

Estimativa de parâmetros cinéticos para cultivo de *Escherichia coli* recombinante visando a produção da proteína da superfície de *Streptococcus pneumoniae* (PSPA)

Carolina T. Ferreira^{*1}, Gabriel G. Silva², Teresa C. Zangirolami³, Antonio C. Luperni Horta⁴

1. Estudante de IC do Departamento de Engenharia Química (DEQ), UFSCar – São Carlos/SP; *tferreira.carol@gmail.com
2. Mestrando em Engenharia Química (PPG-EQ), UFSCar – São Carlos/SP;
3. Professora associada do Departamento de Engenharia Química (DEQ), UFSCar – São Carlos/SP;
4. Professor adjunto do Departamento de Engenharia Química (DEQ), UFSCar – São Carlos/SP;

Palavras Chave: *E.Coli recombinante*, parâmetros cinéticos, simulação de processos.

Introdução

A produção de proteínas heterólogas por meio de bactérias *Escherichia coli* recombinantes é um processo largamente utilizado em escala laboratorial e industrial. A *E. coli* tem seu funcionamento fisiológico, bioquímico e genético amplamente estudado, além de cultivo versátil (Swartz, 2001), e constitui-se se um organismo de rápido crescimento e fácil lise celular (Zanfonato, 2012).

Em um cultivo em biorreator, há parâmetros cinéticos associados ao processo estimados empiricamente. Para o ajuste dos parâmetros do modelo matemático aos dados experimentais, são utilizados métodos de otimização, como o *Simulated Annealing* (SA) e de Newton, cuja finalidade é localizar mínimos globais e locais de uma função objetivo, respectivamente.

O objetivo deste trabalho foi estimar os parâmetros cinéticos do cultivo de *E. coli* visando a produção da proteína de superfície do *S. pneumoniae* (PSPA). Para tanto, foram utilizados os métodos supracitados para minimização do erro entre o modelo cinético e os dados experimentais do cultivo.

Resultados e Discussão

O modelo cinético adotado para descrição do cultivo de *E. coli* está descrito a seguir, em que o crescimento celular, o consumo de substrato e a produção de proteína são dados em função das concentrações de células (X , em $g.L^{-1}$), substrato (no caso, o glicerol) (S , em $g.L^{-1}$) e de proteína (P , em $mg.L^{-1}$) ao longo do tempo (t), da concentração de substrato na alimentação C_f (em $g.L^{-1}$), da razão de diluição D e da velocidade de crescimento celular (μ).

$$\frac{dX}{dt} = -DX + (\mu - K_d)X \quad (1)$$

$$\frac{dS}{dt} = D(C_{fS} - S) - \frac{\mu X}{Y_{X/S}} - (\alpha\mu + \beta) \frac{X}{Y_{P/S}} - mX \quad (2)$$

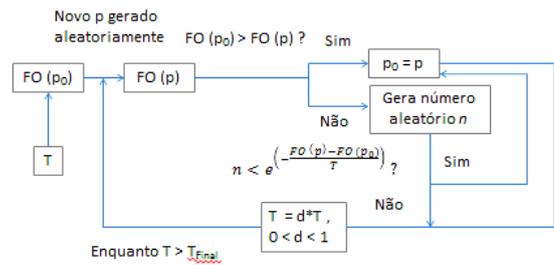
$$\frac{dP}{dt} = -DP + \alpha\mu X + \beta X \quad (3)$$

Em que μ é dada conforme o modelo cinético de Monod:

$$\mu = \frac{\mu_{\max} S}{K_m + S} \quad (4)$$

Os parâmetros a serem ajustados são: velocidade específica de crescimento celular (μ_{\max} , em h^{-1}), coeficientes de rendimento de formação de células e proteína ($Y_{X/S}$ e $Y_{P/S}$, em $g_x.g_s^{-1}$ e $g_p.g_s^{-1}$, respectivamente), os coeficientes para formação de produto associada e não associada ao crescimento (α e β , em $g_p.g_x^{-1}$ e $g_p.g_x^{-1}.h^{-1}$), a manutenção (m , em $g_s.g_x^{-1}.h^{-1}$), a constante de saturação (K_m , em h^{-1}) e a constante de morte (K_d , em $g.L^{-1}$) (Horta, 2008). O procedimento iterativo do algoritmo SA utilizado está descrito na figura 1, com os valores ajustados e os intervalos de confiança expostos na tabela 1. A comparação entre os dados calculados por meio dos

parâmetros ajustados e os dados experimentais está na figura 2. O procedimento foi realizado no software Matlab[®]. **Figura 1.** Funcionamento do método *Simulated annealing*

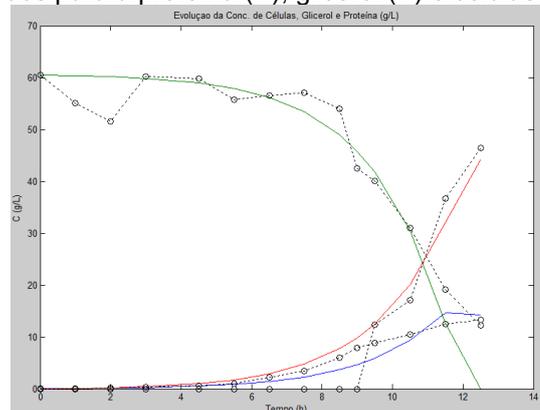


Fonte: Acervo pessoal.

Tabela 1. Parâmetros cinéticos estimados

Parâmetro	Valor ajustado	Intervalo de confiança
$Y_{X/S}$ ($g_x.g_s^{-1}$)	0.50712	$\pm 1.89776.10^{-4}$
$Y_{P/S}$ ($mg_p.g_s^{-1}$)	2.77726	$\pm 3.40090.10^5$
α ($g_p.g_x^{-1}$)	1.99013	$\pm 1.94201.10^{-1}$
β ($g_p.g_x^{-1}.h^{-1}$)	0.03062	$\pm 1.49464.10^{-2}$
μ_{\max} (h^{-1})	0.47106	$\pm 4.38720.10^{-2}$
m ($g_s.g_x^{-1}.h^{-1}$)	0.00019	$\pm 5.22835.10^{-2}$
K_d (h^{-1})	0.00010	$\pm 1.34788.10^{-2}$
K_m ($g.L^{-1}$)	0.07374	$\pm 3.92956.10^0$

Figura 2. Comparação entre os dados experimentais (o) e simulados para a proteína (---), glicerol (---) e células (---)



Fonte: Acervo pessoal.

Conclusões

Os parâmetros ajustados mostraram-se coerentes, em sua maioria, com os limites delimitados na literatura. A convergência dos métodos foi confirmada, e o ajuste do modelo mostrou-se próximo do experimental em batelada.

HORTA, A.C. L. (2008) Técnicas computacionais inteligentes para a inferência de estado e otimização de cultivos de *Streptococcus pneumoniae*. Dissertação de mestrado apresentada ao programa de pós-graduação em biotecnologia da Universidade Federal de São Carlos.

SWARTZ, J. R. Advances in *Escherichia coli* production of therapeutic proteins. v.12, p.195-201. Stanford, USA, 2001.

ZANFONATO, K. Produção de poli(3-hidroxiobutirato) por linhagens de *Escherichia coli* DH5 α e JM101 recombinantes. Dissertação de mestrado apresentada ao programa de pós-graduação em engenharia de alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina.