doi 10.18699/bgrs2026-374

Динамическое моделирование центрального метаболизма *Lactococcus lactis*: интеграция скорости роста, транскрипционной регуляции и доступности кислорода

Качнов В.А.[1]*, Соколова Т.С.[1], Акбердин И.Р.[1]
[1] *Направление вычислительной биологии, Научный центр генетики и наук о жизни, Научно-технологический университет «Сириус», Сириус, Россия*
**kachnov.va@talantiuspeh.ru*

Ключевые слова: *Lactococcus lactis*, кинетическое моделирование, динамическое моделирование, кислородный метаболизм, модели скорости роста, транскриптомная интеграция, SBML, смешанно-кислая ферментация, окислительно-восстановительный баланс NADH/NAD$^+$, метаболическая инженерия

Мотивация и цель: *Lactococcus lactis* является основным микроорганизмом заквасочных культур в молочной промышленности и всё более привлекательной клеточной платформой для метаболической инженерии вкусоароматических соединений, витаминов и рекомбинантных белков. Центральный метаболизм этого микроорганизма характеризуется переключением между гомоферментативным и гетероферментативным типами брожения, которое определяется потоком через гликолиз, соотношением НАДН/НАД$^+$ и конкуренцией пируват-утилизирующих ферментов. Активность НАДН-оксидазы в аэробных условиях изменяет редокс-баланс и, как следствие, спектр образующихся продуктов. Существующие кинетические модели *L. lactis* [1, 2] описывают пируватный узел ветвления с помощью уравнений Михаэлиса–Ментен и уравнений Хилла, однако трактуют концентрации ферментов как фиксированные параметры и не включают явного описания скорости роста, что ограничивает предсказательный потенциал моделей узким диапазоном экспериментальных условий. Цель данной работы – расширить кинетическую модель центрального метаболизма *L. lactis* путём включения описаний динамики скорости роста и интеграции транскриптомных ограничений на содержание ферментов, а также предсказать отклик метаболической системы при варьировании доступности кислорода.

Методы и алгоритмы: Базовая модель основана на работе Costa et al. [2] и была существенно расширена с использованием платформы BioUML [3]: в неё включены реконструированный цикл трикарбоновых кислот и реакции окислительного фосфорилирования, что обеспечивает более полное описание центрального углеродного и энергетического метаболизма. Расширенная модель представлена в формате SBML, численный расчёт происходит с помощью решателя RoadRunner [4].

Интеграция скорости роста. Исходная модель не содержит явного уравнения для скорости роста. Нами реализован модульный подход к добавлению соответствующих уравнений в структуру SBML посредством libSBML. Были оценены семь альтернативных формулировок: классическая кинетика Моно; рост, сопряжённый с энергетическим зарядом; кибернетическая модель, объединяющая субстратный, энергетический и редокс-члены (NAD$^+$/NADH); рост в зависимости от потока через гликолиз; рост на основе продукции АТФ с вычетом энергии на поддержание; модель, лимитированная предшественниками (закон минимума Либиха по Г6Ф, пирувату и АТФ); модель субстратного и продуктного ингибирования (кинетика Эндрюса с обратной связью по лактату). Каждая формулировка добавляется в SBML как AssignmentRule для удельной скорости роста μ при неизменной исходной реакционной сети.

Интеграция транскриптомных данных. Для перехода от статических концентраций ферментов к динамическим был введён регуляторный слой, модулирующий значения Vmax выбранных реакций в соответствии с транскриптомными профилями. Для каждой реакции эффективная максимальная скорость масштабируется как отношение содержания фермента, рассчитанного по транскриптомным данным, к референсному условию с использованием линейного или хиллового отображения. Кратности изменений экспрессии из опубликованных наборов данных для *L. lactis* в аэробных и анаэробных условиях интерполируются для получения непрерывных профилей по времени симуляции.

Эксперименты с доступностью кислорода. Доступность кислорода задаётся кусочно-линейной функцией (OP_state), устанавливающей внешнюю концентрацию O_2 как функцию времени. Определена систематическая панель вычислительных экспериментов: постоянные уровни O_2 от 0 до 0,0016 мМ с шагом 0,0004 мМ; переключение с аэробных условий на анаэробные в различные моменты времени; обратное переключение с анаэробных на аэробные. Для каждого условия интегрировалась полная система ОДУ и строились временные профили биомассы, глюкозы, лактата и других продуктов брожения.

Результаты: Решения при постоянных уровнях кислорода дали временные профили роста биомассы, потребления глюкозы и накопления лактата, демонстрирующие биологически правдоподобную динамику во всём исследованном диапазоне концентраций O_2 (0–0,0016 мМ). При $O_2 = 0$ (полностью анаэробные условия) модель воспроизводит классическое гомолактатное поведение с быстрым истощением глюкозы и практически стехиометрическим образованием лактата. При поэтапном увеличении внешней концентрации O_2 (0,0004; 0,0008; 0,0012; 0,0016 мМ) кривые роста, профили потребления глюкозы и кинетика накопления лактата

смещались дозозависимым образом, согласующимся с ожидаемым редокс-опосредованным переходом от гомолактатного к гетероферментативному брожению. Скорость роста умеренно возрастала с увеличением доступности кислорода, что отражает дополнительный выход АТФ за счёт окислительного фосфорилирования в расширенной модели.

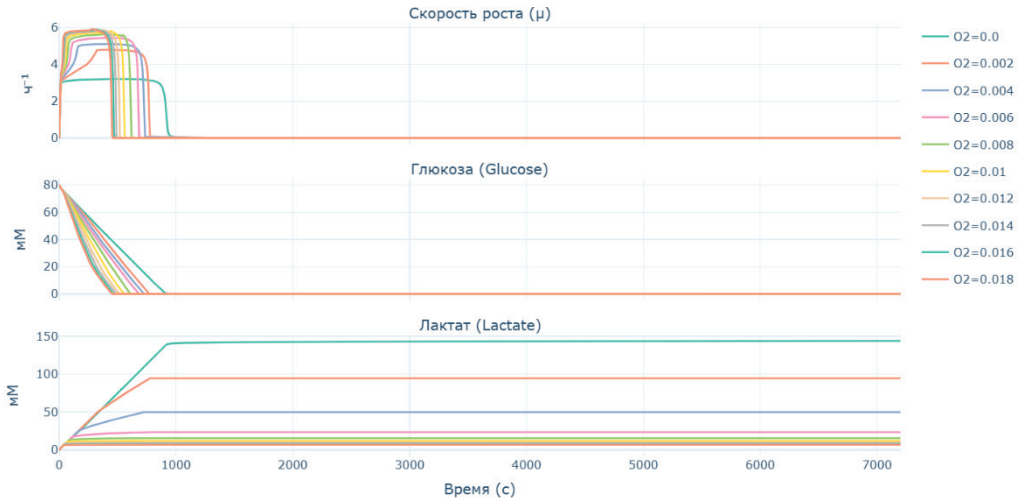

Рисунок 1. Временные профили удельной скорости роста, потребления глюкозы и накопления лактата при различных внешних концентрациях O2 (0–0,0016 мМ), полученные с использованием расширенной кинетической модели *L. lactis*.

Эксперименты с переключением режимов показали, что переходы между аэробными и анаэробными состояниями сопровождаются транзиторными выбросами соотношения НАДН/НАД⁺ и пулов метаболических интермедиатов, после чего система релаксирует к новому стационарному состоянию – характерное время релаксации составляет порядка нескольких сотен секунд.

Кибернетическая модель скорости роста (субстрат × энергетический заряд × редокс) обеспечила наилучшее качественное соответствие форме экспериментальных кривых роста *L. lactis*, представленных в литературе для периодического культивирования.

Выводы: Расширенная кинетическая модель, включающая цикл трикарбоновых кислот и окислительное фосфорилирование в сочетании с модульной системой описания скорости роста и транскриптомной регуляцией, обеспечивает биологически корректные предсказания динамики роста, потребления глюкозы и образования лактата в широком диапазоне условий по кислороду. Модульная архитектура на основе SBML позволяет систематически сравнивать альтернативные гипотезы о скорости роста и кислородные профили без модификации базовой реакционной сети.

Финансирование: Исследование выполнено при поддержке гранта государственной программы Федеральной территории «Сириус» «Научно-технологическое развитие Федеральной территории «Сириус»» (Соглашение 18-03 от 10 сентября 2024 года).

Dynamic modeling of *Lactococcus lactis* central metabolism: integration of growth kinetics, transcriptomic regulation, and oxygen availability

Kachnov V.A.[1]*, Sokolova T.S.[1], Akberdin I.R.[1]
[1] *Department of Computational Biology, Scientific Center for Genetics and Life Sciences, Sirius University of Science and Technology, Sirius, Russia*
**kachnov.va@talantiuspeh.ru*

Key words: *Lactococcus lactis*, kinetic modeling, dynamic simulation, oxygen metabolism, growth rate models, transcriptomic integration, SBML, mixed-acid fermentation, NADH/NAD redox balance, metabolic engineering

Motivation and Aim: *Lactococcus lactis* is the principal starter culture organism in the dairy industry and an increasingly attractive chassis for metabolic engineering of flavour compounds, vitamins, and heterologous proteins. Its central metabolism exhibits a characteristic shift between homolactic and mixed-acid fermentation, governed by the glycolytic flux, the NADH/NAD⁺ ratio, and the competition between pyruvate-dissipating enzymes. NADH oxidase activity under aerobic conditions alters the redox balance and consequently the spectrum of produced compounds. Existing kinetic models of *L. lactis* [1, 2] describe the pyruvate branch point with Michaelis–Menten and Hill-type rate laws, but treat enzyme concentrations as fixed parameters and lack explicit growth rate coupling, limiting their predictive scope to narrow experimental conditions.

The aim of this study is to extend a kinetic model of *L. lactis* central metabolism by incorporating dynamic growth rate descriptions and transcriptomic constraints on enzyme abundance, and to predict the metabolic system response by varying oxygen availability.

Methods and Algorithms: The base model is derived from Costa et al. [2] and has been substantially extended using the BioUML platform [3] to include a reconstructed tricarboxylic acid cycle and oxidative phosphorylation reactions, forming a more complete representation of central carbon and energy metabolism. The extended model is written in SBML and simulated with the RoadRunner solver. [4]

Growth rate integration. The original model lacks an explicit growth rate term. We implemented a modular approach for an addition of growth rate equations into the SBML structure via libSBML. Seven alternative formulations were evaluated: classical Monod kinetics, energy charge-coupled growth, a cybernetic model combining substrate, energy charge, and NAD^+/NADH redox terms, glycolytic flux-dependent growth, ATP production-based growth with maintenance subtraction, a precursor-limited model (Liebig's law over G6P, pyruvate, and ATP), and a substrate/product inhibition model (Andrews kinetics with lactate feedback). Each formulation is added as an SBML AssignmentRule for the specific growth rate μ, preserving the original reaction network.

Transcriptomic data integration. To move beyond static enzyme concentrations, a regulatory layer modulates Vmax values of selected reactions according to transcriptomic profiles. For a given reaction, the effective maximal rate is scaled by the ratio of transcript-derived enzyme abundance to a reference condition, using either a linear or Hill-type mapping. Fold-changes from published expression datasets for *L. lactis* under aerobic and anaerobic conditions are interpolated to provide continuous profiles over the simulation.

Oxygen perturbation experiments. Oxygen availability is controlled through a piecewise function (OP_state), setting the external O_2 concentration as a function of time. A systematic panel of *in silico* experiments was defined: constant O_2 levels from 0 to 0.0016 mM with a step of 0.0004 mM, aerobic-to-anaerobic switching at variable time points, and anaerobic-to-aerobic switching. For each condition, the full ODE system is integrated and time courses of biomass, glucose, lactate, and other fermentation products are generated.

Results: Simulations under constant oxygen levels provided time courses for biomass growth, glucose consumption, and lactate accumulation that exhibited biologically plausible dynamics across the tested O_2 range (0–0.0016 mM). At O_2 = 0 (fully anaerobic condition), the model reproduced classical homolactic behaviour with rapid glucose depletion and near-stoichiometric lactate production. As external oxygen was increased stepwise (0.0004, 0.0008, 0.0012, 0.0016 mM), the growth curves, glucose uptake profiles, and lactate accumulation trajectories shifted in a dose-dependent manner consistent with the expected redox-mediated transition from homolactic toward mixed-acid fermentation. Growth rate increased moderately with oxygen availability, reflecting the additional ATP yield from oxidative phosphorylation in the extended model.

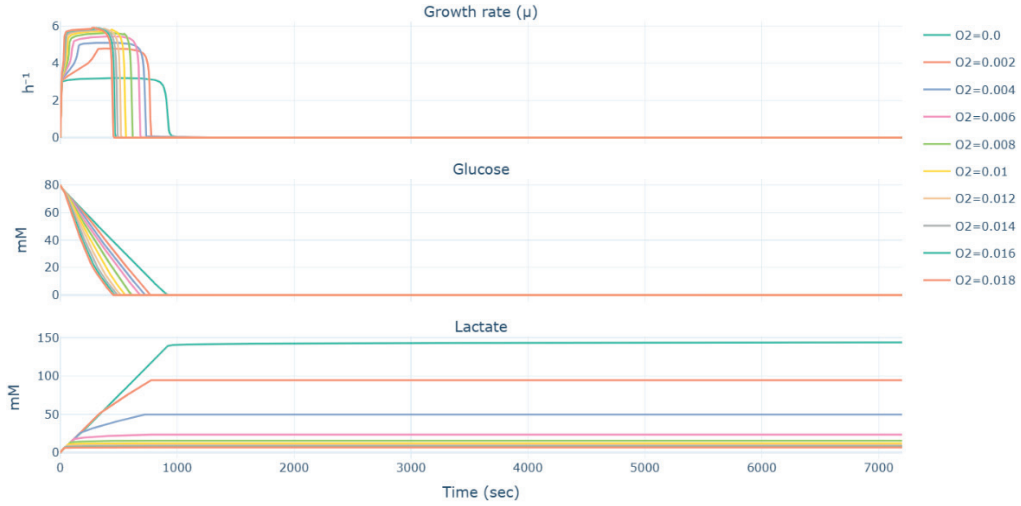

Figure 1. Simulated time courses of specific growth rate, glucose consumption, and lactate accumulation under varying external O2 concentrations (0–0.0016 mM) using the extended *L. lactis* kinetic model

Switching experiments demonstrated that transitions between aerobic and anaerobic states produce transient overshoots in NADH/NAD^+ and intermediate metabolite pools before the system relaxes to a new steady state, with relaxation times on the order of several hundred seconds.

The cybernetic growth rate formulation (substrate × energy × redox) provided the best qualitative correspondence with the shape of experimental growth curves reported in the literature for *L. lactis* batch fermentation.

Conclusion: The extended kinetic model, incorporating the TCA cycle and oxidative phosphorylation alongside a modular growth rate system and transcriptomic regulation, provides biologically coherent predictions on growth, glucose, and lactate dynamics under a range of oxygen conditions. The modular SBML-based architecture allows systematic comparison of alternative growth rate hypotheses and oxygen profiles without modifying the core reaction network.

Funding: The study is supported by the grant of the state program of the "Sirius" Federal Territory "Scientific and technological development of the 'Sirius' Federal Territory" (Agreement 18-03 date 10 September 2024).

Список литературы/References

1. Hoefnagel M.H.N., Starrenburg M.J.C., Martens D.E., Hugenholtz J., Kleerebezem M., Van Swam I.I., Bongers R., Westerhoff H.V., Snoep J.L. Metabolic engineering of lactic acid bacteria, the combined approach: kinetic modelling, metabolic control and experimental analysis. Microbiology. 2002; 148(4):1003–1013. DOI: 10.1099/00221287-148-4-1003
2. Costa R.S., Hartmann A., Gaspar P., Neves A.R., Vinga S. An extended dynamic model of Lactococcus lactis metabolism for mannitol and 2,3-butanediol production. Molecular BioSystems. 2014; 10(3):628–639. DOI: 10.1039/C3MB70265K
3. Kolpakov F., Akberdin I., Kiselev I., Kolmykov S., Kondrakhin Y., Kulyashov M., Kutumova E., Pintus S., Ryabova A., Sharipov R., Yevshin I., Zhatchenko S., Kel A. BioUML – towards a universal research platform. Nucleic Acids Research. 2022; 50(W1):W124–W131. DOI: 10.1093/nar/gkac286
4. Somogyi E.T., Bouteiller J.-M., Glazier J.A., König M., Medley J.K., Swat M.H., Sauro H.M. libRoadRunner: a high performance SBML simulation and analysis library. Bioinformatics. 2015; 31(20):3315–3321. DOI: 10.1093/bioinformatics/btv363