

EXPRESIÓN DE GENES DEL METABOLISMO CENTRAL DE UNA CEPA DE ESCHERICHIA COLI CUANDO COUTILIZA GLUCOSA Y GLICEROL.

Karla Martínez y Francisco Bolívar. Instituto de Biotecnología, UNAM. Av. Universidad 2001, Col. Chamilpa Cuernavaca, Mor. Fax: (777) 3291601, karlamg@ibt.unam.mx.

Palabras clave: vía de los compuestos aromáticos, metabolismo central.

Introducción. En este trabajo se analiza el patrón de expresión de los genes del metabolismo central y transportadores de glucosa y glicerol de una cepa de *Escherichia coli* carente del sistema PTS (cepa PB12) en dos fuentes de carbono. Esta cepa posee alta productividad y rendimiento de metabolitos de la vía de los compuestos aromáticos cuando cutiliza glucosa y glicerol. Por lo que es interesante evaluar cual es el arreglo transcriptómico de la cepa respecto a su crecimiento en glucosa o glicerol como únicas fuentes de carbono para entender el aumento de producción en esa condición y realizar posteriores modificaciones a la cepa.

Metodología. Cultivos en fermentadores con medio mínimo M9 con glucosa, glicerol y la mezcla glucosa-glicerol como fuentes de carbono. Extracción de RNA: Tiocianato de guanidina. Síntesis cDNA: Revert Aid™. RT-PCR: ABI Prism 7000 (Perkin Elmer) SYBR Green PCR Master Mix kit.

Resultados y discusión. Cuando la cepa PB12 crece en glicerol como única fuente de carbono aumenta al doble la expresión del regulador global *crp* (proteína receptora de AMPc) y casi triple la expresión *cya* (adenilato ciclasa) respecto a glucosa y como consecuencia la expresión de la permeasa y cinasa de glicerol (*glpF* y *glpK*) aumentan 3.0 y 1.6 veces. Mientras que no existen cambios importantes en los niveles de la *glpD* (glicerol 3-fosfato deshidrogenasa) indicando que la regulación de este gen depende casi exclusivamente de ArcA. De manera interesante la cepa PB12 en condiciones de cutilización de glucosa y glicerol baja 2 veces el nivel de expresión del regulador global *crp* y mantiene el nivel de *cya* con lo cual el nivel de expresión *glpF* y *glpK* disminuyen (-3 y -4 veces respectivamente). Por otro lado la permeasa de glucosa y la glucocinasa (*galP* y *glk*) no cambian su nivel de expresión significativamente lo cual explica la cutilización diferencial de glicerol en estas condiciones. Con lo que respecta a los niveles de expresión de los genes del metabolismo central existen cambios importantes en la fosfofructucinasa I y II (*pfkA* y *pfkB*). Ambos genes aumentan su expresión (4.4 y 3.6 veces), lo cual indica un favorecimiento de la vía glucolítica, sobre la vía gluconeogénica. Sin embargo, existe una subexpresión de los tres genes que dirigen el gliceraldehído 3-fosfato (G3P) hacia la vía glicolítica (*gapA*, *gapC-1*, *gapC-2*) (-1.96, -1.87 y -2.78 respectivamente). Estos dos fenómenos son

contradictorios, sin embargo la estrategia parece ser mantener los niveles de las pozas de las hexosas fosforiladas. Es interesante que los niveles de las transcetolasas A y B disminuyen su expresión 2.5 y 3.10 lo cual indicaría una situación con menos estrés de las pozas de las pentosas fosfato. Lo cual confirmaría la hipótesis anterior. Sin embargo, más experimentos habrán que realizarse para confirmarla.

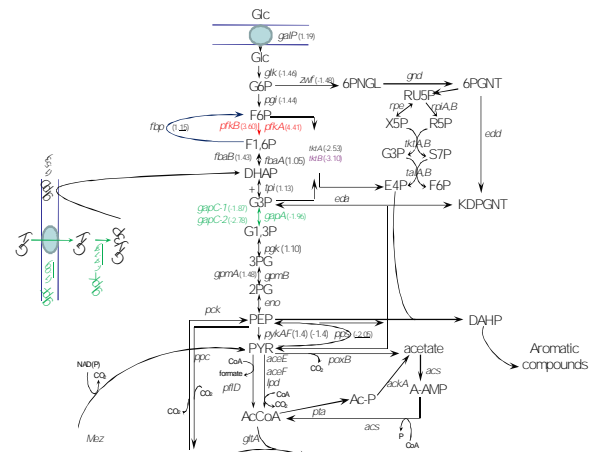


Fig. 1. Niveles de expresión de los genes del metabolismo central de la cepa PB12 crecida en glucosa y glicerol.

Conclusiones. CRP controla la cutilización de glucosa y glicerol disminuyendo los niveles de expresión de *glpF* y *glpK*. La disminución de la expresión de *crp* afecta en menor proporción a *galP* y *glk*. La evidencia sugiere que la estrategia celular durante la cutilización es aumentar el nivel de las hexosas fosforiladas.

Agradecimiento. Conacyt Proyecto 44621. A Noemí Flores y Mercedes Enzaldo por el apoyo técnico.

Bibliografía.

- Martínez-Gómez, K., Escalante, A., de Anda, R., Hernández, G., Gosset, G., Ramírez, T., Bolívar, F. (2008). Cutilization of glucose and glycerol enhances the production of aromatic compounds in a *Escherichia coli* sytrain lacking the phosphoenolpyruvate: carbohydrate phosphotransferase system. *Microb Cell Fact.* 7 (1).
- Flores, N., Xiao, J., Berry, A., Bolívar, F., Valle, F. (1996). Pathway engineering for the production of aromatic compounds in *Escherichia coli*. *Nat. Biotechnol.* 14, 620-623.