



# XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



## Fisiología de una cepa carente del sistema PTS durante la producción de compuestos aromáticos en medio mínimo

Karla Martínez, Noemí Flores, Francisco G. Bolívar. Instituto de Biotecnología UNAM, Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis. Cuernavaca Morelos 62210. [karlamg@ibt.unam.mx](mailto:karlamg@ibt.unam.mx)

Palabras clave: compuestos aromáticos, fisiología, metabolismo central

**Introducción.** Varios compuestos producidos por la vía de los aminoácidos aromáticos (AA) tienen importancia comercial. Para disminuir costos de purificación del producto aromático, la fermentación en medio mínimo es deseable. La producción de aromáticos en medio mínimo de una cepa carente del sistema PTS (PB12), transformada con plásmidos e inducida para redirigir el flujo de carbono a la vía de los AA causa una disminución del crecimiento cuando se usa glucosa como única fuente de carbono. Por otra parte el crecimiento en glucosa-glicerol aumenta la velocidad de crecimiento de la cepa así como el rendimiento y productividad de compuestos aromáticos. Para comprender la fisiología de la cepa durante la producción de compuestos aromáticos en ambas condiciones se realizaron estudios de qPCR, niveles de cofactores y ATP/ADP. Los resultados permitirán realizar modificaciones para hacer más eficiente la producción en medio mínimo.

**Metodología.** Fermentaciones realizadas en bioreactores de 1 L con 4gr/L de glucosa ó 2gr/L de glucosa y 2gr/L de glicerol cuando se uso mezclas de fuentes de carbono, medio mínimo M9 con IPTG desde el inicio de la fermentación. Estudios de transcripción metabolismo central: qPCR. Medición cofactores: extracción ácida y medición en HPLC. Medición ATP/ADP: Piruvato cinasa y método acoplado a la luciferina.

### Resultados.

#### Parámetros cinéticos y estequiométricos cepa PB12 (pRW300aroG<sup>ibr</sup>, pCLtktA)

Fuente de carbono	$\mu$ hr <sup>-1</sup>	Y <sub>x/s</sub> g/mmolC	q <sub>s</sub> mmolC/gdcw hr	Y mmolC/mmolC
Glucosa (sin plásmidos)	0.42	0.013	32.22	0.00
Glucosa	0.08	0.009	11.31	0.07
Glucosa-Glicerol	0.15	0.008	17.11	0.36

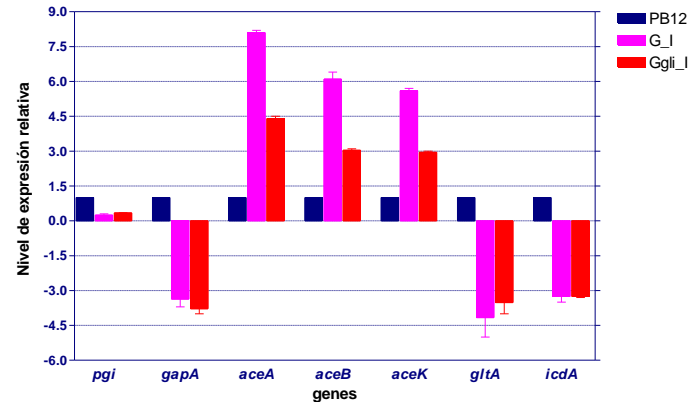


Fig. 1. Niveles de expresión diferencial de genes clave del metabolismo central.

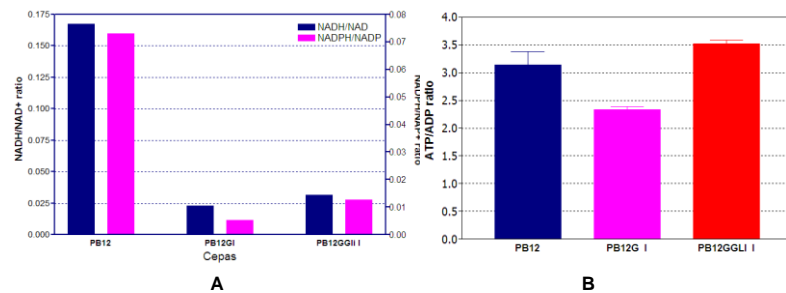


Fig. 2. A) Niveles de cofactores reducidos y oxidados, B) Niveles de ATP/ADP en la cepas PB12 y PB12 (pRW300aroG<sup>ibr</sup>, pCLtktA)

### Conclusiones.

Los bajos niveles de expresión de genes clave de la glicolisis (*pgi* y *gapA*) y TCA (*gltA*, *icdA*), así como la sobreexpresión de genes de las pentosas fosfato (*talA*, *talB*) y el shunt de glioxilato (*aceA*, *aceB*, *aceK* y *gltB*) indican que la cepa en condiciones de producción disminuye el flujo hacia la glicólisis y evita la pérdida de carbonos por TCA y el reciclamiento de carbonos. La disminución en los niveles de cofactores reducidos y oxidados correlacionan con la baja actividad de TCA. Sin embargo estos niveles son mas favorables en la condición glucosa y glicerol

Los niveles de ATP/ADP se afecta mas en la condición de producción cepa glucosa

**Agradecimiento.** CONACyT Sector Salud 126793.

**Bibliografía.** Martínez K, Escalante A, Hernández G, de Anda R, Ramírez T y Bolívar F. 7(1), 2008.