



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



APLICACIONES DE LA TÉCNICA DE ANÁLISIS DE FLUJOS METABÓLICOS

Osmán Fernández^{1,2}, Julio C. Dustet², Ernesto Chico¹, José L. Martínez³. ¹Desarrollo de Plataformas Tecnológicas, Centro de Inmunología Molecular, Cuba. ²Facultad de Ingeniería Química, Instituto Superior Politécnico “José Antonio Echeverría”, Cuba. ³Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila, México. jose-martinez@uadec.edu.mx

Palabras clave: flujo metabólico, lisina, modelación matemática.

Introducción. Entre las variantes usadas con éxito por la ingeniería genética para incrementar el rendimiento de un producto se encuentra la incorporación de vectores de expresión con copias múltiples de casetes de expresión. Sin embargo, tanto la velocidad de formación como el rendimiento del producto de interés están limitados en última instancia por la canalización del carbono desde el metabolismo central hacia la ruta de biosíntesis del producto [1]. Entre las características de las rutas metabólicas centrales se tiene la existencia de puntos de ramificación o nodos hacia otras rutas de degradación o biosíntesis de otros metabolitos [2]. El objetivo de este trabajo es mostrar como mediante la simulación matemática de una red metabólica se pueden determinar los nodos principales de la misma. Se toma como ejemplo de caso de estudio la sobreproducción de lisina en *Corynebacterium glutamicum* y se comparan los resultados teóricos con los obtenidos experimentalmente [3].

Metodología. El modelo matemático se construyó siguiendo las reglas generales para aplicar la técnica de Análisis de Flujos Metabólicos (MFA) descritas en [4] y [5]. Para poder homologar los resultados con los reportados por [4] se tuvo en cuenta la información bioquímica reportada experimentalmente para esta línea celular. El análisis de sensibilidad y la solución del modelo matemático se realizan según [4].

Resultados. La matriz que representa la red metabólica tiene una dimensión de 37 x 34 con un rango de 34 y un número de condición de 59 por lo que es funcional matemáticamente y poco sensible. Para la identificación de los nodos principales se utilizan los valores de flujos obtenidos en la simulación para conocer el rendimiento teórico máximo. En la Figura 1 se muestran el número de veces que cambió la razón de flujos metabólicos a través de los nodos del metabolismo central en función de los rendimientos de lisina.

Como puede observarse, los nodos en los que cambian considerablemente las razones de flujos son glucosa-6-fosfato, piruvato, oxalacetato y fosfoenolpiruvato. En el nodo oxalacetato aunque se presentan grandes cambios, éstos son debidos a los cambios que experimenta el nodo fosfoenolpiruvato, por lo que este tipo de nodo se conoce como nodo principal trivial. Por tanto los nodos principales de la red metabólica son los de glucosa-6-fosfato, piruvato y fosfoenolpiruvato.

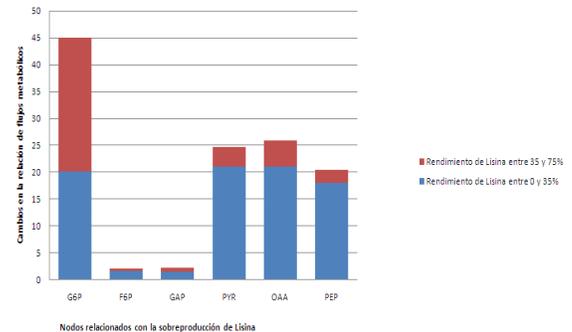


Fig. 1 Cambios en la relación de flujos metabólicos en los nodos presentes en la red metabólica para la sobreproducción de lisina.

Estos resultados coinciden con los reportados en un trabajo experimental [3]. Se demuestra entonces que la simulación matemática es una vía posible para la identificación de los nodos principales de una red metabólica.

Una vez identificados los nodos principales debe determinarse por la vía experimental el tipo de rigidez de cada uno; y en función de esto último se proponen las modificaciones genéticas a realizar en la célula para lograr el objetivo de la sobreproducción del producto de interés.

Conclusiones. Se aplicó la metodología de Análisis de Flujos Metabólicos al caso de estudio de la sobreproducción de lisina en *Corynebacterium glutamicum* para simular el máximo rendimiento teórico y con esta distribución de flujos se determinaron los nodos principales obteniéndose los mismos resultados que los reportados experimentalmente en la literatura.

Bibliografía.

1. Liao, J. C.; Hou, S.; Chai, Y.: "Pathway Analysis, Engineering, and Physiological Considerations for Redirecting Central Metabolism", *Biotechnology and Bioengineering*, Vol.52, pp. 129-140, 1996.
2. Stephanopoulos, G.; Vallino, J.: "Network rigidity and metabolic engineering in metabolite overproduction", *Science*, Vol.252, pp. 1675-1681, 1991.
3. Vallino, J.; Stephanopoulos, G.: "Metabolic Flux Distribution in *Corynebacterium glutamicum* During Growth and Lysine Overproduction", *Biotechnology and Bioengineering*, Vol.41, pp. 633-646, 1993.
4. Stephanopoulos, G.; Aristidou, A.; Nielsen, J.: *Metabolic Engineering: Principles and methodologies*. Academic Press, 1998.
5. Zupke, C.; Stephanopoulos, G.: Intracellular Flux Analysis in Hybridomas using Mass Balances and in Vitro ¹³C NMR, *Biotechnology and Bioengineering*, Vol.45, pp. 292-303, 1995.