



EVOLUCIÓN ADAPTATIVA DE LA CEPA DE *Escherichia coli* PB11 PARA RESTAURAR SU CAPACIDAD DE CRECIMIENTO EN GLUCOSA.

Susy Beatriz Carmona, Ramón de Anda, Francisco Bolívar, Adelfo Escalante. Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca, Morelos. susybcc@ibt.unam.mx.

Palabras clave: Evolución adaptativa, *Escherichia coli*, Glucosa (Glc)

Introducción. Experimentos de evolución adaptativa han sido empleados como herramienta para la optimización de fenotipos, así como para conocer la dinámica y las bases genéticas de la adaptación¹. La cepa PB12 es una cepa de *Escherichia coli* PTS⁻Glc⁺, esto es, tiene inactivado el principal sistema de transporte de glucosa: sistema fosfotransferasa (PTS) y sin embargo es capaz de crecer en dicho sustrato como única fuente de carbono; esta capacidad de transportar glucosa eficientemente la restauró durante un proceso de evolución. La cepa progenitora PB11: PTS⁻Glc⁻ fue sometida a un proceso de evolución adaptativa, la cepa PB12 fue aislada durante dicho proceso². El análisis genómico de la cepa PB12 muestra que durante el proceso de evolución ocurrieron entre otras mutaciones, una delección cromosomal de 10,328 pb, que incluye 12 genes entre los que se encunetran *rppH* y *galR*. Se propone que la eliminación estos dos genes es la causa principal de la recuperación de la velocidad de crecimiento de esta cepa en medio mineral con glucosa como única fuente de carbono³. Con el presente trabajo se pretende contestar la pregunta si en procesos independientes de evolución adaptativa bajo las mismas condiciones, una cepa bacteriana seguirá el mismo camino evolutivo para alcanzar un mismo fenotipo.

Metodología. Se replicó el experimento de evolución de la cepa PB11, para ello se realizó un cultivo en lote para la generación de mutantes PTS⁻Glc⁺, cuando el cultivo alcanzó la fase de crecimiento estacionaria se cambió a modo continuo a una tasa de dilución baja con el fin que las células se mantuvieran. Esto se realizó por triplicado. Se aislaron mutantes con fenotipo Glc⁺ utilizando medio agar McConkey en la hora 84 de cada cultivo. Se evaluó la pérdida del fragmento cromosomal de 10,328 pb en cada uno de los cultivos. Se realizaron cinéticas de crecimiento en microplaca de las colonias aisladas.

Resultados.

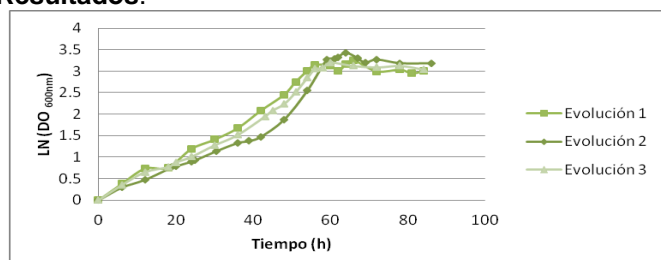


Fig. 1 Gráficas que muestran el comportamiento de crecimiento en los experimentos de evolución realizados.

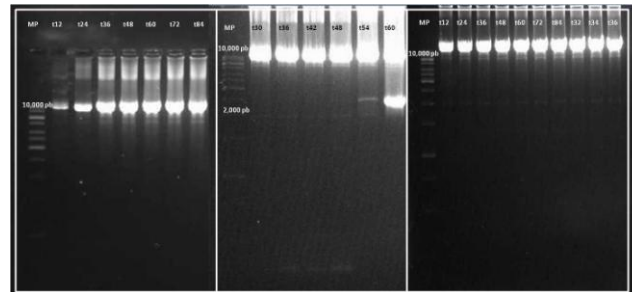


Fig. 2 Evaluación de la pérdida del fragmento cromosomal de 10,328 pb a diferentes tiempos en los tres cultivos realizados.

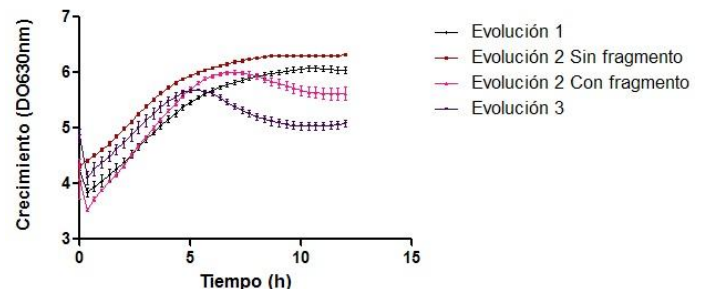


Fig. 3 Crecimiento de las cepas PTS⁻Glc⁺ seleccionadas a partir de los diferentes experimentos de evolución. Los valores de μ (h⁻¹) son 0.37, 0.39, 0.49 y 0.38 respectivamente.

Como se observa en fig 1 en el experimento de evolución 2, hay un cambio de pendiente evidente que coincide con el momento en que ocurre la pérdida del fragmento cromosomal en la población (fig 2). A pesar de esto, la colonia aislada que conserva el fragmento cromosomal de 10,328 pb, crece mejor de manera individual que la cepa que lo perdió (fig 3). Lo anterior indica que la pérdida del fragmento le confiere ventaja en las condiciones del experimento de evolución, pero no fuera de ellas y que existen otras mutaciones además de la pérdida de *rppH* o *galR*, capaces de restaurar el crecimiento en glucosa de las mutantes aisladas.

Conclusiones. La cepa PB11 sigue caminos diferentes para evolucionar y alcanzar un fenotipo Glc⁺, a pesar de encontrarse bajo condiciones de estrés muy específicas.

Agradecimiento. Al apoyo económico del proyecto CONACYT-Ciencia Básica 240519.

Bibliografía. 1.-Portnoy, V.A., Bezdán, D., Zengler, K. (2011). Curr. Opin. Biotechnol. 22, 590–594. 2.-Flores, N., Xiao, J., Berry, A., Bolívar, F., Valle, F. (1996). Nat Biotech 14, 620–623. 3.-Aguilar, C., Escalante, A., Flores, N., de Anda, R., Riveros-McKay, F., Gosset, G., Morett, E., Bolívar, F. (2012). BMC Genomics 13, 385.