

PQI-5888 (2020) – Estudo Dirigido 2

Roteiro para estudo do artigo de Basso TO et al. (2011) Engineering topology and kinetics of sucrose metabolism in *S. cerevisiae* for improved ethanol production

O artigo deverá ser lido pelo aluno e as questões respondidas num documento Word ou numa folha de papel.

- 1) Quais são as duas formas principais de metabolização de sacarose na levedura *S. cerevisiae*? Qual delas é a que predomina, em células selvagens? Desenhe um esquema que mostra estas duas vias de consumo de sacarose, desde a sacarose extracelular até que a glicose e a frutose estejam disponíveis intracelularmente para serem metabolizadas pela via glicolítica clássica.
- 2) Qual o rendimento energético (em termos de moles de ATP formados) do catabolismo de sacarose em *S. cerevisiae*, durante o crescimento em anaerobiose? Considere as duas situações: a via usual de catabolismo de sacarose e a via alternativa.
- 3) Além da engenharia metabólica, qual outra abordagem foi empregada neste estudo, para melhorar o metabolismo de *S. cerevisiae*?
- 4) Novamente, na parte de Métodos, não se preocupem em entender todos os detalhes. O importante é entender quais linhagens de *S. cerevisiae* foram usadas no estudo, quais meios de cultura foram usados e quais compostos tiveram sua concentração ou atividade medidas.
- 5) Ao se comparar experimentos em sacarose com experimentos em glicose, por que é importante calcular todos os parâmetros fisiológicos usando a unidade de *gramas de hexose-equivalente* e não simplesmente *gramas de sacarose*?
- 6) Como foi implementada a alteração na expressão do gene *SUC2*, de maneira que a enzima invertase, que normalmente atua no ambiente extracelular, passasse a atuar no ambiente intracelular, com atividade ainda maior que numa linhagem selvagem?
- 7) Ao interpretar os dados da Tabela 3, lembrem-se que num quimiostato (em estado estacionário) as células crescem numa velocidade específica que é igual à vazão específica D . Portanto, para todas as linhagens apresentadas, a velocidade específica de crescimento foi a mesma, igual a $0,1 \text{ h}^{-1}$
- 8) A simples realocação do metabolismo da sacarose levou às mudanças previstas pelos cálculos teóricos?
- 9) Qual pressão seletiva foi usada nos experimentos de engenharia evolutiva (= evolução em laboratório)?
- 10) Quantas gerações (= duplicações da população) foram necessárias para que as células atingissem o fenótipo desejado?
- 11) Ao final do experimento de evolução, o fenótipo do microrganismo chegou àquele previsto pelos cálculos teóricos?
- 12) Qual modificação genética foi detectada, como consequência do experimento de evolução? Isto está coerente com os resultados obtidos?
- 13) Qual a “distância” entre o estudo realizado e a realidade industrial?

PS: este trabalho ganhou o primeiro lugar no Prêmio TOP Etanol 2011, categoria trabalhos acadêmicos (www.projetoagora.com.br/premiotopetanol/) e foi amplamente divulgado pela mídia (Terra, Globo, Pesquisa FAPESP, Agência USP de Notícias, mídias especializadas em cana-de-açúcar e bioenergia, etc).