Considere o modelo estequiométrico de Streptococcus thermophilus CH8 (https://doi.org/10.1128/aem.00780-22).

Esta bactéria ácida láctica é utilizada para fermentar produtos lácteos, apresentando diferentes características fermentativas dependendo das condições ambientais. Embora o ácido lático seja sempre o principal subproduto, essa bactéria também pode produzir compostos que contribuem para a qualidade dos alimentos fermentados, como diacetil e acetaldeído.

A lactose (dissacarídeo com glicose + galactose) é comumente utilizada como fonte de carbono por ser o principal carboidrato disponível no leite. Entretanto, a bactéria não consegue metabolizar a galactose, liberando-a para o espaço extracelular, juntamente com uma pequena porção (~10%) de glicose. A glicose restante é usada para obter energia e esqueletos de carbono para produzir biomassa.

Considere o crescimento da bactéria em dois meios diferentes: meio químico definido (CDM) e meio lácteo. O CDM inclui lactose, vários aminoácidos em quantidades bem definidas, vitaminas e cofatores.

O leite pode conter composições variáveis de aminoácidos. Assim, os autores do modelo definiram um peptídeo derivado do leite médio para representar a composição média de aminoácidos da caseína, uma proteína abundante no leite. O meio lácteo também inclui lactose e algumas vitaminas e cofatores.

1) O MDL já está definido no modelo. Todas as simulações com este meio devem ter como objetivo a maximização da produção de biomassa.

Definir o meio lácteo requer bloquear o consumo de todos os aminoácidos e permitir a absorção irrestrita de caseína (metabólito “caspep\_e”). Todas as simulações com meio lácteo devem ter como objetivo a minimização do consumo de caseína enquanto se limita a taxa de crescimento a 0,64 h-1, salvo indicação em contrário.

O consumo de lactose, aminoácidos e caseína, bem como a produção de galactose e glicose e ácido lático, devem ser restringidos conforme apresentado na Tabela 1.

O composto de interesse do seu grupo está disponível na tabela ao final do arquivo. Os seguintes exercícios devem ser repetidos para ambos os meios. Ao comparar a produção do composto em diferentes meios, use a formulação BPCY:

BPCY = 𝑃𝑟𝑜𝑑𝑢𝑐𝑡 ∙ 𝐺𝑟𝑜𝑤𝑡h 𝑆𝑢𝑏𝑠𝑡𝑟𝑎𝑡𝑒, onde o produto é o composto do seu grupo, o crescimento é o fluxo da reação da biomassa, e o substrato é o consumo de lactose.

1. Qual é a produção de tipo selvagem do composto?
2. Avalie a robustez da solução apresentada usando a abordagem de Análise de Variabilidade de Fluxo.
3. Quais são as capacidades máximas de produção de compostos, garantindo uma taxa mínima de crescimento de 20% do tipo selvagem?
4. Avalie se deleções de um único gene aumentam a produção do composto. Classifique os mutantes obtidos de acordo com a capacidade de produção do composto e desempenho de crescimento.

2) Os autores do modelo obtiveram dados de expressão gênica (RNA-seq) para esta cepa em CDM e meio lácteo (“gene\_expression.xlsx”) em condições anaeróbicas. Para este exercício, considere a maximização da taxa de crescimento como objetivo para ambas as mídias. Para meio de leite, defina a absorção de caseína como 0,004 mmol/gDW/h.

1. Integre os dados de expressão para ambas as condições usando o algoritmo GIMME. Compare a produção de seu composto em ambas as condições, bem como o fluxo de sua(s) via(s) de produção.
2. Compare a saída do algoritmo com os resultados obtidos no exercício 1 a).