

Introduction à l'étude des Réseaux Métaboliques

Objectifs

- Comprendre l'interaction entre les différents process enzymatiques.
- Extraire une information structurelle/topologique.
- Extraire une information quantitative (?).

Outils

- Algorithmique des graphes - méthodes génériques.
- Modes élémentaires de Flux et ensemble de coupes minimales - méthodes spécifiques.
- Méthodes de simulation - réseaux de Pétri.
- FBA - Flux Balance Analysis - méthode quantitative.

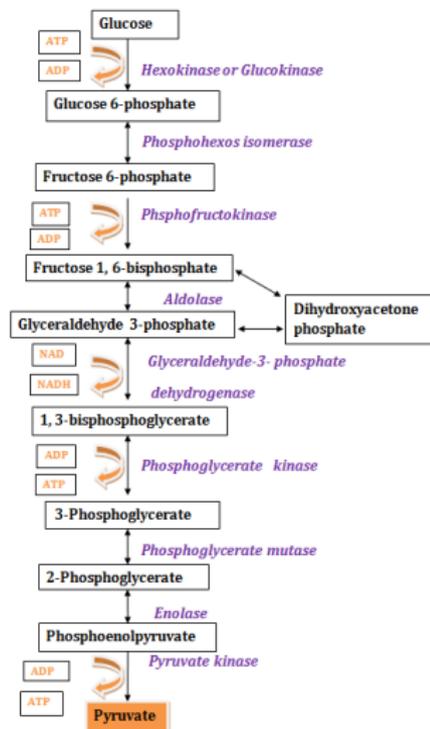
Les réseaux métaboliques

Métabolisme

- Ensemble des **réactions biochimiques** dans la cellule.
- **Transformations** de matières et **échanges d'énergie** dont l'être vivant est le siège.
- Les **objets biologiques** : enzymes, complexe protéiques, métabolites.

Voie métabolique

- Séquence d'étapes de modifications d'une molécule jusqu'à l'obtention d'un produit donné.
- Chaque étape est catalysée par un enzyme.



Modélisation d'un Réseau Métabolique

- Graphe : ensemble de noeuds et d'arêtes.

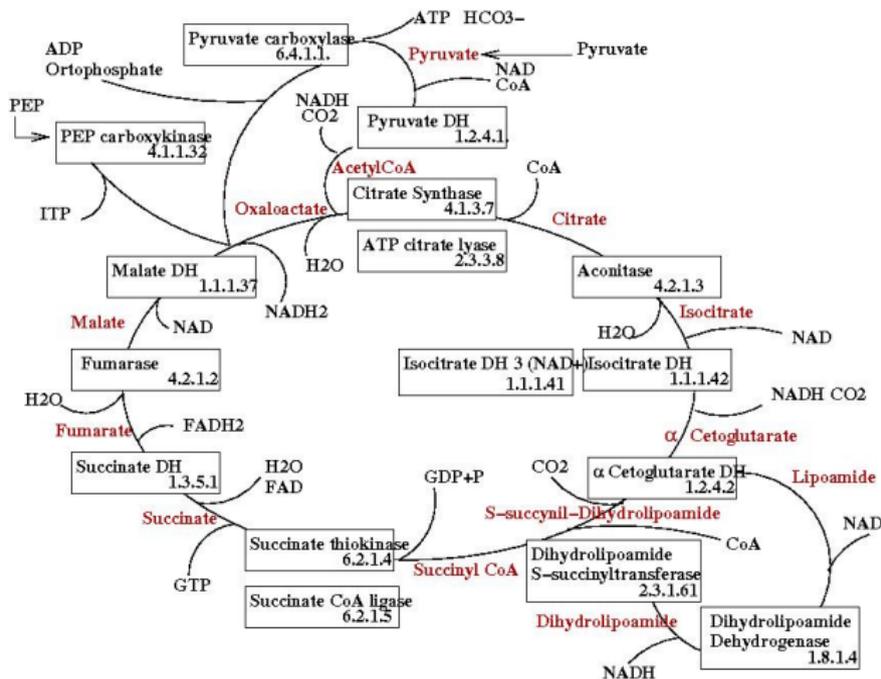


FIGURE: Cycle de Krebs

Comprendre les Interactions

- Echelle d'un ensemble de réactions métaboliques.

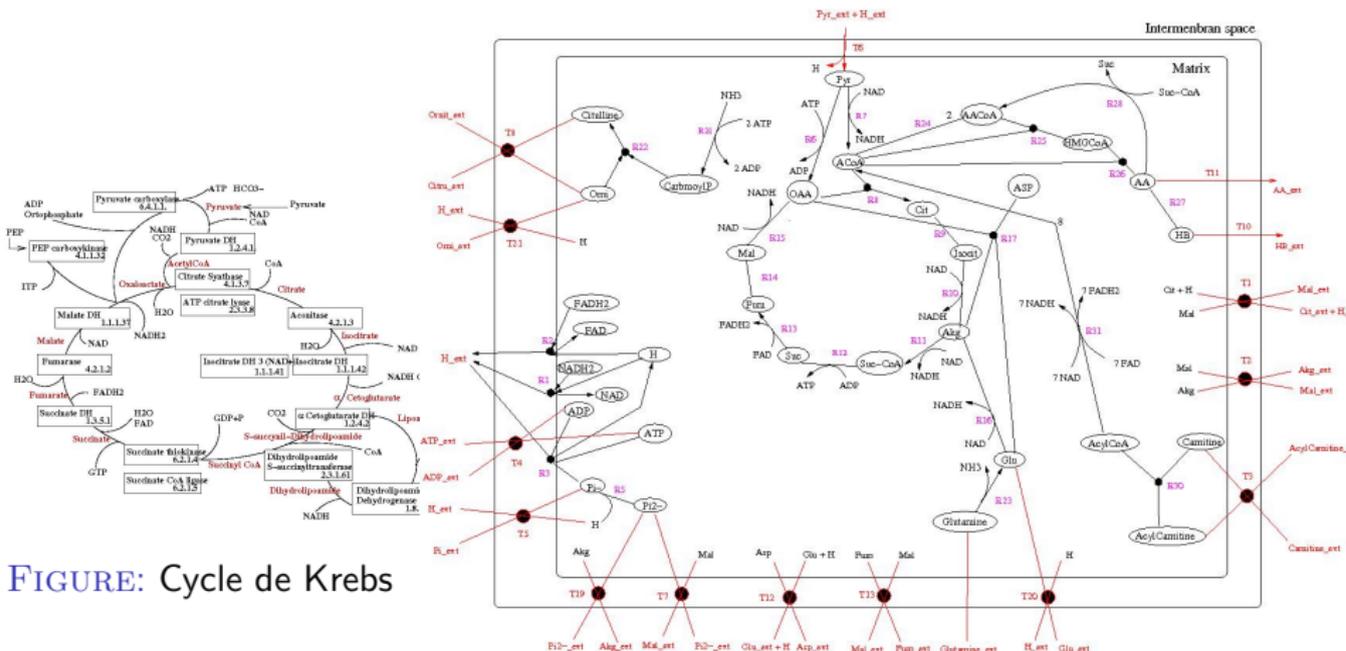
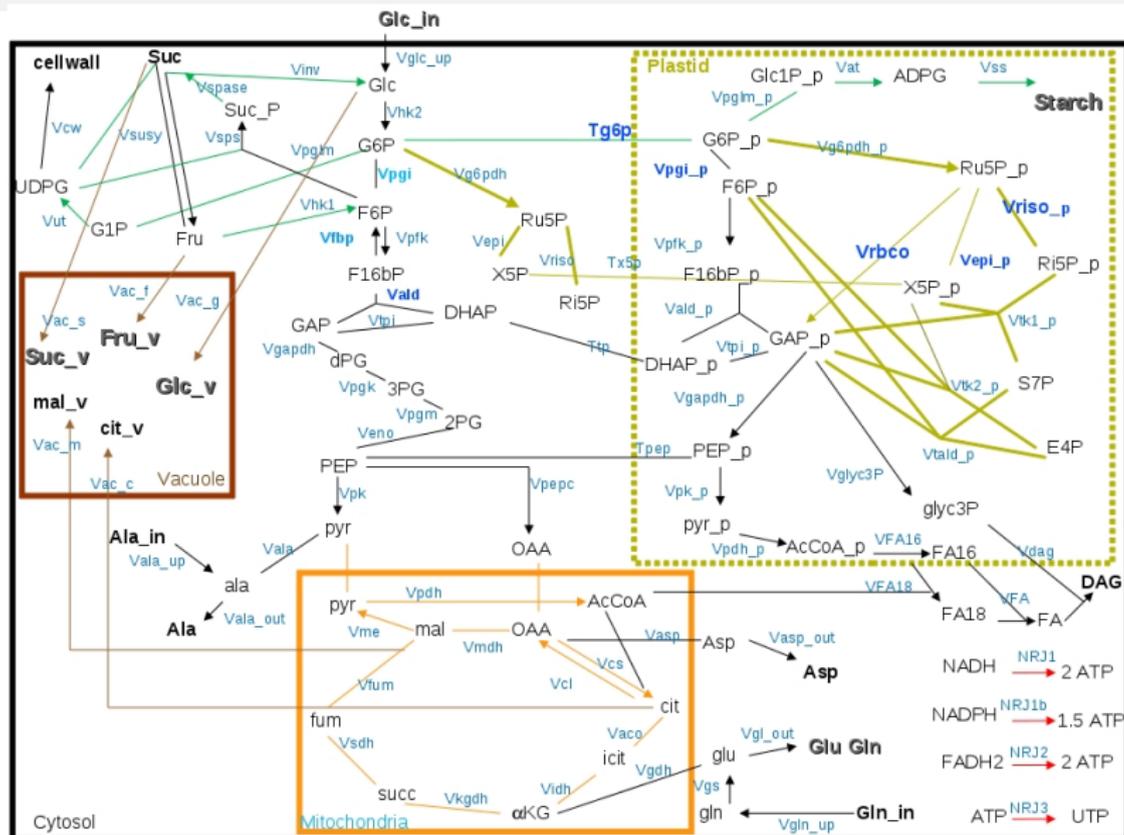


FIGURE: Cycle de Krebs

Métabolisme Central de la Plante



Description des réactions

Réaction biochimique

- Un ensemble de métabolites d'**entrée**, les substrats et de **sortie**, les produits.
- Un catalyseur, l'enzyme, agent actif de la réaction.

Liste de réactions

<i>Enzyme</i>	<i>Substrat</i>		<i>Produit</i>
Glucokinase :	Glucose + ATP	=	Glucose-6P + ADP
Isomerase :	Glucose-6P	=	Fructose-6P
Fructokinase :	Fructose-6P + ATP	=	Fructose-6biPhosphate + ADP

Problématiques

- Comment améliorer la production de certaines molécules : sucre, énergie ... ?
- Comment stopper la production de certaines molécules ?
- Quelles sont les conséquences d'une perturbation :
 - absence/impossibilité de travailler d'un enzyme,
 - indisponibilité totale ou ponctuelle / surproduction d'un métabolite : concurrence pour la consommation, arrêt d'une réaction

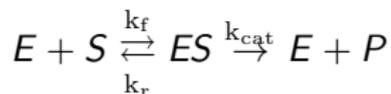
Méthode de modélisation classique

- Expérimentation : recueil des concentrations moléculaires.
- Modélisation :
 - Déduction des cinétiques d'une réaction.
 - Ecriture d'un jeu d'équations pour caractériser le comportement du système : équation de Michaelis Menten pour **modéliser l'évolution des concentrations** en fonction du temps.

Méthode de modélisation classique

- Expérimentation : recueil des concentrations moléculaires.
- Modélisation :
 - Déduction des cinétiques d'une réaction.
 - Ecriture d'un jeu d'équations pour caractériser le comportement du système : équation de Michaelis Menten pour **modéliser l'évolution des concentrations** en fonction du temps.

Ecriture des équations biochimiques



$$\frac{dx_i(t)}{dt} = F_i(\vec{x}(t)) = 0$$

Avec :

$$F_i(\vec{x}(t)) = \sum_i (\text{vitesse de production de } x_i - \text{vitesse de consommation de } x_i)$$

Réseau Métabolique

Passage à l'échelle

- Voie : composition de quelques dizaines réactions.
- Réseau : assemblage de voies, centaines de réactions.

Réseau Métabolique

Passage à l'échelle

- Voie : composition de quelques dizaines réactions.
- Réseau : assemblage de voies, centaines de réactions.

Limites de l'approche cinétique

- Systèmes d'équations impossible à résoudre analytiquement.
- Complexité des interactions.
- Nombreuses valeurs manquantes.

Modélisation de la structure du réseau

Graphe

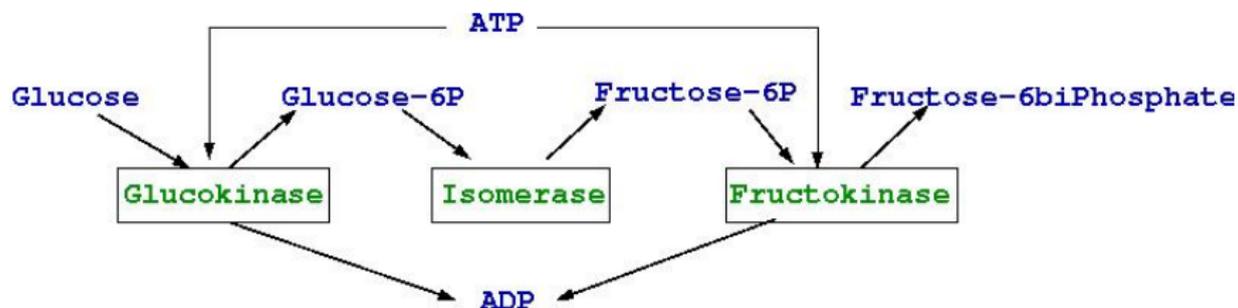
- Les nœuds : les réactions et/ou les métabolites.
- Les arêtes : les réactions ou les interactions.
- Représentation par un graphe orienté : réversibilité des réactions.
- Codage : matrice d'adjacence.

Modélisation de la structure du réseau

Graphe

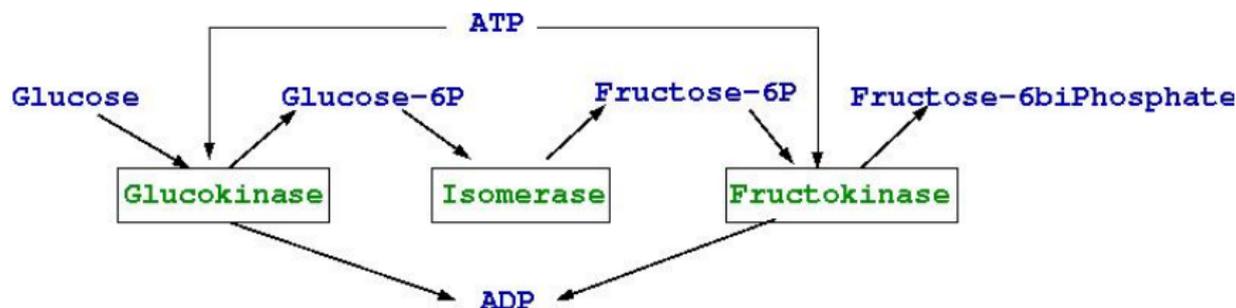
- Les nœuds : les réactions et/ou les métabolites.
- Les arêtes : les réactions ou les interactions.
- Représentation par un graphe orienté : réversibilité des réactions.
- Codage : matrice d'adjacence.
- Spécificité des réseaux métaboliques : **matrice de stœchiométrie**.

Matrice d'interactions



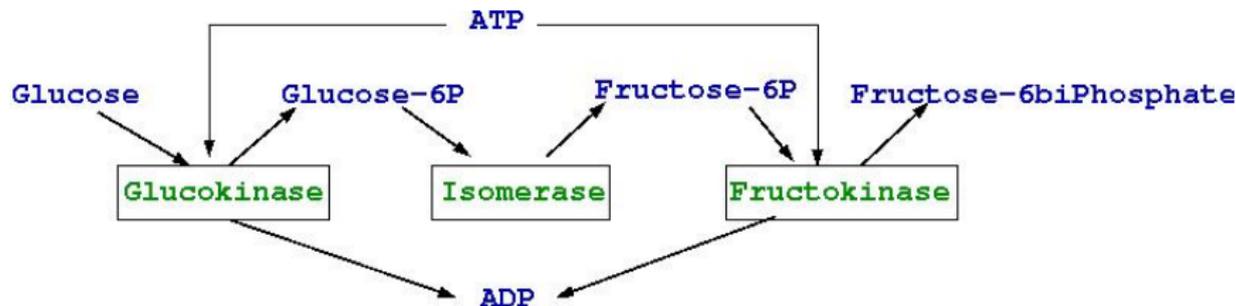
Met./Réact.	Glucokinase	Isomerase	Fructokinase
Glucose	-1	0	0
ATP	-1	0	-1
Gluc-6P	1	-1	0
ADP	1	0	1
Fruct-6P	0	1	-1
Fruct-6biPhosphate	0	0	1

Matrice d'interactions



Met./Réact.	Glucokinase	Isomerase	Fructokinase
Glucose	-1	0	0
ATP	-1	0	-1
Gluc-6P	1	-1	0
ADP	1	0	1
Fruct-6P	0	1	-1
Fruct-6biPhosphate	0	0	1

Matrice de Stœchiométrie



M/R	Glucokinase	Isomerase	Fructokinase	T-atp	T-adp
ATP	-1	0	-1	1	0
Gluc-6P	1	-1	0	0	0
ADP	1	0	1	0	-1
Fruct-6P	0	1	-1	0	0

Questions

Activités d'un enzyme / d'une voie

- **Dépendances** fonctionnelles entre deux enzymes.
- **Alternatives** pour la production d'un métabolite.
- Plasticité, **robustesse** d'une voie métabolique.

Trouver son Chemin dans le Graphe

- Identification des **routes** pour la réalisation d'une fonction objective.
- Identification des points de contrôle, de réactions ou de métabolites **hubs**.

Analyse de la Structure du Graphe

Quantification des propriétés

- Diamètre, arité des nœuds, coefficient de clustering.

Analyse de la Structure du Graphe

Quantification des propriétés

- Diamètre, arité des nœuds, coefficient de clustering.
⇒ **peu d'informations pertinentes.**

Analyse de la Structure du Graphe

Quantification des propriétés

- Diamètre, arité des nœuds, coefficient de clustering.
⇒ **peu d'informations pertinentes.**

Parcours de graphe métabolique

- Les Modes Élémentaires de Flux^a, EFM_s : ensemble de **chemins minimaux et uniques** réalisables dans le graphe qui garantissent l'état stable.

a. Schuster et al Journal of Biological Systems - 1994

Parcours de Graphe

Problématique

- Algorithme de la recherche de chemins dans un graphe.
- Respect de contraintes biologiques : l'état stable.

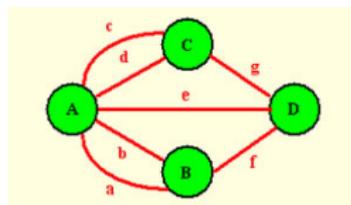
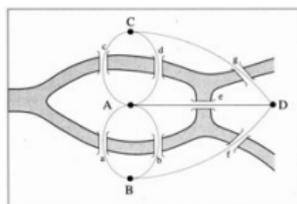
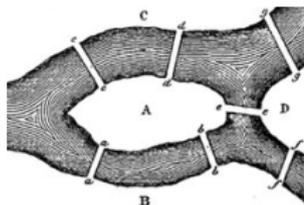
Parcours de Graphe

Problématique

- Algorithme de la recherche de chemins dans un graphe.
- Respect de contraintes biologiques : l'état stable.

Petite histoire

- Les 7 ponts de Königsberg
- Solutionné par Euler - chemin Eulérien
(<http://home.nordnet.fr/ajuhel/Koenigsberg/koenigsberg.html>).



Parcours de Graphe

Plus court chemin

- Algorithme du voyageur de commerce (cf <http://sis.univ-tln.fr/tollari/TER/AlgoGen1/node4.html>).
- Trouver un chemin Hamiltonien dans le graphe.
- Problème NP-complet !! En pratique, on peut utiliser les opérations matricielles comme la recherche des valeurs propres de la matrice, par le *pivot de Gauss* par exemple, pour trouver les **chemins unique et minimaux** dans le graphe.
- Enumération de tous les chemins possibles : explosion combinatoire du temps ($O(n!)$) et du nombre de solutions.

Les Modes Élémentaires de Flux

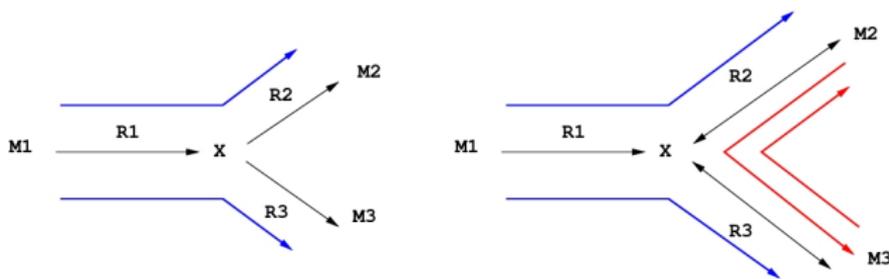
Méthode

- Méthode algébrique d'analyse linéaire : recherche de toutes les combinaisons linéaires de réactions conduisant à l'état stable.
- Utilise la matrice de stœchiométrie.
- Permet de **valider la description du réseau**.
- Ne contient aucune information cinétique.

Les Modes Élémentaires de Flux

Méthode

- Méthode algébrique d'analyse linéaire : recherche de toutes les combinaisons linéaires de réactions conduisant à l'état stable.
- Utilise la matrice de stœchiométrie.
- Permet de **valider la description du réseau**.
- Ne contient aucune information cinétique.



Les Modes Élémentaires de Flux

Principes et définition

- Basés sur la recherche d'ensembles uniques et minimaux de réactions satisfaisant l'état stable (Schuster 1998).
- Implémentation de l'algorithme d'algèbre linéaire pour déterminer l'ensemble des EFMs.

Outils

- Metatool, version ancienne en langage C, version récente en Matlab sous CellNetAnalyser
<http://www2.mpi-magdeburg.mpg.de/projects/cna/cna.html>
- Efmtree : implémentation en langage Java et stockage de la matrice dans un bit tree.
<http://www.csb.ethz.ch/tools/software/efmtree.html>
- regEfmtree : basé sur efmtree, ajout de règles logiques.
<http://www.biotec.boku.ac.at>

Exercice

- Modélisation du cycle de Krebs

Ensemble de Coupes Minimales

Limite de l'approche des Efms

- Les résultats ne sont pas analysables manuellement.
- Pas d'outils d'analyse des résultats.
- Pas d'outils de visualisation des résultats.

Objectifs

- Résoudre le problème posé par le nombre gigantesque d'EFMs.
- Espérer que le nombre de coupes sera plus petit et plus facile à analyser.

Ensemble de Coupes Minimales du Graphe

Problème dual : couper le flux

- Théorie des graphes : rechercher des ensembles de sommets formant des coupes minimales.
- Biologie : conséquences de l'arrêt de l'activité d'un ou plusieurs enzymes ?

Méthode

- Étude des EFMs pour calculer comment **déconnecter** une voie, une fonction, une route au travers du graphe.
- Méthode des Minimal Cut Sets^a, MCSs.
 - Respect des contraintes biologiques - état stable et réversibilité des réactions.

a. Klamt et al J. Biol. 2004

L'exemple du Cycle de Krebs

Résultats des EFMs

- 16 modes élémentaires.
- Longueur moyenne des modes approx. 9 réactions.

L'exemple du Cycle de Krebs

Résultats des EFMs

- 16 modes élémentaires.
- Longueur moyenne des modes approx. 9 réactions.

Résultats des MCS

- 328 ensembles de coupes minimales.
- Taille moyenne des coupes approx 4.