

Título de la Tesis: “Análisis, modelamiento y optimización de caminos metabólicos”

Doctorado en Ingeniería Química

Autor: Di Maggio, Jimena A.

Directores: Diaz, María Soledad - Díaz Ricci, Juan Carlos

Resumen

El análisis y modificación de caminos metabólicos para mejorar las propiedades de las células usando herramientas genéticas actuales es un objetivo central en Ingeniería Metabólica. La idea básica es integrar la información biológica cuantitativa obtenida de diversas fuentes, especialmente de análisis genómicos, a modelos matemáticos para poder efectuar análisis de datos y adquisición de datos asistida por modelos, a la vez que se pretende sugerir con más efectividad modificaciones a realizar sobre los microorganismos para lograr sobreproducción de compuestos deseados (por ejemplo, bio-combustibles o antibióticos), intersección de ciertas moléculas en intervenciones terapéuticas, entre otros. En la presente tesis se desarrollan modelos cinéticos de redes metabólicas basados en primeros principios, en el marco de problemas de optimización. El objetivo final de proponer modificaciones en dichas rutas metabólicas para la maximización de la producción de un producto de interés biotecnológico, como un aminoácido o un biocombustible. En una primera etapa, se lleva a cabo un estudio de sensibilidad para determinar los principales parámetros a identificar, mediante el desarrollo y aplicación de técnicas de sensibilidad global. Dichas técnicas están basadas en el estudio de varianzas condicionales e incondicionales de las variables de estado. En una segunda etapa, se lleva a cabo el ajuste de los principales parámetros del modelo cinético de rutas metabólicas con datos in vivo, obtenidos en la bibliografía para un cultivo continuo de *E. coli*, frente a un pulso de glucosa. Las predicciones del modelo se comparan con otros conjuntos de datos de bibliografía, con resultados aceptables. Asimismo, se llevan a cabo experiencias con dicho microorganismo en cultivos continuos y se obtienen datos experimentales a nivel bio-reactor, que se emplean para ajustar un modelo cinético de quimiostato. La estimación de parámetros se lleva a cabo formulando un problema de optimización con función objetivo de máxima verosimilitud, sujeto a un sistema de ecuaciones diferenciales algebraicas que representan la red metabólica y el bioreactor, respectivamente. En la siguiente etapa, el modelo cinético se formula en el marco de un problema de programación no lineal, para el diseño de redes metabólicas que maximizan un objetivo biotecnológico. Finalmente, se formula un problema de diseño óptimo con restricciones que aseguran la estabilidad de la red obtenida, mediante la aplicación de conceptos de estabilidad de sistemas no lineales de Lyapunov. La metodología presentada en esta tesis, unida a resultados numéricos que concuerdan con datos experimentales intra y extracelulares, permite el estudio sistemático de redes metabólicas y a la vez avanzar hacia la integración de modelos metabólicos complejos para el diseño óptimo de cepas.

Título de la Tesis: “Análisis, modelamiento y optimización de caminos metabólicos”

Doctorado en Ingeniería Química

Autor: Di Maggio, Jimena A.

Directores: Diaz, María Soledad - Díaz Ricci, Juan Carlos

Abstract

The main objective in Metabolic Engineering is the analysis and modification of metabolic pathways to improve cell properties, using currently available genetic tools. The basic idea is to couple biological information from different sources, mainly genomic analysis, to mathematical models for computer aided data acquisition and analysis, as well as prediction of modifications on microorganisms to achieve biotechnological products overproduction. In this thesis work, we formulate metabolic network kinetic models, based on first principles, within an optimization framework. The final objective is to propose modifications in metabolic pathways for aminoacid o bioethanol overproduction. As a first step, we perform global sensitivity analysis (GSA) on the developed metabolic network model to determine identifiable parameters. The applied methodology is a variance-based one, most appropriate for highly nonlinear models like the system under study. The second step includes parameter estimation for the kinetic model, based on in vivo collected data from the literature for a glucose pulse inserted in an E. coli continuous culture. Model predictions favorably compare to other sets of experimental data from the literature. Fermentations have been carried out under the same conditions for E. coli cultures and collected experimental data has been used for parameter estimation in a simple continuous bioreactor kinetic model. Parameter estimation is performed within an optimization framework with a maximum likelihood objective function, subject to a differential algebraic equations system representing the metabolic network or the bioreactor, alternatively. In the last step, the kinetic model is formulated within a nonlinear programming program for the optimal design of a metabolic network for a desired product overproduction. The model is re-formulated including stability constraints based on Lyapunov stability theory to ensure asymptotic stability of the optimal metabolic network. The methodology proposed in this thesis, together with numerical results that are in agreement with intra and extracellular experimental data, paves the way to the systematic study of metabolic pathways and the integration of complex metabolic network models for the optimal design of strains of biotechnological interest.