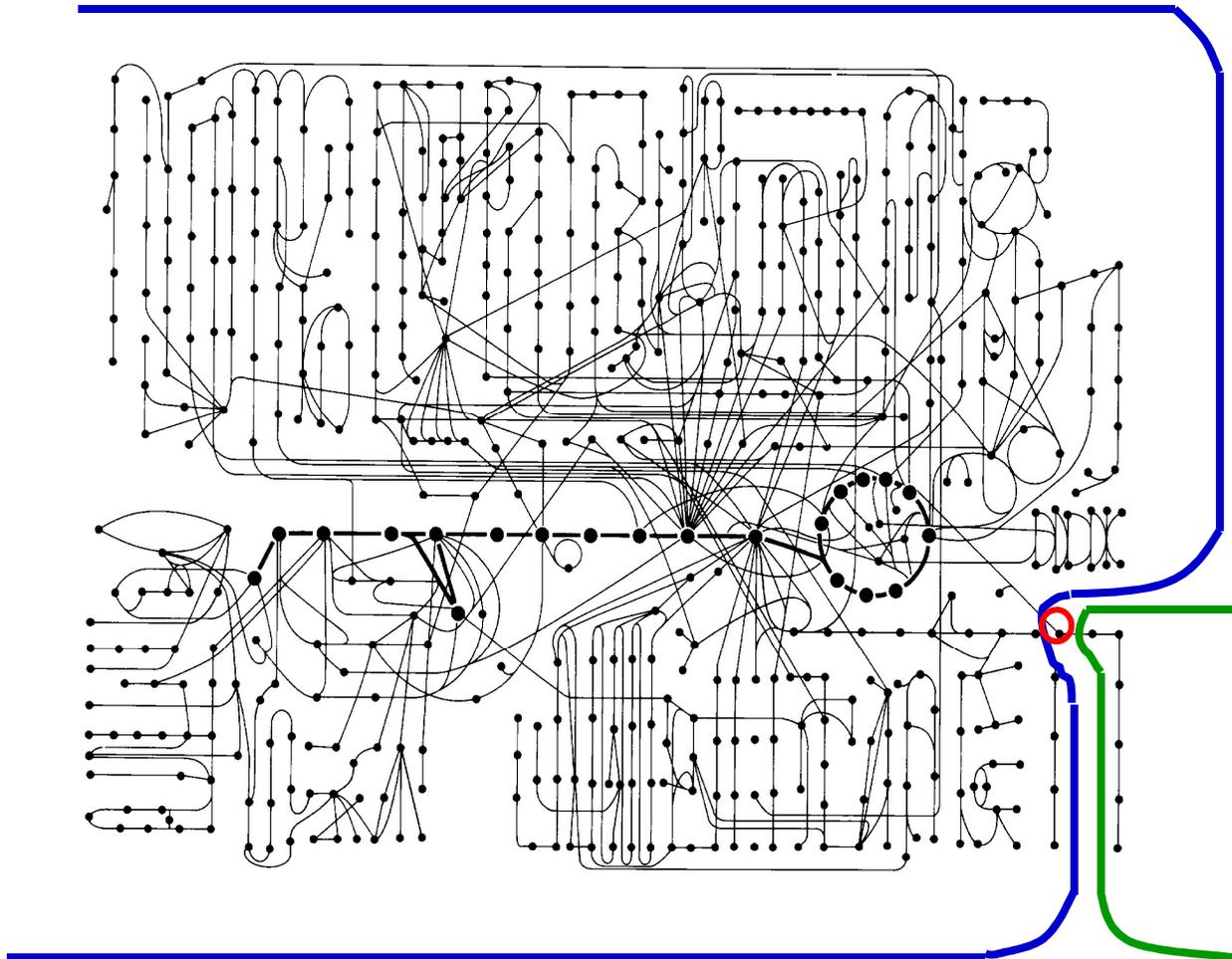
$$\bullet \Delta_{tot} = \Delta_{int} + \Delta_{ext} + \Delta_{gro}$$

$$\bullet \Delta_{int+ext} \quad \circ \Delta_{int}$$



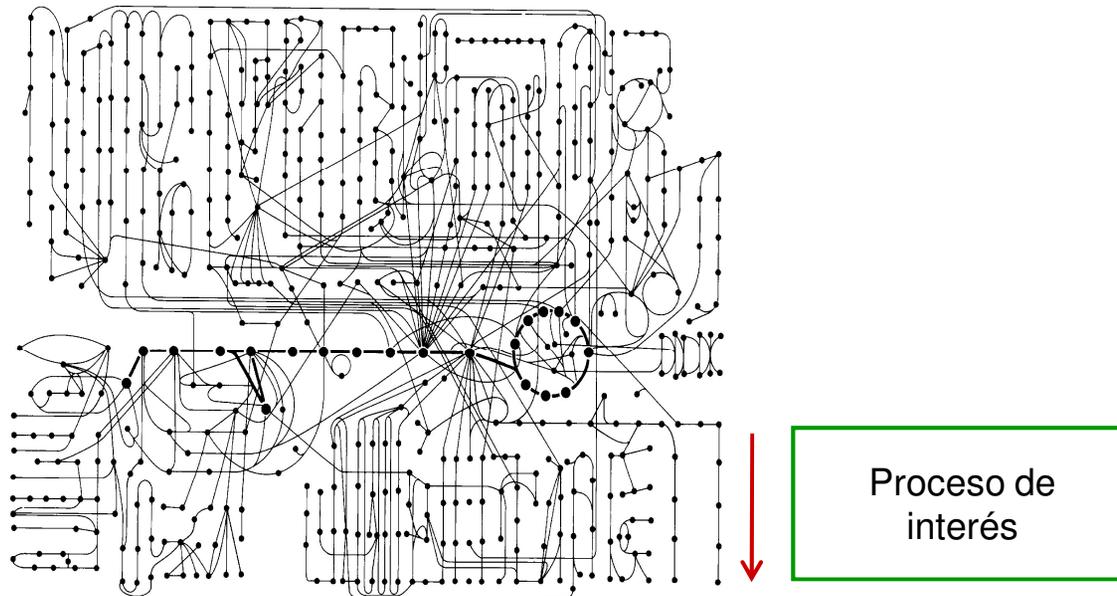
# 1) Estrategias modulares

# Estrategias modulares



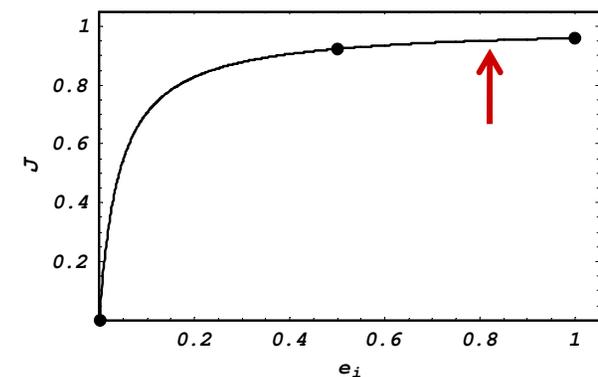
Dividen *conceptualmente* el sistema en módulos

Problema de interés biotecnológico:  
¿Qué [enzima] debemos incrementar para aumentar el flujo del proceso de interés?

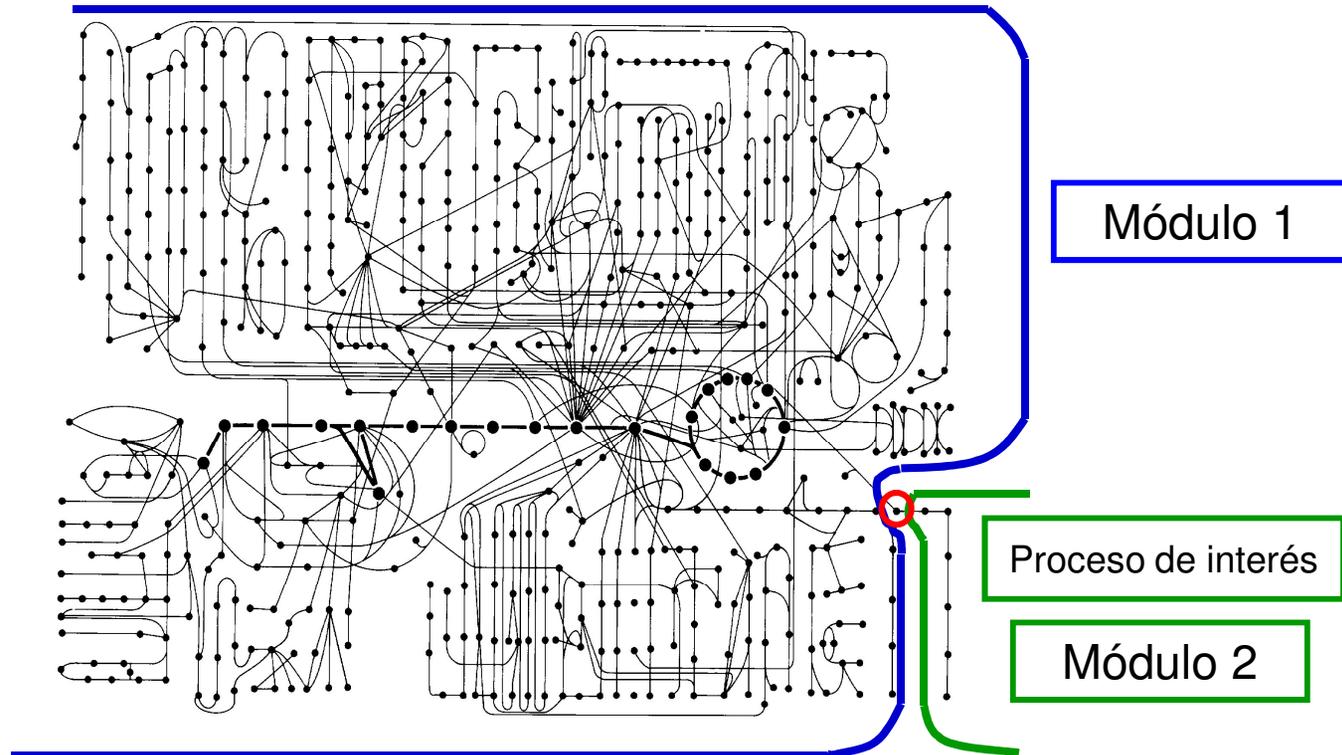


Es una pregunta difícil de responder porque:

- a) Hay demasiadas enzimas
- b) El aumento de la [enzima] en la mayoría de las reacciones no produce ningún efecto en el flujo



# Modularizamos el sistema



Cada módulo es como una super-reacción

*Pregunta inicial:*

¿Cuál es la reacción cuya [enzima] debemos incrementar para aumentar el flujo del proceso de interés?

*Nueva pregunta:*

¿En que módulo está la reacción cuya [enzima] debemos incrementar para aumentar el flujo del proceso de interés?

Estrategia modular permite evitar la búsqueda en grandes regiones de la red metabólica donde no está la reacción cuya [enzima] debemos incrementar.

## Procedimiento:

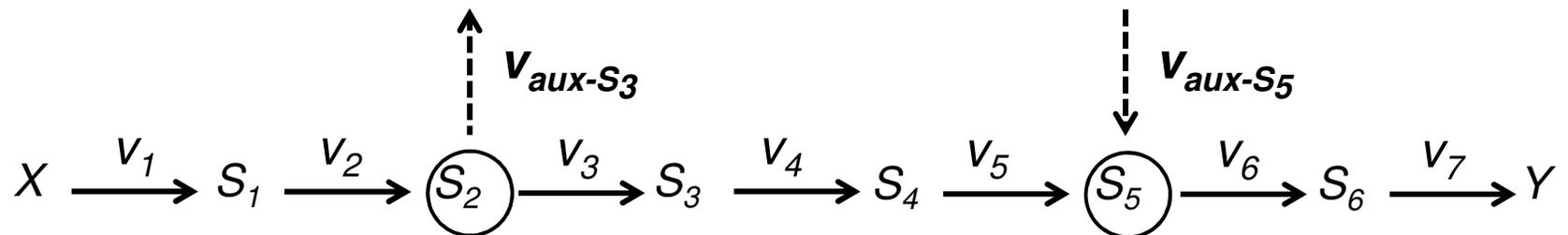
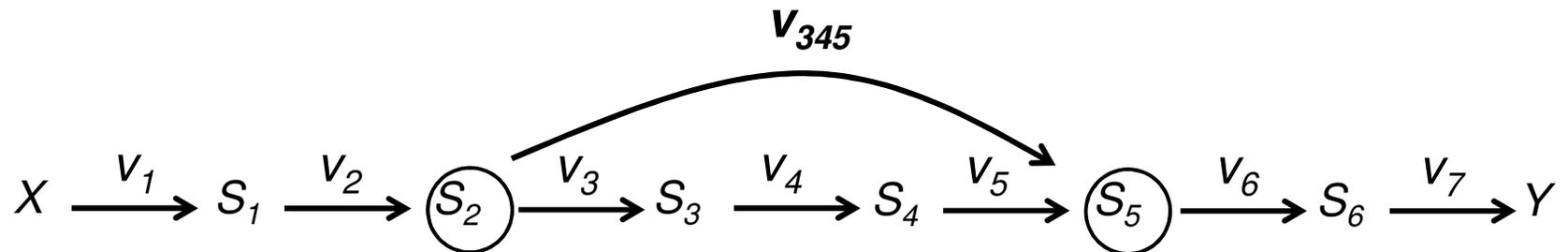
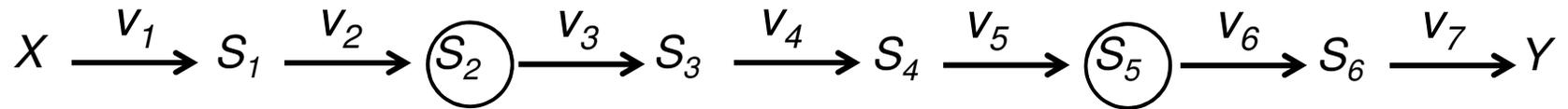
Multiplicar todas las velocidades del módulo por el mismo factor.

(Si  $v_i \propto [enzima]_i$ : multiplicar todas las  $[enzima]_i$  del módulo)

En la práctica, no es posible multiplicar por el mismo factor todas las velocidades en un módulo grande!

¿Existe un procedimiento factible, equivalente a multiplicar todas las velocidades del módulo por el mismo factor?

# Hipótesis



---

# A Modular Modulation Method for Achieving Increases in Metabolite Production

**Luis Acerenza**

Systems Biology Laboratory, Faculty of Sciences, Universidad de la República, Iguá 4225, Montevideo 11400 Uruguay

**Pablo Monzon**

School of Engineering, Universidad de la República, Julio Herrera y Reissig 565, Montevideo 11300 Uruguay

**Fernando Ortega**

Centre for Applied Pharmacokinetic Research, Manchester Pharmacy School, The University of Manchester, Manchester M13 9PT UK

DOI 10.1002/btpr.2059

Published online March 23, 2015 in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com)

---

*Increasing the production of overproducing strains represents a great challenge. Here, we develop a modular modulation method to determine the key steps for genetic manipulation to increase metabolite production. The method consists of three steps: (i) modularization of the metabolic network into two modules connected by linking metabolites, (ii) change in the activity of the modules using auxiliary rates producing or consuming the linking metabolites in appropriate proportions and (iii) determination of the key modules and steps to increase production. The mathematical formulation of the method in matrix form shows that it may be applied to metabolic networks of any structure and size, with reactions showing any kind of rate laws. The results are valid for any type of conservation relationships in the metabolite concentrations or interactions between modules. The activity of the module may, in principle, be changed by any large factor. The method may be applied recursively or combined with other methods devised to perform fine searches in smaller regions. In practice, it is implemented by integrating to the producer strain heterologous reactions or synthetic pathways producing or consuming the linking metabolites. The new procedure may contribute to develop metabolic engineering into a more systematic practice. © 2015 American Institute of Chemical Engineers *Biotechnol. Prog.*, 31:656–667, 2015*

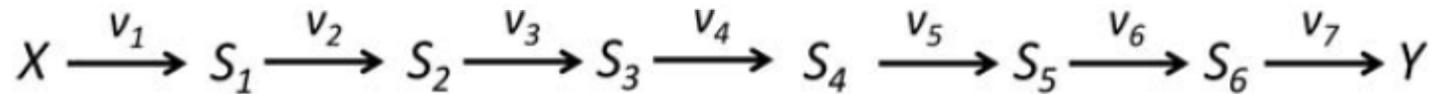
*Keywords: metabolic engineering, metabolite production, modularization, synthetic biology, systems biology*

# La red

Concentraciones de metabolitos:  $S[m \times 1]$

Velocidades:  $v[r \times 1]$

Matriz de estequiometría:  $N[m \times r]$



$$m = 6$$

$$r = 7$$

Las concentraciones de  
 $X$  e  $Y$  son constantes

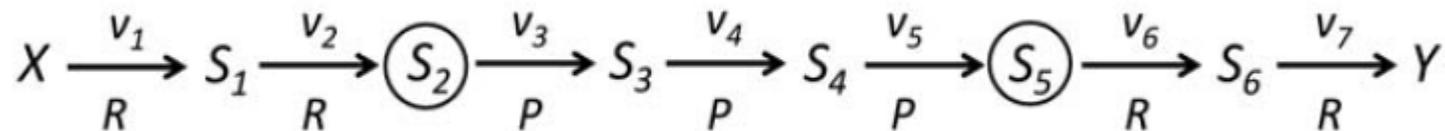
$$N = \begin{bmatrix} 1 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & -1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & -1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & -1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & -1 \end{bmatrix}$$

## Modularización de la red

Dividimos las reacciones en dos subconjuntos,  $P$  y  $R$ :  $v = [v_P \quad v_R]^T$

La partición de las velocidades define tres tipos de metabolitos:  $S = [S_P \quad S_L \quad S_R]^T$

$$v_P [r_P \times 1] \quad v_R [r_R \times 1] \quad S_P [m_P \times 1] \quad S_L [m_L \times 1] \quad S_R [m_R \times 1]$$



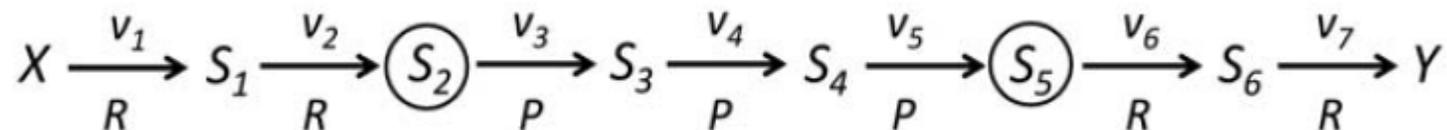
$$v_P = [v_3 \quad v_4 \quad v_5]^T \quad v_R = [v_1 \quad v_2 \quad v_6 \quad v_7]^T$$

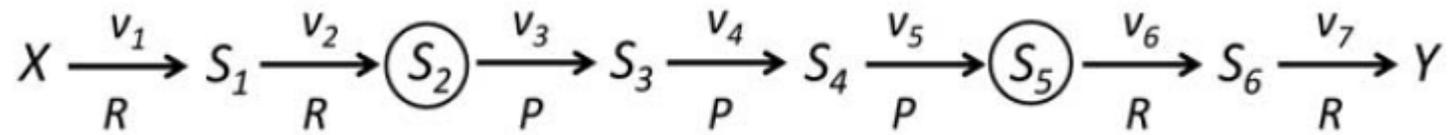
$$S_P = [S_3 \quad S_4]^T \quad S_R = [S_1 \quad S_6] \quad S_L = [S_2 \quad S_5]^T$$

## Modularización de la matriz de estequiometría

$$\frac{dS}{dt} = N \cdot v(S, p) \quad v = [v_P \quad v_R]^T \quad S = [S_P \quad S_L \quad S_R]^T$$

$$\Rightarrow N = \begin{bmatrix} N_{PP} & N_{PR} \\ N_{LP} & N_{LR} \\ N_{RP} & N_{RR} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} N_{PP} & \mathbf{0} \\ N_{LP} & N_{LR} \\ \mathbf{0} & N_{RR} \end{bmatrix} \quad \begin{array}{l} N_{RP} = 0 \\ N_{PR} = 0 \end{array}$$





$$N = \begin{array}{c} \begin{array}{cc} v_P & v_R \end{array} \\ \begin{array}{|c|} \hline \begin{array}{ccc} v_3 & v_4 & v_5 \end{array} \\ \hline \end{array} \begin{array}{|c|} \hline \begin{array}{cccc} v_1 & v_2 & v_6 & v_7 \end{array} \\ \hline \end{array} \\ \left[ \begin{array}{cccc|cccc} 1 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & -1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & -1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & -1 \end{array} \right] \begin{array}{|c|} \hline S_3 \\ \hline S_4 \\ \hline S_2 \\ \hline S_5 \\ \hline S_1 \\ \hline S_6 \\ \hline \end{array} \begin{array}{l} S_P \\ S_L \\ S_R \end{array} \end{array}$$

Estado final (I) obtenido multiplicando todas las velocidades en  $P$  por  $\alpha_P$

Estado inicial:  $J_P^o = v_P(S^o, p^o)$

$$0 = N.v(S^o, p^o)$$

$$J_P^f = v_P(S^f, p^f) = \alpha_P v_P(S^f, p^o) = \alpha_P v_P(S^f)$$

Estado final (I):

$$0 = N_{PP} \alpha_P v_P(S^f)$$

$$0 = N_{LP} \alpha_P v_P(S^f) + N_{LR} v_R(S^f)$$

$$0 = N_{RR} v_R(S^f)$$

Estado final (II) obtenido agregando  
velocidades auxiliares a los metabolitos de unión

Estado final (II):

$$0 = N_{PP} v_P(S^f)$$

$$0 = N_{LP} v_P(S^f) + N_{LR} v_R(S^f) + v_{aux}$$

$$0 = N_{RR} v_R(S^f)$$

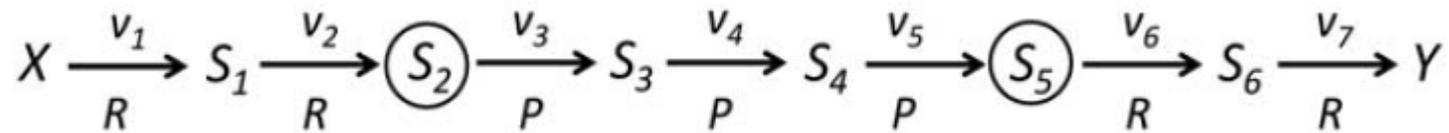
Comparando estados finales (I) y (II), vemos que sólo difieren en la segunda ecuación. Tenemos que hallar  $v_{aux}$  de forma que la segunda ecuación sea también igual en ambos estados finales.

# Conclusión

Encontramos que si el sistema es modificado con velocidades auxiliares calculados según la ecuación:

$$v_{aux} = (\alpha_P - 1) N_{LP} \cdot v_P (S^f)$$

todas las concentraciones finales y los flujos en el módulo  $R$  son idénticos a los que hubieran sido obtenidos multiplicando las velocidades en el módulo  $P$  por  $\alpha_P$ . Los flujos en  $P$ , después de multiplicar todas las velocidades en  $P$  por  $\alpha_P$ , son determinados multiplicando por  $\alpha_P$  los valores de los flujos obtenidos con las velocidades auxiliares.



$$N = \begin{array}{c} \begin{array}{cc} v_P & v_R \\ \boxed{v_3} & \boxed{v_4} & \boxed{v_5} & \boxed{v_1} & \boxed{v_2} & \boxed{v_6} & \boxed{v_7} \end{array} \\ \begin{bmatrix} 1 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ \boxed{-1} & \boxed{0} & \boxed{0} & 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & -1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & -1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & -1 \end{bmatrix} \begin{array}{c} \boxed{S_3} \\ \boxed{S_4} \\ \boxed{S_2} \\ \boxed{S_5} \\ \boxed{S_1} \\ \boxed{S_6} \end{array} \begin{array}{l} S_P \\ S_L \\ S_R \end{array} \end{array}$$

$N_{LP}$  points to the third row of the matrix.

$$v_{aux} = (\alpha_P - 1) N_{LP} \cdot v_P(S^f)$$

## Relaciones de conservación

$$c^T \cdot S = \text{constant} \quad c[m \times 1] \in R^m$$

$$0 = c^T \cdot N \quad \Rightarrow \quad 0 = [c_P^T \quad c_L^T \quad c_R^T] \begin{bmatrix} N_{PP} & 0 \\ N_{LP} & N_{LR} \\ 0 & N_{RR} \end{bmatrix}$$

1) Si los metabolitos de unión no están sujetos a relaciones de conservación (esto es,  $c_L = 0$  para todas las relaciones de conservación), el sistema modificado con velocidades auxiliares tiene las mismas relaciones de conservación que el sistema original.

2) Si  $c_L \neq 0$  la introducción de velocidades auxiliares con valores arbitrarios no preserva las relaciones de conservación.

3) Pero, las relaciones de conservación son preservadas si el sistema es modificado con velocidades auxiliares que satisfacen:  $v_{aux} = (\alpha_P - 1) N_{LP} \cdot v_P(S^f)$

La demostración muestra que los resultados obtenidos permanecen válidos si las leyes de velocidad de un módulo dependen de las concentraciones internas al otro módulo y si las concentraciones de metabolitos están sujetas a relaciones de conservación.

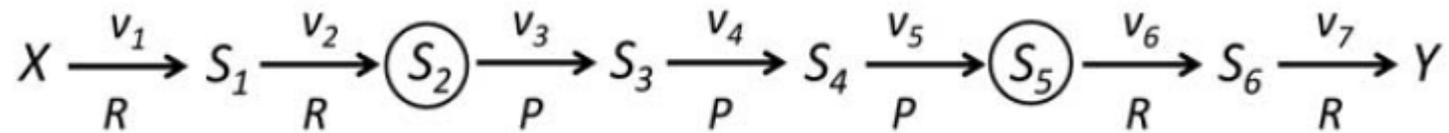
Simplificación adicional de:  $v_{aux} = (\alpha_P - 1) N_{LP} \cdot v_P(S^f)$

$$v_P = [v_{Pi} \quad v_{Pl}]^T$$

$v_{Pl}$  producen o consumen  $S_L$   
 $v_{Pi}$  internas a  $P$

$$N_{LP} = [N_{LPi} \quad N_{LPi}] = [0 \quad N_{LPi}]$$

$$v_{aux} = (\alpha_P - 1) N_{LPi} \cdot v_{Pl}(S^f)$$



$$N = \begin{array}{c} \begin{array}{cc} v_P & v_R \end{array} \\ \begin{array}{|c|c|c|c|c|c|c|} \hline v_3 & v_4 & v_5 & v_1 & v_2 & v_6 & v_7 \\ \hline \end{array} \\ \begin{array}{c} N_{LPI} \\ \left[ \begin{array}{ccccccc} 1 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ -1 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & -1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & -1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & -1 \end{array} \right] \end{array} \\ \begin{array}{|c|c|} \hline S_3 \\ S_4 \\ \hline S_L \\ \hline S_2 \\ S_5 \\ \hline S_R \\ \hline S_1 \\ S_6 \\ \hline \end{array} \end{array}$$

$$v_{aux} = (\alpha_P - 1) N_{LPI} \cdot v_{PI}(S^f)$$

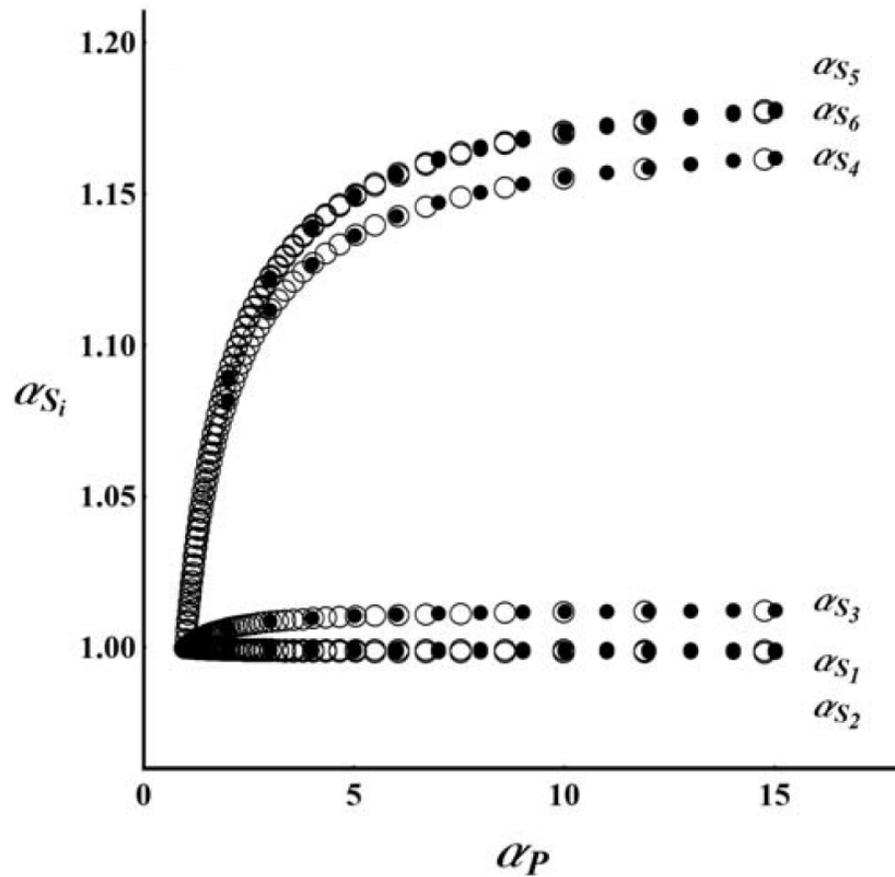
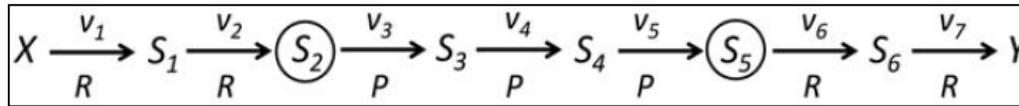


Factores por los cuales los componentes de  $S$ ,  $v_P$  y  $v_R$  cambian cuando las velocidades de  $P$  son multiplicadas por  $\alpha_P$ .

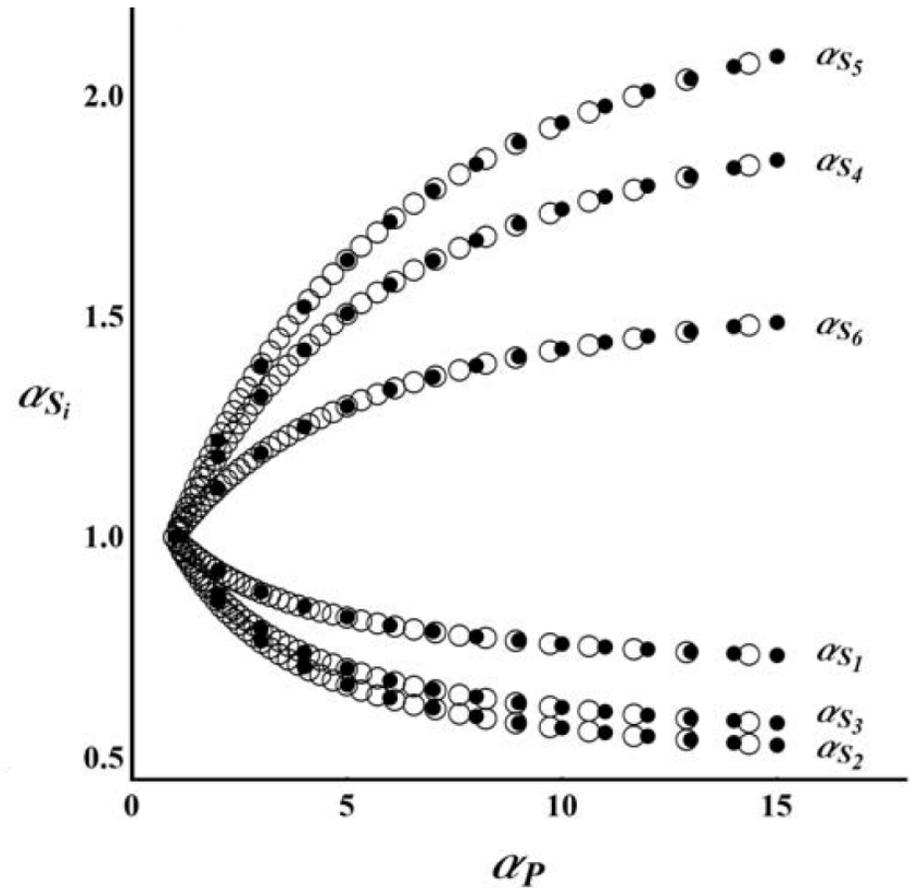
$$\alpha_{S_i} = \frac{S_i^f}{S_i^o} \quad (i = 1, \dots, m)$$

$$\alpha_{J_{Pk}} = \frac{\alpha_P v_{Pk}(S^f)}{v_{Pk}(S^o)} \quad (k = 1, \dots, r_P)$$

$$\alpha_{J_{Ru}} = \frac{v_{Ru}(S^f)}{v_{Ru}(S^o)} \quad (u = 1, \dots, r_R)$$

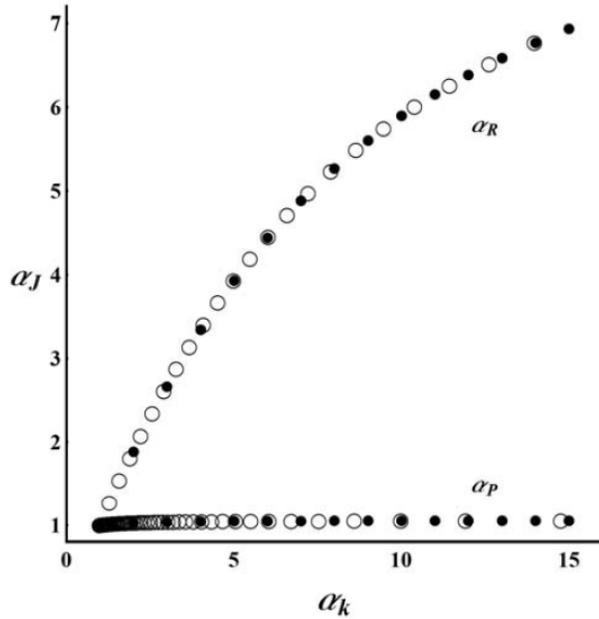
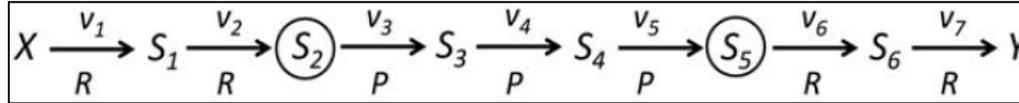


Parameter set I (  $V_{S_7} = 1/10$  )



Parameter set II (  $V_{S_7} = 10$  )

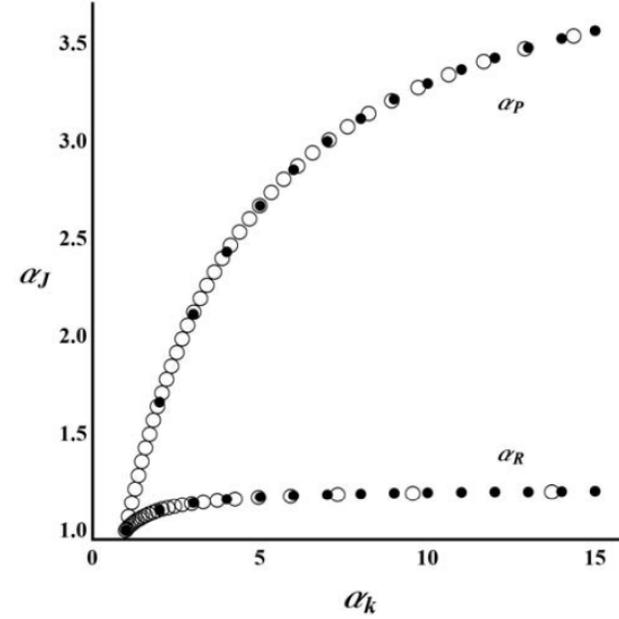
*puntos*: obtenidos multiplicando las velocidades del módulo  $P$  o  $R$  por  $\alpha_P$  o  $\alpha_R$   
*círculos*: obtenidos usando velocidades auxiliares



Parameter set I (  $V_{S_7} = 1/10$  )

$$C_{v_1}^J + C_{v_2}^J + C_{v_6}^J + C_{v_7}^J \approx 0.94$$

$\alpha_R$  tiene mayor efecto en el flujo que  $\alpha_P$   
 $\Rightarrow$  las reacciones están en el módulo  $R$ .



Parameter set II (  $V_{S_7} = 10$  )

$$C_{v_3}^J + C_{v_4}^J + C_{v_5}^J \approx 0.81$$

$\alpha_P$  tiene mayor efecto en el flujo que  $\alpha_R$   
 $\Rightarrow$  las reacciones están en el módulo  $P$ .

*puntos*: obtenidos multiplicando las velocidades del módulo  $P$  o  $R$  por  $\alpha_P$  o  $\alpha_R$   
*círculos*: obtenidos usando velocidades auxiliares

# ¿Qué tan general es el MMM?

Método de Modulación Múltiple puede ser aplicado:

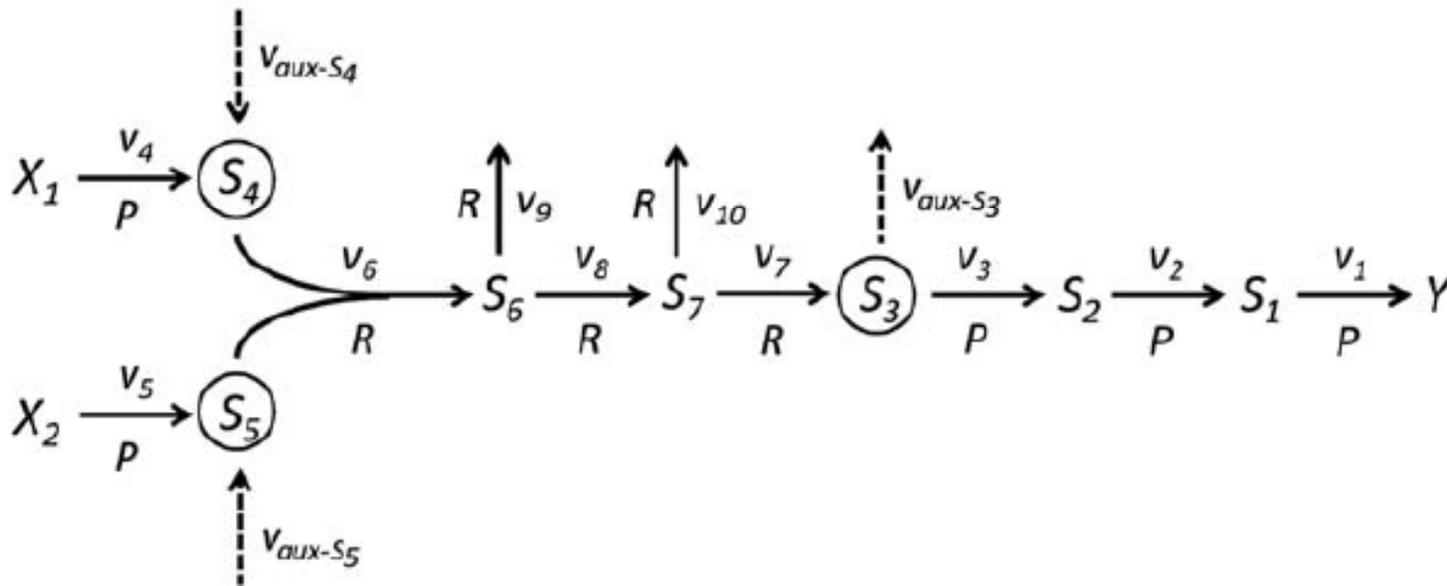
- 1) a redes metabólicas de cualquier estructura y tamaño
- 2) con reacciones que presentan cualquier tipo de ley de velocidad
- 3) cuando existe cualquier tipo de relaciones de conservación en los metabolitos y
- 4) cuando hay cualquier tipo de interacción entre módulos.

En principio, la actividad del módulo puede ser cambiada por cualquier factor.

El método puede ser aplicado de forma recursiva o combinado con otros métodos diseñados para realizar búsquedas finas en regiones más pequeñas.

# Ventaja adicional

El MMM puede ser aplicado incluso si se conoce solamente una pequeña porción de la estructura del sistema metabólico.



En este ejemplo,  $v_9$  y  $v_{10}$  pueden representar módulos de estructura desconocida!

**¡Muchas gracias!**