

### PQI-5888 (2020) – Estudo Dirigido 3

**Roteiro para estudo do artigo de Nissen et al. (2000)** Optimization of ethanol production in *Saccharomyces cerevisiae* by metabolic engineering of the ammonium assimilation

#### Questões:

- 1) Quais são as duas funções fisiológicas da formação de glicerol em anaerobiose pela levedura *S. cerevisiae*?
- 2) Que experimento demonstrou que a única rota para a reoxidação de NADH na levedura *S. cerevisiae*, em anaerobiose, é através da enzima glicerol-3-fosfato desidrogenase?
- 3) Quais atividades enzimáticas foram medidas, a partir de amostras retiradas dos cultivos em batelada? Correlacione as atividades medidas com as reações 1, 2 e 3 do artigo.
- 4) Na Tabela 1, os dados de atividades enzimáticas reportados correspondem ao que se esperava, em termos das modificações genéticas realizadas?
- 5) Qual linhagem apresentou a maior velocidade específica de crescimento ( $\mu$ ) e qual apresentou o menor valor para este parâmetro fisiológico, nos experimentos em batelada anaeróbica? Qual a possível explicação para essa redução?
- 6) Quais duas estratégias garantiram a menor redução na velocidade específica de crescimento em relação à linhagem original (TN1)? Qual o composto químico parece ser o fator limitante para a redução nesse parâmetro? O que poderia ser feito para eliminar completamente essa diferença?
- 7) Qual foi a linhagem geneticamente modificada, gerada neste trabalho, que levou ao maior aumento no rendimento de etanol sobre glicose ( $Y_{E/S}$ )? Quais outros produtos do metabolismo tiveram, conseqüentemente, seus rendimentos diminuídos?
- 8) A simples alteração do metabolismo de NADH foi suficiente para atingir o objetivo esperado? Qual outra modificação se mostrou essencial para o aumento do rendimento em etanol sobre glicose na linhagem TN19 em relação a linhagem TN22?
- 9) Os autores se preocupam em sempre averiguar a velocidade específica dos mutantes gerados. Por que isto é tão importante?

**Nota:** Produtividade em etanol (g etanol/g células.h) =  $\mu_P = \mu \cdot (Y_{E/S} / Y_{X/S})$

- 10) Pensando no processo industrial de fermentação alcoólica, como é conduzido no Brasil (em particular na composição do meio de cultura), esta estratégia muito provavelmente não funcionaria. Por que?