

Μεταβολομική ανάλυση του θερμοσταθερού βακτηρίου *Geobacillus kaustophilus* με στόχο την κατασκευή βιολογικού «θερμοσασί»

Μ. Λογοθέτη¹, Δ. Κέκος¹, Δ. Χατζηνικολάου², Φ. Κολίσης¹

¹Σχολή Χημικών Μηχανικών, ΕΜΠ, Αθήνα, Ελλάδα

²Σχολή Θετικών Επιστημών, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, Αθήνα, Ελλάδα

(*mlogotheti@hotmail.com)

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η δυνατότητα ανάπτυξης των βακτηρίων του γένους *Geobacillus* σε υψηλές θερμοκρασίες καθιστά τους μικροοργανισμούς αυτούς και τα προϊόντα τους ιδανικά για βιοτεχνολογικές εφαρμογές. Αρχικά, αποτελούν πλούσια πηγή θερμοσταθερών ενζύμων και φυσικών προϊόντων, επίσης αποδιατάσσουν τη λιγνινοκυτταρινούχο βιομάζα και διάφορους υδρογονάνθρακες ενώ είναι και παραγωγοί βιοκαυσίμων. Τα βακτήρια του γένους *Geobacillus* έχουν μεγάλες δυνατότητες ως βιολογικά σασί για συνθήκες λειτουργίας σε υψηλές θερμοκρασίες (θερμοσασί) λόγω του ότι είναι θερμοφιλά, με βέλτιστες θερμοκρασίες ανάπτυξης μεταξύ 45 και 70 ° C [1].

Η διαδικασία κατασκευής μοντέλων γονιδιακής κλίμακας είναι ένα ουσιαστικό πρώτο βήμα προς την ανάλυση της μεταβολικής φυσιολογίας μικροβιακών οργανισμών. Τα μεταβολικά μοντέλα επιτρέπουν τον τοπολογικό χαρακτηρισμό του δικτύου, τον προσδιορισμό σημαντικών γονιδίων, στόχους διαγραφής γονιδίων για βελτιωμένη παραγωγή παραπροϊόντων καθώς και πρόβλεψη φαινοτύπων ανάπτυξης κάτω από ποικίλες συνθήκες. Η συγκεκριμένη μελέτη αποσκοπεί στην ανάπτυξη ενός μεταβολικού μοντέλου γονιδιακής κλίμακας που θα καλύπτει το μεταβολισμό ενός ειδικού στελέχους του μικροοργανισμού του γένους *Geobacillus* και θα βοηθήσει με τον σχεδιασμό *in silico* πειραμάτων στην κατασκευή θερμοανθεκτικού θερμοσασί και πραγματοποιείται στο πλαίσιο της Εθνικής Ερευνητικής Υποδομής OMIC-ENGINE (MIS 5002636), η οποία έχει σκοπό την προώθηση της έρευνας στην Συνθετική Βιολογία και τη δημιουργία προϊόντων υψηλής προστιθέμενης αξίας στο ελληνικό αγροδιατροφικό σύμπλεγμα και χρηματοδοτείται από το Επιχειρησιακό Πρόγραμμα «Ανταγωνιστικότητα, Επιχειρηματικότητα και Καινοτομία» (ΕΣΠΑ 2014-2020). Τη βάση για την κατασκευή του συγκεκριμένου μεταβολικού μοντέλου θα αποτελέσει το μοντέλο γονιδιακής κλίμακας του *Geobacillus thermoglucosidasius* (C56-YS93) [2]. Εφαρμόζοντας γραμμικό προγραμματισμό, η μελέτη της φυσιολογίας των μικροοργανισμών του γένους *Geobacillus* θα καταλήξει στην κατανόηση της φυσιολογίας των συγκεκριμένων μικροοργανισμών και στη σχεδίαση στρατηγικών μεταβολικής μηχανικής.

Για την μοντελοποίηση του μεταβολικού δικτύου του εξεταζόμενου μικροοργανισμού τέσσερα βασικά στάδια ακολουθούνται. Αρχικά πραγματοποιείται η δημιουργία ενός προσχέδιου του μοντέλου που ουσιαστικά αφορά μια αρχική συλλογή υποψηφίων μεταβολικών λειτουργιών του οργανισμού που προκύπτουν άμεσα από το επισημειωμένο γονιδιώμα του, στη συνέχεια ακολουθεί η βελτίωση του προσχέδιου, επανεξετάζονται τα αρχικά δεδομένα, προστίθενται καινούργια και συντίθενται ένα ολοκληρωμένο μεταβολικό δίκτυο. Το επόμενο στάδιο περιλαμβάνει τη μαθηματική αναπαράσταση του μοντέλου, στο οποίο καθορίζονται τα όρια του συστήματος. Τέλος το μοντέλο αξιολογείται με *in silico* πειράματα για τυχόν κενά που μπορεί να παρουσιάζει. Το μοντέλο μετασχηματίζεται σε μορφή ενός COBRA Toolbox αρχείου και ακολουθεί η ανάλυση ισορροπίας ροών του [3].

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] Adams B. (2016). The Next Generation of Synthetic Biology Chassis: Moving Synthetic Biology from the Laboratory to the Field. *ACS Synthetic Biology*, 5(12), 1328-1330.
- [2] Ahmad A., Hartman H., Krishnakumar S., Fell D., Poolman M., Srivastava S. (2017). A Genome Scale Model of *Geobacillus thermoglucosidasius* (C56-YS93) reveals its biotechnological potential on rice straw hydrolysate. *J Biotechnol*, 251:30–37
- [3]. Thiele I., Palsson B. Ø. (2010). A protocol for generating a high-quality genome-scale metabolic reconstruction. *Nature*, 5(1), 93-121.