



# XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



## EXPRESIÓN DEL GEN *fadA* EN FERMENTACIÓN SÓLIDA Y LÍQUIDA DURANTE EL PROCESO DE BIOSÍNTESIS DE LOVASTATINA POR *Aspergillus terreus*

Roxana U. Miranda, Armando Mejía, Teresa Pérez y Javier Barrios-González. Universidad Autónoma Metropolitana. Depto. Biotecnología. Av. San Rafael Atlixco No. 186, Col. Vicentina, C.P. 09340, Del. Iztapalapa. México, D.F.

Contacto: cbs205383170@xanum.uam.mx

Palabras clave: *fadA*, lovastatina, vía cAMP-PKA.

**Introducción.** Las enfermedades coronarias debido a hipercolesterolemia, son la principal causa de muerte en el mundo. La lovastatina (LOV), metabolito secundario producido por el hongo *Aspergillus terreus*, es de gran valor comercial y farmacéutico por su actividad anticolesterolemia. Éste metabolito se produce usualmente por fermentación líquida (FL), pero por fermentación sólida (FS) hemos obtenido hasta 13 veces más producción, siendo un ejemplo de la “fisiología especial del medio sólido”. Evidencia reciente de nuestro grupo, muestra que las especies reactivas de oxígeno (ROS) podrían ser responsables de esta mayor producción. Poco se ha descrito respecto a la relación existente entre metabolismo secundario y la respuesta a estrés, sin embargo, la vía cAMP-PKA parece ser clave en esta relación. En *A. nidulans*, estos procesos están regulados a través de la proteína G y proteína quinasa A (PKA), componentes clave de la vía cAMP-PKA, regulando negativamente la biosíntesis de aflatoxinas (Keller et al. 2005) y mejorando la respuesta a estrés (Folch-Mallol et al. 2004). La proteína G es heterotrimérica, y su subunidad catalítica (alfa), está codificada por el gen *fadA*. En *A. terreus* se conoce poco sobre el funcionamiento de la vía cAMP-PKA y sobre el rol que juega sobre la biosíntesis de LOV, por lo que en este trabajo se decidió analizar la expresión del gen *fadA* como indicador del funcionamiento de la vía, durante el proceso de producción de LOV en FS y FL.

**Metodología.** La cepa *Aspergillus terreus* (TUB F-514), las condiciones de FL y FS y las técnicas de extracción y cuantificación de LOV, fueron las empleadas por Baños et al. (2009). Las condiciones para el muestreo, extracción de RNA y Northern-blot, fueron las descritas por Barrios-González et al. (2008). Las sondas empleadas, fueron secuenciadas por el Laboratorio Divisional de Biología Molecular de la UAM-I.

### Resultados.

El gen *fadA* puede ser regulado a nivel transcripcional. El análisis de Northern, mostró que los transcritos del gen *fadA* pueden ser acumulados en distintas cantidades a través del tiempo (Fig.1-A).

FadA regula negativamente la biosíntesis de LOV. Como era esperado, resultados obtenidos para FL, muestran que el inicio de la biosíntesis de LOV (idiofase), coincidió con la disminución en la acumulación de transcritos del gen *fadA*. Por otra parte, la mayor expresión de *fadA* durante la fase rápida de crecimiento (trofofase)

(Fig.1-A), sugiriendo una mayor actividad de la vía debido a condiciones nutricionales óptimas en el medio.

Posible papel de la Vía cAMP-PKA en la “fisiología especial del medio sólido”. A diferencia de la FL, fue en la FS donde la acumulación de transcritos de *fadA* fue constante durante todo el desarrollo del cultivo, y el nivel de acumulación, fue igual al encontrado en la idiofase de la FL (Fig.1-B), esto sugiere que el hongo a través de la vía, al percibir el ambiente de FS, disminuye su actividad y con ello, estimula una mejor producción del metabolito.

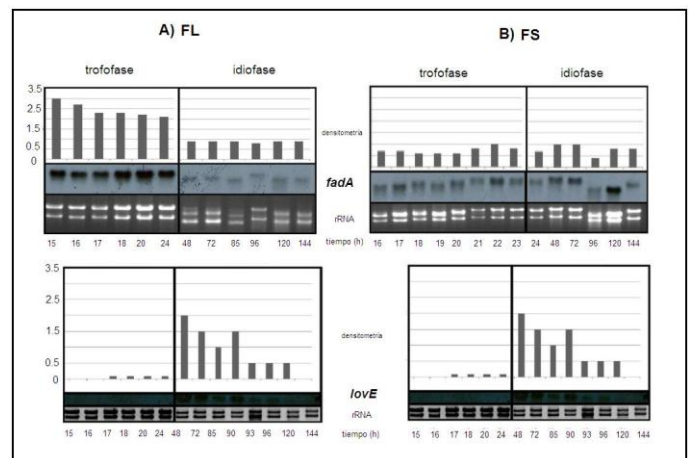


Fig. 1 Análisis de Northern de los genes *fadA* y *lovE* en A) FL y B) FS. La expresión del gen *lovE* (factor transcripcional de la vía de LOV), se empleó para determinar el inicio de la idiofase en cada sistema de cultivo.

### Conclusiones

- 1 El gen *fadA*, puede ser regulado a nivel transcripcional, debido a diferencias encontradas en el patrón de expresión durante la FL.
- 2 La disminución en la expresión de *fadA*, coincidió con el inicio de la biosíntesis de LOV, lo cual podría indicar una probable regulación negativa de FadA sobre la biosíntesis del metabolito.
- 3 La “fisiología especial del medio sólido” puede ser parte de la respuesta a la percepción del medio ambiente que es mediada por las proteínas G que transducen a la vía cAMP-PKA.

### Bibliografía

- Keller, N.P., Turner, G. & J.W. Bennett. (2005) Nature Reviews / Microbiology. 3:937-947.  
Baños JG, Tomasini A, Szakács G, Barrios-González J (2009) J Biosci Bioeng 108 (2): 105-110  
Barrios-González J, Baños JG, Covarrubias AA, Garay-Arroyo A (2008) Appl Microbiol Biotechnol 79:179-186  
Folch-Mallol JL, Garay-Arroyo A, Lledías F, Covarrubias Robles AA (2004) Rev Latinoam Microbiol. 46 (1-2): 24-46.