



ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN DIFERENCIAL DE GENES EN FERMENTACIÓN SÓLIDA FRENTE A FERMENTACIÓN LÍQUIDA POR *A. oryzae*

Leslie C. Cruz-Madrid¹, Miguel A. Anducho-Reyes¹, Alejandro Téllez-Jurado¹, Diana Cortes-Espinoza², Ainhoa Arana-Cuenca¹. 1. Universidad Politécnica de Pachuca (Biotecnología, Laboratorio de Microbiología Molecular), Carretera Pachuca - Cd. Sahagún Km 20, Ex-Hacienda Santa Bárbara, 43830 Zempoala, Hgo, México. 2. Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada (Biotecnología Ambiental) Carretera Estatal Tecuexcomac-Tepetitla Km 1.5, Ex-Hacienda San Juan Molino, C.P 90700, Tlaxcala, México. laracum13@hotmail.com

Palabras clave: Fermentación sólida y líquida, Expresión diferencial de genes, *A. oryzae*.

Introducción. En la actualidad, aproximadamente el 90% de la producción total de enzimas se lleva a cabo mediante fermentación en estado líquido (FEL), siendo esta técnica la más usada a nivel industrial (1). La fermentación en estado sólido (FES) por su parte ha sido empleada con gran éxito para la producción de enzimas y metabolitos secundarios, resultando superior a FEL en diferentes aspectos, principalmente; permite el uso de sustratos más baratos y menor represión catabólica. Sin embargo, el escalamiento de FES a nivel industrial se ve frenado por diferentes problemas; control de temperatura, pH, O₂ y gradientes de humedad, entre otros. (2). Existen reportes donde se muestran diferencias entre la FES y FEL del hongo filamentoso *Aspergillus oryzae*. Se han encontrado un sin número de diferencias correlacionados con el crecimiento. Una de esas diferencias es el crecimiento en pellets en FEL y el crecimiento del micelio en FES muestran diferentes genes de expresión y patrones de secreción de proteínas (3).

El objetivo del estudio fue el análisis de los genes que se expresan diferencialmente en *A. oryzae* en fermentación en estado sólido respecto a la fermentación en estado líquido utilizando las mismas condiciones nutrimentales.

Metodología.

Ambas fermentaciones se realizaron con Medio Pontecorvo, utilizando 0.2% xilano como fuente de carbono incubando a 28°C. La FEL se realizó a 150 rpm, mientras que en la FES se utilizó la agrolita como un soporte inerte. se toman muestras cada 12 h durante 5 días de fermentación cuantificando la proteína extracelular mediante el método Bradford (1976) y la actividad xilanólítica por liberación de azúcares reductores cuantificados por la técnica de DNS (Miller y col., 1960). Para la extracción de RNA total (en el máximo día de actividad xilanasa) se realizó mediante el kit RNeasy® Plant Mini Kit, para la obtención del RNAm se utilizó el kit PolyATtract mRNA Isolation System de Promega™ y finalmente para Expresión Diferencial. Se realizará con el kit PCR Select cDNA Subtraction de Clontech utilizando el ARNm obtenido de la FEL y FES.

Resultados.

La Fig 1A y B muestra los resultados obtenidos en ambas fermentaciones con una mayor actividad xilanasa y producción de proteína en FES. A la 60h de cultivo, se realizó la extracción de ARN para analizar la expresión de los genes cuyos resultados están siendo analizados.

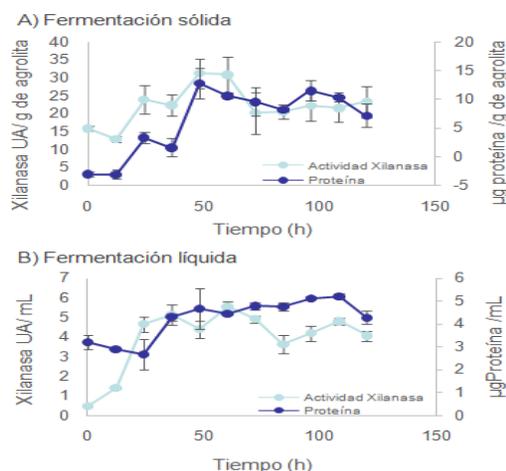


Fig. 1. Cinética de producción de actividad Xilanólítica y producción de proteína en FES (A) y FES (B).

Conclusiones.

Existen genes que se expresan diferencialmente en FES respecto a FEL utilizando las mismas condiciones nutrimentales.

Agradecimiento. Este proyecto cuenta con beca de maestría CONACYT y fue soporto con el proyecto CB-2001-16935.

Bibliografía.

- Hölker, U., Höfer, M. y Lenz, J. (2004). Biotechnological advantages of laboratory-scale solid-state fermentation with fungi. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 64:175-186.
- Viniegra-González, G. y Favela-Torres, E. (2006). Why solidstate fermentation seems to be resistant to catabolic repression?. *Food Technol. Biotechnol.* 44(3):397-406.
- Rob te Biesebeke, George Ruijter, Yovita S.P. Rahardjo, Marisca J. Hoogschagen, Margreet Heerikhuisen, Ana Levin, Kenneth G.A. van Driel, Maarten A.I. Schutyser, Jan Dijksterhuis, Yang Zhu, Frans J. Weber, Willem M. de Vos, Kees A.M.J.J. van den Hondel, Arjen Rinzema, Peter J. Punt (2002). *Aspergillus oryzae* in solid-state and submerged fermentations Progress report on a multi-disciplinary project. *FEMS Yeast Research* 2: 245-248.