



DETERMINACIÓN DE LA DISTRIBUCIÓN DE PESOS MOLECULARES DE LAS MELANINAS PRODUCIDAS POR *Escherichia coli mut melA/pTrc/W3110* EN UNA FERMENTACIÓN.

Jessica Liliana Franco García, Luz M. Martínez Mejía, Guillermo Gosset Lagarda y Georgina Teresa Hernández Chávez.

Instituto de Biotecnología, UNAM. Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis. Av. Universidad 2001. Chamilpa, Cuernavaca Mor., CP 62210. Autor para correspondencia: **Georgina HernándezChávez** ginah@ibt.unam.mx

Palabras clave: *melanina, Escherichia coli, GPC*

Introducción Las melaninas son heteropolímeros de alto peso molecular, formados por compuestos fenólicos o indólicos(1). Poseen importantes propiedades físico-químicas y debido a esto tienen diversas aplicaciones tales como: proporcionar protección contra rayos ultravioleta, (2) útiles como resina de intercambio iónico, semiconductores fotoconductoras, para eliminación de metales pesados.(3) Este biopolímero es producido de manera silvestre por diversas especies bacterianas del género *Aeromonas*, *Mycobacterium*, *Bacillus*, *Legionella*, *Streptomyces*, *Vibrio*, *Proteus*, *Rhizobium*, *Azospirillum* y *Azotobacter*(4). En nuestro grupo se ha obtenido la cepa de *E. coli mut melA/pTrc/W3110*, capaz de producir melanina a partir de cultivos suplementados con glucosa y tirosina (4).

El objetivo principal de este proyecto es caracterizar y determinar mediante cromatografía líquida de permeación en gel cómo varía la distribución de los pesos moleculares de la melanina producida a lo largo de la fermentación de una cepa de *Escherichia coli* transformada con el gen *mut melA*, que sobre expresa una enzima tirosinasa heteróloga y permite la sobreproducción de melaninas a partir de tirosina y glucosa.

Metodología Se utilizó la cepa *E. coli W3110/pTrc mut melA*. Se caracterizó la cepa genotípicamente a través de una amplificación del gen por medio de PCR y fenotípicamente por la técnica de estriado donde se avaluó la presencia de colonias oscuras. Se realizaron fermentaciones de 48 h para evaluar el crecimiento celular y producción de melanina. Se determinaron estos parámetros midiendo OD a 600 nm para medir crecimiento celular y a 400 nm para determinar melanina. Se evaluó en el sobrenadante la producción de ácidos orgánicos y consumo de fuentes de carbono y aminoácidos por HPLC y se evaluó por HPLC-GPC la distribución los pesos moleculares a lo largo de la fermentación.

Resultados Se presentan los datos correspondientes a las fermentaciones efectuadas en 2 g/l de glucosa suplementada con L- tyr y CuSO₄. Se evaluó crecimiento, producción de melanina y consumo de sustrato, se determinó DO a 600nm y producción de melanina a 400nm(6).

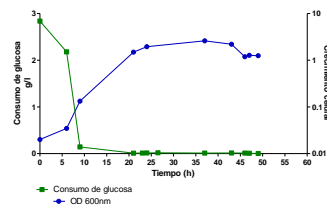


Figura 1 Crecimiento celular y consumo de glucosa

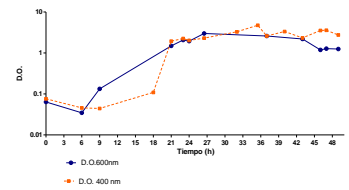


Figura 2 Crecimiento celular y producción de melanina

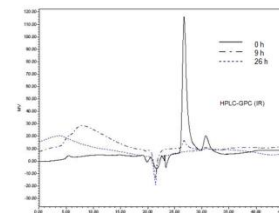


Figura 3 Producción de polímeros a diferentes tiempos de fermentación en matraces en agitación

Conclusiones Se observa a lo largo de una fermentación de 48h en matraces, hay cambios en los perfiles de pesos moleculares de los sobrenadantes analizados por GPC. Dichos cambios se observan en la fase exponencial principalmente. Estamos trabajando en la evaluación de los valores de pesos moleculares observados.

Bibliografía:

1. Uran M., Cano L. 2008. Asociación colombiana de infectología. Vol.8 pág 357-359
2. Riley, P. A. 1997. Melanin. *Biochem. Cell Biol.* 29: 1235-1239.
3. Solís A., Lara M., Rendon, L. *Nature Precedings* 2007 pag 131
4. Wang, G., Aazaz, A. Peng, Z. y Shen, P. 2000. *FEMS Microbiology Letters* 185: 23-27.
5. Cabrera N., Martínez A., Piñero S., Lagunas V., Tinoco R., de Anda R., Bolívar., Gosset G. 2005.
6. Lagunas V. Tesis IBT 2004. Departamento de ingeniería celular y biocatálisis.