



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



ANÁLISIS TRANSCRIPTÓMICO DE UNA CEPA DE *ESCHERICHIA COLI* (PTS⁻GLC⁺) SOBREPDUCTORA DE SHIKIMATO EN MEDIO DE PRODUCCIÓN

Larisa Cortés Tolalpa¹, Adelfo Escalante Lozada¹, Luz María Martínez Mejía¹, Rosa María Gutiérrez Ríos², Georgina Hernández¹, Ramón de Anda¹, Francisco Bolívar Zapata¹, Instituto de Biotecnología, UNAM, ¹Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis, ²Departamento de Microbiología Molecular, Cuernavaca, Morelos, 6220. larisa@ibt.unam.mx

Palabras clave: *Escherichia coli*, transcriptoma, shikimato.

Introducción. El shikimato (SA) es un intermediario de la vía de síntesis de compuestos aromáticos que se utiliza como precursor para la síntesis del fosfato de oseltamivir (OSF) o Tamiflu, inhibidor de las neuraminidasas de los virus de la influenza tipo A, B, H5N1 y A/H1N1. Debido a la importancia del SA se han desarrollado estrategias para su producción en cepas bacterianas mejoradas genéticamente, como la cepa *Escherichia coli* sobreproductora de SA PB12.SA22 (Escalante *et al.*, 2010).

El análisis transcriptómico por microarreglos de alta densidad permitió estudiar por primera vez el transcriptoma global, de una cepa sobreproductora de SA en un medio de producción en sistema de fermentación en lote.

Metodología. A partir de una fermentación de 500mL (volumen de operación) en medio de producción, bajo las siguientes condiciones 37°C, pH 7, 500-700 rpm, se extrajo RNA total por el método fenol caliente-cloroformo en fase exponencial (EXP) y estacionaria (STA). Se realizaron microarreglos de alta densidad de Affimetrix y se analizaron con herramientas desarrolladas en lenguaje Perl.

Resultados. Se caracterizó a la cepa fisiológicamente y se obtuvo por primera vez el perfil transcriptómico global en EXP y STA (Fig. 1).

biosintéticos y energéticos asociados a un crecimiento acelerado. En STA destacan aquellos genes relacionados con el transporte de nutrientes, respuesta a estrés, reguladores y genes del metabolismo anaerobio. Se hizo especial énfasis en el análisis de la expresión de los genes del Metabolismo Central de Carbono, observándose una sobreexpresión de aquellos genes glucolíticos y gluconeogénicos (en fase EXP y STA) lo que sugiere que esta vía podría estar siendo utilizada en ambas direcciones. Los genes aerobios del ciclo de los ácidos tricarboxílicos (TCA) presentaron un elevado nivel de transcripción lo que sugiere la utilización de esqueletos de carbono para la obtención de energía y recirculación de compuestos biosintéticos en ambas etapas. De la misma forma, los genes de primera parte de la vía de las pentosas fosfato presenta un nivel de expresión alto, sugiriendo la necesidad de cofactores biosintéticos reducidos (NADPH). Los genes de la vía de SA son detectados con expresión alta, exceptuando a *aroD*. Se detectó la producción de etanol correlacionando con la expresión de genes ácido fermentativos así como producción de glucógeno.

Conclusiones. El análisis transcriptómico global de la cepa sobreproductora de SA en medio de producción permitió determinar que la glicolisis podría estar desarrollando funciones anabólicas y catabólicas a lo largo de la fermentación. Mientras que TCA probablemente juega un papel mucho más importante en el crecimiento y mantenimiento de la cepa durante la fermentación. Se observó un nivel de expresión alta de genes anaerobios y ácido fermentativos, diversos genes de respuesta a condiciones de estrés por acidez, osmolaridad y de genes relacionados a la síntesis de glucógeno y biopelícula.

Agradecimientos. Este trabajo fue financiado por los donativos PAPIIT IN224709, CONACyT 105782, 106428 y CONACyT Sector Salud 126793

Bibliografía.

- Escalante, A., Calderón, R., Valdivia, A., De Anda, R., Hernández, G., Ramírez, O., Gosset, G., Bolívar, F. (2010) *Microb. Cell Fac.*, 9:21

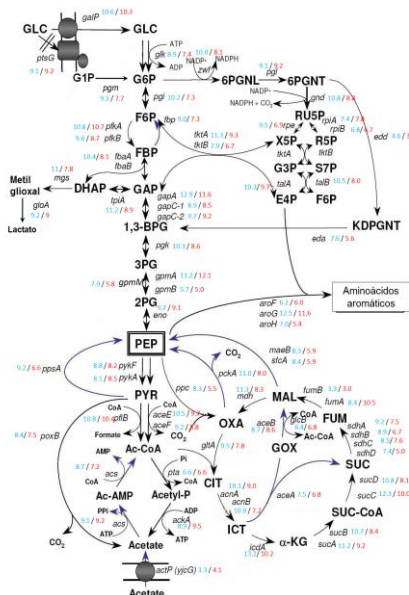


Fig. 1. Mapa transcriptómico global en ambas etapas: EXP (azul) y STA (rojo).

El análisis transcriptómico global permitió identificar aquellos genes expresados diferencialmente en ambas etapas y se clasificaron en categorías funcionales. En EXP destacan genes relacionados a la biosíntesis y metabolismo respiratorio, sugiriendo requerimientos