



# XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



## ESTUDIO DEL EFECTO DE VARIACIONES AMBIENTALES TÍPICAS DEL ESCALAMIENTO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE ÁCIDO SHIKIMICO EN UNA CEPA MUTANTE EN LA VÍA DEL CORISMATO.

Zuluaga-Rave D.F., Bolívar F., Escalante A., Ramírez O.T., Valdez-Cruz N.A.  
 Instituto de Biotecnología/U.N.A.M., Av. Universidad #2001, Col. Chamilpa, C.P. 62210  
 Cuernavaca, Morelos. Tel. (55) 56227617, Fax (777) 3138811, [adri@ibt.unam.mx](mailto:adri@ibt.unam.mx)  
 Palabras clave: Shikimato, Oseltamivir, Influenza

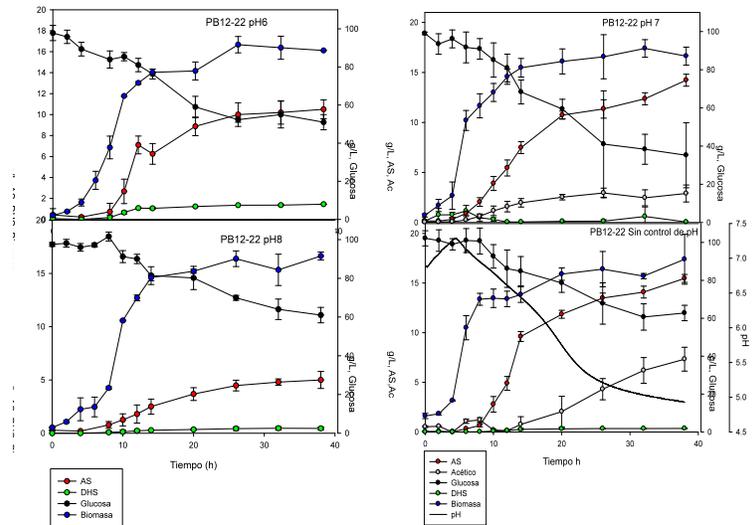
**Introducción.** El ácido shikimico (AS) es un compuesto de interés industrial clave para la síntesis del inhibidor de neuraminidasas (oseltamivir), el cual es utilizado para el tratamiento de la influenza. Las perspectivas sobre los métodos de producción de AS apuntan a la utilización de bacterias recombinantes y reactores de gran escala. Un problema común en estos sistemas es la aparición de gradientes de las variables ambientales fundamentales (pH, Oxígeno disuelto, entre otros). En un trabajo anterior del grupo se observó que, durante el crecimiento y etapa productiva de la cepa de *E. coli* PB12-SA22, el pH CAMBIA, lo cual podría afectar la producción de AS. En este trabajo se pretende entender la interacción entre la cepa PB12-22 y diferentes condiciones de pH y su efecto sobre la producción de AS, evaluando para esto, tanto el comportamiento metabólico como el comportamiento de los transcritos de genes clave del metabolismo.

**Metodología.** Se realizaron cuatro fermentaciones a diferentes condiciones de pH (6, 7, 8 y sin control de pH), en estas se tomaron muestras para la cuantificación de metabolitos y análisis de la expresión de mensajeros (4 puntos durante la cinética para los transcritos). Los metabolitos (Glucosa, AS y subproductos) fueron analizados mediante la técnica de HPLC con una columna aminex ácidos orgánicos. El análisis transcripcional se llevó a cabo mediante la técnica de PCR en tiempo real (1). Las fermentaciones se llevaron a cabo en reactores de 1L a 37°C, 30% de oxígeno disuelto (2). Se utilizaron la cepas de *E. coli* PB12-22 mutantes en los genes *PTS*<sup>-</sup>, *galp*<sup>+</sup>, *aroEB*, *aroG*<sup>frb</sup>, *aroL* y *aroK*, los cuales favorecen la acumulación de AS.

### Resultados.

**Tabla 1.** Comparación de parámetros cinéticos a diferentes condiciones de fermentación.

	PB12-22 pH8	PB12-22 pH6	PB12-22 pH7	PB12-22 sin control de pH
Glucosa g/L	37 ±3	46±4.0	63.8 ±3	41.48 ±4
AS g/L	5.00±0.8	14.5±0.4	14.2 ±0.4	15.46 ±0.6
Biomasa g/L	16.10±1.0	16.11±2.5	16.6±1.9	17.40±1.7
DHS g/L	0.45±0.12	1.45±0.1	2.8±0.3	1.80±0.1
Y <sub>PI/S</sub> mol/mol	0.135±0.05	0.31±0.03	0.22±0.03	0.38±0.05
Y <sub>ARO/S</sub> mol/mol	0.14 ±0.02	0.34±0.05	0.27±0.03	0.43±0.05
Y <sub>X/S</sub> g/g	0.43±0.04	0.35±0.06	0.26±0.06	0.41±0.07
Q <sub>S</sub> g/L*h	1.0 ±0.1	1.3±0.2	1.8±0.3	1.2±0.1



**Fig. 1.** Cinética de los metabolitos y biomasa para las diferentes condiciones de fermentación.

Los resultados de PCR cuantitativa mostraron que la condición en la cual no se controla el pH, los valores de los mensajeros analizados estuvieron por encima de las demás condiciones, particularmente la ruta de las pentosas y el ciclo de los ácidos tricarbóxicos. Se observó también una mayor expresión del gen *galP* bajo la condición sin control de pH, favoreciendo así la asimilación de la glucosa del medio a la célula.

**Conclusiones.** El valor máximo de AS y Y<sub>PI/S</sub> se encontró al no controlar el pH debido a que el metabolismo se mantuvo más activo en esta condición. Se encontró que existe una relación directa entre el pH y la producción de AS: valores mayores a 7 tienen un efecto negativo en la producción y valores por debajo tienen poco efecto.

**Agradecimiento.** CONACyT Fondo 44126 y 126793. Beca CONACyT, SEP-CONACyT 104951-Z.

### Bibliografía.

- Flores N, Xiao J, Berry A, Bolivar F, Valle F. Pathway engineering for the production of aromatic compounds in Escherichia coli, (1996), *Nat. Biotechnol.*, Vol 14, 620-23
- Chandran S, Yi J, Draths K, Daeniken R, Weber W, Frost J. Phosphoenolpyruvate Availability and the Biosynthesis of Shikimic Acid, (2003) *Biotechnol Prog.*, Vol 19, 808-814.