

EVALUACIÓN DE PRODUCCIÓN DE GFP EN CEPAS DE *E. coli* CON MUTACIONES EN GENES RELACIONADOS CON EL IMPORTE DE GLUCOSA

Daniela Velazquez¹, Guillermo Gosset², Juan Carlos Sigala¹, Alvaro R. Lara¹

¹Universidad Autónoma Metropolitana. Departamento de Procesos y Tecnología. Ciudad de México, 05348.

²Instituto de Biotecnología. Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis. Cuernavaca, 62210.
daniela369.velaz@hotmail.com

Palabras clave: GFP, glucosa, E. coli

Introducción. La glucosa es el sustrato más utilizado en los cultivos industriales de *E. coli*. Sin embargo, al crecer en glucosa, *E. coli* produce acetato como subproducto metabólico. La acumulación de este inhibe el crecimiento celular y la productividad (1). La capacidad de las células para metabolizar glucosa impacta la tasa de crecimiento y el rendimiento de biomasa y la producción de acetato. Debido a esto, se espera que la modificación del transporte de glucosa tenga un impacto en la fisiología celular y en su productividad (2). Fuentes *et al.* generaron una colección de cepas con combinaciones de mutaciones en genes PTS (*ptsHlcr*, *manX*, *malX*, *nagE*, *bglF* y genes no PTS (*galP* y *mglABC*). Estas mutaciones causaron una reducción en la velocidad de crecimiento, de consumo de sustrato y de producción de acetato (3), lo que las hace atractivas para aplicaciones en bioprocesos. En este trabajo se evaluó la producción de la proteína verde fluorescente (GFP) en la colección de mutantes en cultivos con diferentes concentraciones de glucosa y extracto de levadura.

Metodología. La colección de mutantes, junto con la cepa silvestre W3110, se transformó con el plásmido pWF14 el cual expresa de manera constitutiva la GFP. Los cultivos se realizaron en medio mineral adicionado con 1, 10 y 20 g/L de glucosa y 0.4 g extracto de levadura/g glucosa y se llevaron a cabo en el equipo BioLector (m2p-labs GmbH, Baesweiler, Germany) en placas de 48 pozos con sensores de oxígeno disuelto, pH, biomasa y fluorescencia. El volumen de cultivo fue de 800 μ L y se mantuvo una agitación orbital constante de 1500 rpm.

Resultados. En la Fig. 1 se muestran los rendimientos producto/biomasa obtenidos en las diferentes cepas con las tres concentraciones de glucosa. En los cultivos con 1 g/L de glucosa, las cepas WGME, WGMB y WHIC incrementaron el rendimiento un 21, 156 y 1798 % respectivamente al comparar con la cepa nativa W3110. Con 10 g/L de glucosa las cepas WGMB y WHIC presentaron un rendimiento 67 y 621 % mayor al de W3110. Los rendimientos obtenidos con 20 g/L de glucosa fueron 31, 68 y 237% mayores al de W3110 en las cepas WGM, WGMB y WHIC respectivamente.

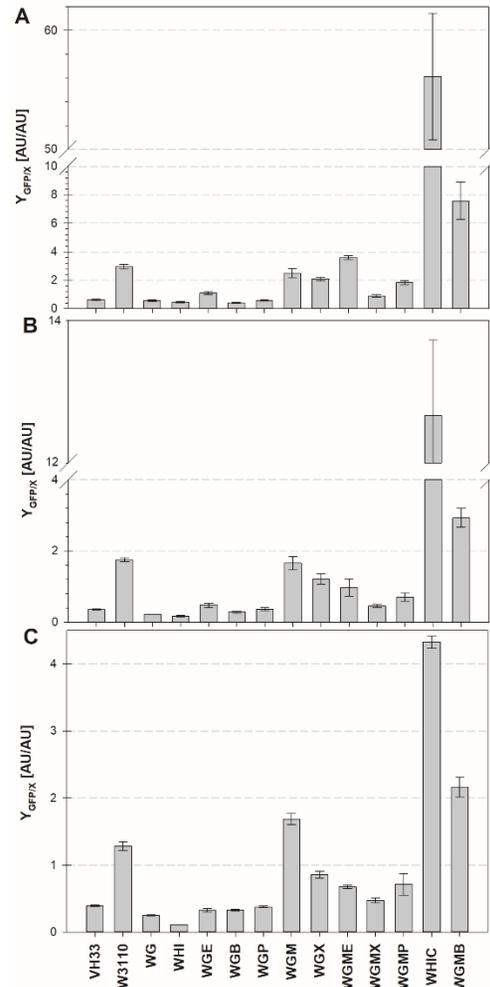


Fig. 1. Rendimientos obtenidos a 1 (A), 10 (B) y 20 (C) g/L de glucosa. Las barras verticales muestran la desviación estándar.

Conclusiones. Las modificaciones de genes relacionados con el importe de glucosa pueden incrementar la producción de proteína recombinante. De acuerdo a los resultados, las cepas WGMB (Δ *ptsG*, *manX*, *bglF*) y WHIC (Δ *ptsHlcr*, *mglABC*) podrían ser interesantes para la producción de proteína recombinante en altas densidades celulares.

Agradecimientos. Proyecto CONACyT A1-S-8646

Bibliografía.

- Lara AR *et al.* (2008). *Biotechnol. Bioeng.* 99:893-901.
- Gosset G. (2005). *Microb. Cell Fact.* 4(1): 14.
- Fuentes LG *et al.* (2013). *Microb. Cell Fact.* 12(1):42.

