

EL EFECTO DE LA INACTIVACIÓN DE LA ATP SINTASA SOBRE LAS VELOCIDADES ESPECÍFICAS DE CRECIMIENTO Y DE CONSUMO DE GLUCOSA EN *Escherichia coli*.

Sandra Soria, Noemí Flores, Patricia Castillo-España, Guillermo Gosset, Francisco Bolivar y José Luis Báez-Viveros. Av. Universidad 1001 Centro de Investigación en Biotecnología, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Fax (777) 329 70 30. Correspondencia: jlbaz@uaem.mx

Palabras claves: ATP sintasa, ATPasa, RT-PCR

Introducción. El complejo de la ATP sintasa lleva a cabo la síntesis de ATP por fosforilación oxidativa del ADP. La inactivación de este complejo disminuye significativamente el nivel energético en mutantes de *E. coli* (*atp*⁻), debido a que no son capaces de generar ATP a través de la fosforilación oxidativa, sino sólo a nivel de sustrato (1). El propósito del presente trabajo es investigar el efecto de la eliminación del operón de la ATP sintasa, sobre las velocidades específicas de crecimiento (μ) y consumo de glucosa (q_s) en *E. coli*. Además, se estudiarán las respuestas transcripcionales de genes del metabolismo central del carbono a la inactivación de la ATP sintasa.

Metodología. Se generaron mutantes a partir de *E. coli* JM101 y MG1655 mediante la eliminación del operón *atp/BEFHAGD* (2), que codifica la ATP sintasa. Estas mutantes *atp*⁻ se designaron como JM101⁻ y MG1655⁻, respectivamente y se caracterizaron fisiológicamente a nivel de matraz durante 12 h, usando medio mínimo M9 suplementado con glucosa (2 g/l).

Resultados y discusión. Los resultados preliminares mostraron que el crecimiento celular de las mutantes *atp*⁻ fue sustancialmente menor en relación a las parentales (Figura 1). La μ disminuyó 53% en la mutante JM101⁻ comparada con la JM101. Similarmente, la μ disminuyó 62% en la JM101⁻ en relación a la MG1655.

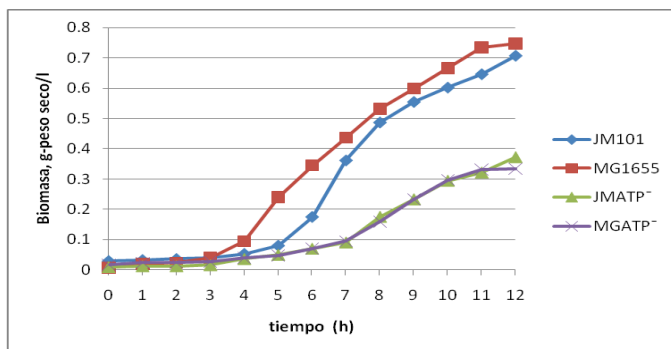


Figura 1. Cinética de crecimiento en las cepas JM101, MG1655 y su derivadas: JM101⁻ y MG1655⁻.

Por consiguiente, la eliminación del operón de la ATP sintasa causa un efecto negativo sobre la μ . Por otro lado, se observó, que la q_s de las mutantes *atp*⁻ se incrementó significativamente en relación a las cepas parentales (Cuadro 1).

Cuadro 1. Parámetros fisiológicos de las cepas MG155, JM101 y sus derivadas JM101⁻ y MG1655⁻. La desviación estándar es mostrada entre paréntesis.

CEPAS	pH _i	pH _f	μ , h ⁻¹	q_s	q_s , %
MG1655	7.0	5.0	0.53	4.91(0.31)	100
JM101	7.0	5.0	0.70	4.69(0.26)	100
JM101 ⁻	7.0	3.0	0.37	5.76(0.28)	123
MG1655 ⁻	7.0	4.0	0.33	5.48(0.45)	113

Por otro lado, en los cultivos de las mutantes JM101⁻ (pH_f=3.0) y MG1655⁻ (pH_f=4.0), el pH final a las 24 h mostró un mayor descenso, comparados con sus contrapartes silvestres. Estos datos sugieren una mayor producción de ácidos orgánicos en las mutantes *atp*⁻. Las respuestas transcripcionales de los genes del metabolismo central de carbono a la inactivación del operón de la ATP sintasa fueron estudiadas mediante la técnica de PCR en tiempo real (RT-PCR).

Conclusiones. Se comprobó que la inactivación de la ATP sintasa tiene un fuerte impacto negativo sobre el crecimiento celular. Al contrario, sobre el consumo de glucosa mostró un efecto positivo. Asimismo, la mayor acidificación del medio, sugiere una mayor producción de ácidos orgánicos.

Agradecimiento. Secretaría de Relaciones Exteriores, por el otorgamiento de la beca a la estudiante M en C. Sandra Soria. CONACYT (Proyecto N° 84782). Al técnico Mercedes Enzaldo, Unidad de Síntesis y Secuenciación de ADN (IBT-UNAM).

Bibliografía.

- Jensen P.R., Michelsen O. (1992) Carbon and Energy Metabolism of *atp* Mutant of *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.*, 174 (23):7635-7641.
- Datsenko K.A., Wanner B.L. (2000) One-step inactivation of chromosomal genes in *Escherichia coli* K-12 using PCR products. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 6:97(12): 6640-5.