



Ficha de Trabalho 1

Mestrado em Bioinformática
Modelação de Processos Biológicos

13 de maio de 2022

Grupo 3

[GitHub](#)

Exercício 1_Processo de produção de um enzima com um microrganismo do género *Aspergillus* a partir de glucose.

Alínea A_Modelo dinâmico do processo em modo batch

Considerando o processo de produção de um enzima que nos foi providenciado foram deduzidas as equações a seguir apresentadas do modelo dinâmico em modo batch (descontínuo). De referir que tratando-se do modo batch assume-se que não ocorre variação de volume ao longo do tempo.

Volume

$$\frac{d[V]}{dt} = 0$$

Substrato

$$\frac{d[S]}{dt} = (-K_1 * \mu_1 - K_4 * \mu_2) * [X]$$

Biomassa

$$\frac{d[X]}{dt} = (\mu_1 + \mu_2) * [X]$$

Enzima

$$\frac{d[E]}{dt} = K_6 * \mu_2 * [X]$$

Alínea B_Modelo dinâmico do processo em modo fed-batch

De forma idêntica à alínea anterior foram novamente deduzidas as equações do modelo dinâmico do processo mas desta vez em modo fed-batch (semi-contínuo). Indo de encontro ao apresentado no enunciado foi assumido que ocorre uma variação de volume de entrada $F_e = 150 \text{ g/L}$.

Volume

$$\frac{d[V]}{dt} = F_e$$

Substrato

$$\frac{d[S]}{dt} = (-K_1 * \mu_1 - K_4 * \mu_2) * [X] + (S_0 - [S]) * \frac{F_e}{V}$$

Biomassa

$$\frac{d[X]}{dt} = (\mu_1 + \mu_2 - \frac{F_e}{V}) * [X]$$

Enzima

$$\frac{d[E]}{dt} = K_6 * \mu_2 * [X] - \frac{F_e}{V} * [E]$$

Exercicio 2_ Processo de produção de proteínas recombinadas com o microrganismo *Escherichia coli* (estirpe BL21)

Alínea A_ Modelo dinâmico do processo em modo batch

$$\frac{dX}{dt} = (\mu_1 + \mu_2 + \mu_3) * X$$

$$\frac{dS}{dt} = (-k_1\mu_1 - k_2\mu_2) * X$$

$$\frac{dA}{dt} = (k_3\mu_2 - k_4\mu_3) * X$$

$$\frac{dP}{dt} = (k_{11}\mu_1) * X$$

$$\frac{dV}{dt} = 0$$

$$\mu_1 = \mu_{max_1} \times \frac{S}{KS_1 + S}$$

$$\mu_2 = \mu_{max_2} * \frac{S}{KS_2 + S}$$

$$\mu_3 = \mu_{max_3} * \frac{A}{KS_3 + A}$$

$$\frac{d}{dt} \begin{bmatrix} X \\ S \\ A \\ P \\ V \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & 1 & 1 \\ -k_1 & -k_2 & 0 \\ 0 & k_3 & -k_4 \\ k_{11} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \mu_1 \\ \mu_2 \\ \mu_3 \end{bmatrix} X$$

Alínea B_ Implementação do modelo dinâmico do processo em modo batch, em Python.

A partir do script “alinea_b.py”, foi possível implementar o modelo obtido na alínea anterior e produzir o respetivo gráfico que permite observar a formação de biomassa, proteína recombinante e acetato em função das quantidades de substrato (glucose) e acetato disponível. De fazer referencia mais uma vez ao facto de tratando-se do modo descontinuo, não ocorre variação do volume a longo do tempo o que se pode aferir através do gráfico apresentado. Após análise do gráfico podemos verificar que nos primeiros, aproximadamente, 12 minutos todo o substrato já tinha sido consumido. Em sentido contrário e no mesmo período de tempo registou-se um ligeiro aumento de biomassa e um aumento considerável de proteína recombinante e acetato, sendo que este último se consumiu

completamente logo que o substrato se esgotou, o que não se verificou com a proteína recombinante e à biomassa que se mantiveram constantes no mesmo período de tempo

Condições iniciais: $X = 4 \text{ g/L}$; $S = 10 \text{ g/L}$; $A = 0 \text{ g/L}$; $P = 0 \text{ g/L}$; $V = 3 \text{ g/L}$.

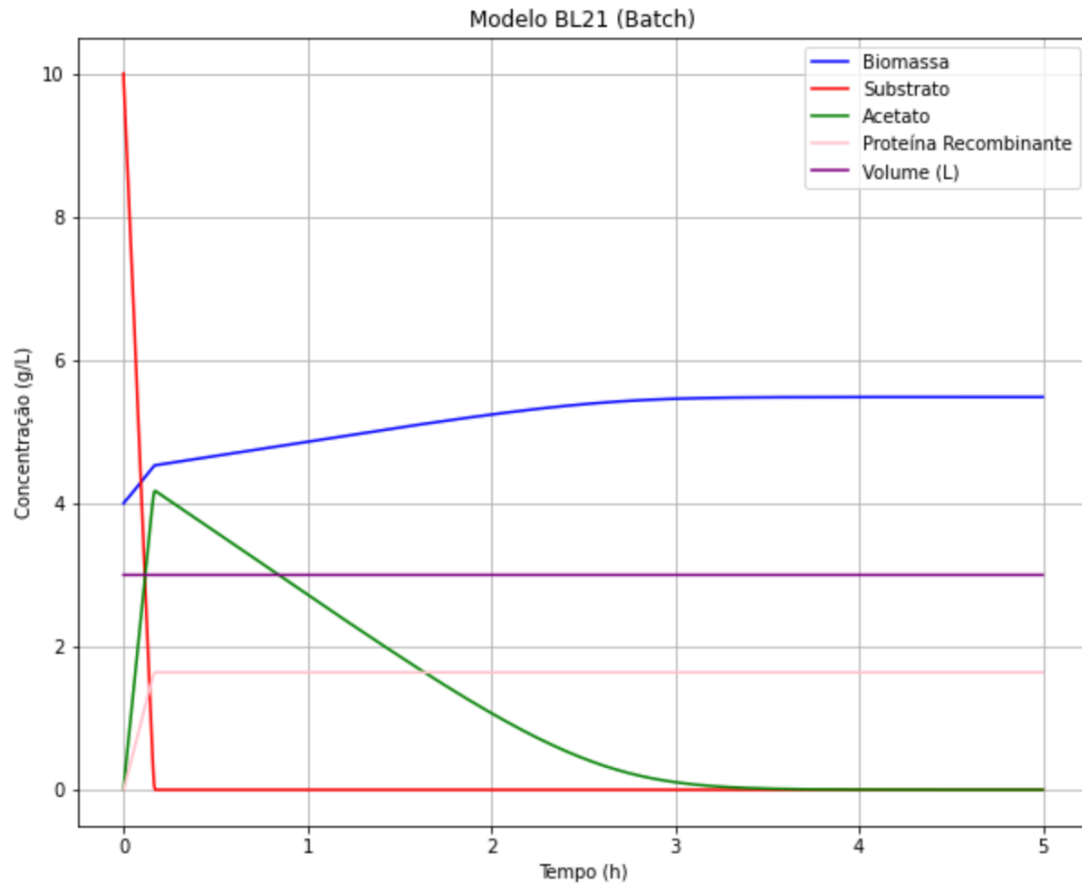


Figura 1 Representação gráfica da variação de X , S , A , P e Volume (V) ao longo do tempo para 5 horas de fermentação.

Alínea C_ Modelo dinâmico do processo em modo fed-batch

$$\frac{dX}{dt} = (\mu_1 + \mu_2 + \mu_3) X - \frac{Fe}{V} X$$

$$\mu_1 = \mu_{max_1} \times \frac{S}{KS_1 + S}$$

$$\frac{dS}{dt} = (-k_1\mu_1 - k_2\mu_2)X - \frac{Fe}{V}S + \frac{Fe}{V}Se$$

$$\frac{dA}{dt} = (k_3\mu_2 - k_4\mu_3)X - \frac{Fe}{V}A$$

$$\mu_2 = \mu_{max_2} \times \frac{S}{KS_2 + S}$$

$$\frac{dP}{dt} = (k_{11}\mu_1)X - \frac{Fe}{V}P$$

$$\mu_3 = \mu_{max_3} \times \frac{A}{KS_3 + A}$$

$$\frac{dV}{dt} = Fe$$

$$\frac{d}{dt} \begin{bmatrix} X \\ S \\ A \\ P \\ V \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & 1 & 1 \\ -k_1 & -k_2 & 0 \\ 0 & k_3 & -k_4 \\ k_{11} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} \mu_1 \\ \mu_2 \\ \mu_3 \end{bmatrix} X - \frac{Fe}{V} \begin{bmatrix} X \\ S \\ A \\ P \\ V \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} 0 \\ \frac{Fe}{V}Se \\ 0 \\ 0 \\ Fe \end{bmatrix}$$

Alínea D_ Implementação do modelo dinâmico do processo em modo fed-batch, em Python

De forma idêntica ao que foi elaborado para o modelo descontínuo, foi implementado em python, no script “*alinea_d.py*”, o modelo dinâmico semi-contínuo e obtido o seu respetivo gráfico representativo. Tratando-se do modelo semi-contínuo o volume varia ao longo do tempo. A partir do gráfico obtido é possível verificar que existe um ligeiro aumento do substrato nos primeiros 30 minutos, resultante da alimentação que o sistema recebe, sendo totalmente consumido de seguida. Este aumento do substrato resulta no crescimento exponencial de proteína recombinante, biomassa e também acetato, este último posteriormente esgota-se pois a alimentação não é suficiente, resultando no seu consumo.

Condições iniciais: X = 4 g/L; S = 0 g/L; A = 0 g/L; P = 0 g/L; V = 5 g/L; Se = 0.8 L/h.

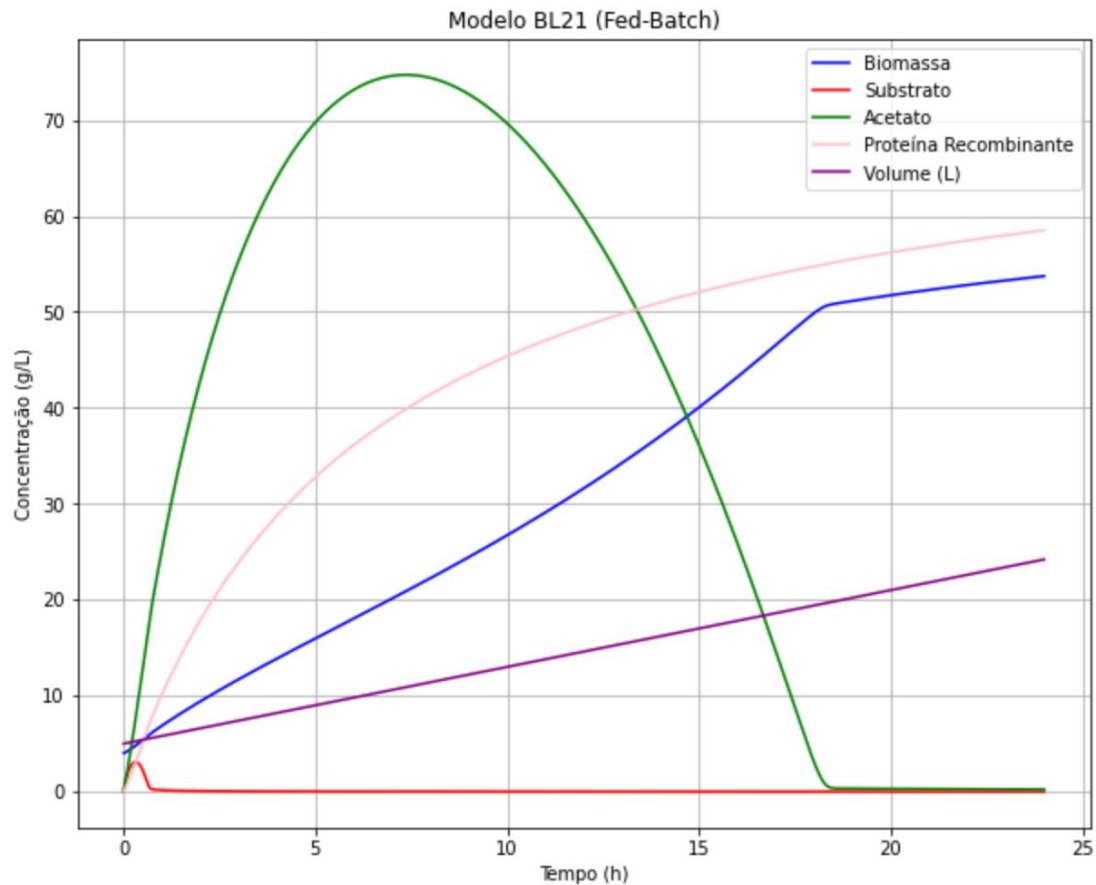


Figura 2_Representação gráfica da variação de X, S, A, P e Volume (V) ao longo do tempo para 24 horas de fermentação com um perfil de alimentação constante de 0.8 L/h.

Alínea E_ Estimativa dos parâmetros K_3 , μ_{max3} , K_{s3}

Partindo dos dados da alínea anterior, estirpe BL21, e os fornecidos para a estirpe JM09 foi elaborado um gráfico com o intuito de comparara as duas, aqui o modelo BL21 é executado com parâmetros iniciais da nova estirpe. Neste gráfico é possível observar a diferença no consumo de substrato e de acetato ao longo do tempo. As estirpes JM09 consome o substrato a uma taxa mais baixa mas o acetato mais rápido face a outra estirpe. No entanto a estirpe BL21 consegue produzir maior biomassa apesar de gastar o substrato mais cedo.

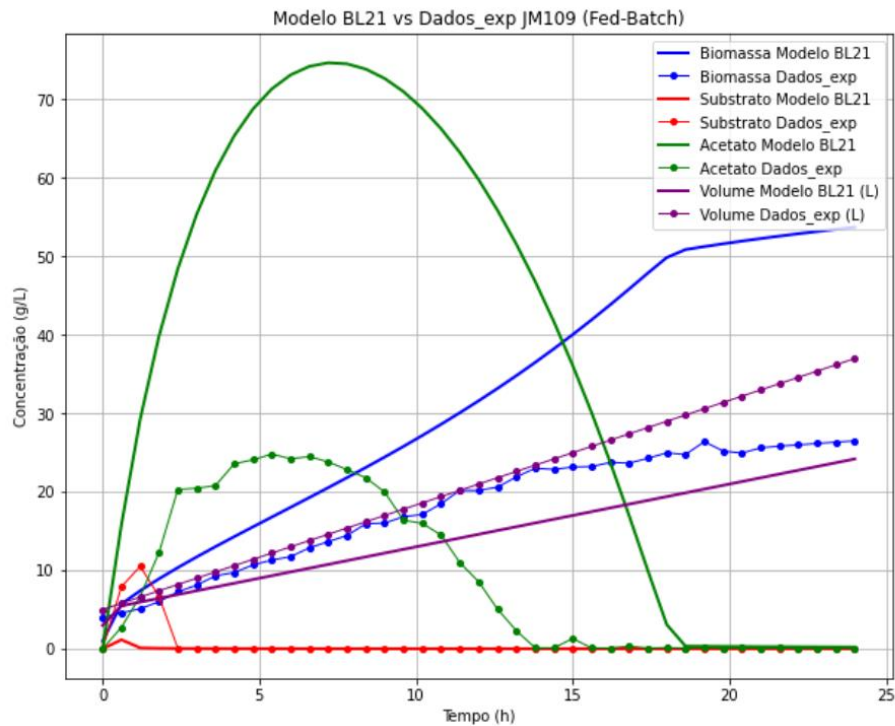


Figura 3_ Representação das concentrações nas duas estirpes de *E.coli* ao longo do tempo

No “*alinea_E.py*” foram estimados os parâmetros K_3 , μ_{max3} , K_{s3} utilizando os dados experimentais. Para o efeito foi formulado um problema de estimação e após várias iterações foram determinados os valores 13.50945035, 0.5754241 e 1.25010977 para K_3 , μ_{max3} , K_{s3} respectivamente. De seguida foi implementado o modelo para a estirpe JM109 com os parâmetros estimados de forma a gerar um novo gráfico de comparação desta vez entre o modelo estimado e o modelo inicial. Aqui observasse um aumento na produção de biomassa bem como um aumento na taxa de consumo de substrato e de acetato.

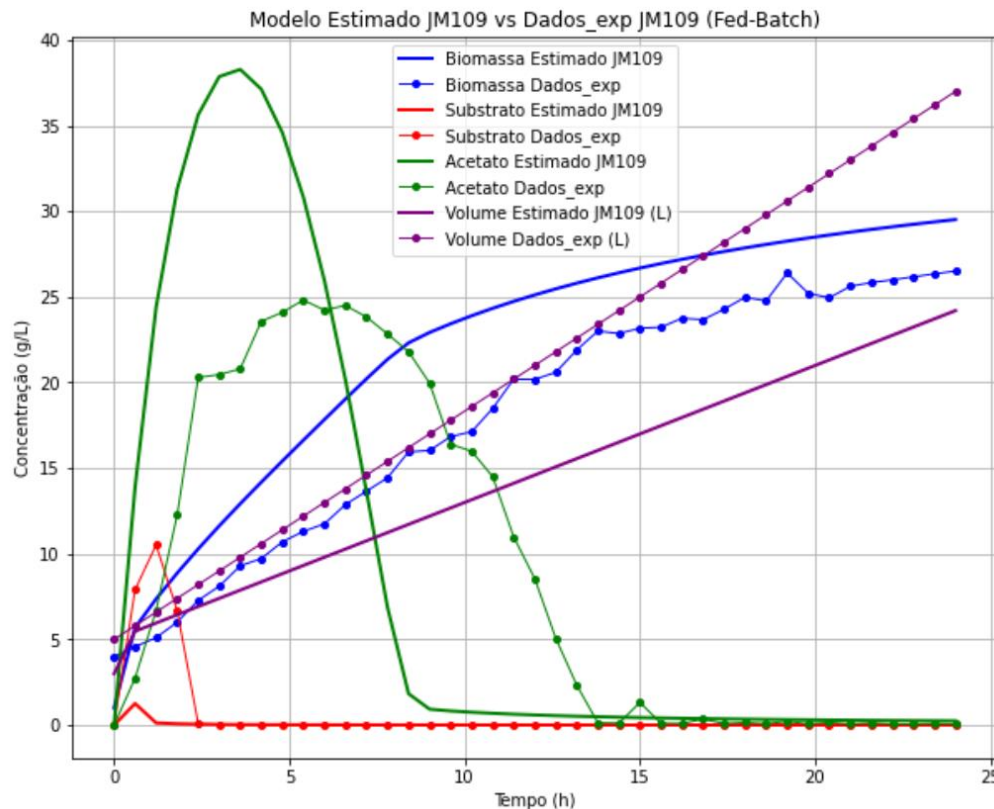


Figura 4 Representação das concentrações ao longo do tempo no modelo estimado e nos dados experimentais

Alínea F_ Sensibilidade ao longo do tempo das variáveis X e S aos parâmetros K3, μ_{max3} , Ks3

Erro ao fazer as derivadas parciais com a função "diff" do sympy, não foi possível resolver. Erro representado no jupyter notebook.

Alínea G_ Redução do modelo tendo em conta os dados das sensibilidades

Dado que na alínea anterior não conseguimos obter nenhum resultado, aqui assumimos que o K3 não afeta o modelo para podermos resolver a alínea. Posto isto foi desenvolvido o script 'alinea_g.py, onde o K3 é retirado do modelo. Observando o gráfico podemos verificar um aumento na produção de proteína no modelo reduzido face ao modelo normal. No entanto o modelo normal ao longo do tempo tem um maior crescimento da biomassa. As concentrações de substrato e de volume não sofrem alterações.

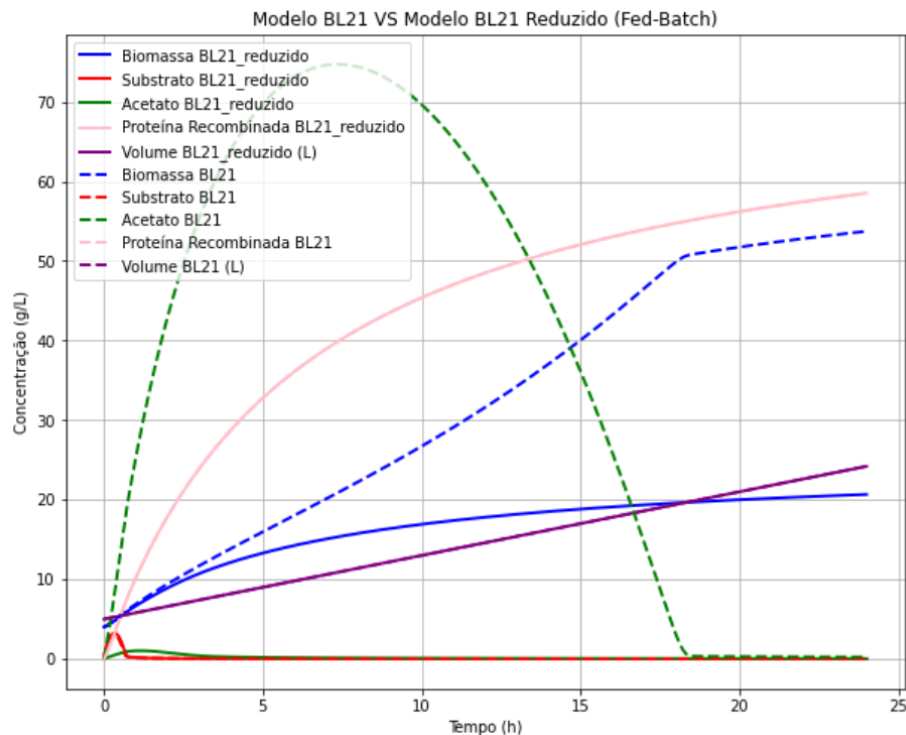


Figura 5_Representação das concentrações ao longo do tempo no modelo reduzido e do modelo normal

Alínea H_ Determinação do estado estacionário e da estabilidade do sistema no estado estacionário para as situações em que não há biomassa e em que o valor da biomassa é maior que 0

De forma a determinar os estados estacionários e a sua estabilidade desenvolveu-se o script '*alinea_h.py*'. Primeiramente, foram determinadas as derivadas do sistema e a partir destas foram encontrados os pontos estacionários e de seguida foi calculado o jacobiano. Os pontos estacionários encontrados anteriormente foram substituídos na matriz tendo sido obtidos o determinante e o traço de cada um dos pontos foram calculados.

Foram obtidos dois pontos estacionários, o ponto 1 (0, 450, 0, 0) e o ponto 2 (6.55681951e+01 6.66580612e-03 5.16292911e+00 7.37552928e+01). Para o primeiro ponto estacionário (ponto 1) foi obtido o determinante -0.0010841158355714424 e o traço 0.332639999999999994. Tendo estes dois parâmetros estamos em condições de analisar a estabilidade do ponto estacionário e sendo o determinante negativo e o traço positivo estamos perante um nodo instável. De igual forma podemos fazer o mesmo tipo de análise para o outro ponto estacionário (ponto 2). No que a este diz respeito foi obtido para o valor do determinante 6.882821403891638e-05 e para o traço -0.39335. Posto isto é diferente do ponto 1 o ponto 2

apresenta um determinante positivo e um traço positivo. Assim sendo e após cálculo do discriminante podemos afirmar que este ponto apresenta-se como ponto de sela estável.