



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



“COMPARACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE ETANOL DE UNA CEPA ETANOTOLERANTE CON UNA MUTANTE ALTERADA EN LA INHIBICIÓN DE LA HEXICONASA”

Mariana Achirica, Francisco Ruiz, Héctor Quezada, Víctor Macías, Berenice Pérez, Carolina Hernández, Diana Arcos. Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”. Departamento de Bioquímica. México D.F. C.P14080, machirica_88@hotmail.com

Palabras clave: etanotolerancia, hexocinasa, glicólisis

Introducción. Las constantes fluctuaciones de precio de los combustibles, así como su dependencia hacia el petróleo como materia prima ha sido un tema de debate en los últimos años. Actualmente se están realizando investigaciones en tema y se le está dando gran importancia en el ámbito científico, económico y ambientalista. Es así, como de acuerdo a investigaciones realizadas con fines biotecnológicos, microorganismos como las levaduras han sido tomadas en cuenta para su estudio. Se han seleccionado para luego identificar, sólo aquellas especies que presenten las mejores adaptaciones para su utilización en nuevas tecnologías (1). Por otra parte, las cepas seleccionadas pueden ser modificadas mediante técnicas de ingeniería metabólica. Al identificar los sitios que controlan el flujo de una vía metabólica se pueden identificar blancos para realizar modificaciones genéticas o bioquímicas encaminadas a producir metabolitos de interés como el etanol. El control ejercido en el flujo de la glicólisis en levaduras, se encuentra modulado por tres enzimas: hexocinasa (HXK), fructosa 6-fosfato cinasa tipo 1 (PFK1) y piruvato cinasa (PK). La enzima Hxk2 presenta una inhibición *in vivo* por trehalosa 6-P (2). Si se utiliza la biología molecular para construir una cepa recombinante con mecanismos de inhibición disminuidos, en este caso sobre HXK2, deberán tener un mayor flujo en la vía glicolítica y por tanto mayor producción de etanol.

El objetivo del presente trabajo es determinar si la inhibición de la hexocinasa limita la velocidad de producción de etanol en una cepa etanotolerante.

Metodología. Las levaduras previamente aisladas de mezcal se cultivaron a 30°C en medio YPD sólido y aprox. 48 horas después, se seleccionaron cualitativamente sólo aquellas que presentaron etanotolerancia. Una vez seleccionadas se identificará una de ellas para luego ser transformada con un plásmido que contenga el gen SpHXK2 el cual codifica para una forma de hexocinasa insensible a la inhibición por trehalosa 6 P. Ambas cepas, la transformada y la parental, serán comparadas en la velocidad de producción de etanol.

Resultados. De las 90 levaduras iniciales 9 fueron las que presentaron un crecimiento etanotolerante óptimo, una de ellas será identificada molecularmente para luego compararla con la cepa modificada en HXK2.

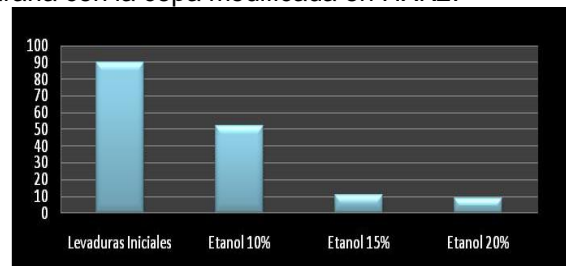


Fig 1. Levaduras que fueron seleccionadas a diferentes concentraciones de etanol.

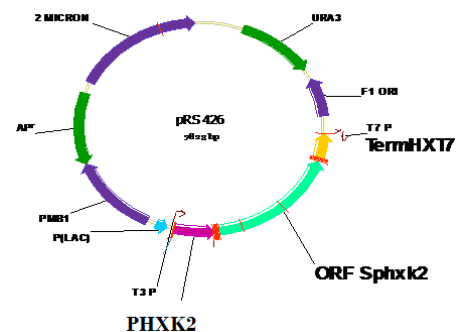


Fig. 2. Plásmido pRS426 conteniendo el gen HXK2 de *S.pombe* insensible a la inhibición por trehalosa 6-P.

Conclusiones. Hasta ahora se han seleccionado las levaduras con mayor etanotolerancia y actualmente estamos trabajando con la construcción del plásmido.

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

- 1.-Oberá R. T.(2004). *Iberoamericana*. Vol 21. 15-19.
- 2.-Bonini BM, Van Dijck P. Thevelein.JM. (2003). *Biochim Biophys*. 1606(1-3):83-93.



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería

