

OPTIMIZACIÓN DE UN MEDIO DE CULTIVO PARA PRODUCCIÓN DE TREHALOSA EN *S. cerevisiae* RECOMBINANTE

Gallo, Ignacio; Hernández, Marcela; Iturriaga, Gabriel; Pedraza, Lorena; Santisteban, Ytzel.
 Universidad Iberoamericana A.C.; Prol. Paseo de la Reforma 880, Lomas de Sta. Fe 01210;
 5950-4279; ignacio.gallo@sis.uia.mx

trehalosa, Saccharomyces, oligoelementos

Introducción. La trehalosa es un disacárido constituido por dos moléculas de glucosa en enlace α 1-1. Su síntesis se relaciona con la supervivencia de organismos en períodos de sequía. Además, la trehalosa aumenta la tolerancia de la levadura a condiciones de estrés como altas temperaturas y altas concentraciones de etanol. En la experimentación realizada se trabajó con una cepa recombinante de *S. cerevisiae*, que posee el gen SITPS1 modificado de *Selaginella lepidophylla*, el cual codifica para la trehalosa 6-fosfato sintasa⁽¹⁾.

El objetivo del presente trabajo es optimizar, por medio de diseños experimentales, el medio de cultivo de *S. cerevisiae* para la producción de trehalosa al variar los oligoelementos presentes.

Metodología. Se cultivó *S. cerevisiae* en medios de cultivo con diferentes fuentes de carbono y concentraciones de oligoelementos según el diseño experimental Plackett-Burman⁽²⁾. Se muestreó a las 24, 48 y 72 horas determinándose el peso seco y la concentración de trehalosa por HPLC. Las fuentes de carbono utilizadas fueron sacarosa para producción de biomasa y maltosa para la síntesis de trehalosa.

Cuadro 1 – Diseños experimentales P-B

| | A | B | C | D | E | F | G |
|-----------|----|-----|-----|----|-----|----|-----|
| Biomasa | pH | Y.E | E.T | Cu | C/N | N | Err |
| Trehalosa | Mg | Ca | Fe | Cu | Mn | Zn | Err |

Resultados y discusión. Inicialmente, se obtuvo un medio de cultivo óptimo para producción de biomasa. Los factores más importantes para el crecimiento fueron el extracto de levadura, solución de elementos traza y cobre. También se hizo el análisis estadístico para trehalosa, siendo los factores relevantes extracto de levadura, pH, oligoelementos y relación C/N.

De trabajos anteriores, se observó que existe una importante contribución de los oligoelementos y de la fuente de carbono (maltosa) en la concentración final de trehalosa⁽³⁾. Por ello, se diseñó otro experimento, para determinar aquellos elementos traza con mayor influencia, encontrándose lo siguiente:

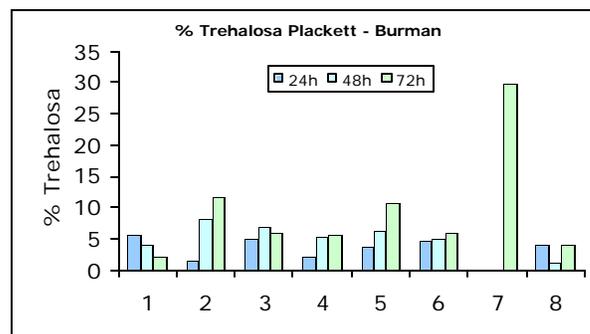


Fig. 1 - % trehalosa obtenido según el diseño

Los modelos encontrados a partir de dicho diseño fueron:

$$\begin{aligned}
 24h \quad Y_{\text{calc.}} &= 3.285 + 0.589*A - 0.631*C + 0.729*D - 0.785*E + 0.495*F - 1.014*G \\
 48h \quad Y_{\text{calc.}} &= 4.566 + 1.750*A + 1.695*B + 0.582*D - 0.560*F \\
 72h \quad Y_{\text{calc.}} &= 9.480 - 2.102*B + 3.518*C - 3.413*D + 5.073*E + 2.773*G
 \end{aligned}$$

Conclusiones. El crecimiento y acumulación de trehalosa de *S. cerevisiae* en maltosa queda determinado por los elementos traza disponibles. En sacarosa el crecimiento de la misma cepa es mucho más rápido pero con menor producción de trehalosa. Un medio de cultivo óptimo para la producción de trehalosa con una cepa recombinante de *S. cerevisiae* como la empleada, sería aquel en el que se emplee sacarosa como fuente de carbono inicial, añadiéndose posteriormente maltosa y restringiendo los elementos traza disponibles. De este modo, se logra el mayor porcentaje de trehalosa en relación al peso seco obtenido.

Bibliografía.

1. Van Dijk, P., Mascorro-Gallardo, J.O., De Bus, M., Royackers, K., Iturriaga, G. and Thevelein, J.M.. 2002. Truncation of *Arabidopsis thaliana* and *Selaginella lepidophylla* trehalose 6phosphate synthase unlocks high catalytic activity and supports high trehalose levels on expression in yeast. *Biochem. J.* 366, 63-71.
2. Fabila, Gilberto. 1998. Diseño y análisis de experimentos industriales. UIA. 11-16.
3. Moctezuma, Julio I., 2001. Diseño de un medio de cultivo para la producción de trehalosa en una levadura recombinante. *Tesis de Licenciatura UIA*. 63 pp.