



scienceevolution

ISSN: 2810-8728 (En línea)

4.12

OCTUBRE - DICIEMBRE 2024

Artículo Científico

92 - 99



ARTÍCULO

Científico

PREDICCIÓN DE ESTRATEGIAS DE ELIMINACIÓN GÉNICA CON PROGRAMACIÓN LINEAL OPTKNOCK DE PYTHON EN *YALI4* DE *YARROWIA LIPOLYTICA* PARA PRODUCIR LICOPENO

PREDICTION OF GENE KNOCKOUT STRATEGIES USING PYTHON'S OPTKNOCK LINEAR PROGRAMMING IN *YALI4* OF *YARROWIA LIPOLYTICA* FOR LYCOPENE PRODUCTION

Milton Giovanni Quinga Socasi

mngquina@espe.edu.ec

ORCID: 0009-0005-6420-6459

Lorena Valeria Moscoso Vallejo

lvmoscoso@espe.edu.ec

ORCID: 0009-0002-5042-2220

Ana Elena Flores García

elenaflores@uadec.edu.mx

ORCID: 0009-0008-8687-9015

Marcela Gabriela Pazmiño Naranjo

mgpazmino2@espe.edu.ec

ORCID: 0009-0001-4307-4814

Daniela Isabel Lema Amaquiña

dilema@espe.edu.ec

ORCID: 0009-0004-1756-7406

Universidad de las Fuerzas Armadas (Espe),
Sangolquí - Ecuador

Aceptación: 08 de Noviembre del 2024

Publicación: 25 de Noviembre del 2024

RESUMEN

En esta investigación, se utilizó el algoritmo de programación lineal (OptKnock) en Python en el modelo GEM *iYali4* de *Yarrowia lipolytica*, para predecir estrategias de eliminación de genes y optimizar la producción de licopeno. Como la levadura no produce naturalmente el licopeno, se utilizó adicionalmente rutas heterólogas. Para el análisis de ingeniería metabólica, se emplearon los paquetes Cameo y COBRAPy, y el modelo basado en restricciones metabólicas: FBA para la optimización. Se generaron visualizaciones gráficas de los planos de fase de fenotipo (*production envelopes*), cuyo fin es representar las diferentes etapas de crecimiento óptimo al utilizar de manera distinta dos sustratos: oxígeno y nitrógeno; analizando la optimización de la eliminación del gen PGM2 (fosfoglucomutasa) que resultó de la predicción de knockouts usando OptKnock. Los resultados del FBA mostraron una tasa de producción de licopeno de 0.0567 (mmol/gdcw/h) al eliminar el gen PGM2, lo que indicó que la predicción y el posterior ensayo de eliminación de genes resulta adecuado para simular y aumentar la producción de licopeno usando el modelo *iYali4* de esta levadura; aunque, por otra parte se comprometió la producción de biomasa, disminuyendo el crecimiento del microorganismo a una tasa de crecimiento cercana al cero.

Palabras clave: *Yarrowia lipolytica*; OptKnock; FBA; Ingeniería metabólica; Licopeno; COBRAPy; Cameo; Eliminación de genes; Production envelopes; GEM, *iYali4*; programación lineal, PGM2.

ABSTRACT

In this study, the linear programming algorithm OptKnock was applied in Python to the GEM model *iYali4* of *Yarrowia lipolytica* to predict gene knockout strategies and optimize lycopene production. Since this yeast does not naturally produce lycopene, heterologous pathways were additionally incorporated. The metabolic engineering analysis packages used included Cameo and COBRAPy; constraint-based metabolic models, specifically FBA, were applied for optimization. Phenotypic phase plane plots (*production envelopes*) were generated to visualize various phases of optimal growth with different usages of two substrates, oxygen and nitrogen. The optimization also involved analyzing the deletion of the PGM2 gene (phosphoglucomutase), predicted by OptKnock. The FBA results indicated a lycopene production rate of 0,0567 mmol/gDCW/h upon deletion of the PGM2 gene, demonstrating that the predicted gene deletion approach was suitable for simulating and enhancing lycopene production using the *iYali4* model of this yeast. However, biomass production was compromised, reducing the microorganism's growth rate to near zero.

Keywords: *Yarrowia lipolytica*; OptKnock; FBA; Metabolic Engineering; Lycopene; COBRAPy; Cameo; gene knockout; Production Envelopes; GEM, *iYali4*; Linear Programming; PGM2.

PREDICCIÓN DE ESTRATEGIAS DE ELIMINACIÓN GÉNICA CON PROGRAMACIÓN LINEAL OPTKNOCK DE PYTHON EN *YALI4* DE *YARROWIA LIPOLYTICA* PARA PRODUCIR LICOPENO

Daniela Isabel Lema Amaquiña
ORCID: 0009-0004-1756-7406

Ana Elena Flores García
ORCID: 0009-0008-8687-9015

Marcela Gabriela Pazmiño Naranjo
ORCID: 0009-0001-4307-4814

Milton Giovanni Quinga Socasi
ORCID: 0009-0005-6420-6459

Lorena Valeria Moscoso Vallejo
ORCID: 0009-0002-5042-2220

<https://revista.scienceevolution.com/>





Daniela Isabel Lema Amaquiña
ORCID: 0009-0004-1756-7406

Ana Elena Flores García
ORCID: 0009-0008-8687-9015

Marcela Gabriela Pazmiño Naranjo
ORCID: 0009-0001-4307-4814

Milton Giovanni Quinga Socasi
ORCID: 0009-0005-6420-6459

Lorena Valeria Moscoso Vallejo
ORCID: 0009-0002-5042-2220

<https://revista.scienceevolution.com/>



INTRODUCCIÓN

El licopeno, compuesto carotenoides, se produce únicamente en ciertas plantas como el tomate, la sandía, la guayaba y la papaya, así como en microorganismos carotenogénicos; resulta indispensable para el cuerpo humano y este solo puede ser incorporado mediante su consumo, ya sea en forma de alimentos o suplementos. Este carotenoides contribuye a una buena salud por sus efectos terapéuticos, profilácticos y nutracéuticos. Actualmente se ha comprobado que ayuda en la destrucción de células cancerígenas y en la interrupción del ciclo celular en varios tipos de cáncer. Además, actúa como un potente preventivo del cáncer y cuenta con beneficios cardioprotectores, antioxidantes y antiinflamatorios (Nambou et al., 2015; Takeshima et al., 2014; Zhang et al., 2021).

La fabricación masiva de licopeno resulta esencial; no obstante, el proceso actual de obtención de licopeno a partir de fuentes vegetales presenta desafíos relacionados con la competencia alimentaria, el impacto ambiental, los elevados costos de producción, la extensión del tiempo de procesamiento y el rendimiento limitado. Aunado a ello, la fermentación realizada mediante microorganismos carotenogénicos es poco común, y tampoco genera cantidades significativas de licopeno. A su vez, los esfuerzos sustanciales se realizaron con la finalidad de diseñar microorganismos no carotenogénicos con la meta de la mejora en la eficiencia en el proceso de producción de licopeno (Nambou et al., 2015).

Dentro de este ámbito, la levadura oleaginosa *Yarrowia lipolytica*, reconocida bajo la categoría GRAS (generalmente aceptada como segura), y destacando como una plataforma biotecnológica con un enorme potencial para la fermentación orientada a la síntesis de metabolitos. Estos productos encuentran diversas aplicaciones en las industrias farmacéutica y alimentaria. Este potencial radica en su sistema de expresión eficiente que permite la producción de proteínas tanto homólogas como heterólogas. Asimismo, su habilidad para aprovechar sustratos hidrófobos de bajo costo y para secretar productos con eficacia la posiciona como una opción ideal en este campo (Larroude et al., 2018; Yan et al., 2018).

Se han creado metodologías *in silico* en el ámbito de la ingeniería metabólica para mejorar la producción de licopeno en esta levadura. Estas metodologías aprovechan la información proporcionada por el modelo metabólico genómico a escala completa (GEM) denominado *iYali4*, el cual permite analizar en detalle las rutas metabólicas de la levadura y simular modificaciones específicas, como la eliminación o sobreexpresión de determinados genes. El modelo *iYali4* incorpora un total de 1683 metabolitos, 1985 reacciones y 901 genes, y su función objetivo, asociada al código 2111, está vinculada a la reacción de crecimiento de la levadura, cuya principal salida es la biomasa (Quinga, 2023). Además el uso de modelos basados en restricciones metabólicas, entre los que destaca el Análisis de Balance de Flujos Metabólicos (FBA), ha demostrado ser una herramienta valiosa para orientar la ingeniería metabólica de *Yarrowia lipolytica* al optimizar la producción de licopeno, basándose en sus predicciones computacionales (Quinga, 2023).

Los algoritmos computacionales en Python, usando paquetes como *Cameo* y *COBRAPy* han resultado útiles en las simulaciones computacionales de la producción de licopeno en *Yarrowia lipolytica* (Cardoso et al., 2028; Quinga, 2023). Además, al tratarse de Python, que es una plataforma accesible, facilita su implementación en laboratorios con recursos limitados (Ebrahim et al., 2013). Sin embargo, es necesario establecer más herramientas computacionales que ayuden en la predicción de la eliminación de genes para maximizar la producción de un metabolito de interés mientras se mantiene el crecimiento del organismo en cuestión (Burgard et al., 2003; Zhang et al., 2024).

La falta de una metodología eficiente para la predicción de *knockouts* en el modelo *iYali4* representa una barrera significativa para avanzar en la bioproducción de licopeno y otros compuestos de interés en *Y. lipolytica*. Por tal motivo, en esta investigación se utilizó en Python el algoritmo *OptKnock* implementado en *Cameo*, que es una herramienta avanzada de ingeniería metabólica basada en programación lineal. Al aprovechar las redes metabólicas de los GEM, el algoritmo determina una serie de genes que deben eliminarse (*knockouts*) para desviar los flujos metabólicos hacia rutas específicas que optimicen la producción de un metabolito de interés, mientras se mantiene el crecimiento celular a manera de producción de biomasa (Burgard et al., 2003).



MÉTODO

Se utilizó la versión de Python 3.10.12, en un entorno *Jupyter Notebook* de Google Colab para la implementación del código. Asimismo, los paquetes de Python empleados para analizar la ingeniería metabólica y que, a su vez, soportan los modelos basados en restricciones son: *COBRAPy* y *Cameo*. El script desarrollado está disponible en Github: <https://github.com/Milton250/articulo-Predicci-n-de-estrategias-de-eliminaci-n-de-genes-gene-knockout->

La metodología se basó en el trabajo de Titulación de la Maestría en Biología Computacional que lleva por título "Desarrollo de algoritmos para optimizar la producción de licopeno en *Yarrowia lipolytica* usando herramientas computacionales de ingeniería metabólica en Python" (Quinga, 2023).

Importación del modelo metabólico *iYali4* de *Yarrowia lipolytica*

A través del uso del comando *models* de *Cameo*, se procedió a importar el modelo metabólico a escala del GEM, el cual se denomina *iYali4*, correspondiente a *Y. lipolytica*, extraído de la *data base* de la Universidad de Minho (<http://darwin.di.uminho.pt/model>). Este modelo, presentado en el formato SBML (*Systems Biology Markup Language*), tiene como objetivo diseñar no solo las vías metabólicas, sino también las interacciones complejas de señalización celular, así como otras rutas bioquímicas fundamentales para la célula (Hucka et al., 2018).

Identificación de las reacciones de la ruta del mevalonato en el modelo GEM

Dado que el modelo metabólico vigente emplea identificadores numéricos conocidos como *id*, para representar cada una de las reacciones bioquímicas, se procedió a ubicar las reacciones contenidas en la vía biosintética del licopeno a partir de acetil-CoA dentro del marco de dicho modelo metabólico (Quinga, 2023). Finalmente, para realizar la operación, se utilizó el comando: *reactions.get_by_id()* de *COBRAPy*, una herramienta ampliamente utilizada para la manipulación y análisis de modelos metabólicos a escala genómica.

Adición de rutas heterólogas

Como *Y. lipolytica* no produce licopeno de forma natural, fue imprescindible integrar vías heterólogas derivadas de las rutas de síntesis de licopeno presentes en *Pantoea ananatis*, excluyendo la reacción encargada de consumir dicho compuesto (Schwartz et al., 2017; Zhang et al., 2020; Zhang et al., 2021). Para realizar esta incorporación en el modelo, se tuvo que determinar su estequiometría, los metabolitos participantes y los genes implicados, información extraída de la *data base* KEGG (Quinga, 2023).

Optimización de la producción de licopeno (Evaluación del modelo antes de realizar la predicción de *knockouts*)

Con el propósito de optimizar la producción de licopeno y validar el modelo propuesto, se llevó a cabo un análisis del balance de flujo (FBA) utilizando los comandos de *COBRAPy*. Los resultados obtenidos permitieron calcular las unidades correspondientes a diversos flujos metabólicos, incluyendo la tasa de crecimiento (biomasa) en unidades de (1/h), la tasa de producción de licopeno (mmol/gdcw/h) y el rendimiento de licopeno expresado como (mol/mol glucose) (Quinga, 2023).

Identificación de las reacciones involucradas en el medio de cultivo

Con ayuda de los comandos de *COBRAPy*, se logró identificar el medio de crecimiento actual del modelo y se identificó a las reacciones con sus valores numéricos (Quinga, 2023).

Predicción de estrategias de eliminación de genes (*gene knockout*) usando el algoritmo de programación lineal (*OptKnock*)

Para la predicción de genes que pueden ser eliminados para optimizar la producción de licopeno en el modelo GEM empleado, se utilizó el algoritmo *OptKnock* implementado en el paquete *Cameo* de Python. Los parámetros para la predicción empleados fueron, máximo un *knockout* permitido, y que muestre al menos los 3 mejores resultados. El código que se utilizó es el siguiente:

```
#Para importar OptKnock
from cameo.strain_design.deterministic.linear_programming import OptKnock
```

```
#Para aplicar el algoritmo OptKnock en el modelo metabólico
#Ejecutar múltiples knockouts con OptKnock puede llevar algunas horas o días...
```



```
optknock = OptKnock(modelyal1, fraction_of_optimum=0.5, exclude_non_gene_reactions=True,
exclude_reactions=['xBIOMASS'])
```

```
result = optknock.run(max_knockouts=1, target='LYCO-dem', biomass='2111', max_results=3)
```

Eliminación de genes y optimización de la producción de licopeno

Con los resultados obtenidos de la predicción se utilizó al menos 1 gen para simular el *knockout* de este gen. En este caso el gen de la fosfoglucomutasa PGM2 (GPR YALIOE02090g) empleado en el código para eliminación de genes que usa COBRApy es:

```
modelyal1.genes.YALIOE02090g.knock_out()
```

Luego, se optimizó con FBA el resultado de la eliminación del gen.

Gráficos de planos de fase de fenotipo (*Production envelopes*)

A través de este modelo de representaciones gráficas, se facilita el desarrollo de un modelo teórico que aborda las capacidades y limitaciones celulares, considerando restricciones estequiométricas. Además, permite un análisis eficiente de las limitaciones inherentes al sistema en desarrollo, así como de la interacción entre producción y crecimiento al emplear diferentes sustratos (Edwards et al., 2002). Los gráficos obtenidos ilustran cómo la producción de licopeno y biomasa depende de sustratos como el oxígeno y el nitrógeno (Quinga, 2023).

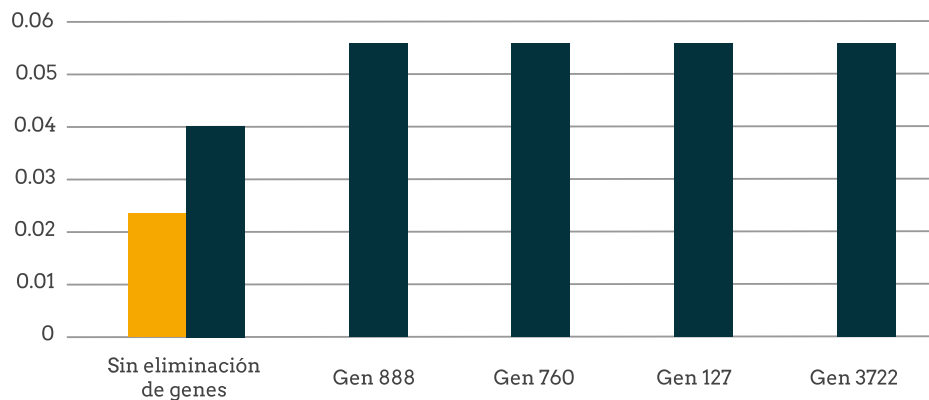
RESULTADOS

Predicción de estrategias de eliminación de genes (*gene knockout*) usando el algoritmo de programación lineal (*OptKnock*)

En el Gráfico 1, se muestra la optimización en las tasas de producción de licopeno y la de crecimiento aplicando el análisis FBA al modelo metabólico *iYali4* de *Yarrowia lipolytica* modificado hacia la producción de licopeno y su comparación frente a los resultados de predicción de estrategias de eliminación de genes usando el algoritmo *OptKnock*. Se observó que se obtuvieron 4 estrategias de genes para la eliminación, los genes: fosfoglucomutasa (id 888), sintasa de N-acetilglucosamina-6-fosfato (id 760), acil-CoA aciltransferasa (oleoil-CoA), membrana del retículo endoplásmico-partícula lipídica (id 3722). Para todas las estrategias de genes a eliminar se obtuvo la misma tasa de producción de licopeno de 0.0566 [mmol/gdcw/h] que resulta superior a la tasa de producción de licopeno cuando no se realiza la eliminación de esos genes. Además, se observó que al aplicar la eliminación de los genes, la tasa de crecimiento es decir la biomasa de la levadura tiende a cero.

Gráfico 1

Resultados obtenidos en la optimización de la tasa de producción de licopeno y la tasa de crecimiento en *Yarrowia lipolytica* mediante FBA en el modelo *iYali4*, utilizando el algoritmo *OptKnock*.





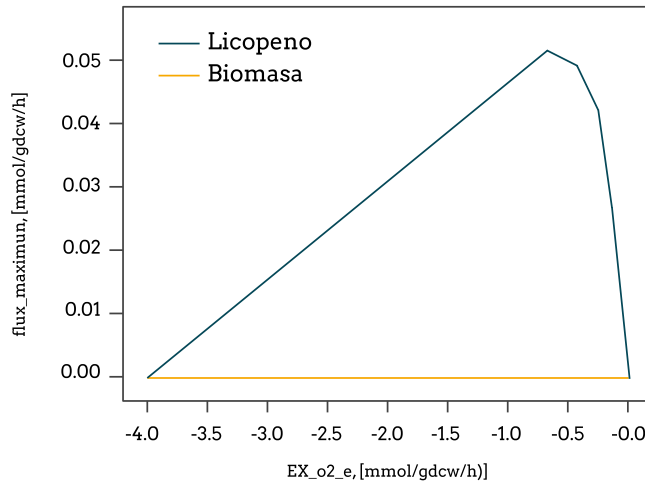
Gráficos de planos de fase de fenotipo (*Production envelopes*)

A partir de los planos de fase de fenotipo, los gráficos generados representan diversas etapas de crecimiento óptimo, asociadas a un uso diferenciado de los sustratos oxígeno y nitrógeno. Considerando que los resultados fueron idénticos para los cuatro genes evaluados, se realizaron las simulaciones gráficas basadas en la primera estrategia de eliminación, identificada con el gen fosfoglucomutasa (id 888), denominado también PGM2.

El Gráfico 2 muestra la simulación de la producción de licopeno y biomasa, considerando el consumo de oxígeno y utilizando una tasa fija de captación de glucosa como fuente de carbono, de 0.649 [mmol/gdcw/h]. Cuando se elimina el gen PGM2.

Gráfico 2

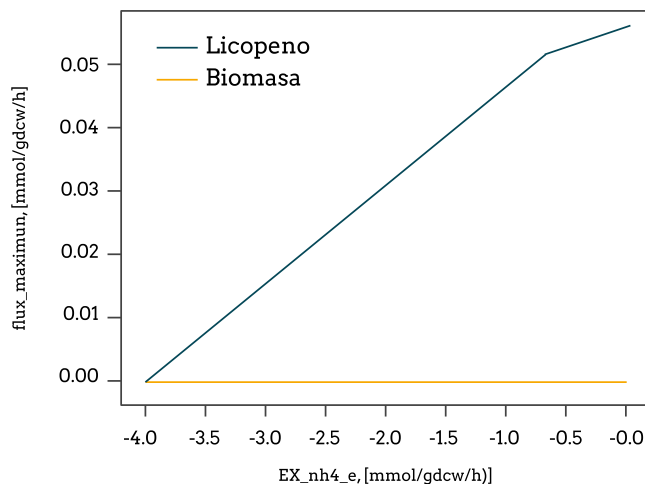
Producción de licopeno y biomasa en función del oxígeno (medio de cultivo) y la glucosa como fuente de carbono. Cuando se elimina el gen PGM2.



En el Gráfico 3 se visualiza la simulación de la producción de licopeno y biomasa, considerando el consumo de nitrógeno y utilizando una tasa fija de captación de glucosa de 0.649 [mmol/gdcw/h] como fuente de carbono, después de la eliminación del gen PGM2.

Gráfico 3

Producción de licopeno y biomasa en función del nitrógeno (medio de cultivo) y como fuente de carbono la glucosa. Cuando se elimina el gen PGM2.





scienceevolution

ISSN: 2810-8728 (En línea)

4.12

OCTUBRE - DICIEMBRE 2024

Artículo Científico

92 - 99

PREDICCIÓN DE ESTRATEGIAS DE ELIMINACIÓN GÉNICA CON PROGRAMACIÓN LINEAL OPTKNOCK DE PYTHON EN *YALi4* DE YARROWIA LIPOLYTICA PARA PRODUCIR LICOPENO

Daniela Isabel Lema Amaquiña
ORCID: 0009-0004-1756-7406

Ana Elena Flores García
ORCID: 0009-0008-8687-9015

Marcela Gabriela Pazmiño Naranjo
ORCID: 0009-0001-4307-4814

Milton Giovanni Quinga Socasi
ORCID: 0009-0005-6420-6459

Lorena Valeria Moscoso Vallejo
ORCID: 0009-0002-5042-2220

<https://revista.scienceevolution.com/>



DISCUSIÓN

Predicción de estrategias de eliminación de genes (*gene knockout*) usando el algoritmo de programación lineal (*OptKnock*)

Según los datos obtenidos (Gráfico 1), al utilizar el algoritmo de programación lineal (*OptKnock*) implementado en Cameo de Python, se observó que la simulación para predecir estrategias de eliminación o bloqueo de genes (*gene knockout*), da como resultado nuevas opciones de genes para ser eliminados y que dirigen las rutas metabólicas de la levadura hacia el aumento de la producción de licopeno empleando el modelo metabólico *iYali4* de *Yarrowia lipolytica*.

Analizando los 4 genes que pueden ser eliminados, se obtuvo el mismo valor de aumento para la tasa de producción de licopeno de 0.0566 [mmol/gdcw/h]. Por tal motivo, el análisis se centró finalmente a la primera opción de *gene knockout*, el caso del gen de la fosfoglucomutasa (id 888) PGM2, que juega un papel importante en el metabolismo de carbohidratos, y en procesos de biosíntesis de glicógeno y catabolismo de galactosa. Esto es importante para la producción de licopeno, ya que el flujo de intermediarios glucídicos puede afectar la disponibilidad de precursores para la síntesis de carotenoides, como es el caso del licopeno. Por lo que se justifica la eliminación de este gen para aumentar la producción de licopeno en esta levadura (SGD, 2024; Chen et al., 2021)

Por otra parte, al aplicar el algoritmo *OptKnock*, se evidenció que la producción de biomasa tiende a cero, este resultado puede darse debido a que, al maximizar la producción del metabolito de interés, puede entrar en competencia el crecimiento celular y la producción del metabolito por lo que se reduciría la capacidad de la célula por producir biomasa (Burgard et al., 2003; Tepper & Shlomi., 2010). Además, en ciertos casos se ha documentado que los resultados de este algoritmo son demasiado optimistas y tienen, a menudo, un acoplamiento del crecimiento débil lo que conllevaría a la obtención de una biomasa baja o cercana a cero (Motamedian et al., 2023).

Análisis de los gráficos de planos de fase de fenotipo (*Production envelopes*)

Los resultados obtenidos confirmaron que *Yarrowia lipolytica* (Gráfico 2) exhibe un crecimiento estrictamente anaeróbico. Este microorganismo prospera únicamente en condiciones donde no hay oxígeno disponible. A pesar de que la biomasa disminuye hasta valores cercanos a cero en estas condiciones, la producción de licopeno se ve afectada negativamente cuando el ambiente cambia a condiciones aerobias (Yan et al., 2018; Jach & Malm, 2022). Además, estudios adicionales, han señalado que la restricción de oxígeno no genera un aumento en la producción de licopeno por unidad de peso seco celular (DCW) (Quinga, 2023).

En el Gráfico 3, se puede observar que la tasa de consumo de nitrógeno no actúa como un limitante para la producción de biomasa, ya que, como se mencionó previamente, la biomasa en la simulación de predicción de genes disminuye, mientras que la producción de licopeno sigue aumentando. Esto podría explicarse por estudios previos que documentan que la restricción de nitrógeno favorece la acumulación de carotenoides (Quinga, 2023).

Daniela Isabel Lema Amaquiña
ORCID: 0009-0004-1756-7406Ana Elena Flores García
ORCID: 0009-0008-8687-9015
Marcela Gabriela Pazmiño Naranjo
ORCID: 0009-0001-4307-4814Milton Giovanni Quinga Socasi
ORCID: 0009-0005-6420-6459
Lorena Valeria Moscoso Vallejo
ORCID: 0009-0002-5042-2220
<https://revista.scienceevolution.com/>

CONCLUSIONES

Se utilizó un algoritmo programado en Python para trabajar con el modelo metabólico genómico *iYali4* de *Yarrowia lipolytica*, empleando los paquetes COBRApy y Cameo con el objetivo de simular estrategias de ingeniería metabólica asistidas por computadora. Esto hizo posible simular la predicción de estrategias de eliminación de genes (*gene knockout*) usando el algoritmo de programación lineal (*OptKnock*).

Los resultados obtenidos de la eliminación de genes, indican que es posible predecir genes que, al ser eliminados o bloqueados de las rutas metabólicas, podrían aumentar la tasa de producción de licopeno, pero comprometiendo la viabilidad del microorganismo al disminuir la producción de biomasa, tal es el caso de la eliminación del gen de la fosfoglucomutasa (id 888) PGM2.

Al simular las etapas de fenotipo *Production envelopes*, se apreció que se puede simular el comportamiento de la levadura ante la presencia de sustratos como el oxígeno y nitrógeno, observando de forma general restringe la producción de biomasa y licopeno. A su vez, se pudo apreciar la relación inversa entre la producción de biomasa y la producción de licopeno, ya que mientras la primera disminuye, la segunda aumenta.

Finalmente se puede concluir que el algoritmo computacional de ingeniería metabólica creado en esta investigación resultaría sumamente valioso para los científicos dedicados a la ingeniería metabólica en laboratorios húmedos, ofreciéndoles la posibilidad de integrar herramientas de diseño computacional dentro de sus procedimientos. Esto facilitaría la modelización de la producción sostenible de metabolitos de interés comercial en *Yarrowia lipolytica*, mediante la predicción de genes potenciales que podrían eliminarse para incrementar la producción de licopeno en esta levadura.

REFERENCIAS

- Burgard, A. P., Pharkya, P., & Maranas, C. D. (2003). Optknock: A bilevel programming framework for identifying gene knockout strategies for microbial strain optimization. *Biotechnology and Bioengineering*, 84(6), 647–657. <https://doi.org/10.1002/bit.10803>
- Cardoso, J. G. R., Jensen, K., Lieven, C., Hansen, A. S. L., Galkina, S., Beber, M., Özdemir, E., Herrgård, M. J., Redestig, H., & Sonnenschein, N. (2018). Cameo: A Python library for computer aided metabolic engineering and optimization of cell factories. *ACS Synthetic Biology*, 7(4), 1163–1166. <https://doi.org/10.1021/acssynbio.7b00423>
- Chen, X., Lim, X., Bouin, A. et al. (2021). High-level de novo biosynthesis of glycosylated zeaxanthin and astaxanthin in *Escherichia coli*. (2021). *Bioresour. Bioprocess.* 8, 67. <https://doi.org/10.1186/s40643-021-00415-0>
- Ebrahim, A., Lerman, J. A., Palsson, B. O., & Hyduke, D. R. (2013). COBRApy: COntstraints-based reconstruction and analysis for Python. *BMC Systems Biology*, 7(1), 1–6. <https://doi.org/10.1186/1752-0509-7-74>
- Edwards, J.S., Covert, M. and Palsson, B. (2002). Metabolic modelling of microbes: the flux-balance approach. *Environmental Microbiology*, 4: 133-140. <https://doi.org/10.1046/j.1462-2920.2002.00282.x>
- Hucka, M., Bergmann, F. T., Dräger, A., Hoops, S., Keating, S. M., Le Novère, N., Myers, C. J., Olivier, B. G., Sahle, S., Schaff, J. C., Smith, L. P., Waltemath, D., & Wilkinson, D. J. (2018). The Systems Biology Markup Language (SBML): Language Specification for Level 3 Version 2 Core. *Journal of integrative bioinformatics*, 15(1), 20170081. <https://doi.org/10.1515/jib-2017-0081>
- Jach, M. E., & Malm, A. (2022). *Yarrowia lipolytica* as an Alternative and Valuable Source of Nutritional and Bioactive Compounds for Humans. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 27(7), 2300. <https://doi.org/10.3390/molecules27072300>
- Larroude, M., Rossignol, T., Nicaud, J. M., & Ledesma-Amaro, R. (2018). Synthetic biology tools for engineering *Yarrowia lipolytica*. *Biotechnology advances*, 36(8), 2150- 2164. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6261845/>



scienceevolution

ISSN: 2810-8728 (En línea)

4.12

OCTUBRE - DICIEMBRE 2024

Artículo Científico

92 - 99

PREDICCIÓN DE ESTRATEGIAS DE ELIMINACIÓN GÉNICA CON PROGRAMACIÓN LINEAL OPTKNOCK DE PYTHON EN *YAL14* DE YARROWIA LIPOLYTICA PARA PRODUCIR LICOPENO

Daniela Isabel Lema Amaquiña
ORCID: 0009-0004-1756-7406

Ana Elena Flores García
ORCID: 0009-0008-8687-9015
Marcela Gabriela Pazmiño Naranjo
ORCID: 0009-0001-4307-4814

Milton Giovanni Quinga Socasi
ORCID: 0009-0005-6420-6459
Lorena Valeria Moscoso Vallejo
ORCID: 0009-0002-5042-2220
<https://revista.scienceevolution.com/>



Motamedian E, Berzins K, Muiznieks R, Stalidzans E. (2023). OptEnvelope: A target point guided method for growth-coupled production using knockouts. *PLOS ONE* 18(11): e0294313. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0294313>

Nambou K, Jian X, Zhang X, Wei L, Lou J, Madzak C, Hua Q. (2015). Flux Balance Analysis Inspired Bioprocess Upgrading for Lycopene Production by a Metabolically Engineered Strain of *Yarrowia lipolytica*. *Metabolites*, 5(4):794-813. <https://doi.org/10.3390/metabo5040794>

Quinga, M. G. (2023). *Desarrollo de algoritmos para optimizar la producción de licopeno en Yarrowia lipolytica usando herramientas computacionales de ingeniería metabólica en Python* [Tesis de Maestría en Biología Computacional]. Pontificia Universidad Católica del Ecuador (PUCE). <https://repositorio.puce.edu.ec/handle/123456789/27465>

Saccharomyces Genome Database (SGD). (2024). *PGM2 gene overview*. SGD. Recuperado el 7 de noviembre de 2024, de <https://www.yeastgenome.org/locus/S000001272>

Schwartz, C., Frogue, K., Misa, J., & Wheeldon, I. (2017). Host and Pathway Engineering for Enhanced Lycopene Biosynthesis in *Yarrowia lipolytica*. *Frontiers in microbiology*, 8, 2233. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02233>

Takeshima, M., Ono, M., Higuchi, T., Chen, C., Hara, T., & Nakano, S. (2014). Anti-proliferative and apoptosis-inducing activity of lycopene against three subtypes of human breast cancer cell lines. *Cancer Science*, 105(3), 252-257. <https://doi.org/10.1111/cas.12349>

Tepper, N., & Shlomi, T. (2010). Predicting metabolic engineering knockout strategies for chemical production: accounting for competing pathways. *Bioinformatics*, 26(4), 536-543. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp704>

Yan, J., Han, B., Gui, X., Wang, G., Xu, L., Yan, Y., Madzak, C., Pan, D., Wang, Y., Zha, G., & Jiao, L. (2018). Engineering *Yarrowia lipolytica* to Simultaneously Produce Lipase and Single Cell Protein from Agro-industrial Wastes for Feed. *Scientific Reports*, 8(1), 758. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19238-9>

Zhang, G., Wang, H., Zhang, Z., Verstrepn, K. J., Wang, Q., & Dai, Z. (2021). Metabolic engineering of *Yarrowia lipolytica* for terpenoids production: advances and perspectives. *Critical Reviews in Biotechnology*, 42(4), 618-633. <https://doi.org/10.1080/07388551.2021.1947183>

Zhang N., Li X., Zhou Q., Zhang Y., Lv B., Hu B. & Li C. (2024). Self-controlled in silico gene knockdown strategies to enhance the sustainable production of heterologous terpenoid by *Saccharomyces cerevisiae*. *Metabolic Engineering*, 83 (2024), 172-182. <https://doi.org/10.1016/j.ymben.2024.04.005>

Zhang, J., Bai, Q., Peng, Y., Fan, J., Jin, C., Cao, Y., & Yuan, Y. (2020). High production of triterpenoids in *Yarrowia lipolytica* through manipulation of lipid components. *Biotechnology for Biofuels*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/s13068-020-01773-1>