



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



EFFECTO DE LA REDUCCIÓN SIMULTANEA DE LA INHIBICIÓN DE LAS ENZIMAS HEXOCINASA Y FOSFOFRUCTOCINASA SOBRE LA VELOCIDAD DE PRODUCCIÓN DE ETANOL EN *Saccharomyces cerevisiae*

Fabiola Pérez, Héctor Quezada, Diana Arcos, Silvia C Hernandez, Víctor Macias, Mariana Achirica, Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez", Departamento de Bioquímica, México D.F, CP 14080, beretza@gmail.com.

Palabras clave: *hexocinasa, etanol, glicólisis.*

Introducción. Con el deseo de sustituir los combustibles fósiles por otros más amigables para el ambiente, se ha considerado al etanol como uno de los más importantes biocombustibles. Su producción se lleva a cabo mediante la fermentación de azúcares de fuentes vegetales usando *Saccharomyces cerevisiae*, sin embargo hasta la fecha no se han entendido a fondo los mecanismos que regulan el flujo glicolítico y la producción de etanol. Actualmente se sabe que el incremento en la transcripción de los genes que codifican para las enzimas de la glicólisis no provoca un aumento en la producción de etanol (1). El objetivo de este trabajo es saber cuales serán las consecuencias de reducir la inhibición de dos enzimas clave, la hexocinasa (*Hxk2*) y la fosfofructocinasa (*Pfk1*) sobre la velocidad de producción de etanol.

Metodología. Se construirá una cepa de *S. cerevisiae* modificada genéticamente, en la cual se integrara al cromosoma el gen heterólogo *SpHxk2* de *Schizosaccharomyces pombe* el cual codifica para una forma de hexocinasa insensible a inhibición por trehalosa 6-fosfato (2), bajo el promotor endogeno del gen *PFK2* (Fig. 1) Dicha cepa se transformará con un plásmido de sobre-expresión que contenga el gen mutante *PFK1P728L* el cual codifica para una forma de *Pfk1* insensible a inhibición por ATP (Figura 2) (3). Se realizarán fermentaciones para evaluar el efecto de las modificaciones genéticas sobre la velocidad de producción de etanol.

Resultados. Se trató de expresar la *SpHxk2* en *Saccharomyces cerevisiae* en un plásmido de sobre-expresión, sin embargo no se detectó aumento en la actividad (Tabla 1) a pesar de que se detectó el mRNA del gen heterólogo. Es probable que el promotor no fue el adecuado o que existe un mecanismo de regulación post-transcripcional.



Figura 1. Propuesta de la Construcción integrada para Hxk2.

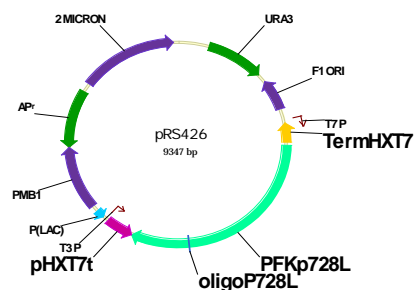


Figura 2. Plásmido pRS426 conteniendo el gen PFK1 con la mutación p728l

Tabla 1. Resultados de actividad para el plasmido de sobre-expresión.

Actividad ($\mu\text{mol}/\text{min mg}$)	
BY4741/pRS426	2.7 ± 0.6
BY4741/pDSpHXK2	2.6 ± 0.6
hxk2 Δ /pDSpHXK2	1.1 ± 0.1
Hkx2/pRS426	1.1 ± 0.2

Conclusiones. Si se logran realizar exitosamente estas modificaciones, se espera lograr un aumento en la velocidad de producción de etanol.

Agradecimiento. Agradecemos a CONACyT (106583) y al Instituto de Ciencia y Tecnología del Distrito Federal (PICS08-5) por el financiamiento otorgado al presente trabajo

Bibliografía.

- Schaaff I, Heinisch J, Zimmermann FK (1989) *Yeast*. 5(4):285-90.
- Bonini BM, Van Dijk P, Thevelein JM. (2003) *Biochim Biophys Acta*. 1606(1-3):83-93.
- Rodicio R., Strauß A., Heinisch J. (2000). *Journal of Biological Chemistry*. 275: 40952-40960