

## CARACTERIZACIÓN DE UNA CEPA MUTANTE DE *ESCHERICHIA COLI* QUE TIENE UNA VELOCIDAD ESPECÍFICA DE CRECIMIENTO EN ACETATO TRES VECES MÁS ELEVADA QUE LA CEPA SILVESTRE.

Juan Carlos Sigala, Noemí Flores, Georgina Hernández, Mariana Thadeo, Guillermo Gosset y Francisco Bolívar.

Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México. Av. Universidad 2001, Cuernavaca, Mor., México. Fax 777-317 2388 jcsigala@ibt.unam.mx

Palabras clave: *Escherichia coli*, acetato, PTS.

**Introducción.** El operón *ptsHlcr* se deletó de la cepa silvestre de *E. coli* JM101 para generar la cepa PB11(PTS-). En una mutante derivada de PB11 que por evolución adaptativa recuperó parcialmente su capacidad de crecimiento en glucosa (PB12, PTS-Glc+), parte del fosfoenol piruvato que no se ocupa para transporte de glucosa puede ser utilizado para la síntesis de compuestos aromáticos [1, 2]. En medio mínimo con acetato, PB11 tiene una  $\mu$  más elevada que PB12 (0.21 y 0.13  $\text{hr}^{-1}$ , respectivamente), mientras que JM101 tiene una  $\mu$  de 0.28  $\text{hr}^{-1}$ . Análisis de transcripción de genes del metabolismo central obtenidos por RT-PCR cuando las cepas crecen en acetato, han revelado que algunos genes gluconeogénicos presentan una menor expresión en ambas derivadas PTS- comparativamente con JM101; además, prácticamente todos los genes glicolíticos se sobreexpresan en PB12 respecto a PB11 y JM101 [3]. De manera interesante, obtuvimos de manera espontánea una mutante (PB122) derivada de la cepa PB12 que presenta una  $\mu$  inusualmente alta en acetato. El objetivo de este trabajo es realizar la caracterización fisiológica de la cepa PB122 en relación con sus cepas parentales.

**Metodología.** Todas las cepas crecieron en matraces klett bafleados de 125 ml con 25 ml de medio mínimo M9 con 3, 6 o 10 g/l de acetato de sodio, y si es el caso, con 2 g/l de glucosa, a 37°C y 300 rpm. La medición de densidad óptica se realizó en un fotocolorímetro. Se muestran los promedios de al menos dos cultivos independientes, cada uno por duplicado. Diferencias entre los valores en estos experimentos son <10%. Las concentraciones de acetato y glucosa se determinaron por HPLC.

### Resultados y discusión.

**Crecimiento en acetato y glucosa.** Ambas cepas PTS- crecen a una  $\mu$  menor en acetato respecto a JM101. PB122, obtenida espontáneamente a partir de PB12, crece a una elevada  $\mu$  en acetato.

Cepa	$\mu$ Ace	%	$\mu$ Glc	%
JM101	0.28	100	0.71	100
PB11 (PTS-)	0.21	75	0.10	14
PB12 (PTS- Glc+)	0.13	46	0.42	59
PB122 (PTS- Glc+)	1.00	360	0.40	56

Cuadro 1. Velocidades específicas de crecimiento ( $\mu$ , h<sup>-1</sup>) en medio mínimo con acetato 3 g/l o glucosa 2 g/l.

La cepa PB122 también crece a mayores  $\mu$ s a concentraciones elevadas de acetato (6 y 10 g/L), en comparación con PB12 y JM101.

### Coutilización de glucosa y acetato.

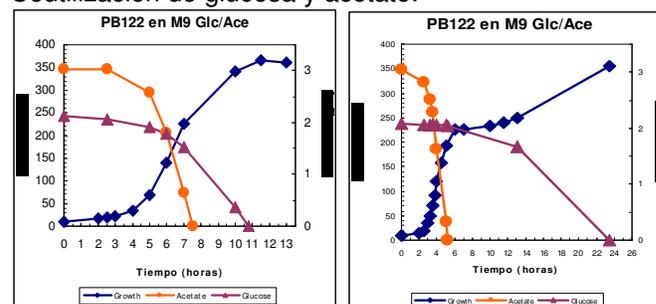


Figura 1. Crecimiento y utilización de acetato-glucosa en medio mínimo M9. El inóculo se adaptó en M9 con (A) Glucosa o (B) Acetato.

Si el inóculo se adapta en glucosa, PB122 y PB12 coutilizan glucosa y acetato, agotando PB122 primero el acetato y la PB12 la glucosa. Si el inóculo de PB122 se adapta en acetato, esta cepa comienza a consumir la glucosa hasta agotar por completo el acetato.

### Conclusiones.

Se ha obtenido una mutante denominada PB122 que crece con una  $\mu$  inusualmente alta en acetato en comparación con sus cepas parentales. La capacidad de la cepa PB122 de utilizar simultáneamente acetato y glucosa depende de la fuente de carbono en la que se adapte el inóculo. La cepa PB122 es capaz de crecer a una mayor  $\mu$  en concentraciones elevadas de acetato (6 and 10 g/l) en relación a PB12 y JM101.

**Agradecimiento.** JCSA fue financiado por becas del CONACYT y DGEP-UNAM. El trabajo fue parcialmente apoyado con dinero de los proyectos de CONACYT D43243Z y 44126, y PAPIIT/DGAPA/UNAM 205005-2

### Bibliografía.

- Flores N, Xiao J, Berry A, Bolívar F & Valle, F. (1996). *Nature Biotech.* 14:620-623.
- Báez JL, Osuna J, Hernández G, Soberón X, Bolívar F & Gosset G. (2004). *Biotechnol. Bioeng.* 87:516-524.
- Sigala JC, Flores S, Flores N, Aguilar C, de Anda R, Gosset G & Bolívar F. 2008 *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* published online.